UNIVERSIDAD AUTONOMA DE NUEVO LEON
FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS

ANALISIS DE HIDROCARBUROS AROMATICOS POLICICLICOS EN AGUA POTABLE MEDIANTE CROMATOGRAFIA DE GASES CON DETECTOR SELECTIVO DE ESPECTROMETRIA DE MASAS

DESARROLLO Y VALIDACION DE UN METODO ANALITICO

Por

NORA EMMA DIAZ MOROLES

Como requisito parcial para obtener el Grado de
MAESTRIA EN CIENCIAS QUIMICAS con Especialidad
en Química Analítica

Noviembre, 2000

TM
Z5521
FCQ
2000
D5

1020145388

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS

ANÁLISIS DE HIDROCARBUROS AROMÁTICOS POLICÍCLICOS EN AGUA POTABLE MEDIANTE CROMATOGRAFÍA DE GASES CON DETECTOR SELECTIVO DE ESPECTROMETRÍA DE MASAS

DESARROLLO Y VALIDACIÓN DE UN MÉTODO ANALÍTICO

Por

NORA EMMA DÍAZ MOROLES

Como requisito parcial para obtener el Grado de
MAESTRÍA EN CIENCIAS QUÍMICAS con Especialidad en
Química Analítica

Noviembre, 2000

ANALISIS DE HIDROCARBUROS AROMATICOS POLICÍCLICOS EN AGUA POTABLE MEDIANTE CROMATOGRAFÍA DE GASES CON DETECTOR SELECTIVO DE ESPECTROMETRÍA DE MASAS

DESARROLLO Y VALIDACIÓN DE UN MÉTODO ANALÍTICO

Aprobación de la Tesis

M C. Humberto J Garza Ulloa
Asesor Externo de la Tesis

Dr Juan Manuel Alfaro Barbosa
Asesor Interno de la Tesis

M C Perla Elizondo Martínez
Comité de Tesis

M.C. Mayela de la Fuente Dávila
Comité de Tesis

M C Martha A Suárez Herrera
Coordinadora de la Escuela de
Graduados en Ciencias
Facultad de Ciencias Químicas U A N L

RESUMEN

Nora Emma Díaz Moroles Fecha de Graduacion Noviembre 2000

Universidad Autonoma de Nuevo León

Facultad de Ciencias Químicas

Título del Estudio ANÁLISIS DE HIDROCARBUROS AROMÁTICOS POLICÍCLICOS EN AGUA POTABLE MEDIANTE CROMATOGRAFÍA DE GASES CON DETECTOR SELECTIVO DE ESPECTROMETRÍA DE MASAS

Número de páginas: 155

Candidata para el grado de Maestría en Ciencias Químicas con especialidad en Química Analítica

Área de Estudio: Química Analítica

Proposito y Método del Estudio: Los Hidrocarburos Aromaticos Policíclicos (PAHs) se encuentran en la Lista de Contaminantes Prioritarios de la Comunidad Europea y de los Estados Unidos de America debido a sus propiedades carcinogenicas y mutagenicas A nivel mundial hay estudios que revelan su presencia en aire, agua, suelos y alimentos, se originan por la quema de combustibles fosiles y material orgánico como carbon, madera y desperdicios, se encuentran en las emisiones de automoviles y en el humo del tabaco En México están regulados los niveles de algunos de los PAHs en agua pero no existe una metodologia oficial de analisis, por tal motivo, el proposito de este trabajo es desarrollar un metodo analítico que sea confiable, reproducible y que alcance niveles de detección y cuantificación inferiores a los que marque la normatividad en Mexico Como técnica analitica se seleccionó la Cromatografia de Gases Capilar con detector de Espectrometria de Masas.

Contribuciones y Conclusiones Se lograron determinar las condiciones optimas para el analisis por Cromatografía de Gases Capilar con detector de Espectrometría de Masas Se logro mejorar el tiempo de análisis para Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos por Cromatografia de Gases reportado hasta el momento. Se realizó la validacion instrumental al evaluar el desempeño inicial del método analítico propuesto, obteniéndose para cada uno de los 16 analitos objeto de estudio sus curvas de calibracion y con ello sus rangos de trabajo, sus limites de deteccion y de cuantificacion su precision y linealidad, quedando todos dentro de los criterios de aceptacion establecidos Con este metodo es posible cuantificar concentraciones inferiores a las que marca la Comision Nacional del Agua para el acenafteno y el fluoranteno Se selecciono un procedimiento de extraccion en fase sólida que genera menos residuos de laboratorio que la extraccion tradicional, se selecciono un procedimiento de concentracion de muestra que emplea un equipo Kudema-Danish se diseño un procedimiento general para el tratamiento de muestra y análisis de los Hidrocarburos Aromaticos Policiclicos estableciendo las condiciones de operacion del Cromatografo de Gases y el Espectrometro de Masas Es necesario hacer mas pruebas para validar el tratamiento de muestra Se propone esto como tema de tesis para otro estudiante

M C Humberto J Garza Ulloa

Dr Juan Manuel A faro Barbosa

DEDICATORIA

A mi esposo,

Ricardo Flores Lira

por su amor y comprensión

porque sé que puedo contar con él en todo momento

A mis hijos

Ricardo y Adrián Flores Díaz

por ofrecerme su apoyo y darme ánimo para seguir adelante.

A la memoria de mis padres,

Damiana Moroles Ortiz y Jacinto Díaz González,

quienes me enseñaron que con trabajo, paciencia y dedicación,

se alcanzan las metas

AGRADECIMIENTOS

A mi asesor y director de tesis, M C Humberto J Garza Ulloa por haberme propuesto este tema de investigación y otorgarme la confianza de desarrollar la parte experimental en el laboratorio de Investigación y Desarrollo Quimico, S A de C V , así como por haberme orientado cuado fue necesario

Al L.Q I Luis Alberto Dávila Salazar, gracias por su apoyo y paciencia, pero sobre todo gracias por compartir conmigo su area de trabajo, el Cromatógrafo de Gases y su experiencia en la técnica

A todos y cada uno de los integrantes del laboratorio de Investigación y Desarrollo Quimico, S A de C.V. agradezco el apoyo que me brindaron durante mi estancia en INDEQUIM. Gracias por su amistad y compañerismo

Al Dr. Juan Manuel Alfaro Barbosa por su valioso apoyo y asesoría para la realización de este trabajo.

Al Sistema de Investigación Alfonso Reyes (SIREYES) por el apoyo financiero al proyecto 970-406035

Al Programa de Apoyo a la Investigación Científica y Tecnológica (PAICYT) por el apoyo financiero brindado

A la Secretaria Academica de la UANL por su Programa de Apoyo al Personal Academico el cual me permitió adquirir material de aboratorio

A la Secretaría de Educación Pública (SEP) y al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por haberme otorgado una beca en el marco del Programa del Mejoramiento del Profesorado (PROMEP)

Al Dr Rogelio González Castillo Director de Intercambio Academico y Becas de Posgrado de la Secretaría Academica de la UANL por su orientacion para obtener la beca PROMEP

TABLA DE CONTENIDO

Capítulo		Página
1	INTRODUCCIÓN	1
1 1	El Agua y los Contaminantes Prioritarios	1
1 2	Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos y Cáncer	3
1.3	Fuentes de Hidrocarburos Aromáticos Policiclicos	3
1 3 1	PAHs en Aire	4
1 3 2	PAHs en Suelos	4
1 3.3	PAHs en Agua	4
1 3 4	PAHs en Alimentos	5
1.3.5	PAHs y Petróleo	6
1.3 6	PAHs y Estilo de Vida	6
2	ANTECEDENTES, JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS	8
2 1	Antecedentes	8
2 2	Justificación	10
2 3	Objetivo General	10
2 4	Objetivos Específicos	10
3	FUNDAMENTOS	11
3 1	Recopilación y Revisión de Información	11
3 2	Selección de la Técnica Analítica	13
3 2 1	Porqué CGC/MS	13
3 2 2	Fundamento de la Técnica Analítica	16
3 2 3	Clasificación de las Técnicas Cromatográficas	17
3 2 4	Cromatografía de Gases	17
3 2.5	Cromatografía de Gases Capilar	17
3 2.6	Cromatograma	18
3 2 7	Componentes de un Espectrómetro de Masas	19
3 2 8	Detector Selectivo de Masas	20
3 2 9	Espectro de Masas	21
3.2.10	Modos de Operación del Espectrómetro de Masas	22
4	METODOLOGÍA	
4 1	Procedimiento de Extracción de PAHs	23
4 2	Procedimiento de Concentracion de PAHs	26
4 3	Capacitación en la Técnica Ana t ca a Utilizar	27

4 4 Determinación de las Condiciones Ópt mas para el Análisis por Cromatografía de Gases/Espectrometría de Masas (GC-MS) 27
4 5 Identificación 38
4 6 Cuantificacion 38
4 7 Evaluación del Desempeño del Método Analítico (Validación) 39
4 8 Muestras Sintéticas 40
4 9 Muestras Reales 40

5 RESULTADOS 41

5 1 Resultados Obtenidos 41
5 2 Discusión de Resultados presentados en la tabla 13 45
5 3 Discusión de resultados presentados en la tabla 14 47

6 CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES 48

REFERENCIAS 51

APÉNDICE A CROMATOGRAMAS 55

APÉNDICE B REPORTES DE CUANTIFICACIÓN 71

APÉNDICE C ESPECTROS DE MASAS 87

APÉNDICE D CURVAS DE CALIBRACIÓN 109

APÉNDICE E RESULTADOS DE TRATAMIENTO DE MUESTRAS 126

APÉNDICE F RIESGOS Y MEDIDAS DE SEGURIDAD DE LOS REACTIVOS UTILIZADOS 141

APÉNDICE G DEFINICIONES 152

LISTA DE TABLAS

Tabla		Página
1	Límites Permitidos de algunos PAHs según la CNA	2
2	Niveles de PAHs en Alimentos	5
3	PAHs en el humo del Tabaco	7
4	Lista de 16 Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos	9
5	Preparación de Soluciones Primarias	28
6.	Preparación de Solución Secundaria (Mezcla PAHs)	29
7.	Preparación de Mezcla de Estándar Interno y Surrogados	30
8	Preparación del Blanco	30
9	Preparación de Soluciones para Curvas de Calibración	31
10.	Niveles de Concentración de cada Analito	31
11.	Condiciones de Operación del GC/MS	37
12	Datos Obtenidos en las 3 Corridas Cromatográficas para el Benzo(k)fluoranteno	42
13	Resultados de Validación Instrumental para los 16 PAHs	44
14	Resultados del Tratamiento de Muestras	46

LISTA DE FIGURAS

Figura		Página
1	Esquema de un Cromatógrafo de Gases	18
2	Partes Básicas de un Espectrómetro de Masas	19
3	Esquema de un Espectrómetro de Masas de Cuadrupolo	20
4	Esquema del Sistema CGC/MS	22
5	Sistema de Extracción SPE en Tubo	25
6	Sistema de Extracción SPE en Disco	26
7.	Micro Kudema-Danish	27
8.	Reporte de Optimización del Detector con PFTBA	33
9	Reporte de Verificación de la Calibración con DFTPP	35
10.	Cromatógrafo de Gases HP G1800 A	37
11	Automuestreador HP6890	38
12	Curva de Calibración del Benzo(k)fluoranteno	43
13	Procedimiento General	50

ABREVIACIONES Y SIMBOLOS

US EPA	Agencia de Protección Ambiental de Estados Unidos
SEMARNAP	Secretaría de Medio Ambiente Recursos Naturales y Pesca
CAS	Chemical Abstracts Service
PAHs	Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos
CNA	Comisión Nacional del Agua
INEGI	Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática
TPH	Hidrocarburos Totales del Petróleo
GC/MS	Cromatografía de Gases con Espectrometría de Masas
CGC/MS	Cromatografía de Gases Capilar con Espectrometría de Masas
FID	Detector de Ionización de Flama
TCD	Detector de Conductividad Térmica
ECD	Detector de Captura de Electrones
NPD	Detector de Nitrógeno y Fósforo
AED	Detector de Emisión Atómica
FTIR	Infrarrojo con Transformada de Fourier
PID	Detector de Fotoionización
ELCD	Detector de Conductividad Electrolítica
UV	Ultravioleta
MS	Espectrómetro de Masas
CZE	Electroforesis Cap ar de Zonas
NIST	Instituto Naciona de Estandares y Tecnolog a
SPE	Extracción en Fase Sólida

SPME	Microextracción en Fase Solida
SIM	Mon toreo Selectivo de Iones
EI	Impacto Electrónico
eV	Electrón Volt
PFTBA	Perfluorotributilamina
DFTPP	Decafluorotrifenilfosfina
ODS	Octadecilsilano
% C V	Porcentaje del Coeficiente de Variación
FC	Factor de Calibración
Std N-5	Estándar Nivel 5 de Concentración
Nitrod-5	Nitrobenceno d-5
N d-5	Nitrobenceno d-5
2,4,6 TBF	2,4,6 Tribromofenol
pH	-log de Concentración de Iones Hidrógeno
STD INT	Estándar Interno
mg/L	miligramo/Litro
µg/L	microgramo/Litro
µg/kg	microgramo/kilogramo
M^{o+}	Ion Molecular
m/z	Relación Masa a Carga
ppm	partes por millón
ng	nanogramo
pg	picogramo

CAPÍTULO 1

INTRODUCCIÓN

1.1 El Agua y los Contaminantes Prioritarios

El agua es, sin duda, uno de los recursos naturales más valiosos de nuestro planeta, a través de los años se ha reconocido que es esencial para la existencia del hombre, no obstante, la industrialización y el uso de pesticidas y agroquímicos han acelerado su deterioro.

La creciente conciencia ecológica de la humanidad ha incrementado su interés por el medio ambiente y especialmente por la calidad del agua.

Durante los últimos años se ha detectado la presencia de más contaminantes orgánicos en el agua y algunos investigadores se han dedicado a resolver este problema Así, en 1982 la Comunidad Europea estableció la "lista negra" de los Contaminantes Prioritarios, así mismo la Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos de América (US EPA) también tiene su Lista de Contaminantes Prioritarios que coincide con la lista de la Comunidad Europea, en su origen la lista era de 129 actualmente son 132 Contaminantes Prioritarios (Soniassy et al , 1994)

En México no se maneja una lista de Contaminantes Prioritarios como tal, pero existen Normas Mexicanas que establecen Criterios Ecologicos de Calidad del Agua; en esos Criterios se han incluido a los hidrocarburos aromáticos policíclicos y también de manera individual se considera a algunos de ellos, como por ejemplo al acenafteno y al fluoranteno

Es importante señalar que se publicó en México (D ario Oficial de la Federación lunes 18 de agosto de 1997) por parte de la Secretaría de Medio Ambiente Recursos Naturales y Pesca (SEMARNAP) un aviso por el que se dan a conocer al público en general, el Instructivo General para obtener la Licencia Ambiental Única e Formato de solicitud de Licencia Ambiental Unica para Establecimientos Industriales de Jurisd ccion Federal y el Formato de Cedula de Operación para los Establec mientos Industriales de Jurisdicción Federal en ese aviso se incluye una lista de sustancias sujetas a reporte entre

las que destacan los Hidrocarburos Aromaticos Polic c cos (PAHs) en la Tabla 18 de la lista de sustancias sujetas a reporte publicada en el D ario Oficial

También en México la Comisión Nacional del Agua (CNA) publicó en febrero de 1998 la Ley Federal de Derechos en Materia de Agua donde establece una Tabla de Lineamientos de Calidad del Agua En dicha tabla la CNA clasifica al agua en cuatro tipos segun su uso como se describe enseguida.

Uso 1. Fuente de abastecimiento para uso público urbano
Uso 2 Riego agrícola
Uso 3 Protección a la vida acuática: Agua dulce, incluye humedales
Uso 4 Protección a la vida acuática Aguas costeras y estuarios

La CNA clasifica a los parámetros indicativos de la calidad del agua en inorgánicos, orgánicos, físicos y microbiológicos. Dentro de los parámetros orgánicos se incluyen tres Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos que son. Acenafteno, Fluoranteno y Naftaleno. Los límites permitidos por la CNA para estos tres PAHs se resumen en la tabla 1.

Tabla 1. Límites Permitidos de Acenafteno, Fluoranteno y Naftaleno de acuerdo a la CNA

Parámetros mg/L	Uso 1	Uso 2	Uso 3	Uso 4
Acenafteno	0 02	-	0 02	0.01
Fluoranteno	0.04	-	-	0 0004
Naftaleno	_	-	0 02	0 02

En este trabajo es de interés el agua potable en la tabla 1 se observa que la CNA establece como límites 0 02 y 0 04 mg/L para acenafteno y fluoranteno respectivamente, por lo que se tendrá que desarrollar un método de análisis quimico que permita cuantificar esos niveles de concentración y preferentemente valores inferiores a ellos

El análisis de contaminantes orgánicos en agua a niveles de trazas requiere el empleo de instrumentación analítica avanzada y el reto consiste precisamente en desarrollar métodos analíticos que reunan las cualidades de ser confiables, reproducibles, y sobre todo sensibles es dec r que permitan alcanzar los niveles de detección y cuantificacion lo más bajo posible tratando de que éstos sean inferiores a los que marque la normatividad

1.2 Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos y Cáncer

En México el cáncer ocupa el segundo lugar como causa de mortalidad en la población; según datos de la Dirección General de Estadística y de la Dirección General de Estadísticas Demográficas y Sociales del Instituto Nacional de Estadística Geografía e Informática (INEGI, 1996), en 1996 se registraron 49916 defunciones por tumores malignos

Los PAHs se encuentran en la lista de Contaminantes Prioritarios debido a sus propiedades carcinogénicas y mutagenicas en general (Harvey R.G.,1978), aunque su propiedad carcinogénica varía de un compuesto a otro. Por ejemplo, el benzo(a)pireno se considera un potente carcinógeno, el criseno se considera menos carcinógeno y el naftaleno es no carcinógeno

Se consideran carcinógenos Benzo(a)pireno Benzo(a)antraceno, Benzo(b)fluoranteno, Benzo(k)fluoranteno, Criseno Dibenzo(a h)antraceno y el Indenopireno

Se consideran no carcinógenos. Acenafteno, Antraceno Fluoranteno, Fluoreno, Naftaleno y Pireno

1.3 Fuentes de Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos

Los hidrocarburos aromáticos policíclicos se originan como productos al quemar combustibles fósiles y material orgánico, Las principales fuentes incluyen emisiones de la quema de carbón y madera emisiones de automóviles, plantas generadoras de energía y quema de desperdicios Los PAHs se encuentran en muchos alimentos comunes y son componentes significativos del humo del tabaco

La inhalacion del humo del cigarro se ha encontrado como la causa principal de cáncer de pulmon en las poblaciones humanas

Además el ser humano esta expuesto diariamente a PAHs en el aire que respira el agua que bebe y los alimentos que consume Los PAHs se

encuentran ampliamente difundidos en el medio ambiente (Harvey R G , 1978) En México se pueden encontrar en el asfalto

1.3.1 PAHs en Aire

En general, los PAHs permanecen en fase gaseosa a temperaturas superiores a 150 °C pero condensan rápidamente debajo de esa temperatura en partículas de ceniza voladora (Schure & Natusch, 1982) En un estudio canadiense de partículas en el aire urbano se encontró que el 85 % de los PAHs estaban asociados con partículas menores a 5 micrómetros de diámetro (Albagli et al.,1974). Las partículas inferiores a 5 micrómetros se clasifican como "partículas respirables" porque pueden penetrar por las vías respiratorias superiores y llegar hasta los alvéolos

1.3.2 PAHs en Suelos

Los PAHs se encuentran también en suelos en todas las regiones del planeta Las concentraciones en las áreas urbanas e industriales son de 10 a 100 veces mayores que en las áreas no urbanas En las regiones alejadas de las zonas urbanas se consideran fuentes de PAHs los fuegos forestales y erupciones volcánicas.

1.3.3 PAHs en Agua

Los PAHs en agua se pueden atribuir a las partículas de materia transportadas a través del aire, a suelos contaminados, así como a la contaminación directa de ríos y lagos por efluentes municipales e industriales De hecho, los PAHs están ampliamente distribuidos a través de las aguas de la tierra y entran a la cadena alimenticia por plancton moluscos y pescados Puesto que algunos de los PAHs son solo ligeramente degradados, ésto representa un riesgo potencial a la salud del ser humano a traves del agua potable

El nivel promedio de benzo a)pireno en agua potable se estima alrededor de 0 01 microgramo por litro, lo cual es similar en aire respirable relativamente limpio (Baum 1978)

El tratamiento de agua con cloro u ozono reduce los niveles de PAHs (Radding et al 1976) Las concentraciones de PAHs en sedimentos marinos reflejan la situacion industrial en el área circundante Por otro lado en las Reglas de Acción para remediar sitios contaminados con sustancias peligrosas en USA dice que cualquier muestra de agua subterránea para la cual se detecten TPH (Total Petroleum Hydrocarbons) deberá analizarse para PAHs

1.3.4 PAHs en Alimentos

La contaminación de alimentos con PAHs es también extensa Los PAHs se encuentran en las hojas de las plantas como lechuga, espinaca, té y tabaco, en carnes ahumadas y en pescado Las relativamente altas concentraciones en hojas vegetales aparentemente reflejan la contaminación de la atmósfera Sin embargo, sólo una pequeña porción (10%) se elimina por lavado (Grimmer, 1968)

Los niveles de PAHs en varios alimentos se resumen en la tabla 2

Tabla 2. Niveles de PAHs en Alimentos en µg PAH/kg de material seco (Baum,1978)

Tipo de alimento	Benzo(a)antraceno	Criseno	Benzo(a)pireno
Cereales	0 4-6-8	0 8-14 5	0 25-0 84
Lechuga	4 6-15 4	5 7-26 5	2 8-5 3
Espinaca	16 1	28 0	7 4
Tomate	0 3	0 5	0 2
Aceite de cocinar	0 5-13 5	0 5-129	0 9-1
Carne / pescado asado	0 2-31	0 5-25	0 2-11
Carne / pescado ahumado	0 02-189	0 3-123	
Café tostado	0 5-14	0 6-19	0 1-4
Té		4 6-6 3	3 9-21

Los PAHs estan presentes no sólo en carnes y pescados ahumados y asados sino tambien en carne y mar scos frescos En estos casos la contaminación podría deberse a la contaminacion del agua y del aire así como

de los alimentos de los animales Al cocinarlos se incrementa el contenido total de PAHs debido a la pirólisis y contaminacion por el humo

1.3.5 PAHs y Petróleo

Otra fuente potencial importante de exposición de PAHs es a través de aceites minerales y productos refinados del petróleo usados en cosméticos y productos medicinales (IARC, 1983) Productos derivados del petróleo con trazas de PAHs se utilizan en las preparaciones de cremas, bronceadores y aceites para bebés.

1.3.6 PAHs y Estilo de Vida

Mientras que la atención pública se ha enfocado a las fuentes de contaminación industrial, hay suficiente evidencia de que los hábitos personales y el estilo de vida contribuyen mucho más al riesgo individual

El gran incremento en la mortalidad por cáncer en los Estados Unidos durante los últimos 30 años se relaciona con el cáncer de pulmón. El fumar cigarrillos es el factor que más contribuye a incrementar el riesgo de cáncer en el tracto respiratorio (Loeb et al.,1984).

El humo del tabaco es una mezcla compleja en la cual la fase gaseosa contiene al menos 150 compuestos, y más de 200 compuestos han sido identificados en la fase de partículas (Hoffmann et al ,1978), entre estos últimos se encuentran los PAHs, incluyendo algunos iniciadores de tumores

Aunque se conoce menos acerca del humo de la marihuana, los estudios indican que los condensados del humo de la marihuana exhiben actividad mutagénica similar a los condensados del tabaco (Bush et al ,1979) La tabla 3 incluye los nombres de algunos PAHs encontrados en la fase de partículas del humo del tabaco, su actividad carcinogénica y su contenido por cigarrillo

Tabla 3 PAHs en la fase de partículas en el humo del tabaco (Hoffmann 1978)

PAHs	Actividad carcinogenica	ng/cigarrillo
Benzo(a)pireno	+++	10-50
5-Metilcriseno	+++	0 6
Dibenzo(a,h)antraceno	++	40
Benzo(b)fluoranteno	++	30
Benzo(j)fluoranteno	++	60
Dibenzo(a,h)pireno	++	ND
Dibenzo(a,i)pireno	++	ND
Indeno(1,2,3-cd)pireno	+	4
Benzo(c)fenantreno	+	ND
Benzo(a)antraceno	+	40-70
Criseno	+	40-60
Benzo(e)pireno	+	5-40
2- y 3-Metilcriseno	±	7
1- y 6-Metilcriseno	-	10
2-Metilfluoranteno	+	34
3-Metilfluoranteno	ND	40
Dibenzo(a,c)antraceno	+	ND

ND= datos no disponibles.

Por todo lo anterior, es evidente que el hombre está expuesto a una diversidad de PAHs, algunos de los cuales con propiedades carcinogénicas y que la exposición de un individuo dependerá de varios factores que incluyen su localización geográfica, su ocupación, su dieta y su estilo de vida (Harvey R G 1991)

CAPÍTULO 2

ANTECEDENTES, JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS

2.1 Antecedentes

La US EPA y la Comunidad Europea seleccionaron 16 PAHs para su análisis en agua potable, en agua superficial y en agua residual. Tambien se han hecho estudios en peces, sedimentos de ríos, suelos diesel cenizas de incineradores y aire. (Botello 1991; Trova, 1992, Lee, 1981; Voranasi, 1989 Liog, 1990).

La US EPA establece metodologías de análisis para PAHs en agua potable, en agua residual y en desechos sólidos, estas metodologías incluyen la validación del método

En la Comunidad Europea no existe metodología oficial de análisis para PAHs, sólo se requiere tener el método validado.

En México no existe metodología oficial para el análisis de PAHs

En la tabla 4 se presenta la lista de los 16 hidrocarburos aromáticos Policíclicos (PAHs), que incluye el nombre del compuesto su peso molecular y su estructura.

Tabla 4 Lista de 16 Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos

1	Naftaleno	128	9	Benzo(a)antraceno	228
2	Acenaftileno	152	10.	Criseno	228
3	Acenafteno	154	11.	Benzo(b)fluoranteno	252
4	Fluoreno	166	12.	Benzo(k)fluoranteno	252
5	Fenantreno	178	13.	Benzo(a)pireno	252
6	Antraceno	178	14.	Dibenzo(a,h)antraceno	278
7	Fluoranteno	202	15.	Benzo(g,h,i)perileno	276
8	Pireno	202	16.	Indeno(1,2,3-cd)pireno	276

2.2 Justificación

En México están regulados los niveles de concentración de algunos de los PAHs en agua, pero no existe una metodología oficial de análisis por tal motivo es importante desarrollar un método analítico que sea confiable que sea reproducible y que permita alcanzar niveles de detección y cuantificacion inferiores a los que marque la normatividad

2.3 Objetivo General

Desarrollar un método analítico para cuantificar el contenido de hidrocarburos aromáticos policíclicos en agua potable utilizando como técnica analítica la Cromatografía de Gases con detección de Espectrometría de Masas, (GC/MS)

2.4. Objetivos Específicos

1. Revisar diferentes metodologías para analizar hidrocarburos aromáticos policíclicos, incluyendo diferentes procedimientos para la extracción y concentración de los analitos a cuantificar.

2. Seleccionar el procedimiento para la extracción y concentración de los analitos en la muestra, así como el tratamiento de la misma.

3. Determinar las condiciones óptimas para el análisis por Cromatografía de Gases Capilar/ Espectrometría de Masas, CGC/MS

4 Optimizar el tratamiento de muestra para la concentración de los hidrocarburos aromáticos policíclicos.

5 Validar el método desarrollado

6 Proponer un método para el tratamiento de la muestra y análisis de hidrocarburos aromáticos policíclicos en agua potable

CAPÍTULO 3

FUNDAMENTOS

3.1 Recopilación y Revisión de Información

Se revisaron los siguientes métodos:

Método 525 Revisión 2 1 de la Environmental Protection Agency de Estados Unidos de América (US EPA) que trata de la determinación de compuestos orgánicos en agua potable mediante extracción solido – líquido y cromatografía de gases capilar/espectrometría de masas. (US EPA 1988; HP, 1990).

·Método 550 de la US EPA que trata del análisis de hidrocarburos aromáticos policíclicos en agua potable mediante extracción líquido – líquido y cromatografía de líquidos de alta resolución con detección UV y Fluorescencia (US EPA, 1990)

Método 610 de la US EPA que trata del análisis de hidrocarburos aromáticos polinucleares en aguas residuales (US EPA 1982)

Método 625 de la US EPA que trata del análisis de compuestos orgánicos semivolátiles mediante GC/MS en aguas residuales. (US EPA, 1984).

Método 8270 Revisión 3 de la U S EPA que trata del análisis de compuestos organicos semivolátiles en desechos sólidos (US EPA 1996)

Método 8310 que trata del análisis de hidrocarburos aromáticos polinucleares en residuos solidos. (US EPA, 1990)

Métodos propuestos en el libro Water Analysis, Organic Micropollutants editado por Hewlett Packard dedica un capítulo a los PAHs (Soniassy Riezve, 1994)

Se revisó a Norma Oficial Mexicana NOM-127-SSA1- 1994 "Salud Ambiental agua para uso y consumo humano limites permisib es de calidad y tratamientos a que debe someterse al agua para potabilización DOF 1996)

Se estudiaron las publicaciones de la American Chemical Society sobre las revisiones de Análisis Ambiental que aparecieron en Application Reviews, Analytical Chemistry (Clement, 1995 1997 y 1999), que cubren el desarrollo en química analítica ambiental aplicada de enero 1993 a octubre de 1998 y que se encuentran en el Chemical Abstracts Service (CAS) para Cromatografía de Gases, Espectrometría de Masas, Química Analítica Inorgánica y Monitoreo de Contaminación. Es importante destacar que sólo en el período de enero 1993 a octubre de 1994, Clement y sus colaboradores revisaron más de 20,000 resúmenes para seleccionar los artículos que mencionarían en la publicación del año de 1995 de la revisión de aplicaciones en Analytical Chemistry.

De la revisión de Clement de 1997 se seleccionaron 4 artículos:

Un artículo trata de la Microextracción en Fase Sólida (SPME) de PAHs de muestras acuosas y emplea fibras porosas cubiertas con sílice químicamente enlazada de 4 tipos y análisis por GC/FID y GC/MS. (Liu Yu, 1997).

Otro artículo presenta la separación y determinación de PAHs por SPME y Electroforesis Capilar con Ciclodextrina Modificada y detección UV (Nguyen, 1997)

El tercer artículo describe un metodo para determinar compuestos aromáticos en agua y combina la SPME y Espectroscopía de Absorción UV. (Wittkamp,1997).

El cuarto artículo se enfoca a la influencia de la composición volumétrica del acetonitrilo en la fase móvil sobre las características de adsorción de cromatografía líquida en fase reversa usando como fase estacionaria gel de sílice modificado con octadecilsilano (ODS) (Miyabe 1997)

Se revisaron también los catálogos 1997, 1998, 1999 y 2000 de Supelco y las metodologías propuestas por los fabricantes de equipos cromatográficos, como Hewlett Packard, Supelco, Varian y Alltech

Una publicación de Hewlett Packard se refiere al análisis de PAHs en suelos y lodos usando Extracción Térmica y GC-MS (Snelling, 1993)

Otra publicación de Hewlett Packard describe el análisis de PAHs mediante GC/FID mediante inyección splitless con un programa de presión de pulsos controlado electrónicamente (David 1993)

De Supelco se revisaron

Boletín 865 B que se enfoca al analisis de Compuestos Orgánicos en Agua Potable por GC/HPLC con Procedimientos US EPA

Boletín 773 G que trata del análisis de PAHs mediante GC y HPLC

Nota de aplicación 59 que describe la extracción de compuestos orgánicos de agua usando discos de extraccion en fase solida

Nota de aplicación 65 que se refiere al empleo de tubos SPE para el monitoreo de compuestos orgánicos en agua potable por el metodo 525 US EPA

Nota de aplicación 108 que trata del análisis de PAHs por GC.

Ejemplos de aplicación de los catálogos Supelco, donde se reportan análisis de PAHs mediante SPME/HPLC/UV, SPE/GC/FID SPME/GC/MS, GC/MS, SPE/GC, HPLC/UV y extracción con fluidos supercríticos (SFE)/GC/MS, de los cuales es importante observar las condiciones de operación, columna utilizada y tiempos de retención obtenidos

De Varian se revisó

Un artículo que describe la extracción de PAHs contenidos en agua potable mediante el empleo de discos SPE.

De Alltech se revisaron:

Ejemplos de aplicación para el análisis de PAHs donde reportan el uso de GC/FID, HPLC/UV.

3.2 Selección de la Técnica Analítica

3.2.1 Porqué CGC/MS

Los PAHs se pueden analizar por tres técnicas que son cromatografía de gases, cromatografía de líquidos de alta resolución (HPLC) y electroforesis capilar

Para la técnica de cromatografía de gases existen los siguientes detectores:

- MS Espectrometría de Masas
- FID Ionización de Flama
- TCD Conductividad Térmica
- ECD Captura de Electrones o Termoiónico
- NPD Detector de Nitrógeno y Fósforo
- AED Detector de Emisión Atómica o Fotométrico de Flama
- FTIR Infrarrojo con Transformada de Fourier
- ELCD Detector de Conductividad Electro ítica

Para la técnica de cromatografía de líquidos existen los siguientes detectores

- Fluorescencia
- Espectrofotometría de absorción ultravioleta
- FTIR
- MS

Para la técnica de electroforesis capilar hay 2 modalidades

- CZE Electroforesis capilar de zonas
- HPCE Electroforesis de alta resolución

Se seleccionó Cromatografía de Gases porque es la técnica más utilizada en el análisis de contaminantes orgánicos en agua , además con el detector de Espectrometría de Masas constituye una herramienta esencial en el monitoreo ambiental (Soniassy Riezve, 1994). Uno de los principales usos de los sistemas GC/MS es en laboratorios de pruebas ambientales privados públicos y del CLP (Contract Laboratory Program) de la US EPA (McMaster, 1998)

Con la combinación del sistema Cromatografía de Gases/Espectrometría de Masas se pueden separar mezclas en sus componentes individuales, identificar dichos componentes y cuantificarlos

De todos los detectores anteriormente mencionados, los que son aplicables a los PAHs son el FID o Detector de Ionización de Flama y el MS o Espectrómetro de Masas. Los dos son detectores universales.

El FID requiere de una flama de hidrógeno/aire para operar y responde a los compuestos orgánicos en general, basta que tenga enlaces C-H, se dice que es un detector sensible a la masa porque responde al número de átomos de carbono que entra en el detector por unidad de tiempo, tiene la ventaja de que los cambios en el flujo de fase móvil tienen poco efecto en la respuesta del detector.

El FID posee una elevada sensibilidad (10 pg/s)), un gran intervalo lineal de respuesta (10^7) y un bajo ruido Por lo general es resistente y fácil de utilizar, pero comparado con el Espectrómetro de Masas el detector de Ionización de Flama no es capaz de proporcionar la misma información estructural que proporciona el espectro de masas con fines de identificación

El espectrómetro de masas es el mejor detector que se puede acoplar con el cromatógrafo de gases ya que presenta las ventajas de ser sensible y específico en la identificación de sustancias desconocidas o en la confirmación de presencia de compuestos Su alta sensibilidad resulta de la acción del analizador como un filtro de masas para reducir la interferencia de fondo y de los multiplicadores de electrones sens bles que se usan para la deteccion La excelente especificidad en la identificación es el resu tado de los patrones de

fragmentación característicos que proporcionan información acerca de la masa y la estructura molecular, es decir, los espectros de masas proporcionan la estructura del compuesto, su peso molecular y su patrón de fragmentación (Willard 1991)

El Espectrómetro de Masas es el mejor detector disponible para el análisis de PAHs, el acoplamiento CGC/MS es el que ofrece la mejor sensibilidad, si se trabaja en modo SIM (Selected Ion Monitoring) se detecta hasta un picogramo, en cambio si se trabaja en "full scan" se detecta sólo un nanogramo, tiene un rango lineal de 10^5 (Willard,1991).

Para los otros detectores empleados en Cromatografía de Gases, la identificación se basa solamente en el tiempo de retención obtenido con un estándar que se compara con el tiempo de retención del desconocido, corridos ambos bajo las mismas condiciones cromatográficas. Si los tiempos de retención coinciden, se supone que se trata de la misma sustancia pero podría darse el caso de que dos compuestos presenten tiempos de retención similares sin ser la misma sustancia y que lo que aparenta ser un pico, se trate de 2 sustancias que eluyeron juntas (McMaster, 1998).

La identificación se basa en la comparación del espectro de masas de cada componente de la mezcla con colecciones de espectros de compuestos estándares que se encuentran en bases de datos

Primero, para lograr la separación de los componentes de la mezcla, se inyecta la muestra en el cromatógrafo de gases, se obtiene un cromatograma, luego, para lograr la identificación, se selecciona un pico del cromatograma (el del componente de la mezcla que se desea identificar), se obtiene su espectro de masas y luego éste se compara con los espectros que se encuentran en la base de datos, todo ésto se maneja a través de una computadora, cuyo software permite ofrecer los 3 compuestos de la base de datos mas parecidos a los de la sustancia desconocida y el % de semejanza en los patrones de fragmentación.

La base de datos del Instituto Nacional de Estándares y Tecnología de Estados Unidos (NIST) de 1996 de compuestos de importancia ambiental contiene 75,000 espectros (de 62,000 compuestos); la 6ª Edición de Wiley Library contiene 275,000 espectros, la Stan Pesticide Library contiene 340 compuestos y la Pfleger Drug Library contiene espectros para 4370 compuestos (McMaster, 1998)

En este trabajo se emplea la Wiley Library porque es la que incluye un mayor número de espectros en su base de datos

3.2.2 Fundamento de la Técnica Analítica

La cromatografía es una técnica de separación, identificación y cuantificación que tiene aplicaciones en todas las áreas de las ciencias Es de gran aplicación en todo tipo de laboratorios, especialmente en orgánicos, analíticos clínicos, ambientales y forenses

Esta técnica tiene su origen en el año de 1906 cuando un bioquímico ruso de nombre Mikhail Tswett separó pigmentos vegetales tales como clorofilas y xantofilas, haciendo pasar disoluciones de estos compuestos a través de una columna de vidrio rellena con carbonato de calcio finamente dividido. Las especies separadas aparecían como bandas coloreadas en la columna, por lo cual le llamó "cromatografía" del griego chroma que significa "color" y graphein que significa "escribir".

Las aplicaciones de la cromatografía se han incrementado notablemente los últimos años El tremendo impacto de esta técnica en la ciencia se confirmó al otorgarse el Premio Nobel de 1952 a A.J P. Martin y R L M Synge por sus trabajos en este campo. Además, en el período de 1937 a 1972, doce Premios Nobel concedidos se otorgaron a trabajos en los que la cromatografía tenía un papel importante (Skoog-Leary, 1994)

El acoplamiento de la espectrometría de masas a la cromatografía de gases se realiza a partir de 1960 (Fowlis, 1995).

La cromatografía permite a los científicos separar compuestos estrechamente relacionados en mezclas complejas, lo que en muchas ocasiones resulta imposible por otros métodos.

En todos los procesos cromatográficos se requiere de una fase móvil y una fase estacionaria inmiscibles entre sí Los componentes de la muestra se transportan a través de la fase estacionaria mediante una fase móvil que fluye; los componentes de la muestra se distribuyen entre las dos fases, pero presentan diferente afinidad por las mismas, de modo que los que son mas afines a la fase estacionaria se mueven más lentamente Las separaciones se basan en las diferentes velocidades de migración que presentan los componentes de la muestra

3.2.3 Clasificación de las Técnicas Cromatográficas

Se pueden hacer clasificaciones de las técnicas cromatográficas bajo diferentes criterios Uno de ellos se basa en la forma en que las fases móvil y estacionaria se ponen en contacto, y entonces se clasifica como cromatografía en columna y cromatografía plana

Es en columna cuando la fase estacionaria se mantiene dentro de un tubo estrecho a través del cual se hace pasar la fase móvil por presión o por gravedad Es plana cuando la fase estacionaria se mantiene sobre una placa lisa o en un papel, en este caso la fase móvil se desplaza a través de la fase estacionaria por capilaridad o por gravedad

De acuerdo a esta clasificación en este estudio se usa la cromatografía en columna

Otra clasificación se basa en el estado físico de la fase móvil, que puede ser un líquido, un gas o un fluído supercrítico Dando lugar a la Cromatografía de Líquidos, Cromatografía de Gases y Cromatografía de Fluídos Supercríticos

3.2.4 Cromatografía de Gases

Según la clasificación anterior, en este trabajo se usa la cromatografía de gases ya que la fase móvil a utilizar es el gas inerte helio.

3.2.5 Cromatografía de Gases Capilar

La columna que se utiliza es capilar , mide 0 25 mm de diámetro interno, 0 25 micrómetros de película (de fase estacionaria líquida) y 30 metros de largo por lo que la técnica utilizada es Cromatografía de Gases Capilar (CGC)

La muestra se inyecta y volatiliza en la cabeza de la columna El helio usado como gas acarreador obliga a los componentes de la muestra a recorrer la columna, lo hacen a diferentes velocidades segun su afinidad por la fase estacionaria los que tienen mas afinidad por la columna son los ultimos en salir El corazon del cromatografo es la columna porque en ella ocurre la separación

Es requisito que los compuestos que se van a separar se volatilicen a a temperatura de operacion y que sus masas moleculares queden comprendidos dentro del rango de trabajo del espectrómetro de masas

3.2.6 Cromatograma

Es una gráfica que representa la señal del detector (ordenada) contra tiempo. En el **Apéndice A** se incluyen los cromatogramas obtenidos durante la validación instrumental para el análisis de PAHs en agua potable

En la figura 1 se incluye una representación esquemática de un cromatógrafo de gases

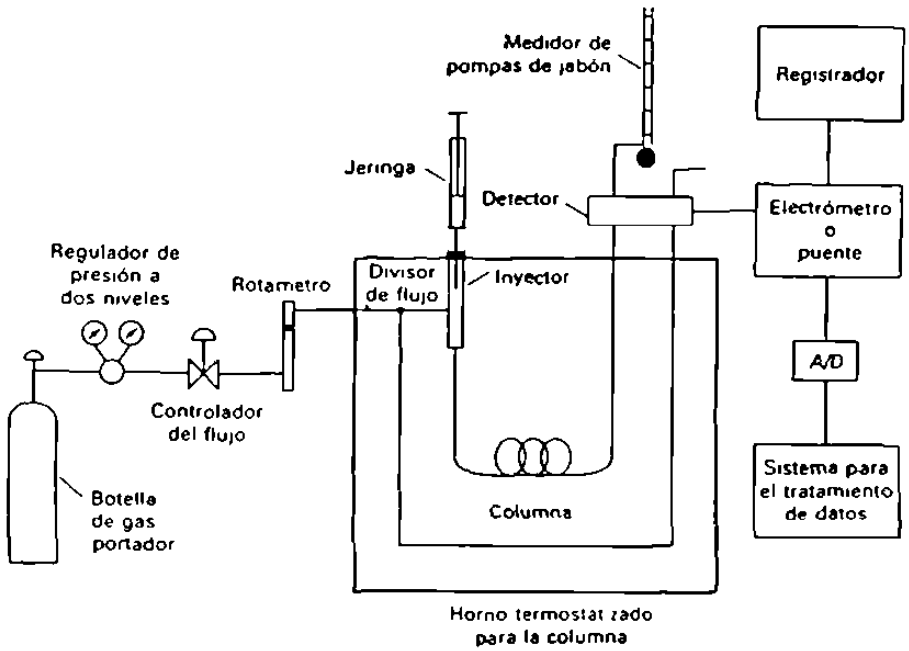


Figura 1 Esquema de un cromatografo de gases

3.2.7 Componentes de un Espectrómetro de Masas

Un espectrometro de masas realiza tres funciones basicas 1) producir iones gaseosos a partir de una muestra, 2) separar esos iones de acuerdo con su relación masa/carga y 3) determinar la abundancia relativa de cada ion o fragmento.

En esta investigación el detector a utilizar es el Espectrómetro de Masas En la figura 2 se muestra un esquema de las partes básicas de un espectrómetro de masas Las partes esenciales son 1) sistema de introducción de muestras, 2) fuente de iones, 3) sistema de aceleracion de iones y analizador de masas 4) sistema colector de iones o detector 5) sistema de manejo de datos y 6) sistema de vacío

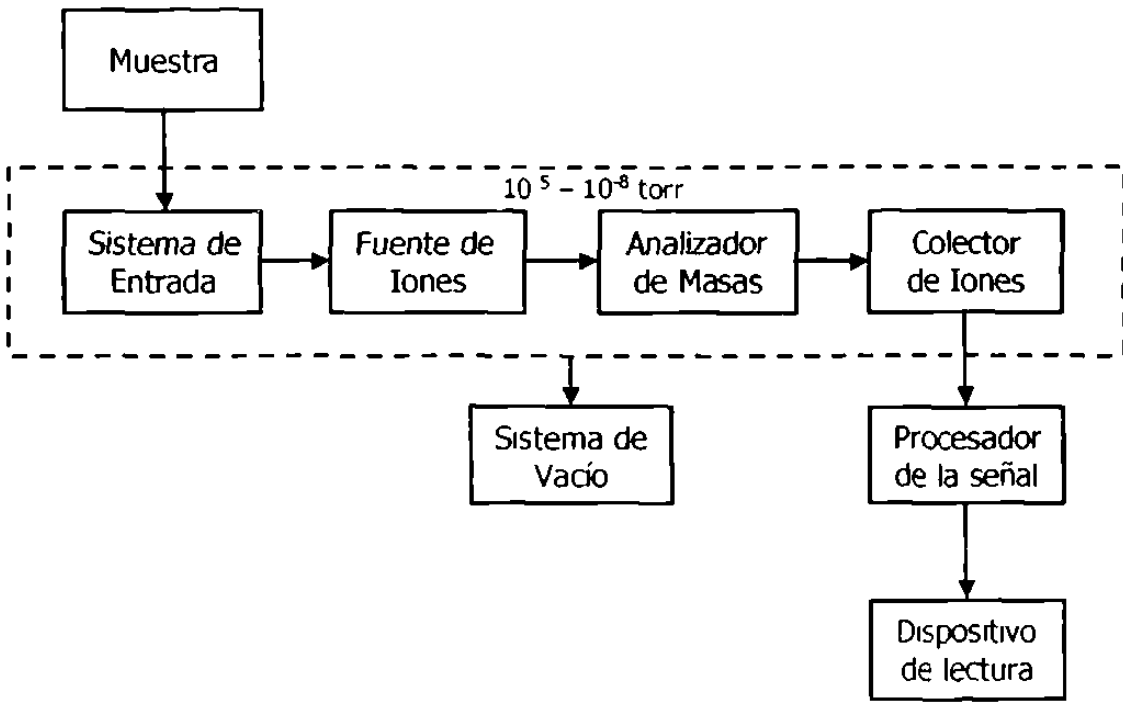


Figura 2 Partes basicas de un espectrómetro de masas

3.2.8 Detector Selectivo de Masas

El espectrómetro de masas que se utilizó como detector del cromatógrafo de gases tiene como filtro o analizador de masas un cuadrupolo

El espectrómetro de masas de cuadrupolo puede considerarse como un detector de ionización especial para cromatografía de gases Los compuestos orgánicos entran a la cámara de ionización (fuente de iones) y se ionizan por impacto electrónico (EI) existen otras formas de ionización, que son Ionización Química (CI), Bombardeo con átomos rápidos (FAB) y Ionización por Campo (FI), pero el impacto electrónico es el más común y además es la forma de operación del Cromatógrafo de Gases GCD Modelo G1800 A de la marca Hewlett Packard disponible para esta investigación En la figura 3 se muestra un esquema de un espectrómetro de masas de cuadrupolo.

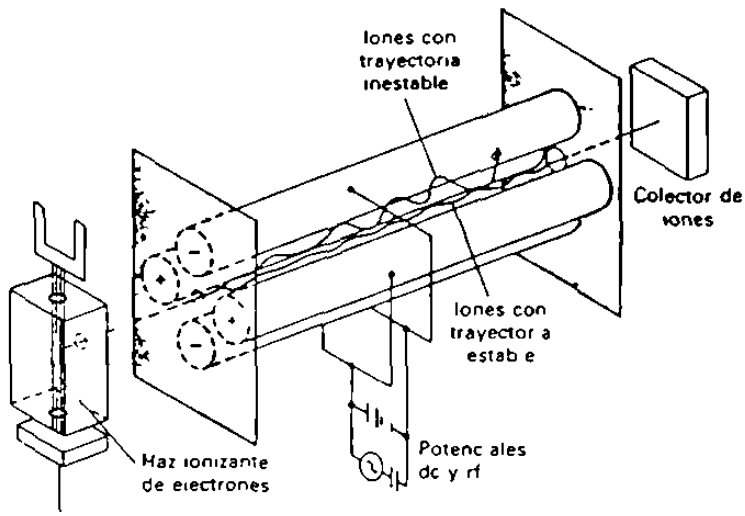


Figura 3 Esquema de un espectrometro de masas de cuadrupolo

En ionizacion por impacto electron co las mo eculas se bombardean con electrones de 70 eV em tidos de un fi amento de rhenio o tungsteno Se forma

un ion molecular ($M^{+\circ}$) con suficiente cantidad de energía acumulada para disociarse en iones fragmento típicos radicales y especies neutras

El cuadrupolo tradicional consiste de 4 barras paralelas y conductoras Los pares de barras tienen un sobrepotencial positivo y negativo, que se colocan en forma diagonalmente opuesta en terminos de voltaje de corriente directa dc, un par de barras es positivo y el otro par es negativo La amplitud del campo eléctrico determina qué fragmentos alcanzan el detector del espectrómetro o colector de iones

La operación apropiada del filtro de masas depende de la relación precisa entre la radiofrecuencia (RF) y el voltaje (DC) y de sus magnitudes.

Los filtros o analizadores de masas se clasifican en

- Radiofrecuencia (incluye filtro de cuadrupolo y de trampa iónica)
- TOF o Tiempo de vuelo
- FTMS o Transformada de Fourier
- Sector Magnético

Los iones que atravesaron el cuadrupolo, llegan al colector o detector del espectrómetro y generan una señal eléctrica que se traduce en un espectro de masas. Existen varios tipos de colectores de iones o detectores del espectrómetro que son·

- Multiplicador de electrones
- Dinodo de alta energía
- Multiplicador electrónico de canales
- Dinolito

El colector de iones o detector del espectrómetro de masas (que es el detector del cromatógrafo de gases) empleado en esta tesis es el multiplicador de electrones, que es el más utilizado.

3.2.9 Espectro de Masas

Se obtiene un espectro de masas, que consiste en una serie de líneas que representan la relación masa a carga (m/z) del ion molecular y de los iones fragmento producidos (en la abscisa) que se grafican contra su abundancia (en la ordenada)

3.2.10 Modos de Operación del Espectrómetro de Masas

El espectrómetro de masas puede operar de 2 modos full scan y SIM
El modo "full scan se usa para identificar compuestos de sus patrones de identificación, o sea, es útil para análisis cualitativo.

El modo "sim" (selected ion monitoring) o monitoreo selectivo de iones se usa para cuantificar compuestos con alto grado de selectividad y sensitividad. Se detectan picogramos. Una característica interesante del modo SIM es que los estándares internos pueden ser compuestos con propiedades químicas, físicas y cromatográficas similares a los compuestos a cuantificar Por ejemplo, en el caso de los PAHs los mejores estándares internos son PAHs deuterados

En la figura 4 se muestra un esquema del sistema CGC/MS

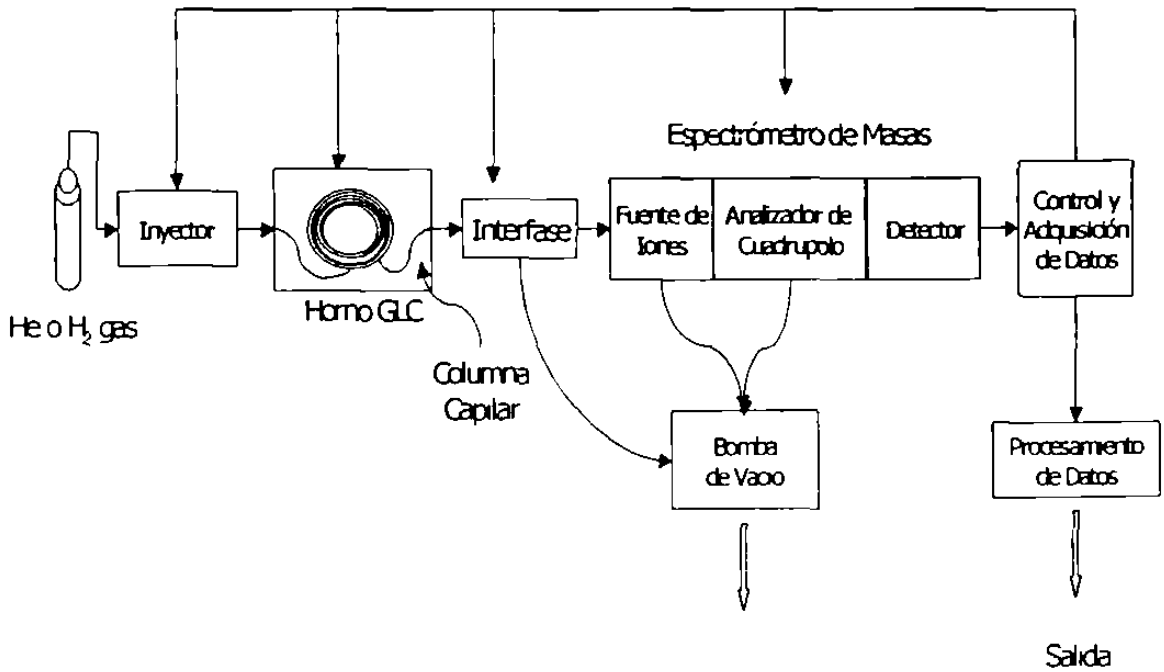


Figura 4 Esquema del sistema CGC/MS

CAPÍTULO 4

METODOLOGÍA

4.1 Procedimiento de Extracción de los PAHs

Se seleccionó la técnica de extracción en fase sólida (SPE). Se hicieron pruebas en su modalidad de discos C_{18} y también en tubos SPE

Se eligió la extracción en fase sólida (SPE) porque es una alternativa más cómoda, barata y rapida que la extracción líquido-líquido, que es la técnica tradicional para extraer analitos orgánicos de muestras para análisis; la ventaja que presenta es que reduce significativamente el volumen de solventes orgánicos clorados empleados para la preparación de muestras.

La SPE consiste en pasar los analitos, estándares internos y surrogados contenidos en un litro de agua a través de un disco o un tubo con relleno de sílice, en los cuales quedan retenidos los PAHs Después se eluyen los compuestos de interés con un solvente orgánico adecuado, en este caso se usó cloruro de metileno

Los mecanismos de interacción de la matriz, los analitos y el relleno del tubo son similares a los usados en cromatografía líquida, es decir, actúan por: adsorción, partición, intercambio o exclusión

Los discos empleados tienen una matriz de fibra de vidrio porosa, que contiene sílice de superficie modificada (C_{18} ligado a sílice), se usan para extraer contaminantes orgánicos presentes en grandes volúmenes de agua (1 litro o más) La matriz de fibra de vidrio permite una alta velocidad de flujo y mínima obstrucción por partículas

Se seleccionó C_{18} porque hay estudios en HPLC que muestran que la retencion y la selectividad para la separación de los PAHs en fases alquilo se incrementa al aumentar la longitud de la cadena de la fase estacionaria (Sander, 1987, Jinno 1983)

Se ha demostrado que las fases C_{18} quimicamente enlazadas proveen excelente selectividad para la separación de PAHs (Wise 1981)

Además se publ co una investigacion donde se compara la selectividad para la extracción de alquilbencenos y PAHs en 4 tipos de fibras SPME de capa porosa, donde las fases enlazadas a silice son octil fenil octodecil (C_{18}) monomérico y octadecil (C_{18}) polimérico y de los cuatro el que mostró mayor selectividad fue el C_{18} polimerico (Yu Liu, 1997)

En este procedimiento de extracción el mecanismo de interacción es partición, se considera similar a un sistema HPLC en fase reversa donde la fase móvil es polar (H_2O) y la fase estacionaria es no polar en este caso la fase estacionaria es la fase ligada C_{18}

La figura 5 muestra un esquema del sistema de extracción SPE en tubo y la figura 6 el sistema de extracción SPE en disco

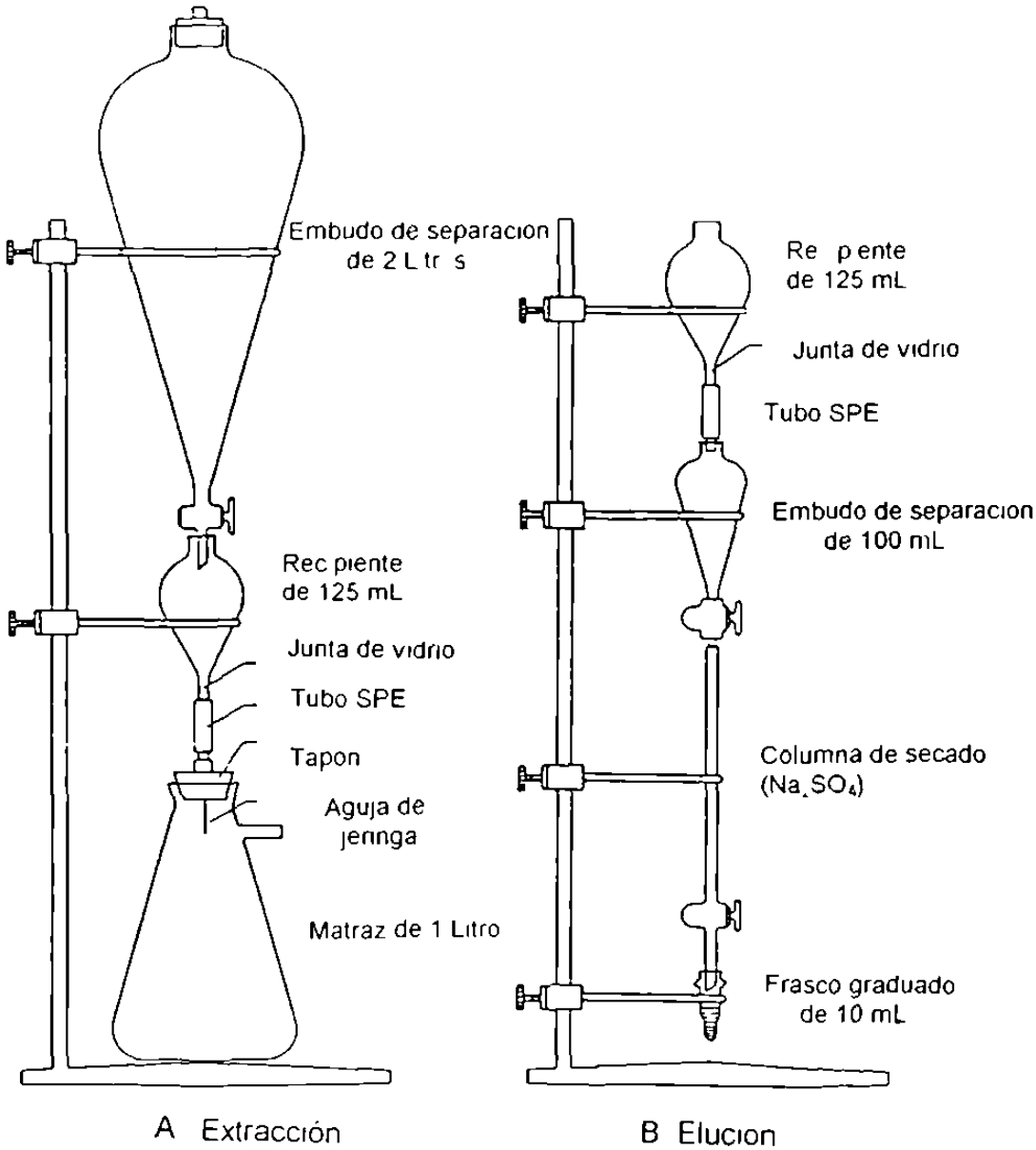


Figura 5 Sistema de Extracc on SPE en tubo
A Extraccion B Elucion

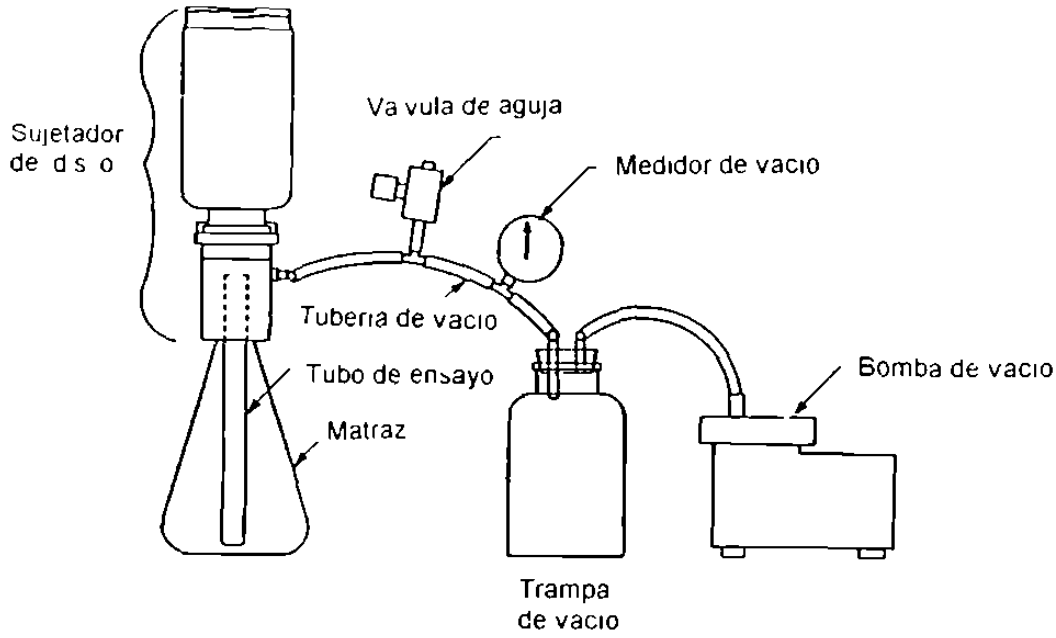


Figura 6 Sistema de Extracción SPE en disco

4.2 Procedimiento para la Concentración de PAHs

Los compuestos orgán cos se eluyen del disco con un pequeño volumen de solvente (cloruro de meti eno) y se concentran con un equipo micro Kuderna – Danish mediante evaporac ón del solvente en una campana de extraccion

El Kuderna-Danish fue desarrollado para concentrar materiales disueltos en solventes volatiles y tiene amp a aplicación en análisis ambientales Los solventes tipicos son cloruro de met leno y hexano El equipo consiste en un matraz un condensador y un recipiente receptor que se coloca sobre un baño de agua ca ente el so vente se e mina por evaporacion y los analitos se concentran en la parte nferior del receptor que tiene una escala graduada para medir los vo umenes que puede contener En la f gura 7 se muestra el micro Kuderna Dan sh

Figura 7 Micro Kuderna-Danish.

4.3 Capacitación en la Técnica Analítica a Utilizar

Se procedio al aprendizaje teórico con 2 programas (a y b) y práctico (c)

a) GCD System Tutorial (2 discos compactos)
b) MS Fundamental Tutorial (2 discos compactos)
c) Entrenamiento en INDEQUIM

4.4 Determinación de las Condiciones Óptimas para el Análisis por Cromatografía de Gases/Espectrometría de Masas (GC-MS)

1 Se prepararon soluciones primarias de cada uno de los 16 PAHs a partir de estandares certificados La tabla 5 muestra la lista de los 16 PAHs, con la cant dad disponible de cada uno de ellos procedencia porcentaje de pureza reportado en el certificado la cantidad que se pesó de cada uno de ellos en balanza ana itica la columna de peso real se refiere al peso corregido segun su pureza e volumen al que se aforo el solvente empleado para cada analito y a concentracion obtenida para cada una de las 16 so uciones pr mar as

Tabla 5 Preparacion de Soluciones Primarias PAHs

Analito	Nombre	Dispon ble, gramos	Marca y lote SUPELCO, LA-	%Pureza	Cant dad Pesada	Peso Real	Aforación, mL	Solvente	Concentrac ón mg/L
1	Acenafteno	5.000	62709	99 0	0 2584	0.25582	25	CH_2Cl_2	10232 84
2	Antraceno	5 000	58199	99.0	0.2533	0.25077	25	CH_2Cl_2	10030 88
3	Fluoranteno	5 000	65610	98 5	0 2502	0 24645	25	Metanol	9857 88
4	Naftaleno	5 000	48656	99 0	0 2507	0.24819	25	Metanol	9927 72
5	Fenantreno	5 000	59039	99 0	0 2518	0 24928	25	Metanol	9971 28
0	Pireno	5 000	51784	97 3	0 2577	0 25074	25	CH_2Cl_2	10029 88
7	F uoreno	5 000	48712	99 0	0 2668	0 26413	25	Metanol	10565 28
8	Acenaft leno	0 100	41708	99.0	0.0502	0 04970	10	Metanol	4969 80
9	Benzo a)antraceno	0 100	40725	99.0	0 0272	0.02693	10	CH_2Cl_2	2692 80
10	Benzo a)pireno	0 100	67065	99 0	0 0525	0 05198	10	Tolueno	5197 50
11	Criseno	0 100	38984	99 0	0 0159	0 01574	10	CH_2Cl_2	1574 10
12	D benzo(a h antraceno	0 100	67402	99 0	0 0143	0 01416	10	CH_2C_2	1415 70
13	Benzo b fluoranteno	0 050	55046	99 0	0 0254	0 02515	5	Acetona	5029 20
14	Benzo(k fluoranteno	0 050	63158	99.0	0.0142	0 01406	5	CH_2Cl_2	2811 80
15	Benzo(gh)perileno	0 025	67401	99 0	0 0100	0 00990	5	To ueno	1980 00
16	Indeno(1,2,3-cd)pireno	0 010	63804	99 C	0 0078	0 00772	5	Acetona	1544 40

· 2 Se preparó una solución secundaria consistente en una mezcla de 16 PAHs La tabla 6 muestra las alícuotas de cada analito empleadas para preparar la mezcla conteniendo los 16 analitos Se expresa la concentración de cada uno de ellos en la solución secundaria

Tabla 6. Preparación de Solución Secundaria (Mezcla PAHs)

Analito	Nombre	Concentración en mg/L	µL de Stock	Concentración en Solución Secundaria, mg/L
1	Acenafteno	10232 64	75	153 49
2	Antraceno	10030 68	75	150 46
3	Fluoranteno	9857 88	75	147 87
4	Naftaleno	9927 72	75	148 92
5	Fenantreno	9971 28	75	149 57
6	Pireno	1029 68	75	150 45
7	Fluoreno	10565 28	75	158 48
8	Acenaftileno	4969 80	150	149 09
9	Benzo(a)antraceno	2692 80	300	161 57
10	Benzo(a)pireno	5197 50	150	155 93
11	Criseno	1574 10	50	157 41
12	Dibenzo(a,h)antraceno	1415 70	550	155 73
13	Benzo(b)fluoranteno	5029 20	150	150 88
14	Benzo(k)fluoranteno	2811 60	250	140 58
15	Benzo(g,h,i)perileno	1980 00	400	158 40
16	Indeno(1,2,3-cd)pireno	1544 40	500	154 44

Se mezclan todas las alícuotas indicadas y se afora a 5 mL con Cloruro de Metileno marca Fisher grado Optima

3 Se preparó la disolución del estandar interno También una mezcla del estándar interno y surrogados que se describe en la tabla 7 La tabla 8 muestra los volúmenes empleados de la mezcla de estándar interno y surrogados y de cloruro de metileno para la preparación de los blancos

Tabla 7 Preparación de la Mezcla de Estándar Interno y Surrogados

Compuesto	Conc Inicial ppm	Volumen µL	Conc Final ppm
Naftaleno d-8	20 000	100	2,000
Nitrobenceno d-5	40,000	100	4,000
2 4,6 Tribromofenol	40 000	100	4,000
CH_2Cl_2		700	

Cuando se añaden 25 µL de esta mezcla a la mezcla de PAHs y se afora a 1 mL con cloruro de metileno (para preparar las soluciones a 5 niveles de concentración para las curvas de calibración) se obtienen concentraciones de 50 ppm para el estándar interno (naftaleno d-8) y 100 ppm para los surrogados (nitrobenceno d-5 y 2,4,6 Tribromofenol

Tabla 8 Preparación del blanco.

Reactivo(s)	Volumen µL
Mezcla Naft d-8, Nitro d-5, 2,4,6 TBF	25
CH_2Cl_2	975

Se obtienen concentraciones de 50 ppm para el estándar interno (naftaleno d-8) y 100 ppm para los surrogados (nitrobenceno d-5 y 2,4,6 tribromofenol)

4. Se efectuaron cálculos para la preparación de los cinco niveles de concentración para la curva de calibracion requerida para la cuantificación En la tabla 9 se muestran los volúmenes empleados de cada uno de los reactivos utilizados para preparar las 15 soluciones para obtener por triplicado las curvas de calibración a los cinco niveles de concentracion para cada analito La tabla 10 muestra los 5 niveles de concentración para cada analito

Tabla 9 Preparacion de las soluciones de calibración

Función	Compuesto	Nivel 1	Nivel 2	Nivel 3	N vel 4	Nivel 5
Estándar Interno	Naftaleno d-8	25 µL	25 µL	25 µL	25 µL	25 µL
Surrogado	Nitrobenceno d-5					
Surrogado	2,4 6 Tribromofenol					
Estándares	Mezcla PAHs	35 µL	70 µL	105 µL	140 µL	175 µL
Solvente	CH_2Cl_2 Aforar a	1 mL	1 mL	1 mL	1 mL	1 mL

Los 25 µL que aparecen en la fila del estándar interno de la tabla 9, corresponden a la mezcla que contiene naftaleno d-8, nitrobenceno d-5 y 2,4,6 tribromofenol, cuya preparación se describe en la tabla 7, es por eso que en la tabla 9 las filas del nitrobenceno d-5 y 2,4 6 tribromofenol aparecen en blanco

Tabla 10. Niveles de concentración para la calibración de PAHs en mg/L.

Analito	Nombre	Nivel 1	Nivel 2	Nivel 3	Nivel 4	Nivel 5
1	Acenafteno	5 372	10 744	16.111	121 489	26.861
2	Antraceno	5 266	10.532	15 798	21 064	26 331
3	Fluoranteno	5 175	10 351	15 526	20.702	25 877
4	Naftaleno	5 212	10 424	15 636	20 848	26 060
5	Fenantreno	5 235	10 470	15.705	20 940	26 175
6	Pireno	5 266	10 531	15 797	21 062	26 328
7	Fluoreno	5 547	11 094	16 640	22 187	27 734
8	Acenaftileno	5 218	10 437	15 655	20 873	26 091
9	Benzo(a)antraceno	5 655	11 310	16 965	22 620	28 274
10	Benzo(a)pireno	5 457	10 915	16 372	21 830	27 287
11	Criseno	5 509	11 019	16 528	22 037	27 547
12	Dibenzo(a,h)antraceno	5 450	10 901	16 351	21 802	27 252
13	Benzo(b)fluoranteno	5 281	10 561	15 842	21 123	26 403
14	Benzo(k)fluoranteno	4 920	9 841	14 761	19 681	24 602
15	Benzo(g,h,i)perileno	5 544	11 088	16 632	22 176	27 720
16	Indeno(1 2,3-cd)pireno	5 405	10 811	16 216	21 622	27 027

5 Se preparó la solucion del nivel 1 de concentración, incluye 16 PAHs estándar interno y surrogados Se corrió el cromatograma con un programa de temperatura y un tiempo de corrida de 31 minutos Se corrió también un blanco (incluye estándar interno, surrogados y solvente)

6 Al revisar los datos del cromatograma se concluye que faltó tiempo para que salieran todos los compuestos de la columna

7 Se preparó una solución del nivel 5 de concentración (incluye los 16 PAHs, estándar interno y surrogados) y se corrió el cromatograma con el mismo programa de temperatura anterior, pero dando un tiempo de corrida de 50 minutos Se corrió también un blanco

8. Al revisar los datos del cromatograma se concluye que el programa de temperatura y el tiempo son los adecuados. Se lograron identificar todos los analitos, se estableció el orden de elución en el que aparecen en el cromatograma

9 Se preparó la solución del nivel 3 de concentración (incluye los 16 PAHs, el estándar interno y surrogados) y se corrió su cromatograma con el mismo programa de temperatura anterior y mismo tiempo de corrida Se corrió también un blanco

10 Al revisar los resultados del cromatograma se lograron identificar los 16 analitos, el estándar interno y los surrogados, se determinaron sus tiempos de retención y el orden de elución

11 Se elaboró un reporte de cuantificación para los 19 compuestos

12 Habiendo optimizado el procedimiento de análisis para el cromatógrafo de gases empleado se guardaron las condiciones de los parámetros utilizados en un **método** incluyendo una base de datos para la **cuantificación.**

Cada 24 horas se hace un autoajuste del GC-MS con una inyección interna de PFTBA (perfluorotributilamina) estandar, y cada vez que se va a inyectar una muestra se hace un ajuste fino o verificación de calibración de inyección con un estándar de DFTPP (decafluorotrifenilfosfina)

Ensegu da se incluyen

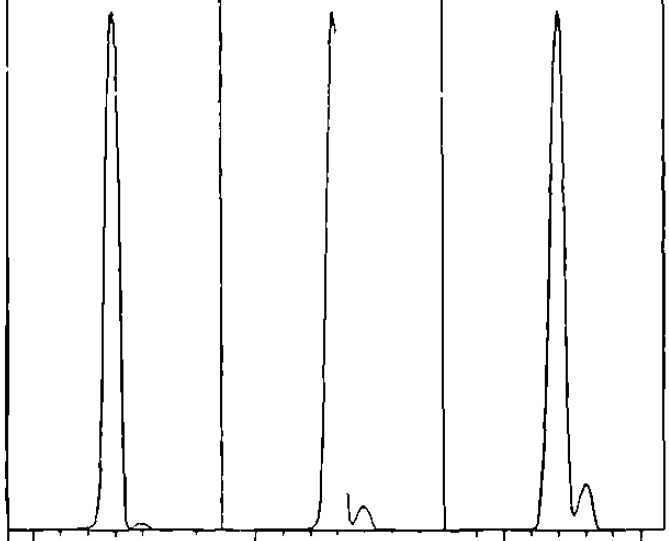
- Reporte de optimización del detector con inyeccion de PFTBA (Figura 8)
- Reporte de verificación de calibrac ón con DFTPP (Figura 9)

HP GCD Tune Detector Optimization)

Instrument: GCD Plus

Wed Aug 02 06:59:35 2000 C:\HPCHEMP\1\GCD\ATUNE.U

Mass	68.95	Mass	218.90	Mass	414.00
Ab	2212666	Ab	1344410	Ab	96333
Pw50	0.58	Pw50	0.58	Pw50	0.57

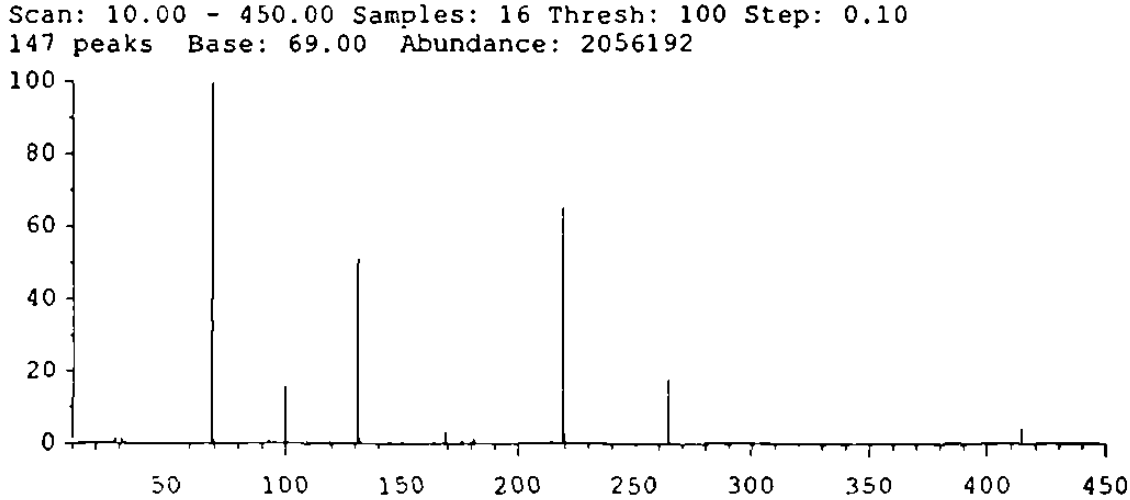


EMVolts	2682	AmuGain	762
Xray	218.0	AmuOffs	70
Emission	ON	Wid219	-0.029
MS Temp	173	TTI	OFF
Vacuum	33	DC Pol	NEG
Samples	16	Repeller	16.54
Averages	1	IonFocus	37.0
StepSize	0.10	EntLens	11.55
MassGain	519	EntOffs	16.31
MassOffs	0	Filament	1

PFTBA OPEN

Scan: 10.00 - 450.00 Samples: 16 Thresh: 100 Step: 0.10

147 peaks Base: 69.00 Abundance: 2056192



Mass	Abund	Rel Abund	Iso Mass	Iso Abund	Iso Ratio
69.00	2056192	100.00	70.00	24632	1.20
218.95	1351680	65.74	22 .00	63264	4.68
414.00	9 016	4.38	415.00	7759	8.62

Store this page in the lab notebook to have a history of the instrument.

F gura 8 A Reporte de optimizac on del detector con PFTBA

System Verifi ation - Tune Detect r ptimization) Portion

Instrument Name	: GCD Plus
DC Polarity	: Negative
Filament	: 1
Time since last pumpdown	: 5.7 days
Calibration vial last refilled	: Unknown

If the level of PFTBA in the calibration vial is too low, system verification may fail.

Column Phase	: HP-5
Inlet Temperature SetPoint	: 250
Inlet Temperature Actual	: 250

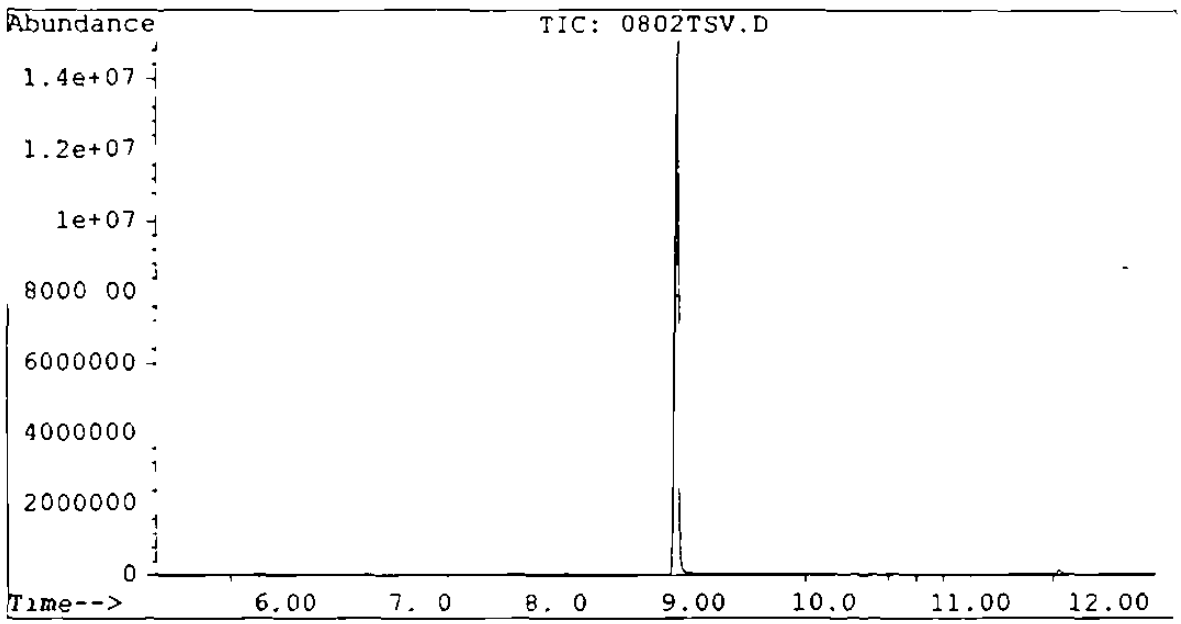
BasePeak should be 69 and it is	69.00	Ok
Position of mass 69	69.00	Ok
Position of mass 219	218.95	Ok
Position of mass 414	414.00	Ok
Position of isotope mass 70	70.00	Ok
Position of isotope mass 220	220.00	Ok
Position of isotope mass 415	415.00	Ok
Ratio of mass 70 to mass 69(0.5 - 1.6%)	1.21	Ok
Ratio of mass 220 to mass 219(3.2 - 5.4%	4.66	Ok
Ratio of mass 415 to mass 414(6.8 - 11.2%)	8.93	Ok
Ratio of 219 to 69 should be > 15% and is	66.36	Ok
Ratio of 414 to 69 should be > 0.2% and is	4.35	Ok
Mass 69 Precursor (<= 3%)	0.24	Ok
Mass 219 Precursor (<= 6%)	0.55	Ok
Mass 414 Precursor (<= 12%)	1.12	Ok
Testing for a leak in the system		
Ratio of 18 to 69 (<20%)	0.46	Ok
Ratio of 28 to 69 (<10%)	1.75	Ok
Electron Multiplier Voltage	2682	Ok

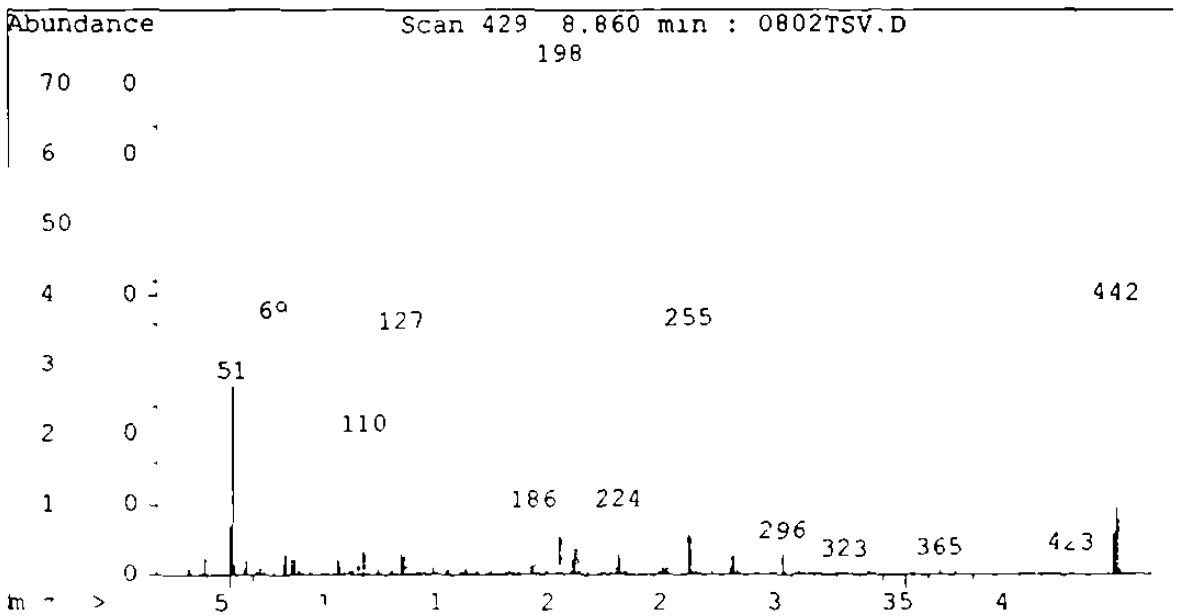
Tune portion of System Verification passed.

System Verification for GCD Plus Wed Aug 02 7: 2:42 2 00 Pag1

F gura 8 B Reporte de optim za n de dete t r n PFTBA

File : F: SV JUL 8 2.SV.D
perator : Nora E Diaz
Acquired : 2 Aug 1 0 12: 9 pm using AcqMeth d DFTP0722
Instrument : GCD Plu
Sample Name: TUNE DFTPP 1 ppm, 2 AG STO-200 .
Misc Inf : INY 1 µL.
Vial Number: 1





F gura 9 A Reporte de ver f cacion de la ca ibrac ón con DFTPP

DFTPP

Data File : F:\SV JUL 08 2TSV.D
A q Time : 2 Aug 1 12:09 pm
Sample : TUNE DFTPP 100 ppm, 02-AGOSTO-2000.
Misc : INY 1 µL.

Operator: Nora E Diaz
In t : GCD Plus
Mu.tiplr: 1.00

Method : F:\METODOS\SEMIVL~1\Q 801PAC.M
Title :

Scan Number 429

Target Mass	Rel. to Mass	Lower Limit%	Upper Limit%	Rel. Abn%	Raw Abn	Result Pa s Fail
51	198	30	60	35.2	269 5c	PASS
68	69	0	2	0.0	0	PASS
69	198	0	100	46.6	355648	PASS
70	69	0	2	0.5	1632	PASS
127	198	40	60	44.4	338688	PASS
197	198	0	1	0.0	0	PASS
198	198	100	100	100.0	763328	PASS
199	198	5	9	7.0	5317c	PASS
275	198	10	30	21.1	161216	PASS
365	198	1	1 0	2.1	16364	PASS
441	443	0	100	73.0	569 4	PASS
442	198	40	100	49.9	380544	PASS
443	442	17	23	20.5	77960	PASS

0802TSV.D Q0801PAC.M Thu Aug 03 15:18:41 2000

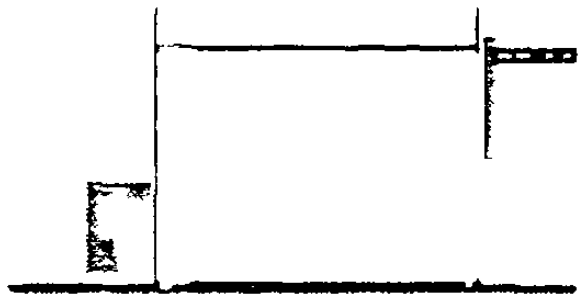
Figura 9 B Reporte de ver ficacion de la ca brac on con DFTPP

La tab a 11 muestra as cond c ones de operac on opt mas para e ana s s de PAHs med ante CGC MS nc uye e t po de co umna emp eada e programa de temperatura e t empo de corr da gas acarreador ut zado y su ve oc dad de f ujo e v umen de nyecc on y e rango de masas

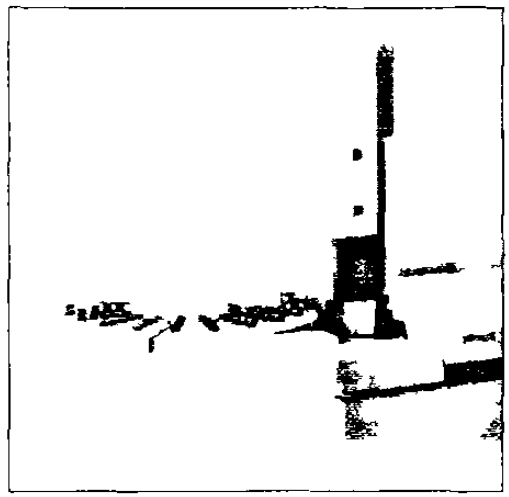
Tab a 11 C nd c ones de Operac on de Cromatografo de Gases Espectrometro de Masas

Cromatografo de gases	HP G1800A
Automuestreador	HP 6890
Detector	Espectrometro de Masas
Co umna	Supe co PTE 5 po 5 d fen 95 d met s oxano 30 m x 0 25 mm D I X 0 25 µm f m
Programa temp	*40 C-4 m n rampa 10 C/m n hasta 300 C*
T empo de corr da	35 m n
Gas	He 1 m m n
Vo umen de nyecc on	1 µL sp t ess
Rango de masas	3 *450 m z*
So vent de ay	6 0 m n
Modo	Scan

La f gura 10 muestra una fotograf a de Cromatografo de Gases emp eado en a tes s y a f gura 11 presenta una fotograf a de automuestreador ut zado



F gura 10 Cromatografo de Gases HP G1800 A



F gura 11 Automuestreador HP 6890

4.5 Identificación

Los compuestos que e uyen de a co umna se ıdentıf can por comparac on de sus espectros de masas y tıempos de retenc on con os espectros y tıempos de retenc on de referenc a de una base de datos Los espectros de masas y t empos de retenc on de referenc a para ana tos se obt enen med ante e uso de estandares de ca brac on bajo las m smas cond cıones emp eadas para as muestras

4.6 Cuantificación

La concentrac on de cada componente dent f cado se m de med ante a te n a de esta dar nterno

Esta tecn ca cons ste en re acıonar a respuesta en e espectro de masas de on de cuant fıcac on produc do por e compuesto ana to con a respuesta en e espectro de masas del on de cuant f cac on produc do por un compuesto que se usa como estandar nterno

Estandar nterno requer do para este metodo ana t co

- Nafta eno d-8

E tanda es surr gados

- N trobenceno d-5 y 2 4 6 Tr bromofeno

4.7 Evaluación del Desempeño del Método Analítico (Validación)

Se considera como evaluación del desempeño de un método analítico el conjunto de parámetros que deben ser determinados para definir su alcance y la calidad de los resultados que pueden ser obtenidos a condiciones operativas de laboratorio.

Consiste en determinar los siguientes parámetros

- Rango de trabajo
- Linealidad
- Precisión
- Límite de detección
- Límite de cuantificación
- Exactitud

Procedimiento para la Validación

Se preparó lo siguiente

- Soluciones primarias de cada uno de los 16 PAHs a partir de estándares certificados (Tabla 5).
- Una solución Secundaria (Mezcla PAHs) (Tabla 6).
- Una mezcla de estandar interno(Naftaleno d-8) y Surrogados (2 4,6 Tribromofenol y nitrobenceno d-5) (Tabla 7)
- Tres blancos de calibración (Tabla 8)
- Por triplicado soluciones de calibración a 5 niveles de concentración (Tabla 9)
- DFTPP 100 ppm para verificar calibración GC/MS

Pruebas preliminares permitieron determinar

- El orden de elución de los 19 componentes de la mezcla
- Los tiempos de retencion
- La identificación en la base de datos
- Se creó un método para la adquisición de datos
- Se creó un método para la cuantificación (En el **Apéndice B** se incluyen los reportes de cuantificacion para cada PAH y en el **Apéndice C** se muestran los espectros de masas para cada analito separado)

Se programó el GC/MS para la corrida de los 18 viales preparados para la obtención de las curvas de calibracion

4.8 Muestras Sintéticas

Las muestras sinteticas se prepararon con agua dest ada grado ASTM Tipo II a la que se añadieron cantidades exactamente medidas de soluciones de concentraciones conocidas de los 16 analitos a cuantificar (estandares PAHs) y cantidades conocidas de estandares surrogados (N trobenceno d-5 y 2,4 6 Tribromofenol) se sometieron a procedimientos de extraccion SPE y concentración en Kuderna-Danish luego se añadió una cant dad conocida del estándar interno (Naftaleno d-8) y se inyectó en el Cromatógrafo de Gases con detector de Espectrometría de Masas

4.9 Muestras Reales

Se tomó una muestra al azar de agua potable de San Nicolas y se le añadió una cantidad conocida de surrogados (Nitrobenceno d-5 y 2 4 6 Tribromofenol), se sometió a los procedimientos de extracción y de concentración, luego se le añadió el estándar interno (Naftaleno d-8) y se analizó por CGC/MS.

CAPÍTULO 5

RESULTADOS

5.1 Resultados Obtenidos

Se obtuvieron los cromatogramas que muestran la separación de los 16 PAHs, los surrogados y el estándar interno. Para la validación instrumental del método cromatográfico se manejaron cinco niveles de concentración por triplicado y tres blancos. En el Apéndice A sólo se han incluido los cromatogramas de las 15 soluciones que contenían la mezcla de los 16 PAHs necesarios para la validación

Se obtuvieron los reportes de cuantificación necesarios para la validación instrumental de las 15 soluciones que contenían los cinco niveles de concentración por triplicado En el Apéndice B se muestran dichos reportes de cuantificación de los PAHs

Se obtuvieron los espectros de masas de cada analito y se compararon con los espectros de la base de datos para la identificación En el Apéndice C se muestran dichos espectros de masas

Se identificaron y cuantificaron los 16 PAHs

Se obtuvieron los datos para las 3 curvas de calibración para cada uno de los 16 analitos. En el Apendice se presentan las curvas de calibración promedio para cada uno de los 16 analitos

Para cada analito se trazó la curva promedio de calibración y se calculó su

- Rango de trabajo
- Linealidad
- Precision (% CV)
- L mite de Deteccion
- Límite de Cuantificación
- Coeficiente de Correlac on

En a tab a 12 se muestran os datos obten dos en as tres co r das cromatograf cas para uno de s 16 ana tos PAHs e benzo k f uoranteno donde se observan os c nco n ve es de concentrac on en donde os n ve es 1 y 5 determ nan e rango de traba o se aprec an tamb en os m tes de detecc on y cuant f cac on a prec s on expresada como coef c ente de var ac on y a nea dad expresada c mo a desv ac on estandar re at va de conjunto de os factores de ca brac on

Tab a 12 Datos obten dos en as tres corr das cromatograf cas para e benzo k f uoranteno

C n entra on mg L DE MUESTRA	Re a de A eas			Va r P medio	C ef ente de Va a n	Fa t de Ca b a
	C r da 1	C da 2	C r da 3			
4 92	0 0571	0 0618	0 546	0 05 8	5 161	0 0118
9 841	0 1112	0 1229	0 1156	0 1166	4 139	0 0118
12 652	0 1351	0 1413	0 1741	0 1502	11 395	0 0119
14 761	0 1883	0 1685	0 1829	0 1799	4 645	0 0122
19 681	0 2386	0 2229	0 2165	0 2260	4 108	0 0115
			C ef De Va a n		5 890	
			L nea dad			1 9112

Repeti ion	Pendiente	O der ada a r gen
1	0 0126	0 0097
2	0 0107	0 0107
3	0 0113	0 0089
Promed o	0 0115	
Desv Estandar		0 0009

Lim te de Dete i n	0 260
L m te de C iant f a on	0 782

Los ´m tes de detecc on y cuant f cac on se expresan en mg L para a muestra concentrada pero en a muestra or g na corresponden a µg L cons derando que un tro de agua muestra se concentra a un mL

En a f gura 12 se muestra a curva de a brac on para e benzo k f uoranteno donde se nc uye e coef c ente de corre ac on obten do

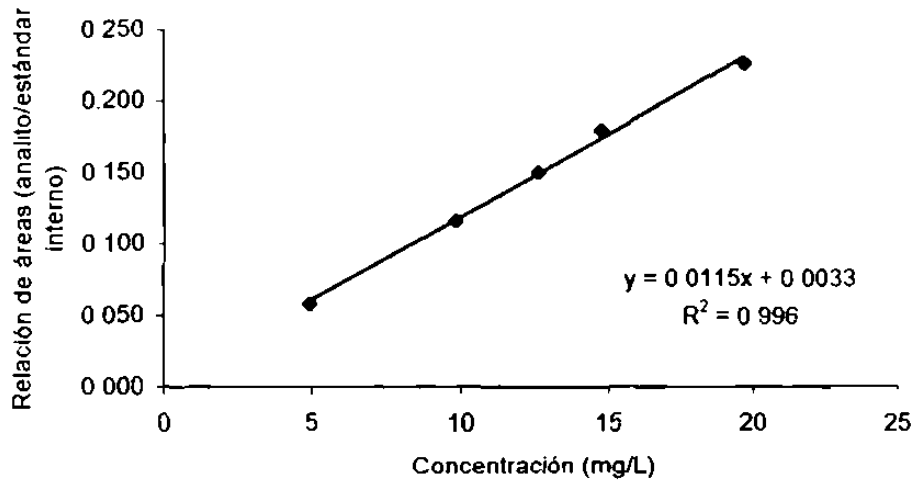


Figura 12. Curva de Calibración del Benzo(k)fluoranteno.

En este capítulo sólo se han mostrado los datos obtenidos para uno de los 16 PAHs, el benzo(k)fluoranteno, para ampliar la información, en el Apéndice D se incluyen las curvas de calibración y datos correspondientes para cada uno de los 16 PAHs objetos de estudio en esta tesis

En la Tabla 13 se resumen los resultados de la Validación Instrumental para el análisis cromatográfico de los 16 PAHs. En ella se incluyen para cada uno de los 16 analitos, los valores de. rango de trabajo, linealidad, precisión, límite de detección, límite de cuantificación y coeficiente de correlación. Después se discuten los resultados presentados en dicha tabla Se puede anticipar que la validación fue satisfactoria Las conclusiones se mencionan en el capítulo correspondiente.

En la Tabla 14 se muestra un resumen de los resultados obtenidos en el tratamiento de las muestras sometidas a extracción y concentración, donde se señalan los porcentajes de recuperación de los surrogados utilizados Después de la tabla se discuten los resultados presentados en ella y las conclusiones se presentan precisamente en el capítulo de conclusiones y recomendaciones

Tabla 13 Resultados de la Validación Instrumental para los 16 PAHs.

Compuesto	Analito	Rango de Trabajo mg/L	Linealidad	Precisión %CV	Límite de Detección mg/L	Límite de Cuantificación mg/L	Coeficiente de Correlacion
1	Naftaleno	5 212-26.060	8.19	1.10	0.357	1 07	0 9830
2	Acenaft leno	5 218-26 091	6.47	1.20	0 305	0 91	0 9764
3	Acenafteno	5 372-26 861	7.51	1.10	0.849	2 55	0 9760
4	Fluoreno	5 547-27 734	7.38	1.22	0.676	2 03	0 9715
5	Fenantreno	5 235-26 175	7.23	1.17	0 641	1 93	0 9712
6	Antraceno	5 266-26 331	7 99	1 27	0 842	2 53	0 9686
7	F uoranteno	5 175-25 877	7 49	1.45	1.083	3 25	0 9671
8	Pireno	5 266-26 328	7.98	1.57	1 285	3 86	0 9616
9	Benzo(a)antraceno	5 655-28 274	6 64	2.24	1.455	4 37	0 9692
10	Criseno	5 509-27 547	7.10	2.56	1.823	5 47	0 9627
11	Benzo(b)f uoranteno	5 281-26 403	7 64	4.96	1.655	4.97	0 9680
12	Benzo(k)f uoranteno	4 920-19 681	1.91	5.89	0 260	0 78	0 9960
13	Benzo a pireno	10 915-27 287	6 12	6 06	3 459	10 39	0 9462
14	Indeno(1 2 3-cd pireno	10 811-27 027	5 54	11 18	1 794	5 39	0 9555
15	D benzo(a,h)antraceno	5 450-27 252	8 24	8 74	0 880	2 64	0 9709
16	Benzo(g h i)per leno	5 544-27 720	8 54	8 14	1 088	3 27	0 9639

5.2 Discusión de Resultados presentados en la tabla 13

Los rangos de trabajo se establecen de manera individual para los 16 analitos y los valores obtenidos se muestran en la tabla 13, por ejemplo para el naftaleno el rango de trabajo es de 5 212 a 26 060 mg/L, en general se puede decir que los rangos de trabajo para los 16 analitos oscilan entre 5 y 25 mg/L

Se asume linealidad cuando la desviación estándar relativa del conjunto de los FC en el rango de trabajo es menor de 20 %, según los criterios de aceptación establecidos por la US EPA Para nuestra validación, en todos los casos se cumple la condición de linealidad. El mínimo valor obtenido fue de1 91 para el benzo(k)fluoranteno y el máximo valor obtenido fue de 8 54 para el benzo(g,h,i)perileno

La Precisión expresada como % CV debe ser menor que 15 % De acuerdo a este criterio de aceptación en nuestra validación en todos los analitos se cumple dicha condición, ya que se obtuvieron valores de 1 10 % CV para el naftaleno y el acenafteno, que fueron los más bajos, y el más alto fue para el Indeno(1,2,3-cd)pireno con 11.18 % CV

El Límite de Cuantificación debe ser menor que el nivel 1 de la curva de calibración. En todos los casos (16 PAHs) se cumple

En la tabla 14 se muestra un resumen de los resultados obtenidos en el tratamiento de muestras sometidas a extracción y concentración, donde se señalan los porcentajes de recuperación de los surrogados utilizados Luego se presenta una discusión de los resultados

Tabla 14. Resumen de resultados del tratamiento de muestras. (% de recuperacion de surrogados)

Tipo SPE	Muestra	Fecha de Extracción	Fecha de corrida	% Recup Nitro d-5	%Recup 2,4,6TBF	PAHs µg/L	pH
Disco	Blanco	02/09/00	05/09/00	1.09	72 14	N D.	2 (HCl)
Disco	Std N-5	02/09/00	05/09/00	0 09	65 50	0 83-2.96	2 (HCl)
Disco	Std N-5	21/09/00	22/09/00	0 31	28 89	2 63-22 31	5
Disco	Std N-5	21/09/00	22/09/00	1 60	66 33	0 81-18 01	5
Tubo	Std N-5	21/09/00	22/09/00	18 06	106 53	11 84-36 30	5
Disco	Std N-5	28/09/00	24/10/00	0 61	16 15	2 41-8 85	7
Disco	Real	18/10/00	24/10/00	2.55	6 67	N.D.	7

5.3 Discusión de resultados presentados en la tabla 14

Al carecer de metodología oficial en México se toman como referencia los criterios de aceptación establecidos por la EPA Para los surrogados son valores de 30 a 120 % de recuperacion los que deben obtenerse para que se considere validado el método en cuanto al tratamiento de la muestra, segun ese organismo se deben obtener 7 veces recuperaciones comprendidas entre esos niveles, en el proyecto de tesis original se planeaba hacer extracciones solamente con discos pero se consiguió un tubo SPE C_{18} para comparar la eficiencia de la extracción

Como se aprecia en la tabla 14 la recuperación para el 2 4,6 Tribromofenol fue aceptable cuando se trató un blanco en disco SPE, así mismo fueron aceptables las recuperaciones obtenidas con estandares nivel 5 en dos ocasiones con disco SPE y una ocasion en tubo SPE Las recuperaciones de Nitrobenceno d-5 en ningún caso fueron aceptables

La columna que dice PAHs se refiere a los niveles mínimo y máximo de concentración en microgramos/litro que se encuentran en el reporte de cuantificación de los 16 PAHs, esos valores sólo incluyen a 2 de los 16 PAHs que son precisamente los analitos para los cuales se obtuvieron la mayor y la menor eficiencia de extracción, para el informe completo debera remitirse el lector al Apéndice E, que muestra los resultados del tratamiento de muestras, incluye el cromatograma y el reporte de cuantificación para cada una de las muestras sometidas al tratamiento completo

Se trabajó con un blanco, 5 estándares nivel 5 de concentración como se muestra en la tabla 10 de cada uno de los PAHs, y una muestra real

En la tabla 14 también se incluye el valor de pH de cada muestra antes de efectuar la extracción. Se pretende correlacionar la eficiencia de la extracción con el pH, pero el número de datos es insuficiente para llegar a conclusiones.

CAPÍTULO 6

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

Con varias corridas de prueba (preliminares) se lograron determinar las condiciones óptimas para el analisis por CGC/MS.

Se logró mejorar el tiempo de análisis para PAHs reportado hasta el momento por Cromatografía de Gases, ya que una publicación reciente (06/09/00) de la compañía Alltech separa a los 16 compuestos en 54 minutos y a temperatura programada, pero usa un detector de ionización de flama . En este estudio también se trabajó a temperatura programada, pero con un detector de espectrometría de masas y se logró la separación en 35 minutos, el analito número 16 tiene un tiempo de retención inferior a 33 minutos.

La evaluación del desempeño inicial del método analítico propuesto (Validación Instrumental) permitió validarlo satisfactoriamente, ya que se determinaron para cada PAH su rango de trabajo, sus límites de detección y cuantificación, su precisión y linealidad dentro de los criterios de aceptación establecidos por la EPA.

Los rangos de trabajo que se manejaron para las curvas de calibración de los 16 analitos se establecen en mg/L (ppm) pero con el procedimiento de tratamiento de muestra, donde un litro se concentra a un mililitro, es posible cuantificar muestras con niveles de concentración en general de 5 a 25 µg/L (0.005 a 0.025 mg/L), para valores exactos de compuestos PAHs particulares consultar la tabla 13 de resultados de la validación instrumental

Ésto permite cuantificar concentraciones inferiores a las que marca la CNA para el acenafteno (0 02 mg/L) y fluoranteno (0 04 mg/L)

Por todo lo anterior, proponemos el método analítico desarrollado en este trabajo para la etapa de medicion instrumental de PAHs en agua potable

Se alcanzó el objetivo general al optimizar la etapa de medición instrumental para cuantificar PAHs en agua potable mediante CGC/MS (Validación Instrumental), pero la etapa de preparación de muestra que incluye extracción y concentración de los PAHs no fue posible el optimizarlo en forma completa (Validación Metodológica del tratamiento de muestra)

Se eligió un procedimiento de extracción moderno (SPE en disco o tubo) que ofrece como ventaja que no consume mucho solvente (como la extracción

líquido-líquido) y por lo mismo genera menos residuos de laboratorio y ésto reduce la contaminación

Se seleccionó un procedimiento de concentración de muestra recomendado por la EPA en algunos de sus métodos para compuestos orgánicos. Éste fue el uso de un equipo micro Kuderna-Danish

En cuanto al tratamiento de la muestra y haciendo referencia a la discusión de resultados de la tabla 14, se recomienda hacer más pruebas de extracción en tubo SPE y en disco SPE para poder tener un número significativo de datos, compararlos y poder llegar a una conclusión de si es mejor extraer en tubo SPE o en disco SPE, además de lograr la validación del tratamiento de muestra. Se propone esta validación como un nuevo tema de tesis para maestría o licenciatura

Para poder generar una metodología analítica completa es indispensable incluir tanto el tratamiento de muestra como las condiciones de medición. Debido a que los resultados obtenidos no incluyen la validación del tratamiento de muestra, no es posible aún generar una metodología completa, por lo que sólo se incluyen las condiciones de operación del CGC/MS y un procedimiento general para el tratamiento de muestra y análisis de PAHs en agua potable

En forma resumida se presentan en seguida las condiciones de operación del CGC/MS presentadas anteriormente en la tabla 11 y en la figura 13 se muestra el procedimiento general que se propone en esta tesis para el análisis de Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos en Agua Potable

Tabla 11 Condiciones de Operación del CGC/MS

Cromatógrafo de gases	HP G1800A
Automuestreador	HP 6890
Detector	Espectrómetro de Masas
Columna	Supelco PTE-5, poli 5% difenil/95 % dimetilsioloxano 30 m x 0 25 mm D I X 0 25 µm film
Programa temp	40°C-4 min, rampa 10°C/min hasta 300 C
Tiempo de corrida	35 min
Gas	He 1 ml/min
Volumen de inyección	1 µL splitless
Rango de masas	30-450 m/z
Solvent delay	6 0 min
Modo	Scan

En seguida se muestra un esquema de diagrama de bloques que representa el **Procedimiento General** para el tratamiento de muestra y análisis de PAHs

Procedimiento General

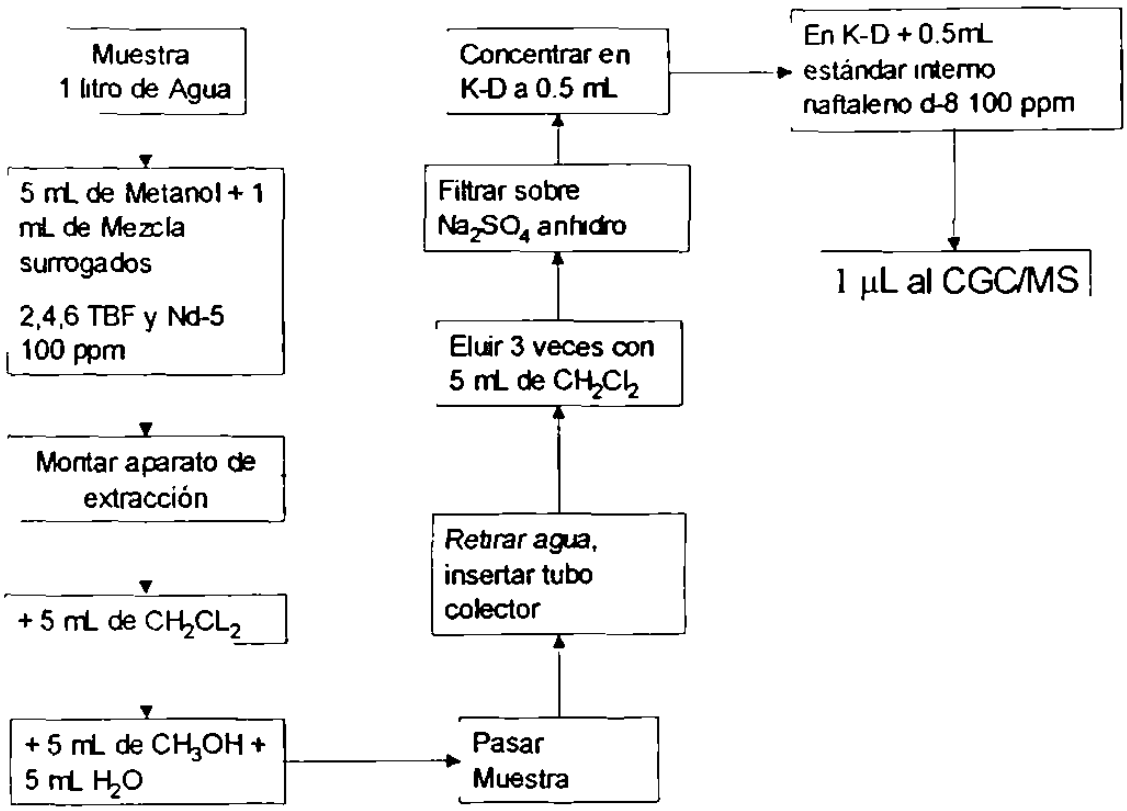


Figura 13. Procedimiento General

REFERENCIAS

Albagli, A , Oja, H & Dubois, L Size-distribution Pattern of PAHs in Airborne Particulates Environ Lett 6,241-51 1974.

Baum, E. J. Ocurrence and Surveillance of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons Polycyclic Hydrocarbons and Cancer, Vol I., eds H V. Gelboin & P O.P Ts o, pp 45-70 New York: Academic Press 1978.

Botello A.V., González C. and Díaz G Pollution by Petroleum Hydrocarbons in Sediments from Continental Shelf on Tabasco State, Mexico, Bull Environ Contam Toxicol 47: 565-571 1991

Bush , F. W , Seid, D. A & Wei, E.T. Mutagenic Activity of Marihuana Smoke Condensates. Cancer Lett. 6 319-24. 1979.

Clement R.E , Eiceman G A , Koester, C J Analytical Chemistry, Application Reviews, Vol 67, No. 12, 221R-255R, June 15, 1995

Clement R.E , Yang P W , Analytical Chemistry, Application Reviews, Vol. 69. No. 12, 251R-287R, June 15, 1997

Clement R E., Yang P.W., Analytical Chemistry, Application Reviews, Vol 71, No 12, 275R-292R. June 15, 1999

Comisión Nacional del Agua Gerencia de Recaudación y Control Ley Federal de Derechos en Materia de Agua México, Febrero, 1988

David F., Sandra P , Stafford S.S , Slavica B Analysis of Polynuclear Aromatic Hydrocarbons using Pressure Pulsed Splitless Injection. Application Note 228-224 Environmental Analysis March 1993, Hewlett Packard

Diario Oficial de la Federación, 18-08-97 Primera Sección p 46 SEMARNAP, México. 1997

Diario *Oficial de la Federación*, *Norma Oficial Mexicana* NOM –127-SSA1-1994, "Salud Ambiental, agua para uso y consumo humano límites permisibles de calidad y tratamiento a que debe someterse el agua para potabilización' México, 18-01-96

Doherty L , *Analysis of Semi-Volatiles Organics in Drinking Water* EPA Method 525 HP Application Note GC/MS 90-2, 1990

Eichelberger J W , Behymer T D and Budde W L , EPA method 525 Revision 2 1, 1988 US Environmental Protection Agency, Cincinnati, Ohio 45268

EPA Method 610 Test Method Polynuclear Aromatic Hydrocarbons 1982, US Environmental Protection Agency Cincinnati, Ohio, 45628

EPA Method 625, Federal Register Vol. 49 No. 209, 1984, US Environmental Protection Agency, Cincinnati Ohio, 45268

EPA Method 8270 Test Method Analysis of Semi-Volatiles Organics , U S. Environmental Protection Agency, Cincinnati, Ohio, 45628 1996.

EPA Method 8310 Test Method Polycyclic Aromatic Hydrocarbons, U S. Environmental Protection Agency, Cincinnati Ohio, 45628 1990

Fowlis Ian A Gas Chromatography Second Edition Analytical Chemistry by Open Learning. John Wiley and Sons New York. 1995.

Grimmer, G. Carcinogenic Hydrocarbons in the Human Environment. Dtsch. Apoth. Ztg 108, 529 1968.

Harvey R.G. Polycyclic Aromatic Hydrocarbons Chemistry and Carcinogenecity, Cambridge Monographs an Cancer Research. Cambridge University Press 1991.

Harvey, R. G. & Dunne, F B. Evidence for Multiple Regions of Activation of Carcinogenic Hydrocarbons Nature (Lond) 273, 566-7. 1978.

Hodgeson J.W., Bashe W J., Baker T V , EPA method 550, 1990. US, Environmental Protection Agency, Cincinnati Ohio, 45268

Hoffmann, D., Schmeltz, I., Hecht, S.S & Wynder, E. L Tobacco Carcinogenesis. Polycyclic Hydrocarbons and Cancer, Vol 1., eds H. V Gelboin & P O P Ts'o, pp. 85-117. New York Academic Press 1978

IARC IARC Monographs on the Evaluation of the Carcinogenic Risk of Chemicals to Humans Polynuclear Aromatic Compounds, Part 1, Chemical, Environmental and Experimental Data vol 32 Lyon, France· Internat Agency Res Cancer 1983

INEGI (Instituto Nacional de Estadística Geografía e Informatica) Dirección General de Estadisticas Demograficas y Sociales Mexico1996 p 37, 38 y 39

Jinno K , Kawasaki, K Chromatographia 1983 17 445-449

Keith Lawrence H Compilation of EPA s Sampling and Analysis Methods Second edition. CRC Press Inc. USA ,1996

Lee M L., Novotny M V and Bartle K D , Analytical Chemistry of Polycyclic Aromatic Compounds Academic Press, N Y USA 1981

Liu Yu, Lee Milton L , Hageman K J , Yang Yu, Hawtorne S B , Solid-Phase Microextraction of PAHs from Aqueous Samples using Fibers Coated with HPLC Chemically Bonded Silica Stationary Phases Analytical Chemistry, Vol. 69, No 24, Dec. 1995, 5001-5005

Loeb, L A , Ernester, V. L , Warner, K, E., Abbotts, J & Laszlo, J. 1984 Smoking and Lung Cancer· An overview Cancer Res 44,5940-58.

McMaster Marvin, McMaster Christopher, GC/MS A Practical Users Guide Wiley-VCH New York. 1998

Miyabe K , Takeuchi S. Effect of Acetonitrile/ Water Mobile-Phase Composition on Adsorption Characteristics of Reversed-Phase Liquid Chromatography Analytical Chemistry, Vol. 69, No 13, July 1, 1997; 2567-2574

Nguyen An-Lac, Luong J H. T Separation and Determination of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons by Solid Phase Microextraction/Cyclodextrin-Modified Capillary Electrophoresis Analytical Chemistry Vol 69, No 9, May 1,1997; 1726-1731.

P.J. Liog, A. Greenberg. Factors Associated with Human Exposures to Polycyclic Aromatic Hydrocarbons Toxicology and Industrial Health, Vol 6, No 2, 1990

Radddinq, S. B., Mill, T , Gould C W , Liu, D H , Johnson H L , Bomberger, D. C & Fojo, C V. The Environmental Fate of Selected Polynuclear Aromatic Hydrocarbons Final Rep , Task Two EPA 560/5-75-009 Washington, DC Envorn Prot Agency, Office of Toxic Substances. 1976

Sander, L C.; Wise, S A Anal Chem 1987, 59, 2309-2313

Schure M R & Natusch, D F S The Effect of Temperature on the Association of POM with Airborne Particles Polynuclear Aromatic Hydrocarbons Physical and Biological Chemistry eds M Cooke A J Dennis & G L Fisher 713- 24 Columbus OH Battelle 1982

Skoog Douglas A Leary James J Anál s s Instrumental 4a edición Ed McGraw Hill España 1994

Snelling R , King D , Belair B Analysis of PAHs in Soils and Sludges using Thermal Extraction- GC_MS Application Note 228 Gas Chromatography June 1993 Hewlett Packard

Soniassy Riezve Sandra Pat Schlett C aus Water Analysis Organic Micropollutants Hewlett Packard Company Germany 1994

Supelco Extraction of Organic Compounds from Water, using ENVI-18 Disk Solid Phase Extraction Disks Application Note 59 1994

Supelco, ENVI 18 SPE Tube Ensures Low Background for Monitoring Organic Compounds in Drinking Water by EPA Method 525 Application Note 65, 1996

Supelco GC Analyses of Polynuclear Aromatic Hydrocarbons Application Note 108, 1996

Supelco. GC and HPLC Analyses of Polynuclear Aromatic Hydrocarbons GC/HPLC Bulletin 773 G 1997

Supelco, GC/HPLC Analyses of Organic Compounds in Drinking water. US EPA Procedures Bulletin 865 B 1996

Supelco, Extract Polynuclear Aromatic Hydrocarbons from Water, using Solid Phase Extraction Disks Application Note 54. 1994.

Trova, C Cossa, G Gandolfo, G PAH in Surface Waters of Alessandria District, South Eastern Piedmont(Italy) Bull Environ Contam Toxicol (1992,49 555-561)

Varian Empore Extraction Disks PAH Extraction from Drinking Water. SPE Chemistries at Work 1995

Voranasi U Metabolism on PAH in the Aquatic Environment CRC Press Inc 1989

Willard H H , Merrit L Jr , Dean J A , Settle F A Jr Métodos Instrumentales de Análisis 7ª Edición Grupo Ed tor al Iberoamérica, S A de C V Mexico D F 1991

Wise S A , Bonnett, W J , Guenther F R J Chromatogr 1985,8 248-253

Wittkamp B L , Hawtorne S B Determinat on of Aromatic Compounds in Water by Solid Phase Microextract on and Ultraviolet Absorption Spectroscopy, Analyt cal Chemistry Vol 69 No 6 March 15 1997 1197-1203

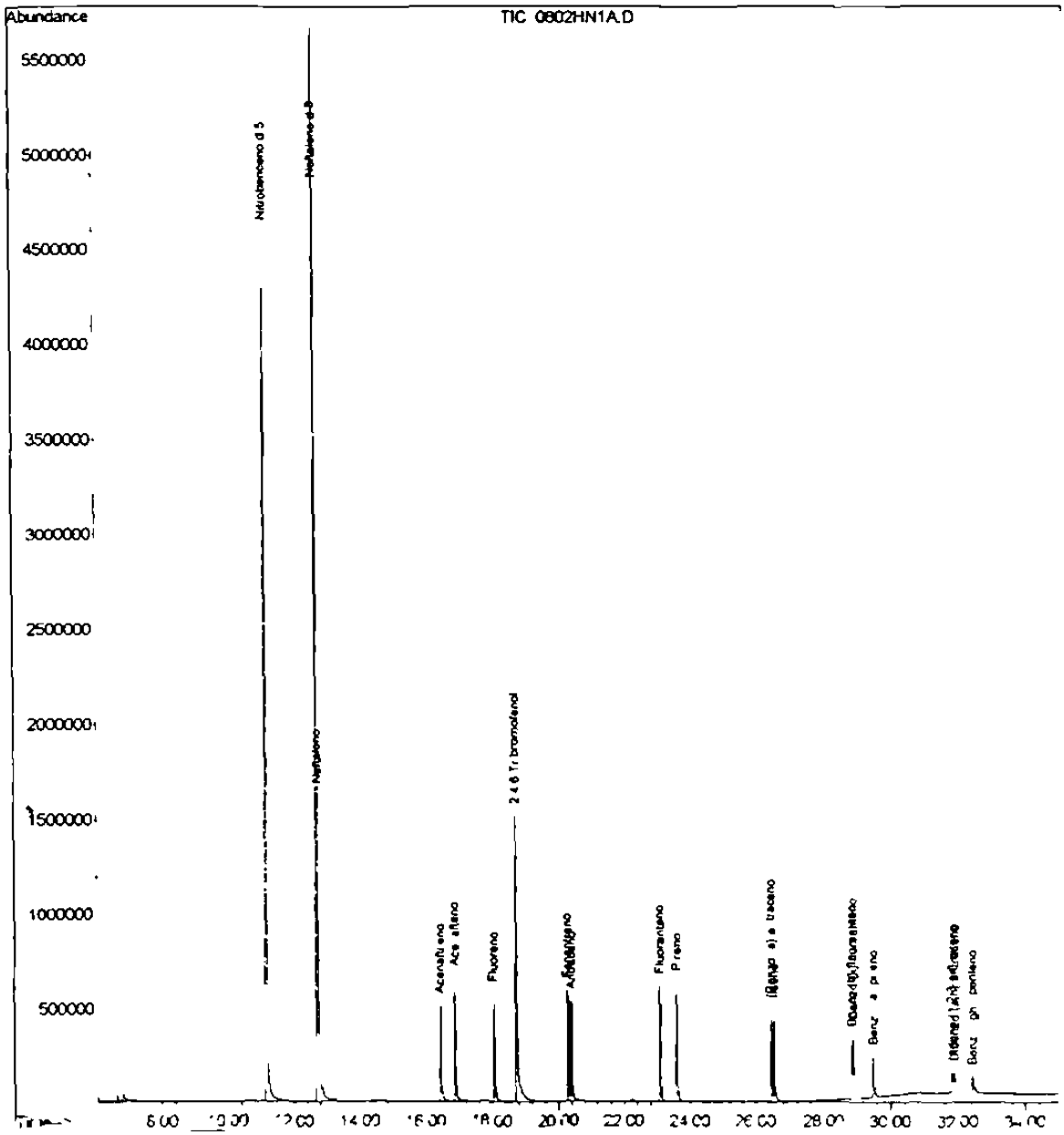
APÉNDICE A

CROMATOGRAMAS

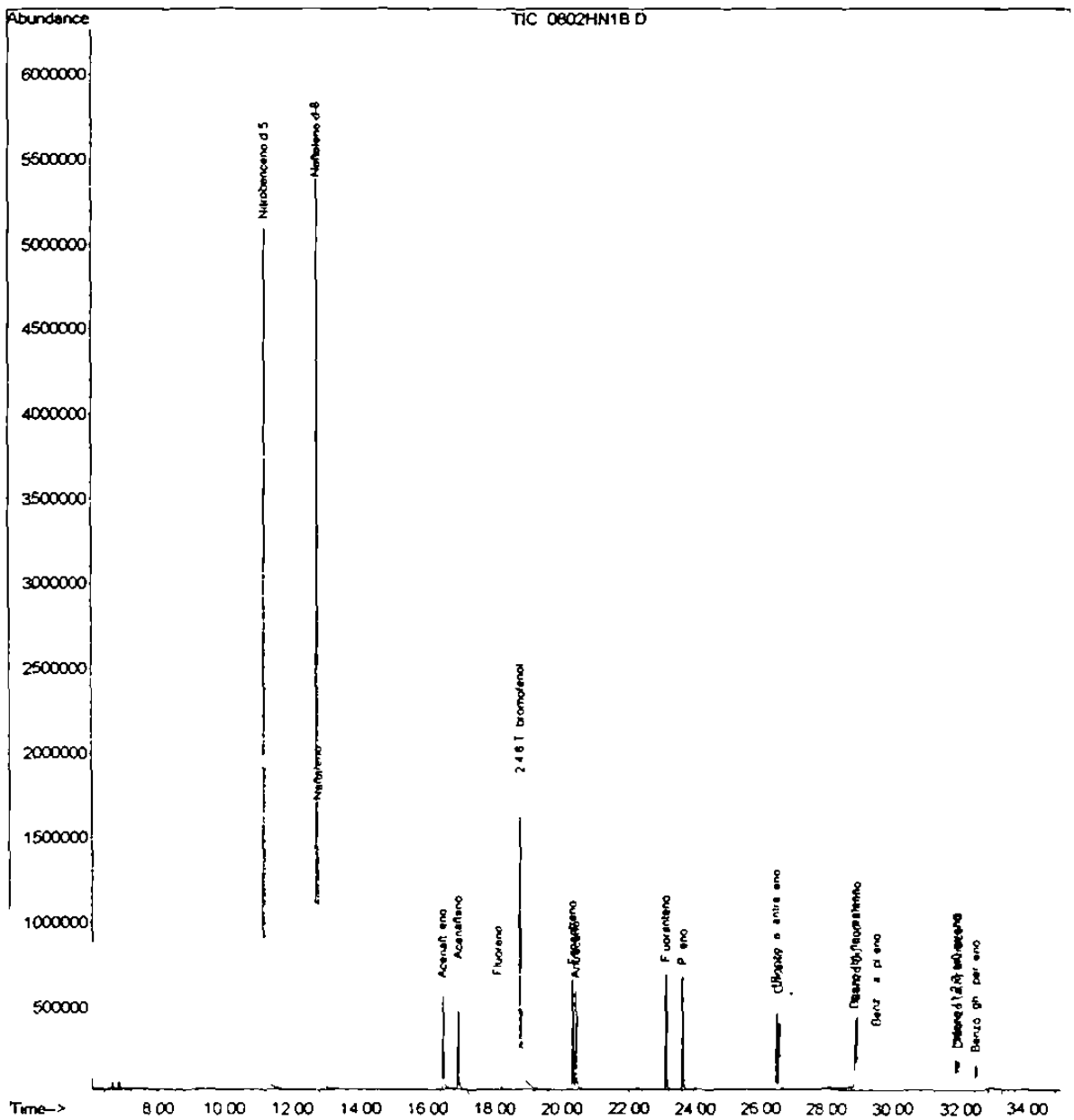
MEZCLA DE ESTÁNDARES DE 16 PAHs

Nivel de concentración	Curva de Calibración	**Página**
1	A	56
1	B	57
1	C	58
2	A	59
2	B	60
2	C	61
3	A	62
3	B	63
3	C	64
4	A	65
4	B	66
4	C	67
5	A	68
5	B	69
5	C	70

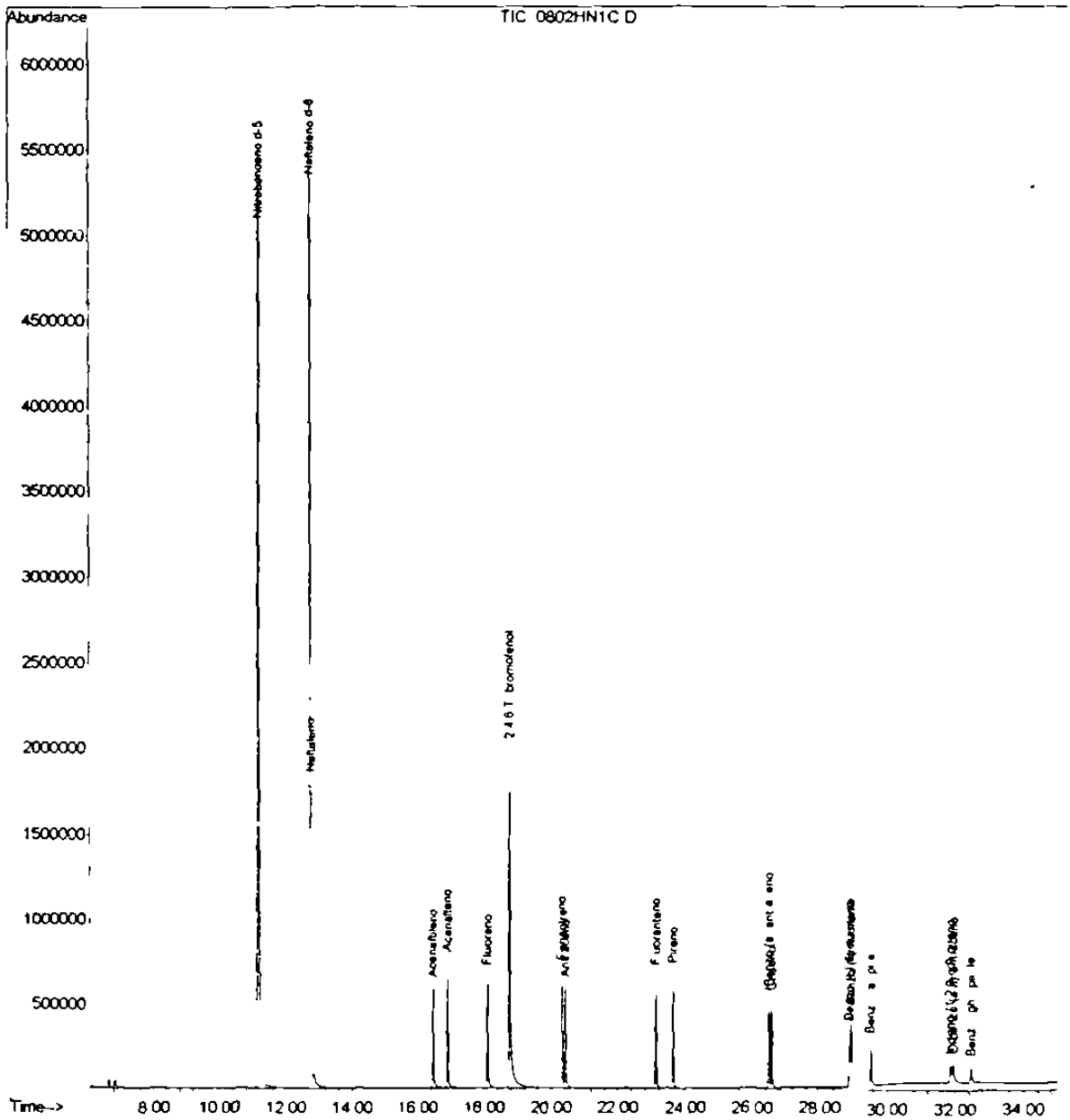
File : D:\SV-JUL\0802HN1A.D
Operator : Nora E Diaz
Acquired : 2 Aug 2000 19:15 using AcqMethod PAHS0201
Instrument : GCD Plus
Sample Name: ESTD NIV 1A PAHS, PREP: 02-AGO2000.
Misc Info : INY 1 µL.
Vial Number: 2



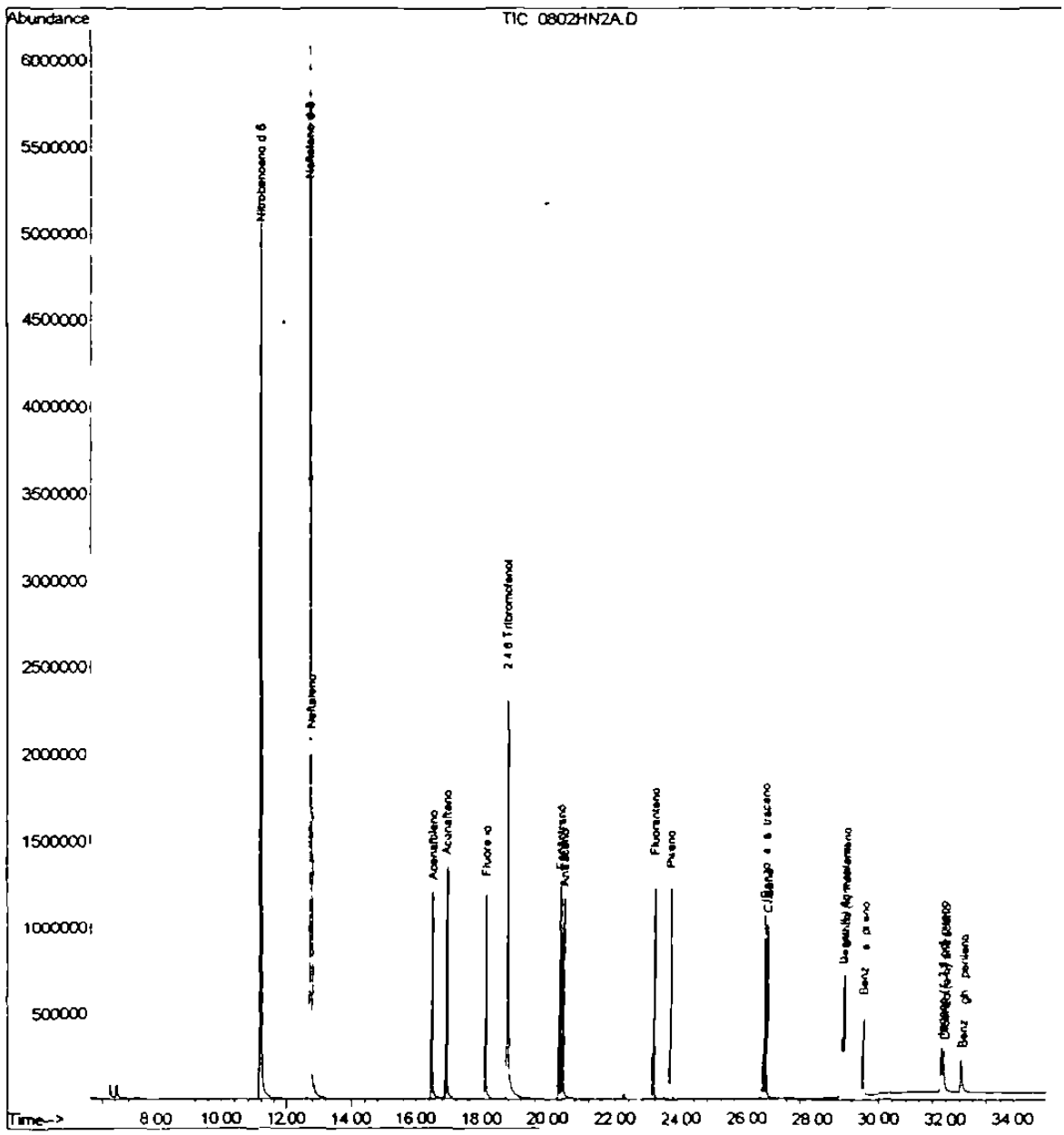
File : D:\SV-JUL\0802HN1B.D
Operator : Nora E Diaz
Acquired : 2 Aug 2000 10:11 using AcqMethod PAHS0201
Instrument : GCD Plus
Sample Name: ESTD NIV 1B PAHS, PREP: 02-AGO-2000.
Misc Info : INY 1 µL.
Vial Number: 3



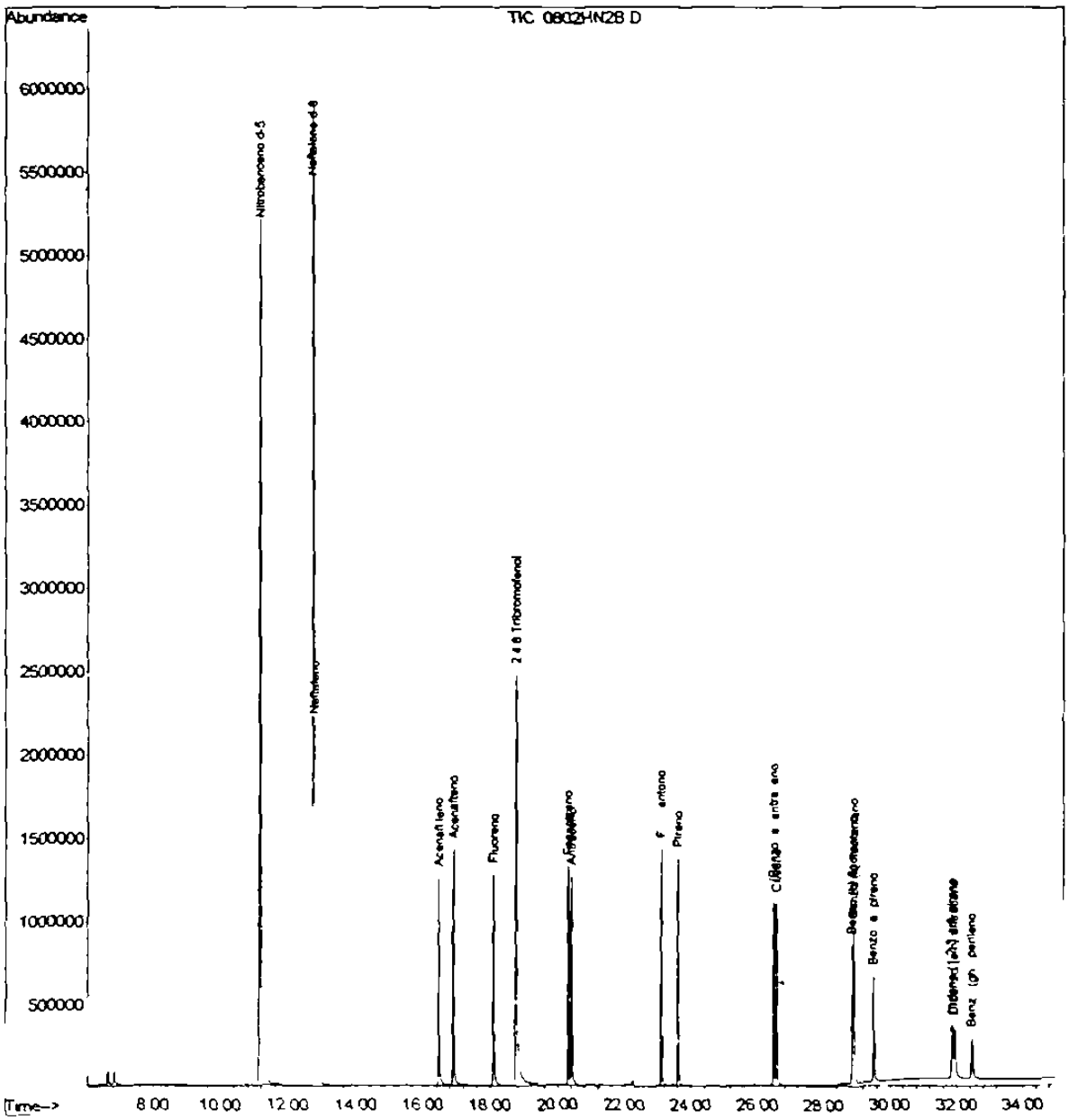
File : D:\SV-JUL\0802HN1C.D
Operator : Nora E Diaz
Acquired : 2 Aug 2000 21:08 using AcqMethod PAHS0201
Instrument : GCD Plus
Sample Name: ESTD NIV 1C PAHS, PREP: 02-AGO-2000.
Misc Info : INY 1 µL.
Vial Number: 4



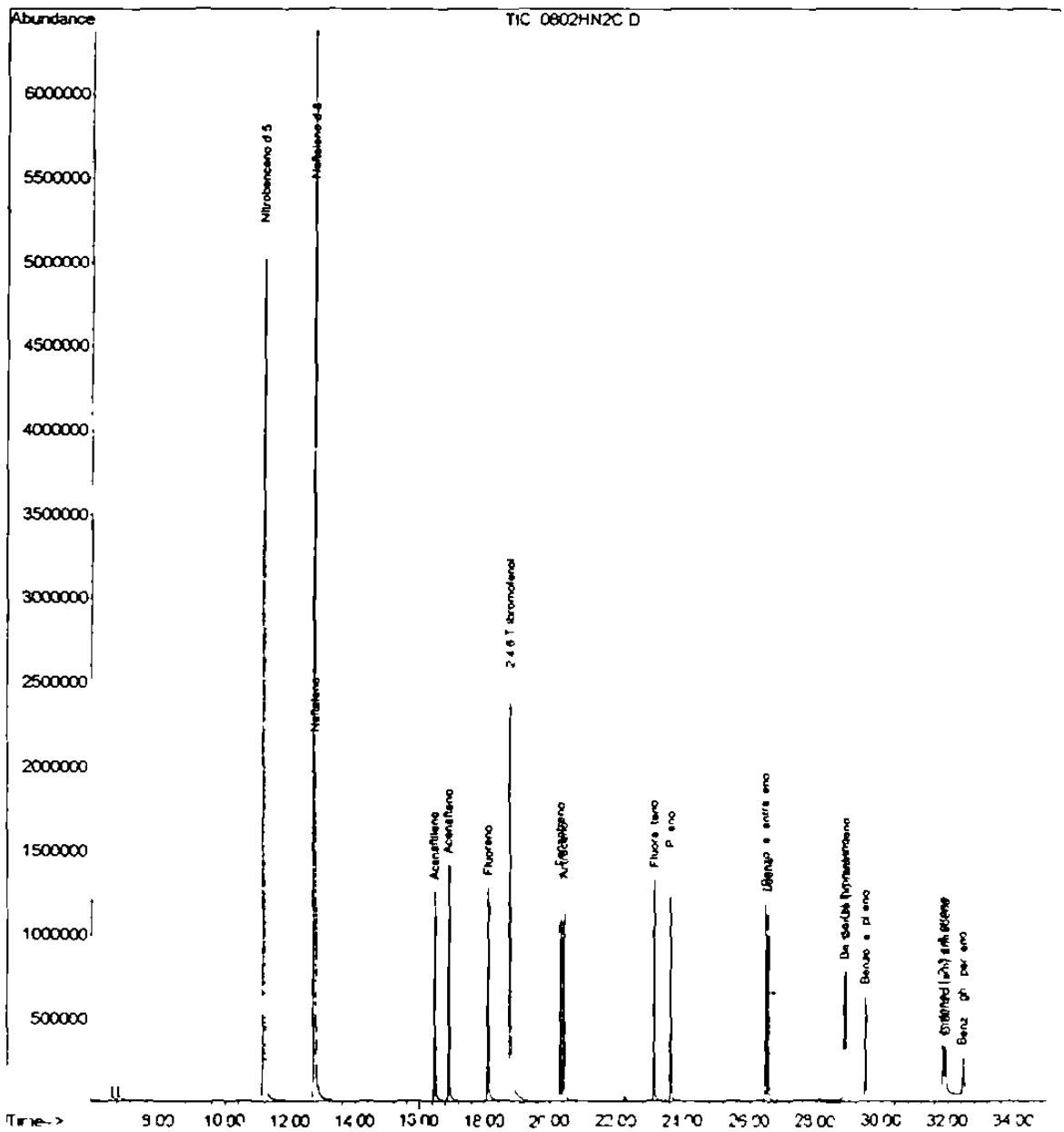
File : D:\SV-JUL\0802HN2A.D
Operator : Nora E Diaz
Acquired : 2 Aug 2000 22:06 using AcqMethod PAHS0201
Instrument : GCD Plus
Sample Name: ESTD NIV 2A PAHS, PREP: 02-AGO-2000.
Misc Info : INY 1 µL.
Vial Number: 5



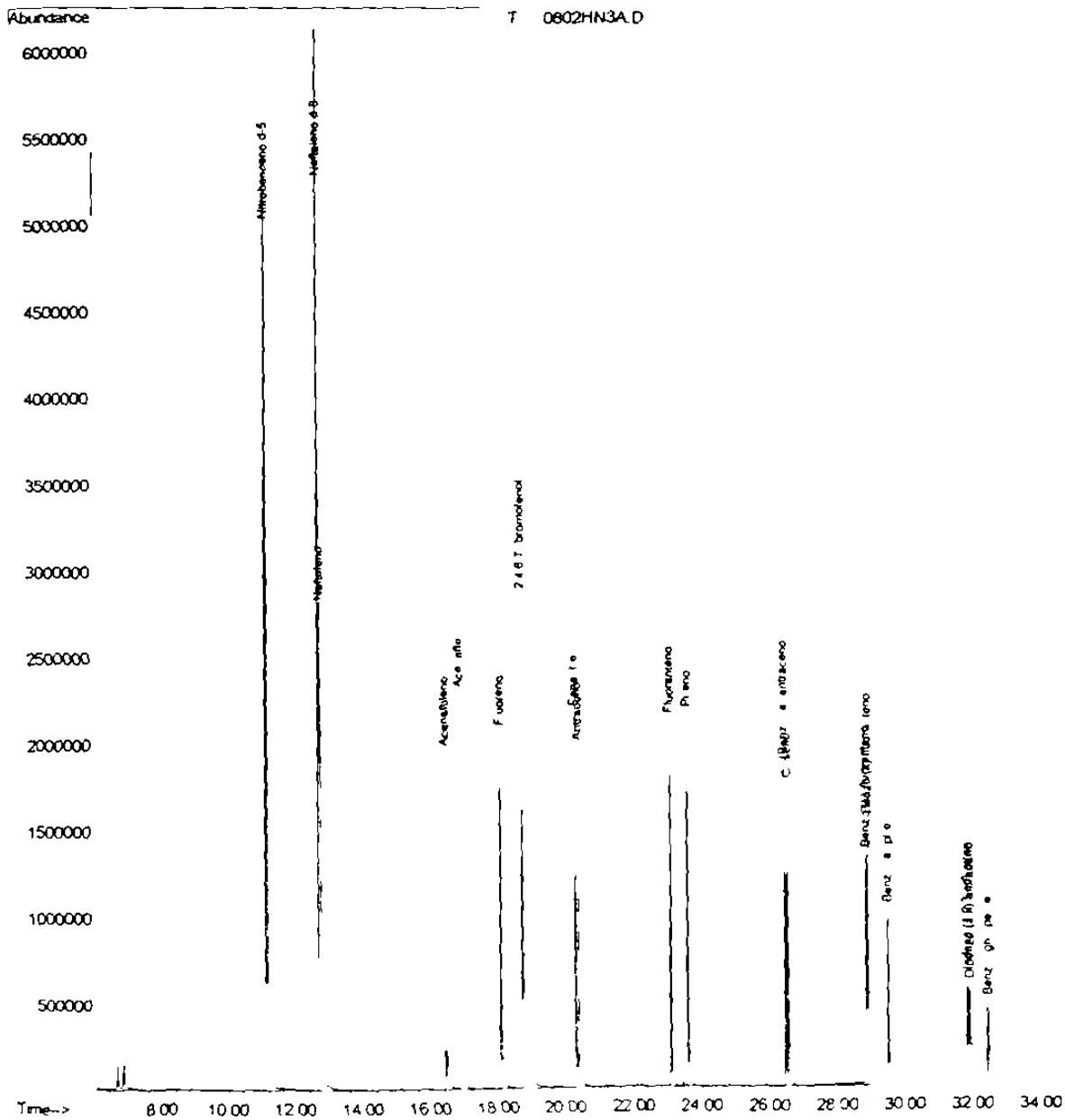
File : D:\SV-JUL\0802HN2B.D
Operator : Nora E Diaz
Acquired : 2 Aug 2000 23:03 using AcqMethod PAHS0201
Instrument : GCD Plus
Sample Name: ESTD NIV 2B PAHS, PREP: 02-AGO-2000.
Misc Info : INY 1 µL.
Vial Number: 6



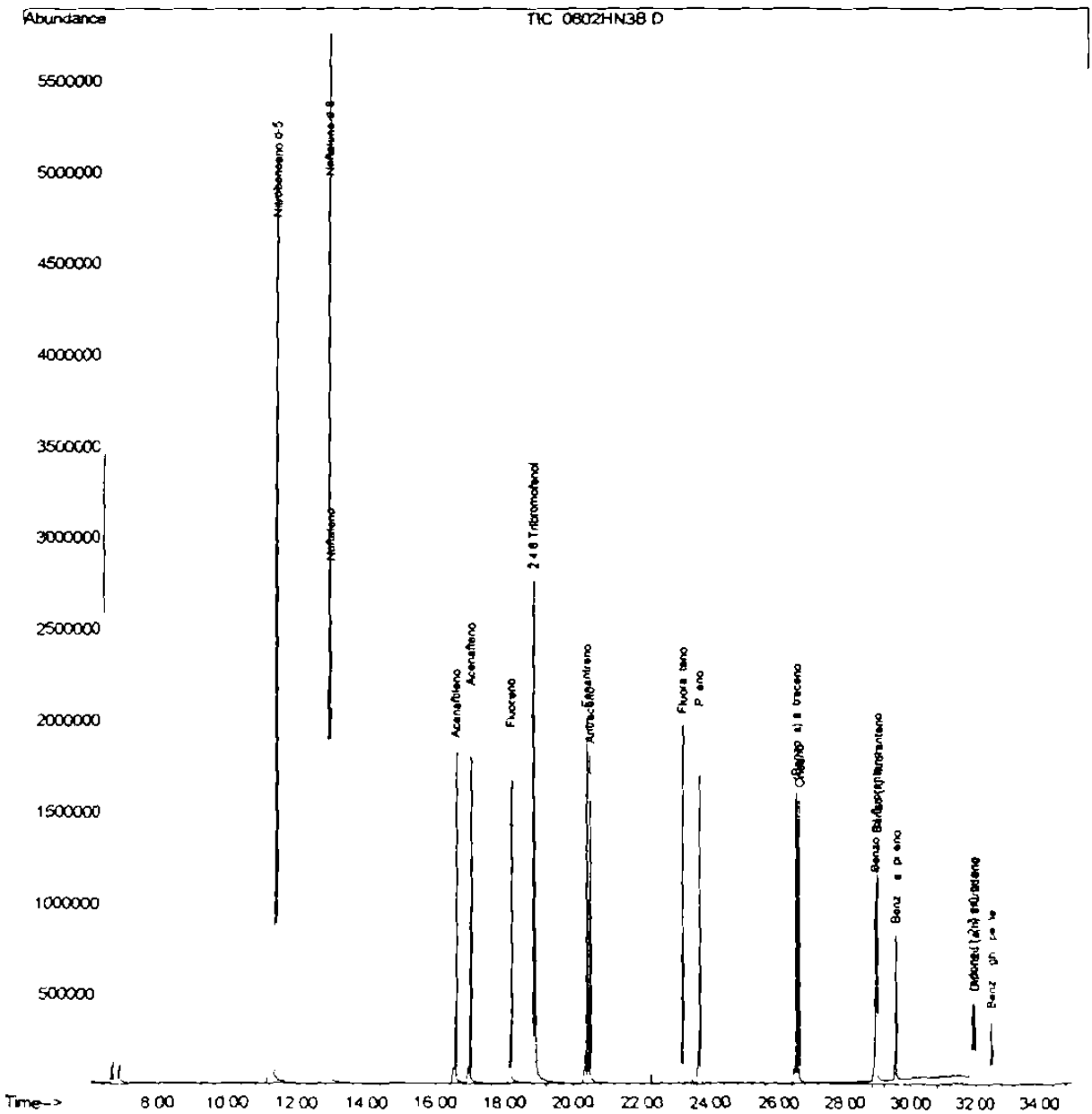
File : D:\SV-JUL\0802HN2C.D
Operator : Nora E Diaz
Acquired : 3 Aug 2000 00:01 using AcqMethod PAHS0201
Instrument : GCD Plus
Sample Name: ESTD NIV 2C PAHS, PREP: 02-AGO-2000.
Misc Info : INY 1 µL.
Vial Number: 7



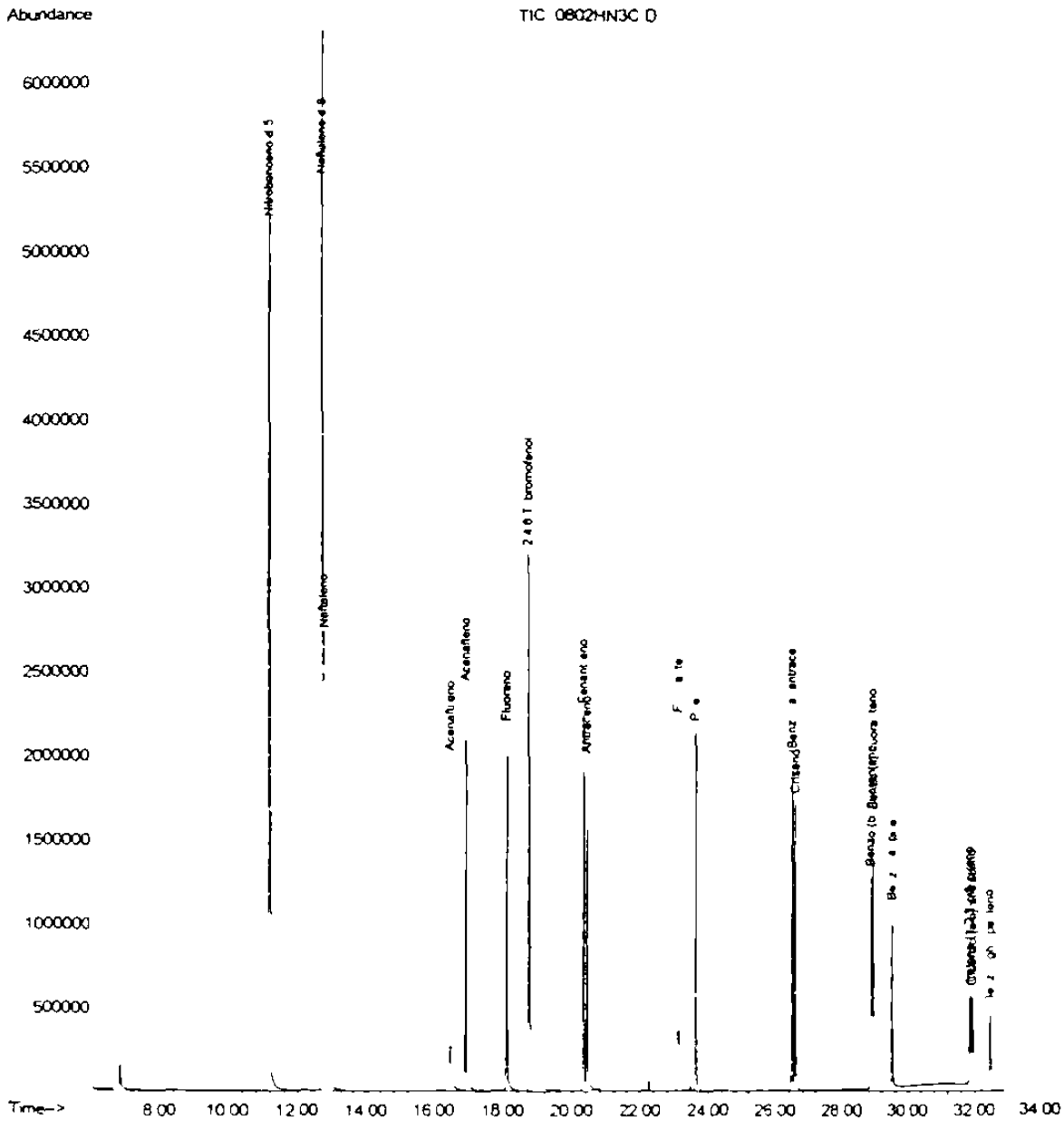
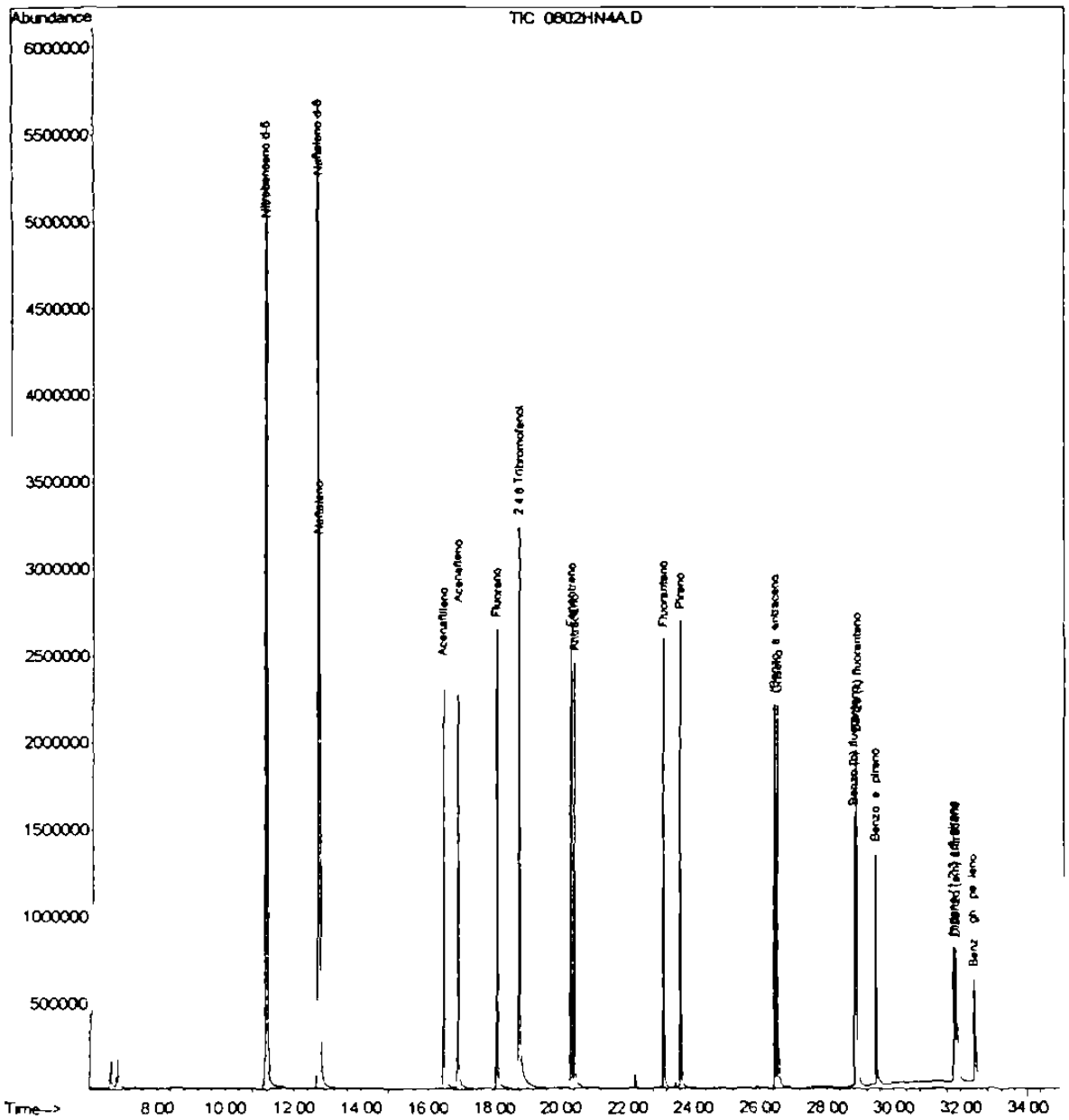
File : D:\SV-JUL\0802HN3A.D
Operator : Nora E Diaz
Acquired : 3 Aug 2000 1:58 using AcqMethod PAHS0201
Instrument : GCD Plus
Sample Name: ESTD NIV 3A PAHS, PREP: 02-AGO-2000.
Misc Info : INY 1 µL.
Vial Number: 9



File : D:\SV-JUL\0802HN3B.D
Operator : Nora E Diaz
Acquired : 3 Aug 2000 2:55 using AcqMethod PAHS0201
Instrument : GCD Plus
Sample Name: ESTD NIV 3B PAHS, PREP: 02-AGO-2000.
Misc Info : INY 1 µL.
Vial Number: 10



File : D:\SV-JUL\0802HN3C.D
Operator : Nora E Diaz
Acquired : 3 Aug 2000 3:52 using AcqMethod PAHS0201
Instrument : GCD Plus
Sample Name: ESTD NIV 3C PAHS, PREP: 02-AGO-2000.
Misc Info : INY 1 µL.
Vial Number: 11



File : D:\SV-JUL\0802HN4A.D
Operator : Nora E Diaz
Acquired : 3 Aug 2000 4:49 using AcqMethod PAHS0201
Instrument : GCD Plus
Sample Name: ESTD NIV 4A PAHS, PREP: 02-AGO-2000.
Misc Info : INY 1 µL.
Vial Number: 12