

 Centro de Investigaciones Energéticas, Medioambientales y Tecnológicas	DEPARTAMENTO DE TECNOLOGÍA DIVISIÓN DE QUÍMICA (DQ)	Código: QM-PT-TC-11
	PROCEDIMIENTO DE TRABAJO DETERMINACIÓN DE PESTICIDAS Y PCBs EN AGUAS CONTINENTALES	Edición:0
		Página 1 de 42

INDICE

- 1.- OBJETO
- 2.- CAMPO DE APLICACIÓN
- 3.- DOCUMENTACIÓN DE REFERENCIA
- 4.- DEFINICIONES
- 5.- DESCRIPCIÓN
 - 5.1. Principio del método.
 - 5.2. Instrumentación, materiales y reactivos.
 - 5.2.1. Instrumentación.
 - 5.2.2. Materiales.
 - 5.2.3. Patrones, reactivos y gases.
 - 5.3. Preparación de las disoluciones de calibrado.
 - 5.4. Conservación y mantenimiento de las muestras.
 - 5.5. Tratamiento de las muestras.
 - 5.5.1. Extracción en fase sólida.
 - 5.5.2. Concentración del extracto.
 - 5.5.3. Análisis cromatográfico.
 - 5.5.3.1. Condiciones de operación.
 - 5.5.3.2. Identificación de los compuestos.
 - 5.5.3.3. Calibración.
 - 5.5.3.4. Análisis de la muestra.
 - 5.5.3.5. Estudio de recuperación con patrones de sustitución.
 - 5.5.3.6. Cambio del liner del inyector PTV.
 - 5.6. Cálculo de resultados.
 - 5.7. Control de calidad.
 - 5.7.1. Límites de detección y cuantificación.
 - 5.7.2. Intervalo dinámico lineal.
 - 5.7.3. Interferencias.
 - 5.8. Informe de resultados.
 - 5.9. Normas de seguridad.
 - 5.10. Eliminación de los residuos.
 - 5.11. Responsables.
- 6.- ARCHIVO Y CONSERVACIÓN DE LA DOCUMENTACIÓN
- 7.- DOCUMENTACIÓN COMPLEMENTARIA
- 8.- DOCUMENTACIÓN QUE SUSTITUYE
- 9.- ÁREAS DE DISTRIBUCIÓN
- 10.- ANEXOS

MODIFICACIONES RESPECTO A LA EDICIÓN ANTERIOR

Elaborado:	Revisado:	Aprobado:
Oscar Pindado Jiménez	Rosa M ^a Pérez Pastor	Alberto J. Quejido Cabezas
		
Fecha: 22/1/2016	Fecha: 2/2/2016	Fecha: 9/2/2016

 Centro de Investigaciones Energéticas, Medioambientales y Tecnológicas	DEPARTAMENTO DE TECNOLOGÍA DIVISIÓN DE QUÍMICA (DQ)	Código: QM-PT-TC-11
	PROCEDIMIENTO DE TRABAJO	Edición: 0
	DETERMINACIÓN DE PESTICIDAS Y PCBs EN AGUAS CONTINENTALES	Página 2 de 42

1.- OBJETO

Efectuar la determinación de pesticidas organoclorados y bifenilos policlorados (PCBs) en muestras de aguas continentales mediante el empleo de GC/MS.

2.- CAMPO DE APLICACIÓN

Este procedimiento es aplicable a la determinación de pesticidas organoclorados y PCBs en muestras de aguas continentales a niveles de ng/L.

3.- DOCUMENTACIÓN DE REFERENCIA

No aplica.

4.- DEFINICIONES

Calibración: Es el conjunto de operaciones que establecen, bajo condiciones especificadas, la relación entre los valores de una magnitud (área del pico cromatográfico) y los valores correspondientes de esa magnitud realizados por patrones.

DDDs: Diclorodifenildicloroetanos

DDEs: Diclorodifenildicloroetilenos

DDTs: Diclorodifeniltricloroetanos

HCHs: Hexaclorociclohexanos

Interferencia: Sustancia presente en la muestra que altera el valor correcto de los analitos de interés.

Intervalo dinámico lineal: Es la zona del calibrado en la que la respuesta analítica, en cromatografía el área del pico cromatográfico, es directamente proporcional a la concentración del analito.

Límite de cuantificación: Es la concentración más baja de un analito en una muestra, que puede determinarse con precisión y exactitud aceptables, bajo unas condiciones experimentales determinadas.

Límite de detección: Es la concentración asociada a la señal analítica más pequeña que puede distinguirse de las fluctuaciones del fondo bajo unas condiciones experimentales determinadas.

 Centro de Investigaciones Energéticas, Medioambientales y Tecnológicas	DEPARTAMENTO DE TECNOLOGÍA DIVISIÓN DE QUÍMICA (DQ)	Código: QM-PT-TC-11 Edición:0
	PROCEDIMIENTO DE TRABAJO DETERMINACIÓN DE PESTICIDAS Y PCBs EN AGUAS CONTINENTALES	Página 3 de 42

Material de referencia certificado: Es un material de referencia, acompañado de un certificado, en el cual uno o más valores de sus propiedades han sido certificados mediante un procedimiento que establece su trazabilidad.

Patrón interno: Es una sustancia, que en origen no se encuentra en la muestra, y se introduce en la muestra justo antes de realizar la inyección y a la cual se refieren las áreas de los demás componentes.

Patrón de sustitución: Más conocido por su nombre en inglés, patrón de "surrogate". Es una sustancia que en origen no se encuentra en la muestra y se introduce justo antes de realizar el procedimiento de análisis. El grado de recuperación de esta sustancia es un indicativo de la eficacia del procedimiento analítico.

PCB: Bifenilos policloroados.

Precisión: Dispersión de los valores obtenidos al realizar una serie de medidas repetitivas e independientes del método analítico.

Precisión intermedia: Medida de la precisión del método analítico en condiciones diferentes de analista, día o equipo dentro del mismo laboratorio.

PTV: Vaporización con temperatura programable (*Programable Temperature Vaporization*).

Repetitividad: Es el grado de concordancia entre los resultados de sucesivas mediciones realizadas a una misma alícuota en las mismas condiciones del método analítico.

RSD: Desviación típica relativa (*Relative Standard Deviation*).

SPE: Extracción en fase sólida (*Solid Phase Extraction*).

5.- DESCRIPCIÓN

5.1. Principio del método.

El objetivo del método es la determinación de varios pesticidas organoclorados y PCBs en aguas continentales. El método se basa en una extracción en fase sólida y posterior análisis mediante cromatografía de gases con detector de espectrometría de masas.

Los pesticidas organoclorados cuantificados mediante este procedimiento son: α -HCH, β -HCH, γ -HCH, hexaclorobenceno, pentaclorobenceno, pentaclorofenol, simazina, atrazina, terbutilazina, aldrin, metacloro, isodrin, dieldrin, endrin, o,p'-DDE, p,p'-DDE, o,p'-DDD, p,p'-DDD, p,p'-DDT y o,p'-DDT.

 Centro de Investigaciones Energéticas, Medioambientales y Tecnológicas	DEPARTAMENTO DE TECNOLOGÍA DIVISIÓN DE QUÍMICA (DQ)	Código: QM-PT-TC-11
	PROCEDIMIENTO DE TRABAJO DETERMINACIÓN DE PESTICIDAS Y PCBs EN AGUAS CONTINENTALES	Edición:0
		Página 4 de 42

Los congéneres de la familia de bifenilos policlorados que se cuantifican mediante este procedimiento son: PCB-28, PCB-52, PCB-101, PCB-118, PCB-138, PCB-153 y PCB-180.

Las fórmulas y estructuras de estos compuestos se muestran en el Anexo 1.

5.2. Instrumentación, materiales y reactivos.

5.2.1. Instrumentación.

Cromatógrafo de gases Agilent 6890 con un sistema de inyección PTV, inyector automático Agilent 7683 y acoplado a un detector de espectrometría de masas Agilent serie 5975.

Distribuidor de vacío Agilent de 12 puertos.

Bomba de membrana ME1.

Agitador tipo vortex.

Vitrina extractora.

Sistema de evaporación con corriente de nitrógeno.

Sistema de agua desionizada.

5.2.2. Materiales.

Columna cromatográfica de sílice fundida HP5-MS (30 m. longitud; 0.25 mm. diámetro interno; 0.25 μ m. fase estacionaria 5% de fenilmetilsiloxano).

Cartuchos de extracción en fase sólida OASIS HLB 6cc (500 mg).

Tuberías y adaptadores de teflón.

Jeringas de 10, 25, 50, 100, 250, 500 y 1000 μ L (Hamilton y SGE).

Probetas de 25 y 1000 mL.

Vasos de precipitados.

Tubos de ensayo.

Pipetas Pasteur.

Viales de vidrio de 2 mL.

Insertos para viales de 250 μ L.

 Centro de Investigaciones Energéticas, Medioambientales y Tecnológicas	DEPARTAMENTO DE TECNOLOGÍA DIVISIÓN DE QUÍMICA (DQ)	Código: QM-PT-TC-11
	PROCEDIMIENTO DE TRABAJO DETERMINACIÓN DE PESTICIDAS Y PCBs EN AGUAS CONTINENTALES	Edición:0

Otro material de vidrio de laboratorio (embudos, barras agitadoras y botellas).

Desecadores.

Papel de aluminio.

5.2.3. Patrones, reactivos y gases.

o-terfenilo: 500 mg puro. (Supleco) utilizado como patrón interno.

Antraceno D₁₀: 10 mL de disolución de 10 ng/μL en ciclohexano (Dr. Ehrenstorfer GmbH) utilizado como patrón de sustitución.

Pentaclorobenceno: 10 mL de disolución de 10 ng/μL en ciclohexano (Dr. Ehrenstorfer GmbH).

Pentaclorofenol: 10 mL de disolución de 10 ng/μL en ciclohexano (Dr. Ehrenstorfer GmbH).

Pesticide Mix-5: 10 mL de disolución de o,p'-DDD, p,p'-DDD, o,p'-DDE, p,p'-DDE, o,p'-DDT, p,p'-DDT, dieldrin y endrin de 10 ng/μL en ciclohexano (Dr. Ehrenstorfer GmbH).

Pesticide Mix-7: 10 mL de disolución de α-HCH, β-HCH, δ-HCH, γ-HCH de 10 ng/μL en ciclohexano (Dr. Ehrenstorfer GmbH).

Pesticide Mix-31: 10 mL de disolución de atrazina, atrazina desetil, metazacloro, metacloro, simazina y terbutilazina de 10 ng/μL en acetona (Dr. Ehrenstorfer GmbH).

Pesticide Mix-33: 1 mL de disolución de aldrin, p,p'-DDD, p,p'-DDE, p,p'-DDT, diclorobenil, dieldrin, α-endosulfan, endrin, α-HCH, β-HCH, γ-HCH, heptaclor, heptaclor exo epóxido, heptaclor endo epóxido, hexaclorobenceno, hexacloro-1,3-butadieneo, isobezan, isodrin, quintoceno, PCB-28, PCB-52, PCB-101, PCB-118, PCB-138, PCB-153 y PCB-180 de 10 ng/μL en isooctano (Dr. Ehrenstorfer GmbH).

Materiales de referencia certificada: WatRTM Supply Pesticides, number 709 (ERA) y WatRTM Pollution organochlorine pesticides, number 713 (ERA).

Acetato de etilo, acetonitrilo, diclorometano, y hexano de calidad cromatográfica (J.T. Baker).

Agua desionizada.

Sulfato de sodio anhidro (Merck).

Gas Helio (N50 /B50) como gas portador y gas nitrógeno (N50 / B50) para la concentración de los extractos (Air Liquid).

Tabla 3: Disoluciones de calibrado para el patrón Mix-31.

Concentración (ng/mL)	Vol. Mix 31 (μ L)	Vol. terfenilo (μ L)	Vol. Hexano (μ L)	Volumen total (μ L)
50	5 (1 ng/ μ L)	10	85	100
100	10 (1 ng/ μ L)	10	80	100
500	50 (1 ng/ μ L)	10	40	100
1000	10 (10 ng/ μ L)	10	80	100

Tabla 4: Disoluciones de calibrado para el patrón Mix-33.

Concentración (ng/mL)	Vol. Mix 33 (μ L)	Vol. terfenilo (μ L)	Vol. Hexano (μ L)	Volumen total (μ L)
50	5 (1 ng/ μ L)	10	85	100
100	10 (1 ng/ μ L)	10	80	100
500	50 (1 ng/ μ L)	10	40	100
1000	10 (10 ng/ μ L)	10	80	100

Tabla 5: Disoluciones de calibrado para el patrón de pentaclorobenceno.

Concentración (ng/mL)	Pentaclorobenceno (μ L)	Vol. terfenilo (μ L)	Vol. Hexano (μ L)	Volumen total (μ L)
50	5 (1 ng/ μ L)	10	85	100
100	10 (1 ng/ μ L)	10	80	100
500	50 (1 ng/ μ L)	10	40	100
1000	10 (10 ng/ μ L)	10	80	100

Tabla 6: Disoluciones de calibrado para el patrón de pentaclorofenol.

Concentración (ng/mL)	Pentaclorofenol (μ L)	Vol. terfenilo (μ L)	Vol. Hexano (μ L)	Volumen total (μ L)
500	5 (10 ng/ μ L)	10	85	100
1000	10 (10 ng/ μ L)	10	80	100
2500	25 (10 ng/ μ L)	10	65	100
4000	40 (10 ng/ μ L)	10	50	100

 Centro de Investigaciones Energéticas, Medioambientales y Tecnológicas	DEPARTAMENTO DE TECNOLOGÍA DIVISIÓN DE QUÍMICA (DQ)	Código: QM-PT-TC-11 Edición:0
	PROCEDIMIENTO DE TRABAJO DETERMINACIÓN DE PESTICIDAS Y PCBs EN AGUAS CONTINENTALES	Página 8 de 42

Tabla 7: Disoluciones de calibrado para el patrón de sustitución.

Concentración (ng/mL)	Vol. antraceno D ₁₀ (µL)	Vol. terfenilo (µL)	Vol. Hexano (µL)	Volumen total (µL)
50	5 (1 ng/µL)	10	85	100
100	10 (1 ng/µL)	10	80	100
500	50 (1 ng/µL)	10	40	100
1000	10 (10 ng/µL)	10	70	100

5.4. Conservación y mantenimiento de las muestras.

El laboratorio debe recibir las muestras de aguas continentales en botellas de vidrio completamente llenas y perfectamente cerradas. El volumen mínimo de muestra necesario para realizar los análisis es de 1 L. Preferiblemente, hay que recibir al menos 3 L de muestra.

Una vez recibidas las muestras, se mantiene a 4 °C hasta la realización de los análisis.

5.5. Tratamiento de las muestras.

El esquema del procedimiento analítico necesario para analizar los pesticidas y los PCBs en las muestras de agua se puede ver en el Anexo 3.

5.5.1. Extracción en fase sólida.

Con una probeta de 1000 mL, se mide el volumen de muestra a analizar (1 L), que se deposita en un recipiente adecuado, como una botella de vidrio de 1 L de volumen. A continuación, se añaden, con la ayuda de una jeringa de 10 µL, el patrón de sustitución a la muestra: 5 µL de la disolución de antraceno D₁₀ de 10 ng/µL.

Se conecta el distribuidor de vacío a una bomba de membrana. En el interior del distribuidor de vacío se introducen dos vasos de precipitados de 250 mL para recoger la muestra. Los cartuchos OASIS HLB se colocan en las llaves del distribuidor.

Para acondicionar los cartuchos de SPE es necesario hacer pasar secuencialmente varios disolventes. Los cartuchos OASIS HLB se acondicionan con los siguientes disolventes.

- (1) 12 mL de diclorometano.
- (2) 12 mL de acetonitrilo.

 Centro de Investigaciones Energéticas, Medioambientales y Tecnológicas	DEPARTAMENTO DE TECNOLOGÍA DIVISIÓN DE QUÍMICA (DQ)	Código: QM-PT-TC-11
	PROCEDIMIENTO DE TRABAJO DETERMINACIÓN DE PESTICIDAS Y PCBs EN AGUAS CONTINENTALES	Edición:0
		Página 9 de 42

(3) 12 mL de agua desionizada.

Estos volúmenes se miden con una probeta de 25 mL. Estos disolventes, con ayuda de vasos de precipitados de 25 mL, se van depositando en el cuerpo del cartucho para, a continuación, abrir la llave de paso y aplicar un ligero vacío (2-3 pulgadas de Hg). Los disolventes van pasando a través del cartucho evitando que se seque el mismo. Una vez terminado de acondicionar los cartuchos, se cierra la llave de paso.

Se acoplan los adaptadores de teflón al cuerpo del cartucho y se introduce el tubo de teflón en la muestra. A continuación se abren las llaves de paso y se comienza a aplicar vacío para conseguir un caudal entre 5 – 10 mL/min. El vacío que se debe aplicar en la bomba de membrana varía en función del número de cartuchos conectados (entre 5 – 15 pulgadas de Hg).

En función del número de cartuchos conectados (máximo 4 cartuchos por distribuidor de vacío), cada 15 – 20 minutos, se tiene que ir eliminando la muestra acuosa que pasa por los cartuchos y se recoge en los vasos de 250 mL. Para realizar esta operación, se deben cerrar las llaves de paso y apagar el vacío generado por la bomba de membrana. Una vez desechado el agua, se vuelve a aplicar el vacío y se abren las llaves de paso hasta conseguir un caudal entre 5 – 10 mL/min.

Una vez ha pasado todo el volumen de muestra, los cartuchos se lavan con 6 mL de agua desionizada y se procede al secado de los cartuchos. Para ello, se abren las llaves de paso y se aplica vacío (15 pulgadas de Hg) durante 20 minutos. La humedad de las llaves de paso se elimina con papel de filtro.

Por último se procede a la elución de la muestra retenida en el adsorbente. Para ello se hace pasar secuencialmente los siguientes disolventes orgánicos:

(1) 2.5 mL de la mezcla acetoneitrilo / diclorometano (1:1).

(2) 3.2 mL de diclorometano.

Para la elución es necesario aplicar un ligero vacío (1-2 pulgadas de Hg) para conseguir un caudal de 1 – 2 mL/min. El eluato se recoge en tubos de ensayo.

Debido a que en la muestra se encuentran juntos tres disolventes: agua, acetoneitrilo y diclorometano, los cuales son miscibles dos a dos (agua con acetoneitrilo, y acetoneitrilo con diclorometano) se observan 2 fases en la muestra. La fase inferior, la más abundante, se corresponde con el diclorometano y/o acetoneitrilo y la superior, en torno a 1 mL, se corresponde con el acetoneitrilo y/o agua.

 Centro de Investigaciones Energéticas, Medioambientales y Tecnológicas	DEPARTAMENTO DE TECNOLOGÍA DIVISIÓN DE QUÍMICA (DQ)	Código: QM-PT-TC-11
	PROCEDIMIENTO DE TRABAJO DETERMINACIÓN DE PESTICIDAS Y PCBs EN AGUAS CONTINENTALES	Edición:0

5.5.2. Concentración del extracto.

El eluato se concentra con una ligera corriente de nitrógeno hasta los 3 mL. Para eliminar los restos de agua se añade 1 – 2 gramos de sulfato de sodio anhidro. Para eliminar el sulfato de sodio anhidro, los extractos se pasan a viales de 5 mL con ayuda de una jeringa de 1 mL lavando con acetato de etilo. Por último, el extracto se termina de concentrar en viales de cromatografía con insertos hasta un volumen final de 90 µL de acetato de etilo.

5.5.3. Análisis cromatográfico.

5.5.3.1. Condiciones de operación.

Para el análisis de los diferentes pesticidas organoclorados y PCBs se definen las condiciones óptimas de operación. En la Tabla 8 se resumen los parámetros optimizados del GC-MS.

 Centro de Investigaciones Energéticas, Medioambientales y Tecnológicas	DEPARTAMENTO DE TECNOLOGÍA DIVISIÓN DE QUÍMICA (DQ)	Código: QM-PT-TC-11
	PROCEDIMIENTO DE TRABAJO DETERMINACIÓN DE PESTICIDAS Y PCBs EN AGUAS CONTINENTALES	Edición:0

5.5.3.2. Identificación de los compuestos.

La identificación de los compuestos se realiza a través del espectro de masas (Anexo 5). Para determinar los espectros de masas de cada compuestos los patrones preparados según el punto 5.3. se han inyectado en modo "scan".

Los espectros de masas de cada uno de los compuestos presentan iones característicos, como el ion molecular que define el peso molecular del compuesto y el ion base, que es el ion más estable y por tanto es el mayoritario. El ion base de cada compuesto ha sido seleccionado para ser medido en modo sim (Tabla 8).

La identificación de los compuestos en modo SIM se realiza a través de los tiempos de retención. Para establecer los tiempos de retención de cada compuesto se realizan varias inyecciones a lo largo de un periodo de 72 horas. Se define la ventana de tiempo de retención como el tiempo de retención promedio más menos tres veces la desviación estándar. Los tiempos de retención de los compuestos estudiados en el momento de la redacción de este procedimiento están recogidos en la Tabla 9.

 Centro de Investigaciones Energéticas, Medioambientales y Tecnológicas	DEPARTAMENTO DE TECNOLOGÍA DIVISIÓN DE QUÍMICA (DQ)	Código: QM-PT-TC-11
	PROCEDIMIENTO DE TRABAJO	Edición:0
	DETERMINACIÓN DE PESTICIDAS Y PCBs EN AGUAS CONTINENTALES	Página 13 de 42

Tabla 9: Tiempos de retención promedio para los pesticidas y PCBs de acuerdo a las condiciones óptimas.

Compuesto	t _R (50 ppb) (min)	t _R (100 ppb) (min)	t _R (500 ppb) (min)	t _R (1 ppm) (min)	t _R (min)
Pentaclorobenceno	12,129	12,134	12,129	12,129	12,130 ± 0,008
α-HCH	16,090	16,088	16,088	16,090	16,089 ± 0,003
Hexaclorobenceno	16,312	16,312	16,312	16,313	16,312 ± 0,001
Simazina	16,605	16,606	16,609	16,612	16,608 ± 0,009
Atrazina	16,765	16,765	16,766	16,768	16,766 ± 0,004
β-HCH	16,866	16,866	16,866	16,867	16,866 ± 0,002
Pentaclorofenol	16,948	16,944	16,938	16,937	16,942 ± 0,016
γ-HCH	17,044	17,047	17,044	17,044	17,045 ± 0,002
Terbutilazina	17,179	17,180	17,179	17,181	17,180 ± 0,003
PCB 28	17,510	17,510	17,506	17,506	17,507 ± 0,007
PCB 52	18,426	18,427	18,426	18,426	18,426 ± 0,003
Aldrin	19,978	19,976	19,977	19,979	19,978 ± 0,004
Metacloro	20,002	20,004	20,004	20,005	20,004 ± 0,004
PCB 101	20,659	20,659	20,659	20,659	20,659 ± 0,003
Isodrin	20,747	20,743	20,743	20,745	20,745 ± 0,006
o,p'-DDE	21,737	21,736	21,737	21,737	21,737 ± 0,002
PCB 118	22,206	22,206	22,208	22,205	22,206 ± 0,004
p,p'-DDE	22,518	22,519	22,521	22,521	22,520 ± 0,004
Dieldrin	22,612	22,612	22,613	22,611	22,612 ± 0,004
o,p'-DDD	22,743	22,744	22,745	22,745	22,744 ± 0,003
PCB 153	22,744	22,748	22,746	22,748	22,746 ± 0,005
Endrin	23,185	23,184	23,186	23,187	23,186 ± 0,004
PCB 138	23,456	23,457	23,459	23,458	23,457 ± 0,005
p,p'-DDD	23,607	23,609	23,609	23,611	23,609 ± 0,004
o,p'-DDT	23,717	23,718	23,719	23,719	23,719 ± 0,003
p,p'-DDT	24,649	24,649	24,652	24,651	24,650 ± 0,004
PCB 180	25,277	25,283	25,278	25,278	25,278 ± 0,009

5.5.3.3. Calibración.

La respuesta del detector de espectrometría de masas es lineal para los compuestos estudiados hasta 1000 ng/mL. La calibración se basa en el análisis de 4 disoluciones de calibrado,

 Centro de Investigaciones Energéticas, Medioambientales y Tecnológicas	DEPARTAMENTO DE TECNOLOGÍA DIVISIÓN DE QUÍMICA (DQ)	Código: QM-PT-TC-11
	PROCEDIMIENTO DE TRABAJO DETERMINACIÓN DE PESTICIDAS Y PCBs EN AGUAS CONTINENTALES	Edición:0
		Página 14 de 42

preparadas según el apartado 5.3. Las disoluciones se calibrado se analizan según las condiciones citadas en el apartado 5.5.3.

Para cada compuesto se representa la curva de respuesta del detector, relativo al patrón interno, frente a la concentración del compuesto inyectado, a partir de la cual se deducirá la concentración de la sustancia de interés.

Las curvas de calibrado obtenidas, junto con los coeficientes de calibración, calculados en el momento de la redacción de este procedimiento se indican en el Anexo 6.

5.5.3.4. Análisis de la muestra.

La muestra se encuentra diluida en 90 µL de acetato de etilo. Se debe añadir 10 µL del patrón interno (*o*-terfenilo de 10 ng/µL) e inmediatamente inyectar según las condiciones de operación descritas en el apartado 5.5.3.1.

5.5.3.5. Estudio de recuperación con patrones de sustitución.

Para evaluar la eficacia del procedimiento analítico para determinar la concentración de pesticidas y PCBs en la muestra de agua se emplea un patrón de sustitución. Este patrón de antraceno D₁₀ y, se ha introducido en la muestra justo antes de comenzar a realizar el procedimiento.

El patrón de sustitución se somete a todo el proceso analítico y finalmente es analizado. Estudiando la concentración del patrón de sustitución antes y después de realizar el proceso analítico podemos determinar la eficacia del proceso analítico.

Para calcular la concentración del patrón de sustitución, se realizó un calibrado de este compuesto de acuerdo al punto 5.3. de este procedimiento.

La eficacia del proceso analítico se calcula en función de la recuperación obtenida para estos patrones, de acuerdo a la siguiente expresión.

$$\text{Recuperación (patrón de sustitución)} = \frac{\text{Conc}_{\text{inicial}}}{\text{Conc}_{\text{final}}} (\%)$$

5.5.3.6. Cambio del liner del inyector PTV.

El inyector PTV tiene un *liner* más pequeño que un inyector “*split-splitless*”, concretamente tiene un volumen de 200 µL. Este volumen del *liner* tiene la ventaja de producir picos cromatográficos más estrechos. Además gracias a la posibilidad de realizar varias inyecciones consecutivas a baja

 Centro de Investigaciones Energéticas, Medioambientales y Tecnológicas	DEPARTAMENTO DE TECNOLOGÍA DIVISIÓN DE QUÍMICA (DQ)	Código: QM-PT-TC-11
	PROCEDIMIENTO DE TRABAJO DETERMINACIÓN DE PESTICIDAS Y PCBs EN AGUAS CONTINENTALES	Edición:0
		Página 15 de 42

temperatura se puede producir la concentración de los analitos en el inyector, aumentando considerablemente la sensibilidad del método de análisis. Estas ventajas hacen que este tipo de inyección haya sido escogido para el análisis de los pesticidas.

Sin embargo el inyector de PTV presenta algunas desventajas. Al ser el volumen del *liner* más pequeño, y al realizar inyecciones repetidas, el *liner* se ensucia rápidamente. Cuando se produce, los compuestos más pesados no entran en la columna y su sensibilidad disminuye drásticamente. Se ha observado este comportamiento en los compuestos que eluyen a un tiempo de retención superior a los 22 minutos, principalmente los PCBs y los DDTs. Mediante la inyección de patrones se ha determinado que el *liner* debe ser remplazado cada 15-20 muestras.

5.6. Cálculo de resultados.

La identificación cualitativa de los analitos de interés en el extracto de la muestra analizada por cromatografía de gases se basa en la comparación del tiempo de retención del mismo con el tiempo de retención promedio observado para cada analito en las disoluciones de calibrado (citados en la Tabla 9).

La identificación cuantitativa de los analitos de interés en el extracto de la muestra se realiza a partir del área de los picos cromatográficos y las curvas de calibrado. La concentración de un analito en la muestra de agua en ng/L se reportará con una cifra significativa. La expresión matemática para calcularla es:

$$Conc (ng/L) = \frac{(Area' - o.o.) \times V_a (mL)}{pte \times V_m(L)}$$

7. Control de calidad.

7.1. Límites de detección y cuantificación.

Se preparan cuatro réplicas de cada uno de los patrones de pesticidas y PCBs a una concentración de 50 ng/mL (excepto para el Pentaclorofenol que se preparan 4 réplicas de 500 ng/mL) según el punto 5.3. Las 20 réplicas se analizan de acuerdo al punto 5.5.3.1.

Se calcula la desviación estándar de las réplicas realizadas para todos los compuestos y se determina el límite de detección y cuantificación según las siguientes expresiones.

$$LD(ng/L) = \frac{3 \times s \times 0.1(mL)}{1(L)}$$

 Centro de Investigaciones Energéticas, Medioambientales y Tecnológicas	DEPARTAMENTO DE TECNOLOGÍA DIVISIÓN DE QUÍMICA (DQ)	Código: QM-PT-TC-11
	PROCEDIMIENTO DE TRABAJO DETERMINACIÓN DE PESTICIDAS Y PCBs EN AGUAS CONTINENTALES	Edición:0

$$LQ(\text{ng/L}) = \frac{10 \times s \times 0.1(\text{mL})}{1(\text{L})}$$

Los resultados están resumidos en el anexo 7.

5.7.2. Intervalo dinámico lineal.

Los resultados están reflejados en el anexo 7.

5.7.3. Interferencias.

Se ha observado que en algunas muestras aparece un pico cromatográfico con un t_r de 17.3 minutos, coincidiendo con los tiempos de retención del β -HCH y γ -HCH. Este pico presenta una señal notable con el ion 219, al igual que los dos pesticidas que eluyen a este tiempo de retención. Para minimizar esta interferencia, se debe medir el ion 181, ya que la interferencia no presenta señal con este ion, pero sí el β -HCH y el γ -HCH. Al inyectar una muestra en modo scan esta interferencia ha sido identificada como el 3,5-di-tercbutil-4-hidroxibenzaldehido (CAS 1620-98-0). Se ha observado una interferencia a un t_r de 20.3 minutos. Este compuesto ha sido identificado con el eicosano. Esta interferencia co-eluye con el metacloro y aldrin. La interferencia presenta un ion 79 muy elevado, mientras que el metacloro y aldrín no lo tiene. Para minimizar esta interferencia el aldrín debe ser medido con los iones 263 y 66.

5.8. Informe de resultados.

Si el valor medido es superior al límite de cuantificación, determinado en el apartado 5.7.1., el resultado se debe expresar, con una cifra significativa, como concentración de analito en ng/L de agua. Si el valor medido es inferior al límite de cuantificación, el resultado se debe expresar como concentración inferior al límite de cuantificación.

5.9. Normas de seguridad.

El laboratorio debe disponer de todas las medidas de seguridad necesarias para el manejo de sustancias tóxicas o peligrosas. Concretamente, medidas de seguridad para prevenir los riesgos relativos al empleo de disolventes orgánicos, como vitrinas de extracción adecuadas para trabajar con disolventes orgánicos y armarios de seguridad para almacenar productos químicos peligrosos. La ausencia de alguna de estas medidas de seguridad imposibilita la realización de este procedimiento.

personal debe disponer de equipos de protección individual cuando se encuentre trabajando dentro del laboratorio (bata de laboratorio, guantes de nitrilo y gafas de seguridad). Los guantes de nitrilo deben ser desechados después de cada uso, ya que debido a sus características, no protegen contra el contacto directo con los disolventes orgánicos.

Todo el tratamiento previo de la muestra descrito en este procedimiento debe realizarse dentro de la vitrina de extracción.

10. Eliminación de los residuos.

Los disolventes orgánicos usados se depositan en garrafas de 5 L, etiquetadas como disolventes orgánicos halogenados y no halogenados, que son recogidos y tratados por la empresa gestora de los residuos tóxicos y/o peligrosos cada 3 semanas.

Los cartuchos usados son depositados en bidones de 50 L, etiquetado como envases de plástico contaminados, y el resto de material de laboratorio generado, guantes, papel y residuos sólidos, se deposita en bidones etiquetados como material adsorbente contaminado.

La muestra de agua que ha pasado por el cartucho, al no estar contaminada, puede tratarse como residuo no peligroso.

Los residuos generados por cada muestra analizada son: 1 – 1.2 L de agua, 10 – 20 mL de disolvente orgánico, un cartucho de SPE, guantes, papel de laboratorio y 1 – 2 gramos de sulfato de sodio anhidro.

11. Responsables.

El titular superior doctor, será responsable del cumplimiento global del procedimiento, y de generar el informe final de resultados.

El ayudante o auxiliar de laboratorio, será responsable del desarrollo del procedimiento analítico.

ARCHIVO Y CONSERVACIÓN DE LA DOCUMENTACIÓN

Este documento estará disponible en la Unidad de Cromatografía junto con los diferentes procedimientos de análisis. Asimismo estará disponible en la División de química del CIEMAT.

DOCUMENTACIÓN COMPLEMENTARIA

Determinación de compuestos organoclorados en lodos de aguas continentales.

 Centro de Investigaciones Energéticas, Medioambientales y Tecnológicas	DEPARTAMENTO DE TECNOLOGÍA DIVISIÓN DE QUÍMICA (DQ)	Código: QM-PT-TC-11
	PROCEDIMIENTO DE TRABAJO DETERMINACIÓN DE PESTICIDAS Y PCBs EN AGUAS CONTINENTALES	Edición:0

8.- DOCUMENTACIÓN QUE SUSTITUYE

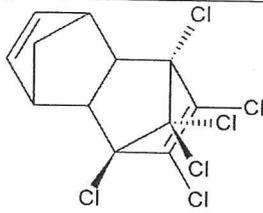
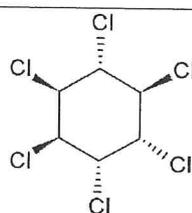
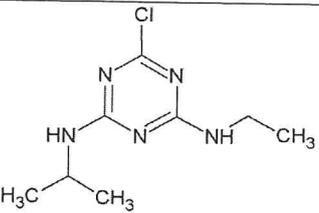
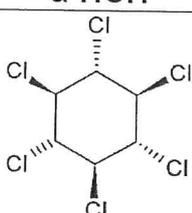
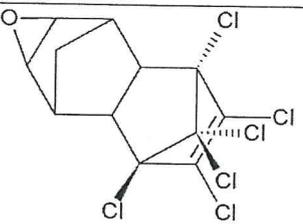
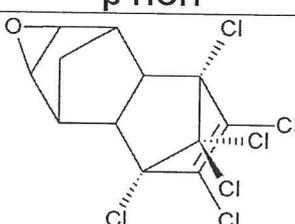
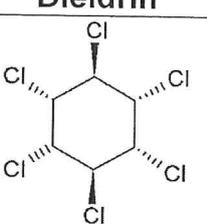
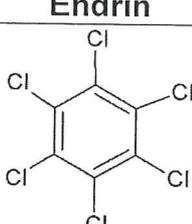
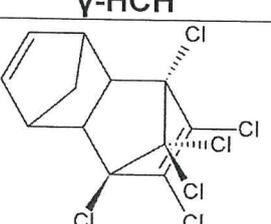
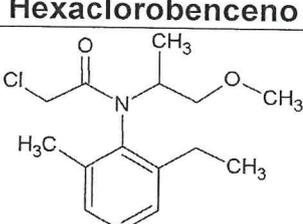
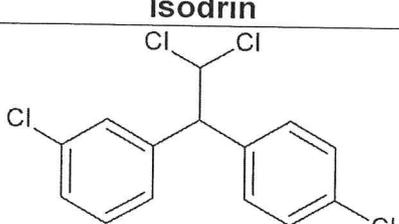
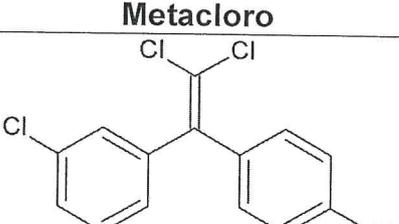
No procede.

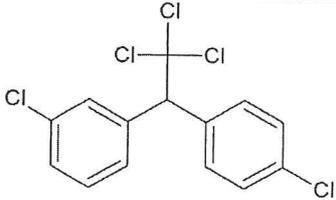
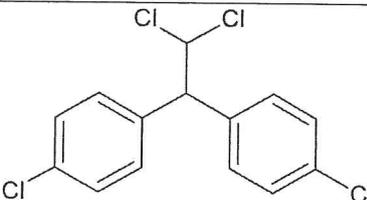
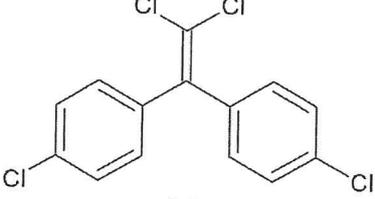
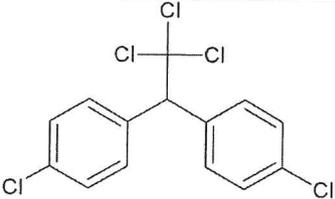
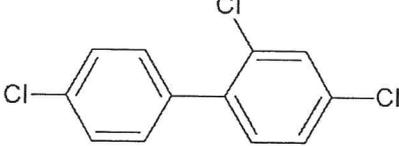
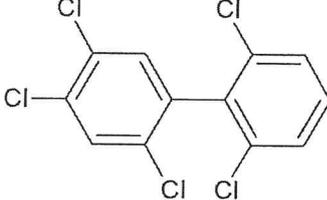
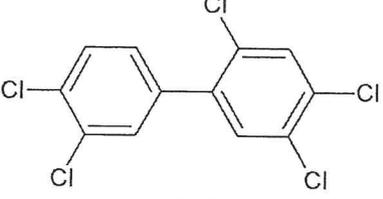
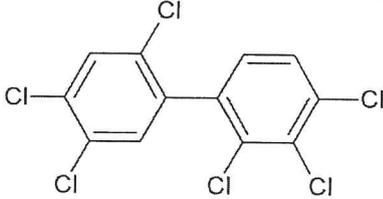
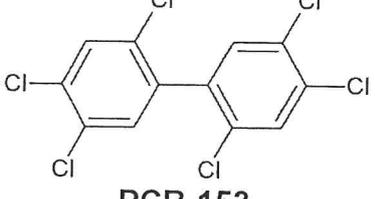
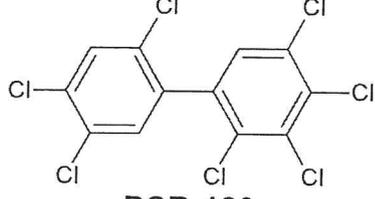
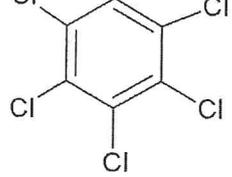
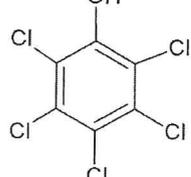
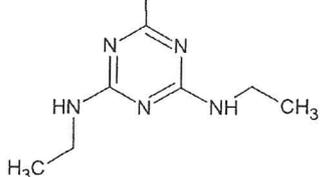
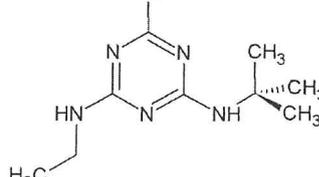
9.- ÁREAS DE DISTRIBUCIÓN

Unidad de Cromatografía y División de Química.

10.- ANEXOS

Anexo 1: Formulas químicas.

 <p>Aldrin</p>	 <p>α-HCH</p>
 <p>Atrazina</p>	 <p>β-HCH</p>
 <p>Dieldrin</p>	 <p>Endrin</p>
 <p>γ-HCH</p>	 <p>Hexaclorobenceno</p>
 <p>Isodrin</p>	 <p>Metacloro</p>
 <p>o,p'-DDD</p>	 <p>o,p'-DDE</p>

 <p>o,p'-DDT</p>	 <p>p,p'-DDD</p>
 <p>p,p'-DDE</p>	 <p>p,p'-DDT</p>
 <p>PCB-28</p>	 <p>PCB-101</p>
 <p>PCB-118</p>	 <p>PCB-138</p>
 <p>PCB-153</p>	 <p>PCB-180</p>
 <p>Pentaclorobenceno</p>	 <p>Pentaclorofenol</p>
 <p>Simazina</p>	 <p>Terbutilazina</p>

anexo 2: Patrones comerciales.

Pesticide Mix-5 (10 mL ciclohexano)	Número CAS	Concentración (ng/μL)
o,p'-DDE	3424-82-6	10
p,p'-DDE	72-55-9	10
o,p'-DDD	53-19-0	10
p,p'-DDD	72-54-8	10
o,p'-DDT	789-02-6	10
p,p'-DDT	50-29-3	10
Dieldrin	60-57-1	10
Endrin	72-20-8	10

Pesticide Mix-7 (10 mL ciclohexano)	Número CAS	Concentración (ng/μL)
α-HCH	319-84-6	10
β-HCH	319-85-7	10
δ-HCH	319-86-8	10
γ-HCH	58-89-9	10

Pesticide Mix-31 (10 mL acetona)	Número CAS	Concentración (ng/μL)
Atrazina	1912-24-9	10
Atrazina desetil	6190-65-4	10
Metazacloro	67129-08-2	10
Metacloro	51218-45-2	10
Simazina	122-34-9	10
Terbutilazina	5915-41-3	10

Pesticide Mix-33 (1 mL iso-octano)	Número CAS	Concentración (ng/ μ L)
Aldrin	309-00-2	10
p,p'-DDD	72-54-8	10
p,p'-DDE	72-55-9	10
p,p'-DDT	50-29-3	10
Diclorobenil	1194-65-6	10
Dieldrin	60-57-1	10
α -endosulfan	959-98-8	10
Endrin	72-20-8	10
α -HCH	319-84-6	10
β -HCH	319-85-7	10
γ -HCH	58-89-9	10
Heptacloro	76-44-8	10
Heptacloro-exo-epoxido	1024-57-3	10
Heptacloro-endo-epoxido	28044-83-9	10
Hexaclorobenceno	118-74-1	10
Hexacloro-1,3-butadieno	87-68-3	10
Isobenzan	297-78-9	10
Isodrin	465-73-6	10
Quintozeno	82-68-8	10
PCB 28	7012-37-5	10
PCB 52	35693-99-3	10
PCB 101	37680-73-2	10
PCB 118	31508-00-6	10
PCB 138	35065-28-2	10
PCB 153	35065-27-1	10
PCB 180	35065-29-3	10

Pesticide (10 mL ciclohexano)	Número CAS	Concentración (ng/ μ L)
Pentaclorobenceno	608-93-5	10
Pentaclorofenol	87-86-5	10

Anexo 3: Esquema del método de análisis.

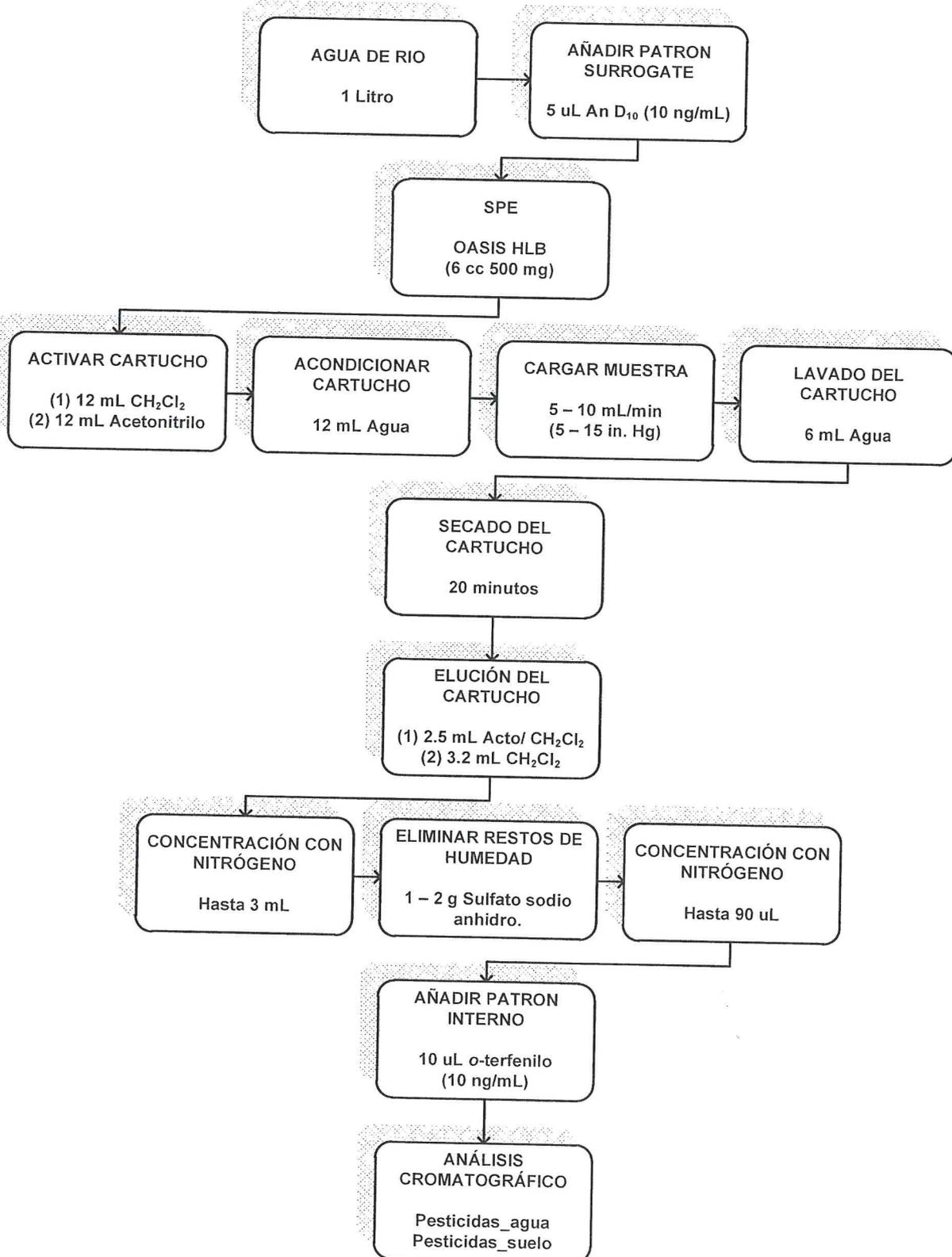
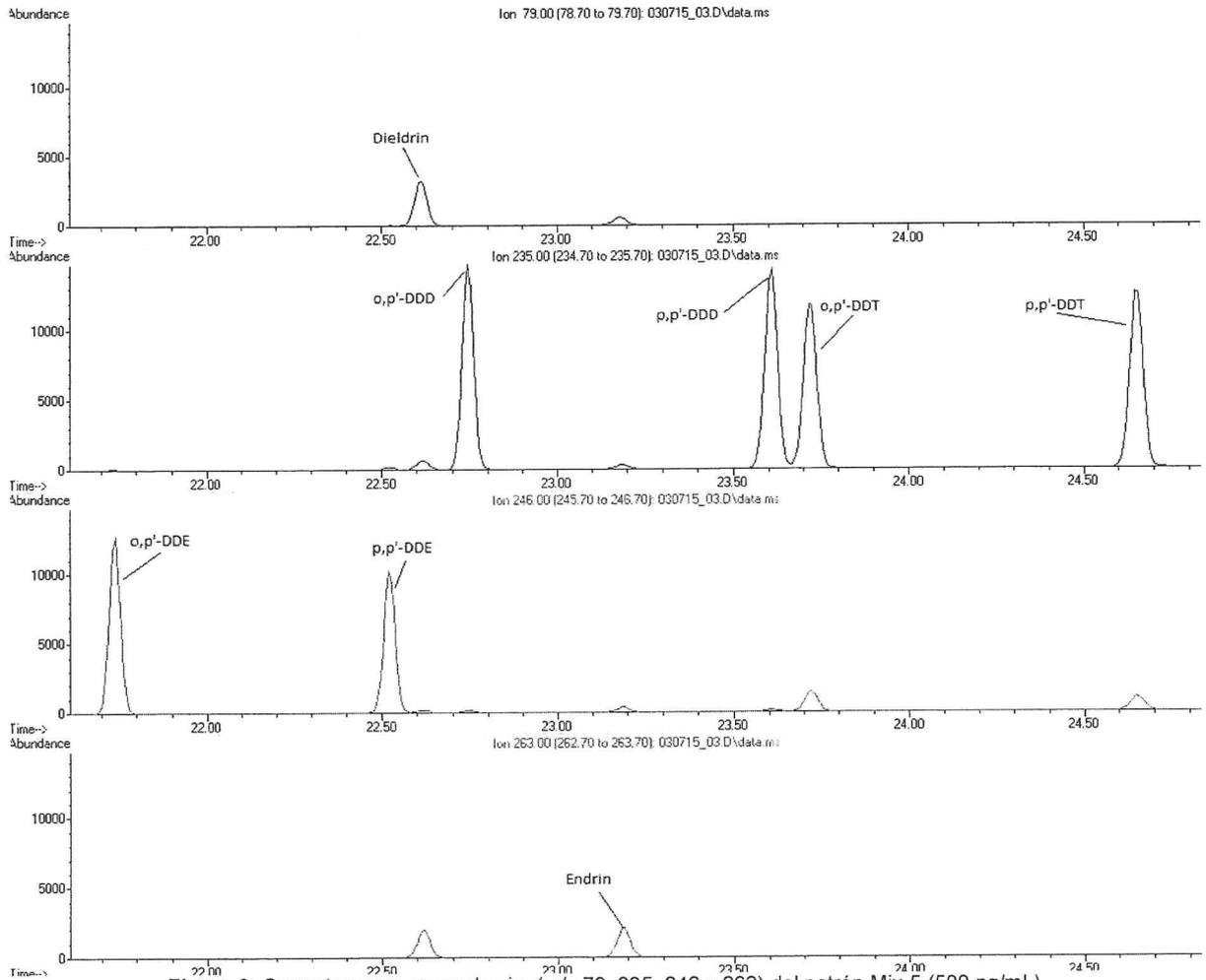


Figura 1: Esquema del método de análisis de pesticidas y PCBs en aguas de río

Anexo 4: Cromatogramas.Figura 2: Cromatograma en modo sim (m/z 79, 235, 246 y 263) del patrón Mix-5 (500 ng/mL).

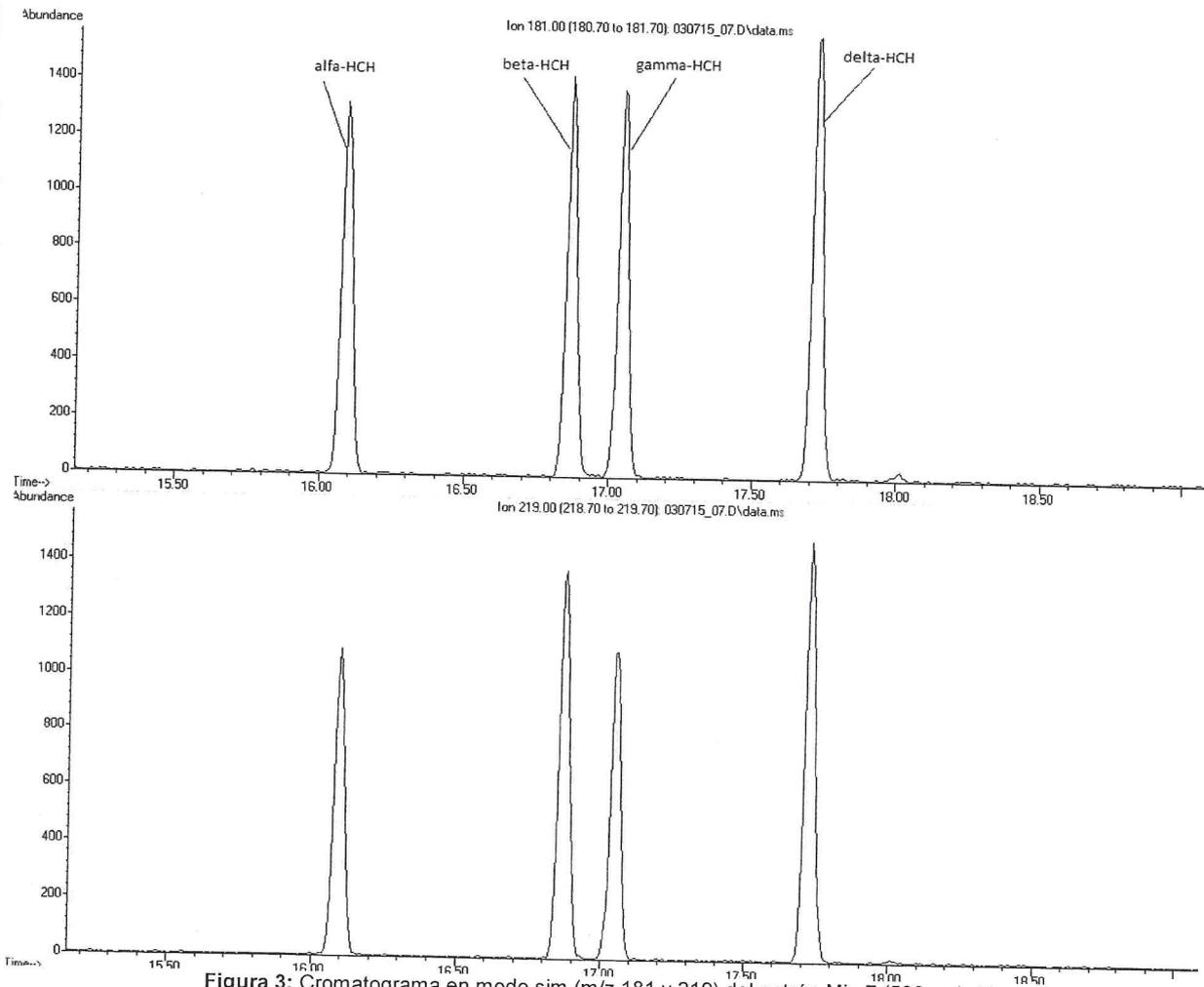


Figura 3: Cromatograma en modo sim (m/z 181 y 219) del patrón Mix-7 (500 ng/mL).

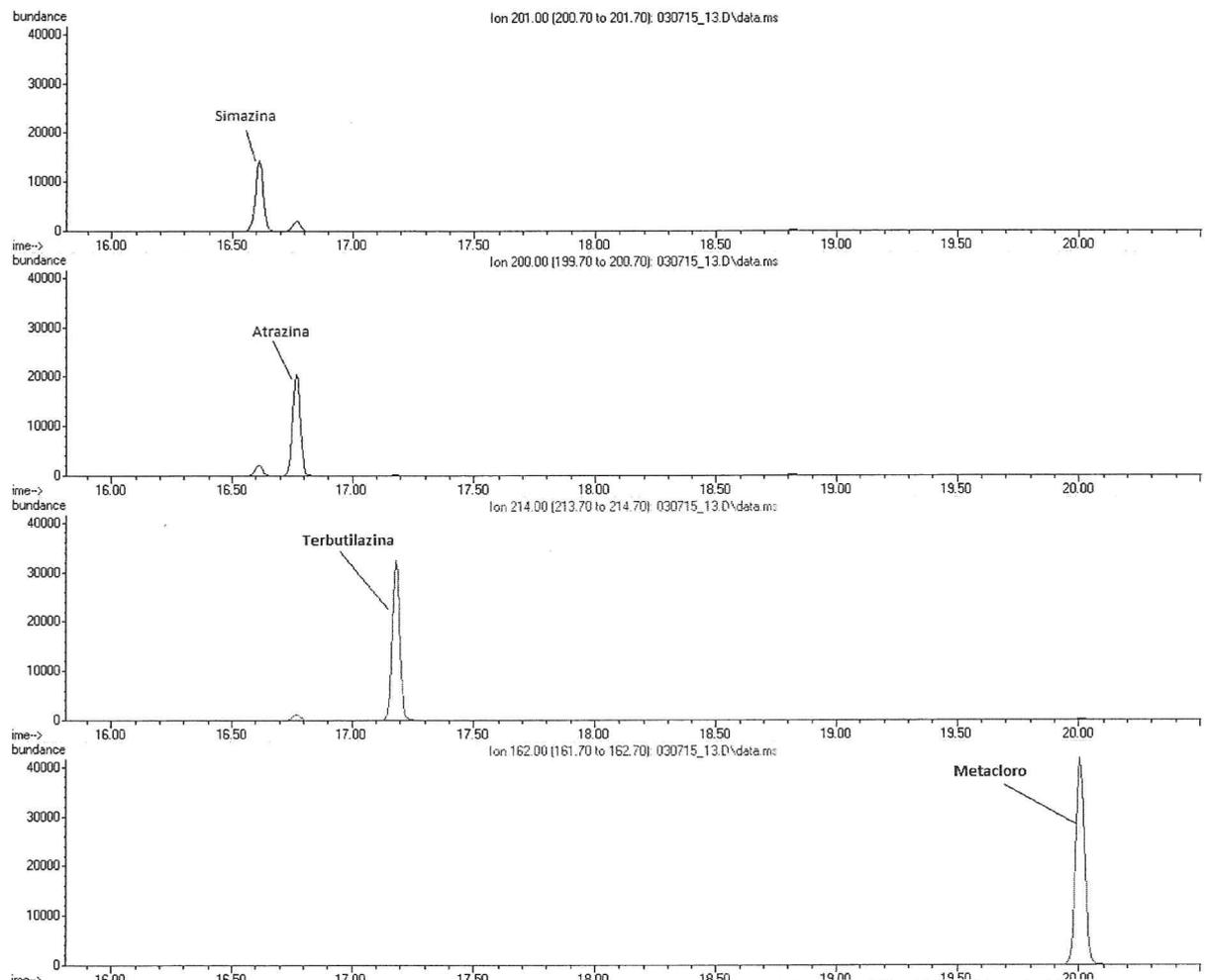


Figura 4: Cromatograma en modo sim (m/z 162, 200, 201 y 214) del patrón Mix-31 (1000 ng/mL).

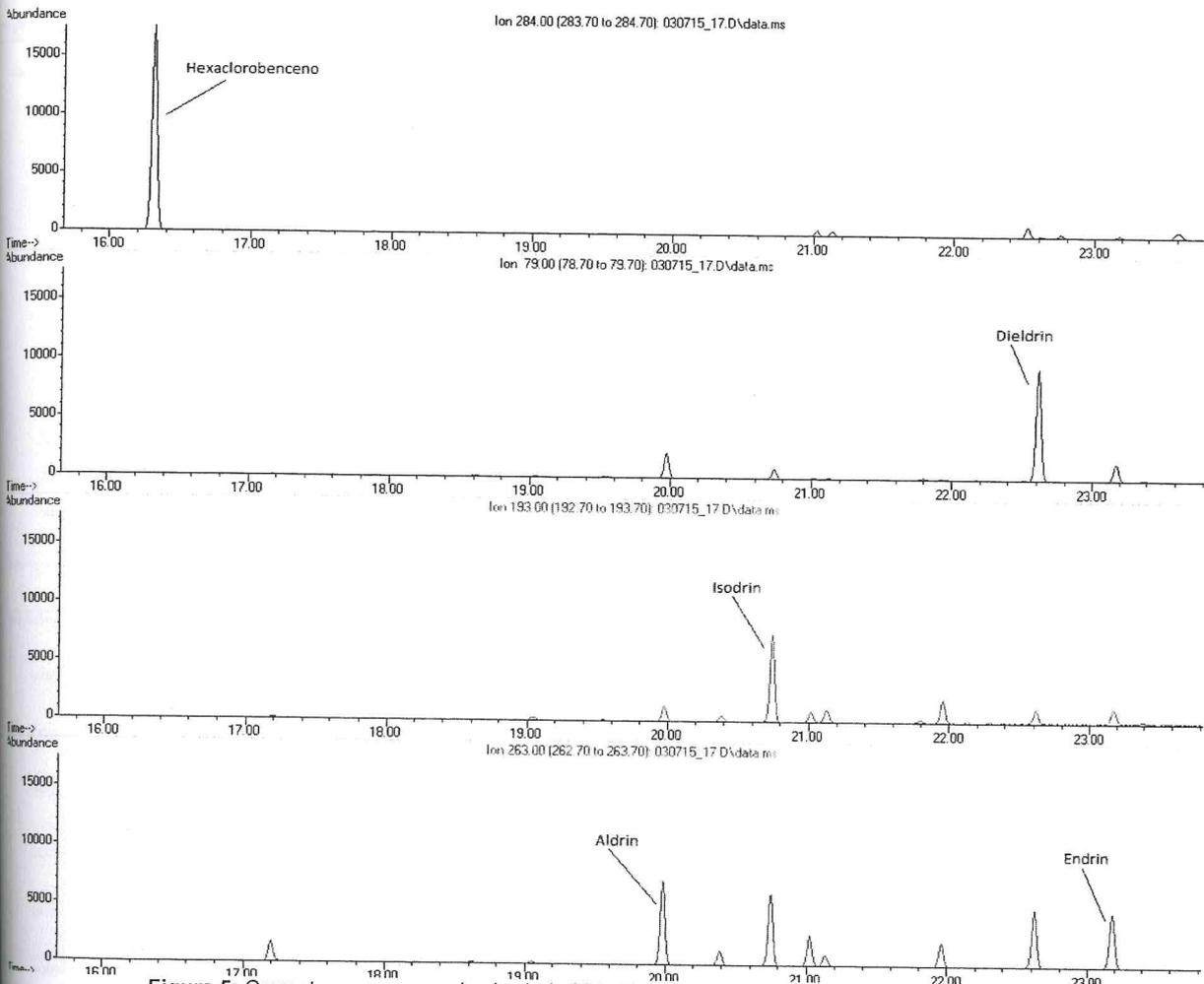


Figura 5: Cromatograma en modo sim (m/z 284, 79, 193 y 263) del patrón Mix-33 (500 ng/mL).

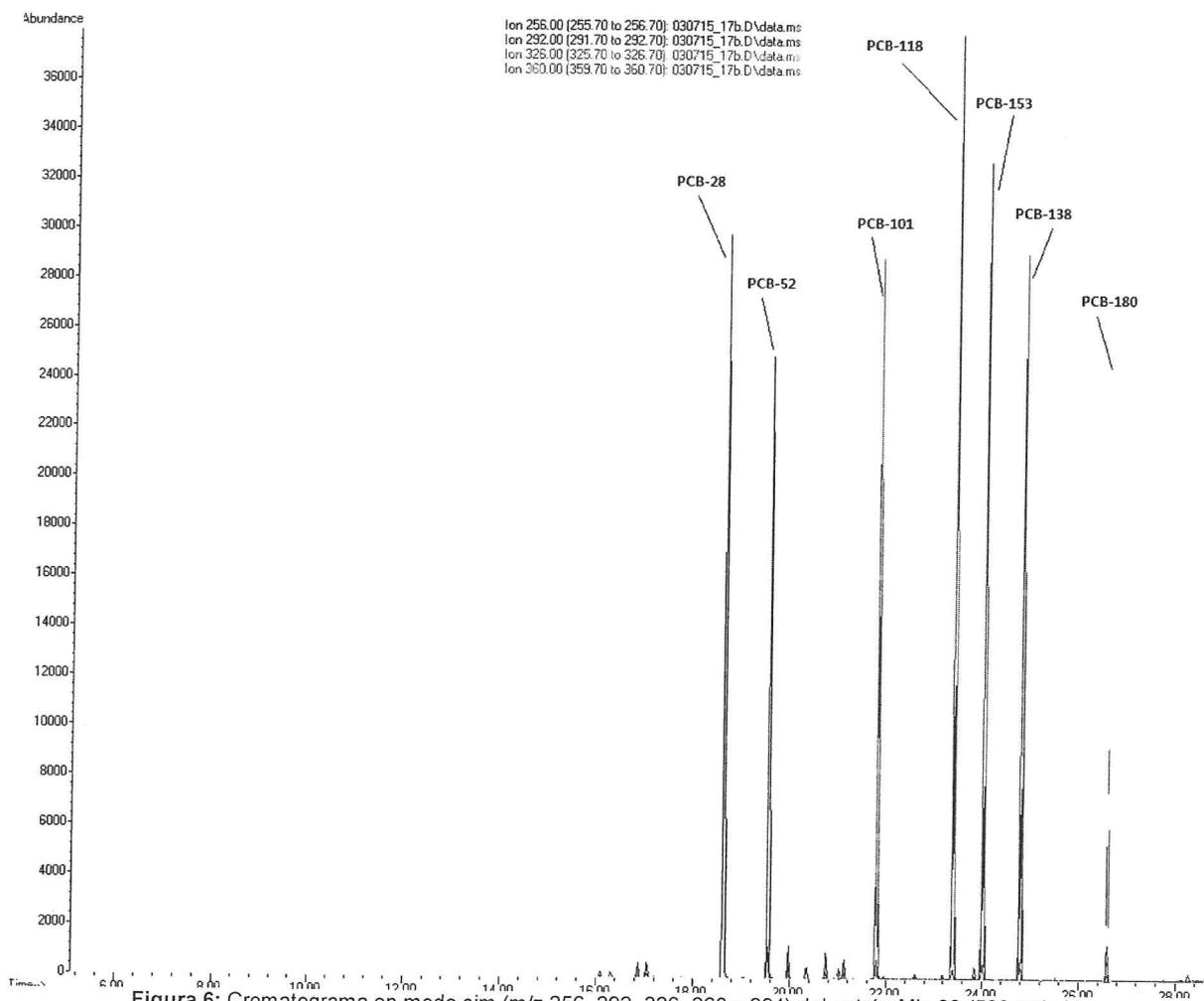


Figura 6: Cromatograma en modo sim (m/z 256, 292, 326, 360 y 394) del patrón Mix-33 (500 ng/mL).

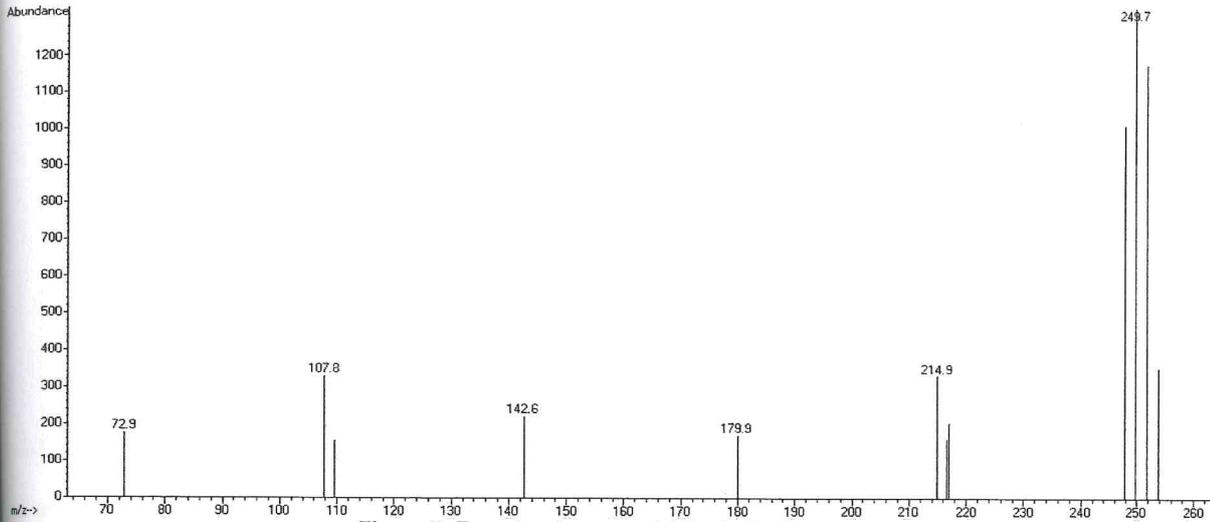
Anexo 5: Espectros de masas.

Figura 7: Espectro de masas del Pentaclorobenceno.

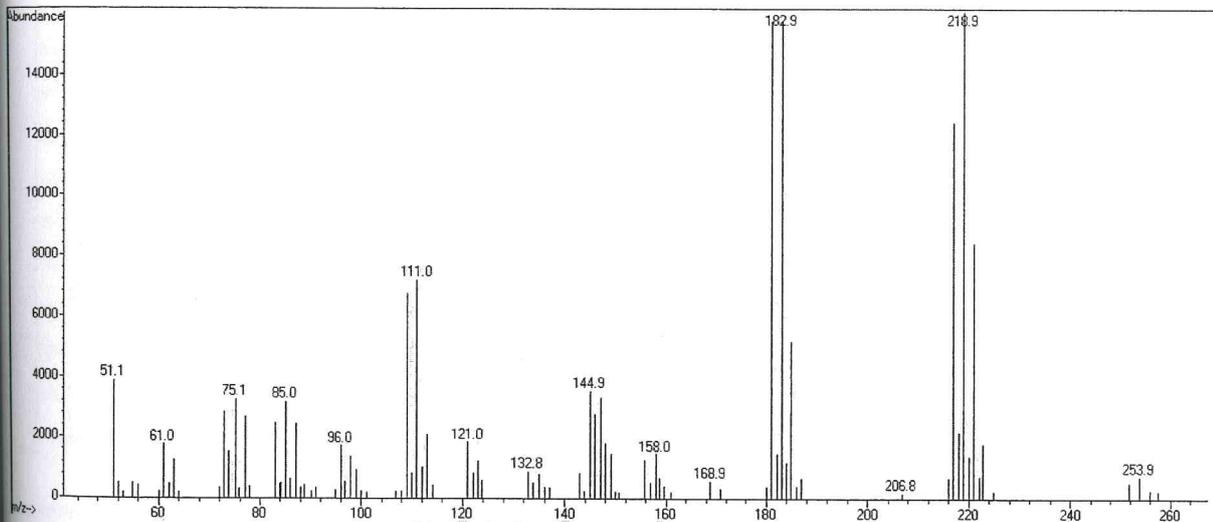
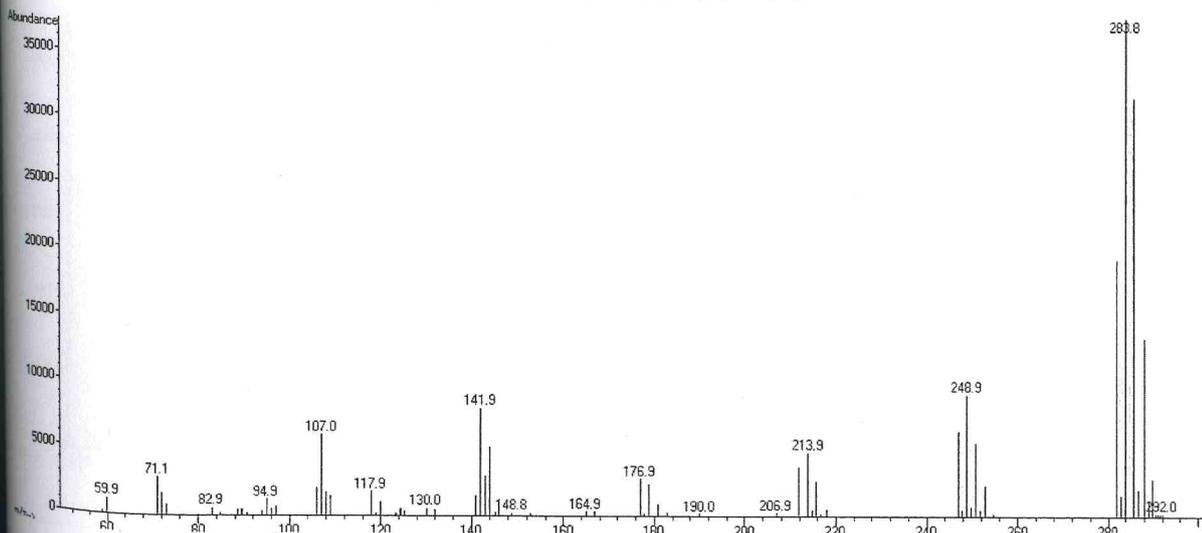
Figura 8: Espectro de masas del α -HCH.

Figura 9: Espectro de masas del Hexaclorobenceno.

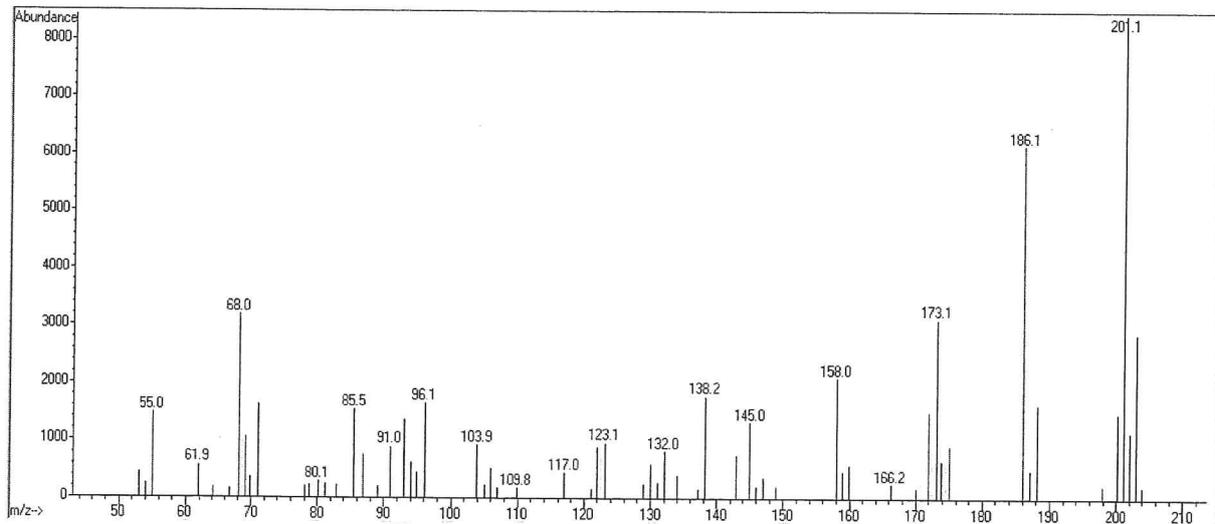


Figura 10: Espectro de masas de la Simazina.

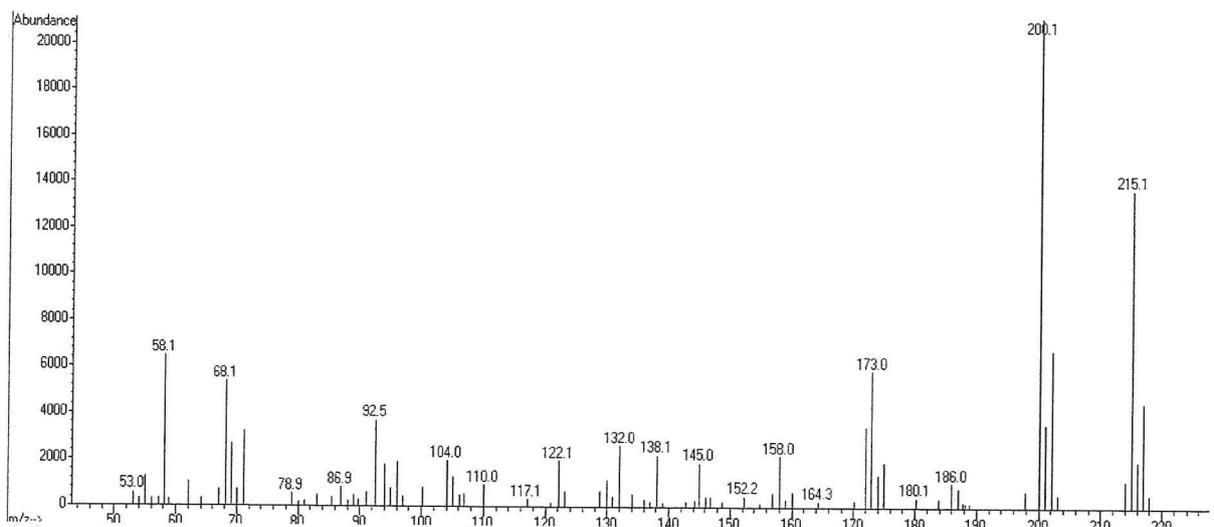
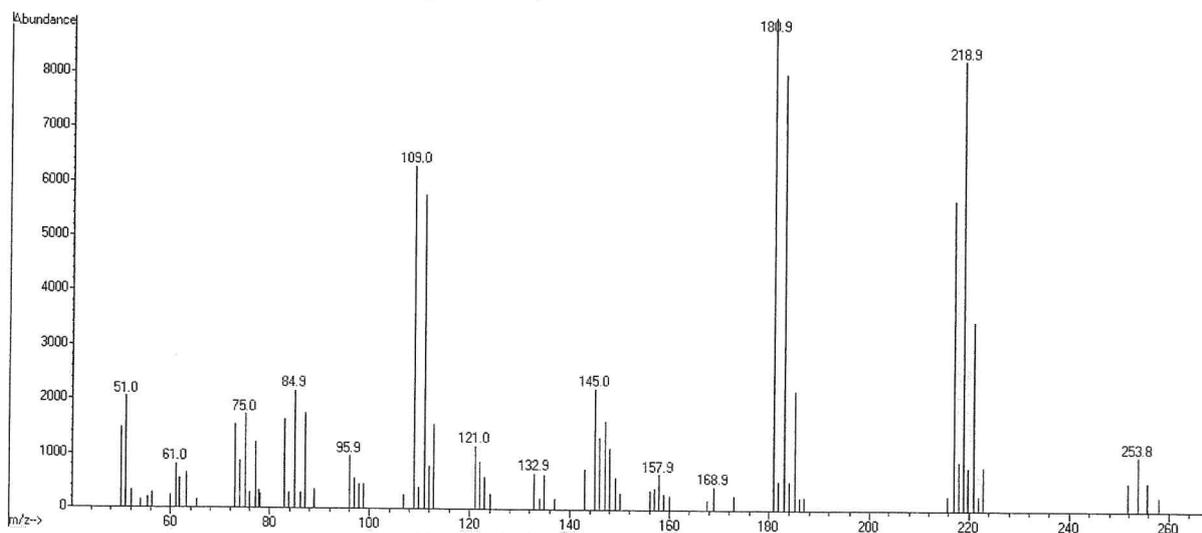


Figura 11: Espectro de masas de la Atrazina.

Figura 12: Espectro de masas del β -HCH.

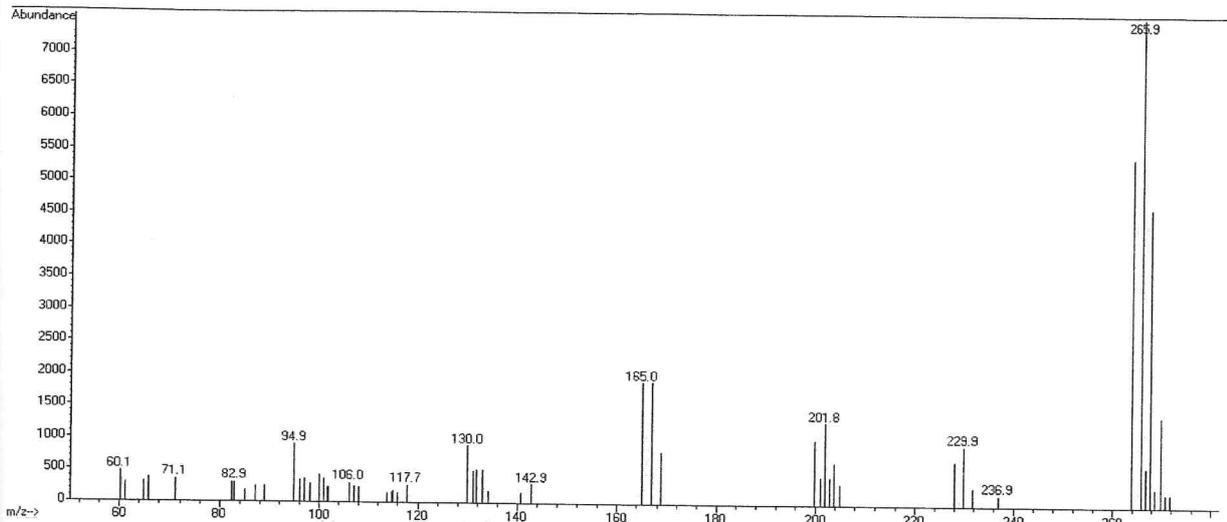


Figura 13: Espectro de masas del Pentaclorofenol.

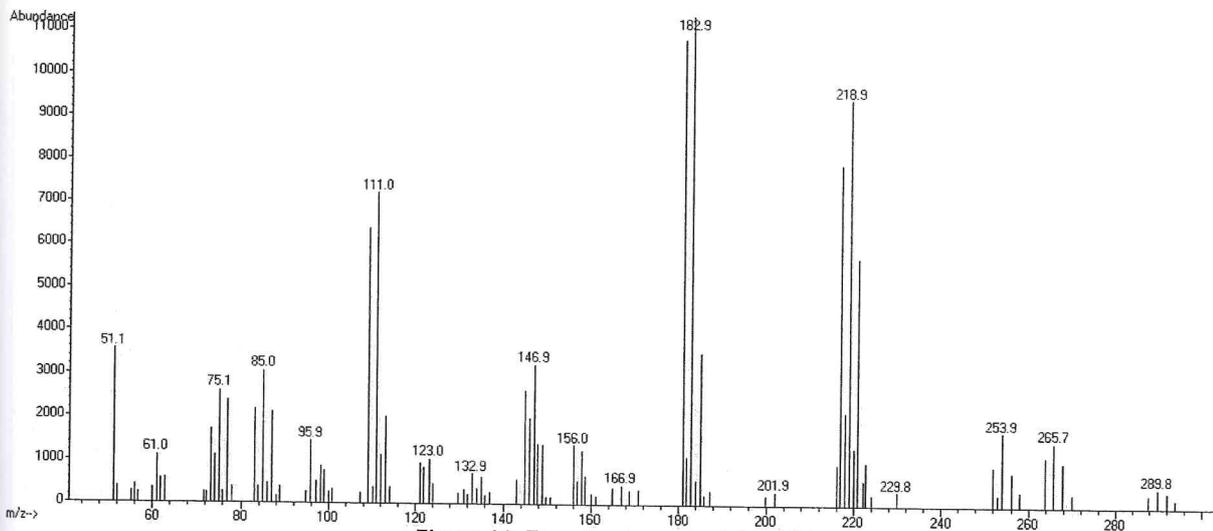
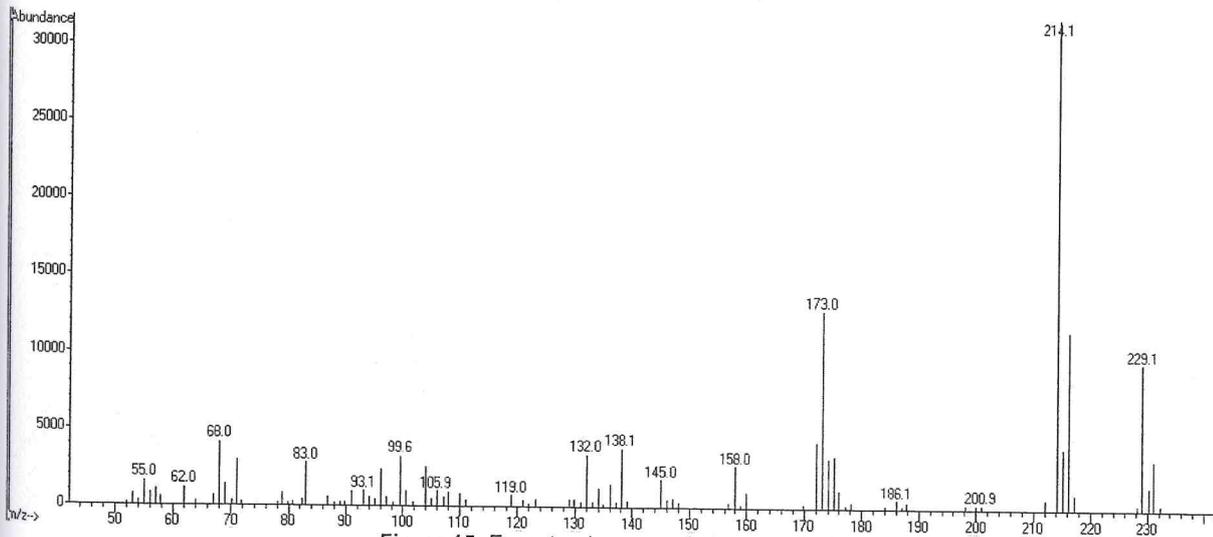
Figura 14: Espectro de masas del γ -HCH.

Figura 15: Espectro de masas de la Terbutilzaina

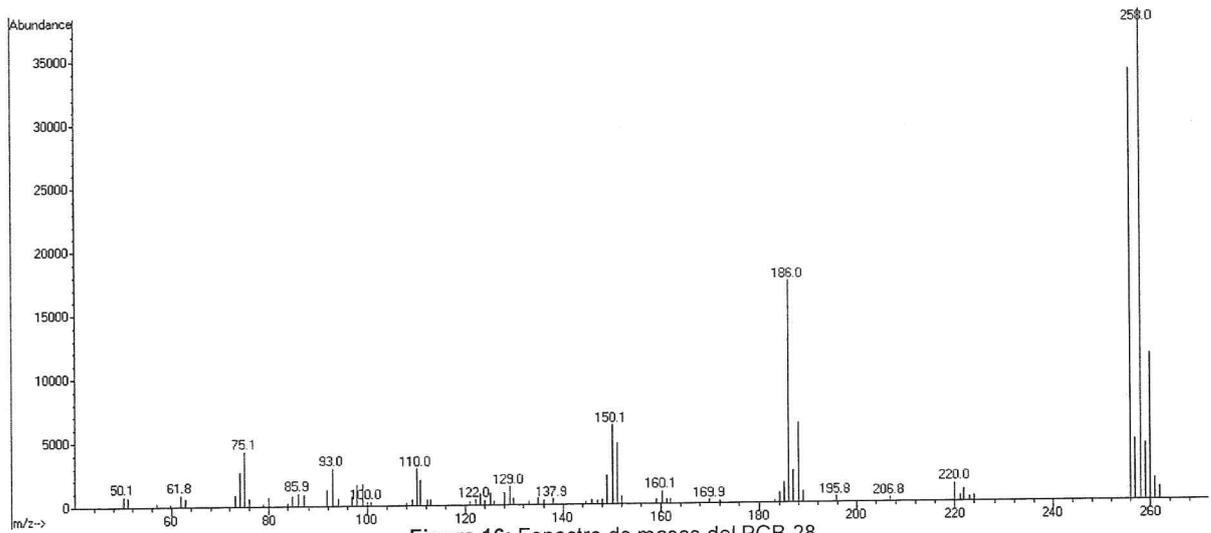


Figura 16: Espectro de masas del PCB-28.

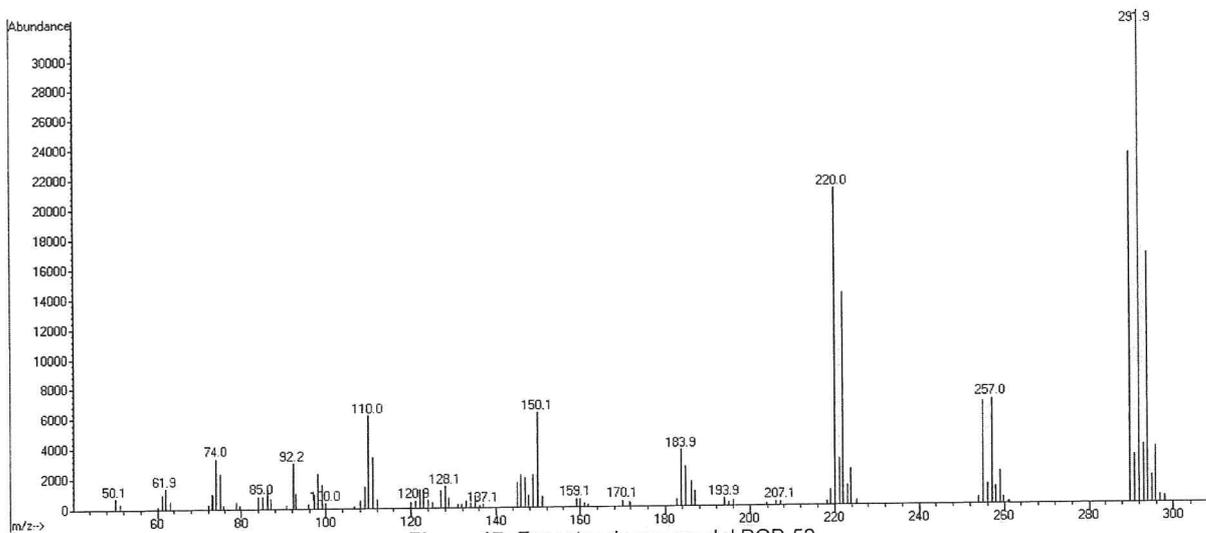


Figura 17: Espectro de masas del PCB-52.

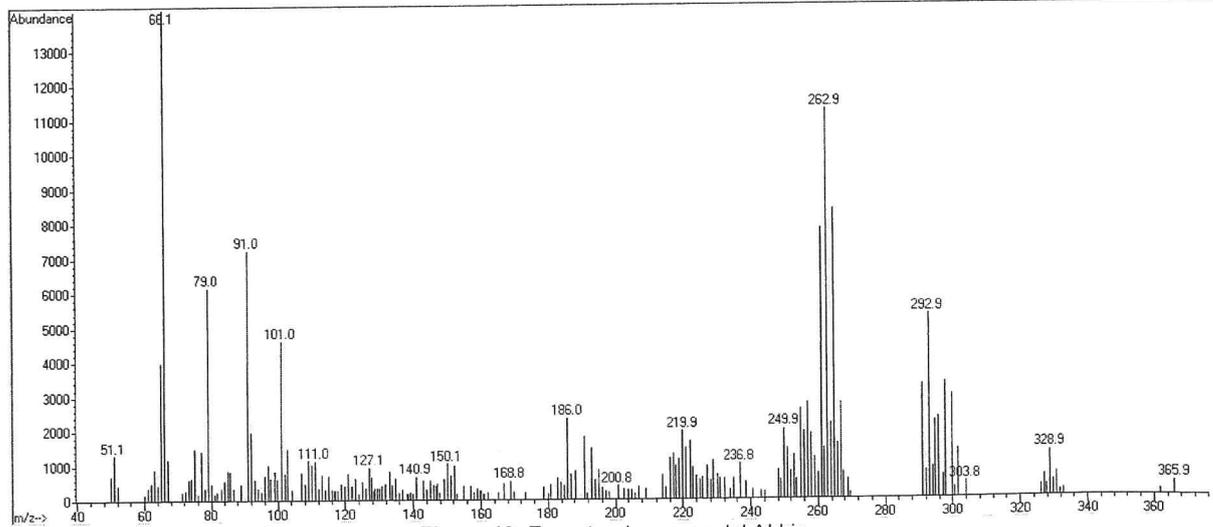
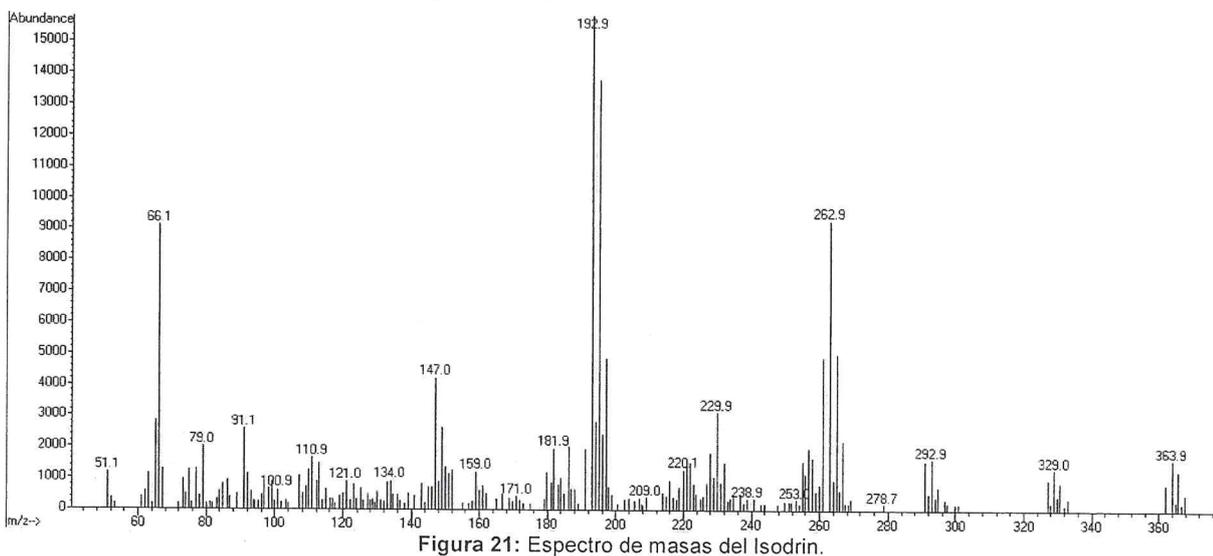
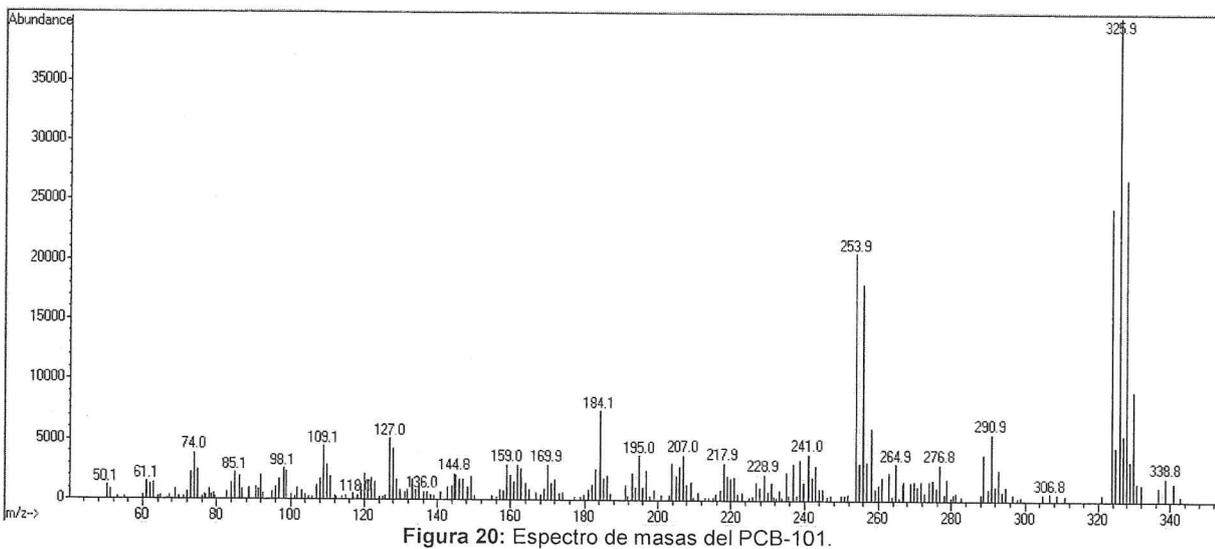
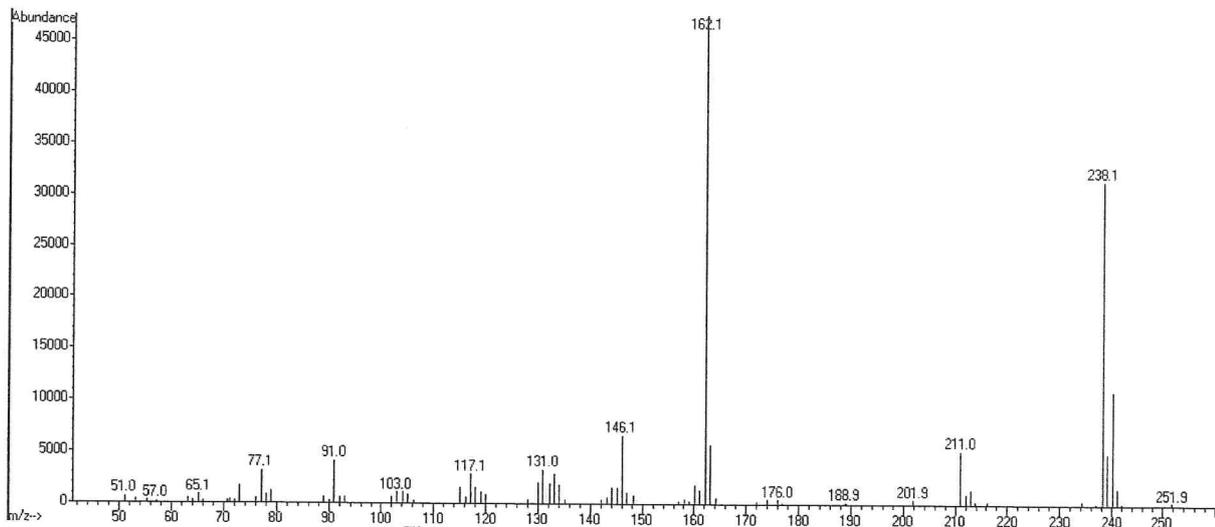
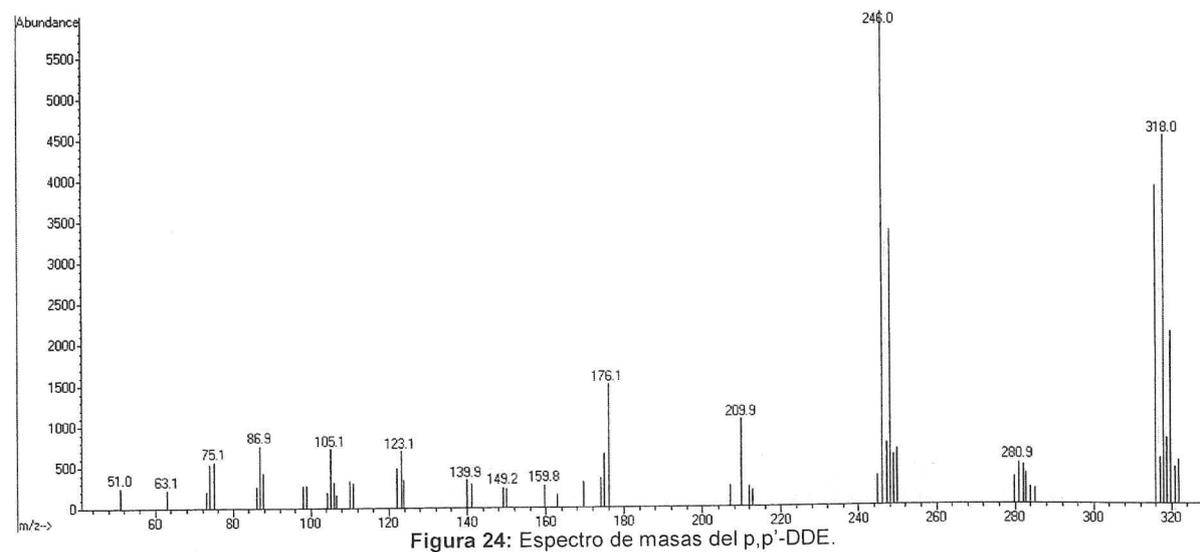
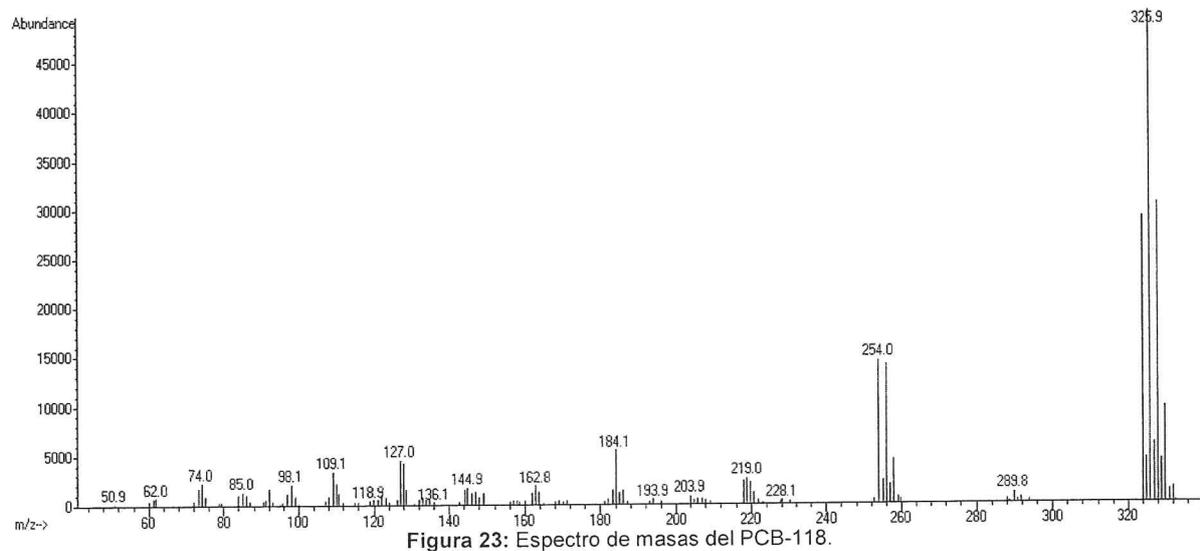
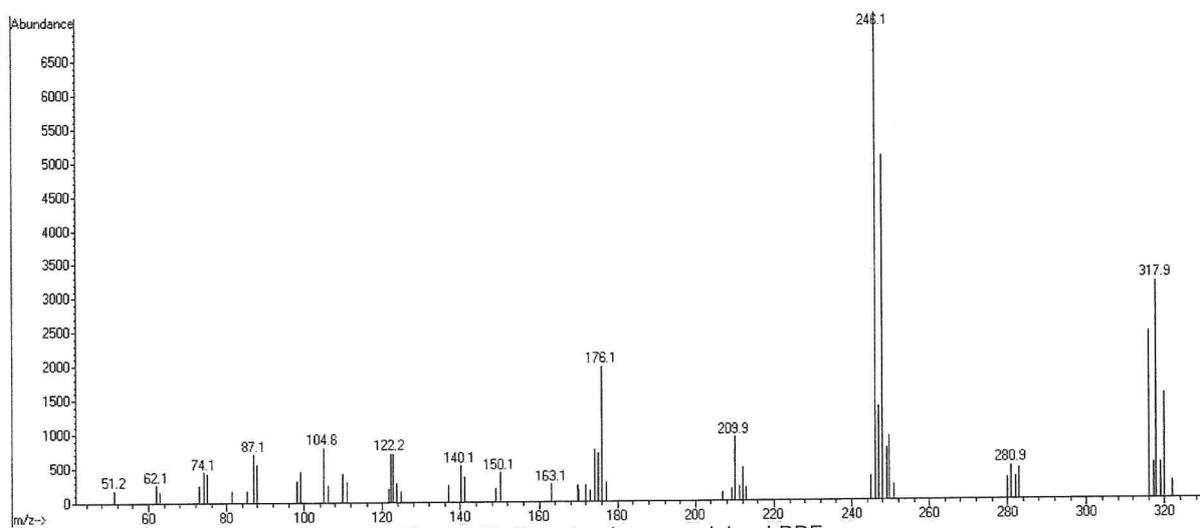
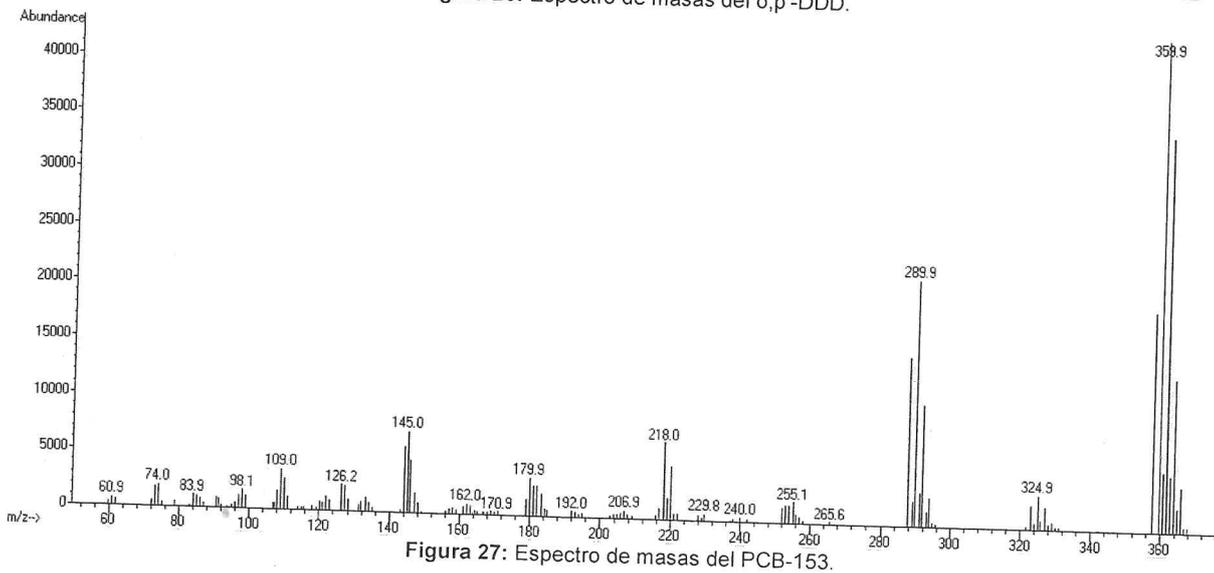
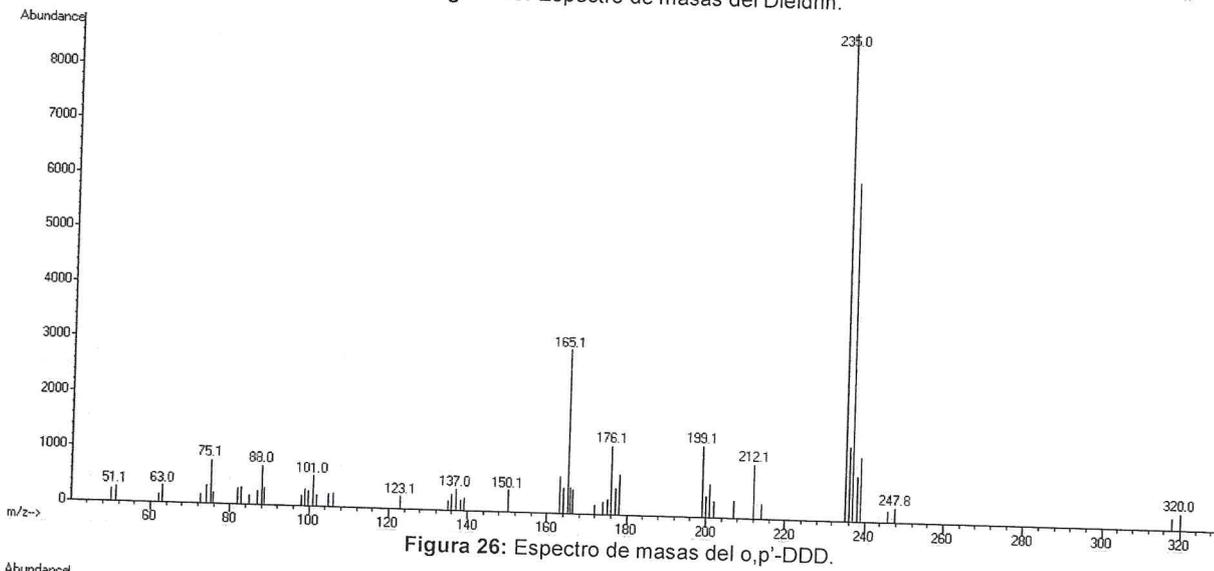
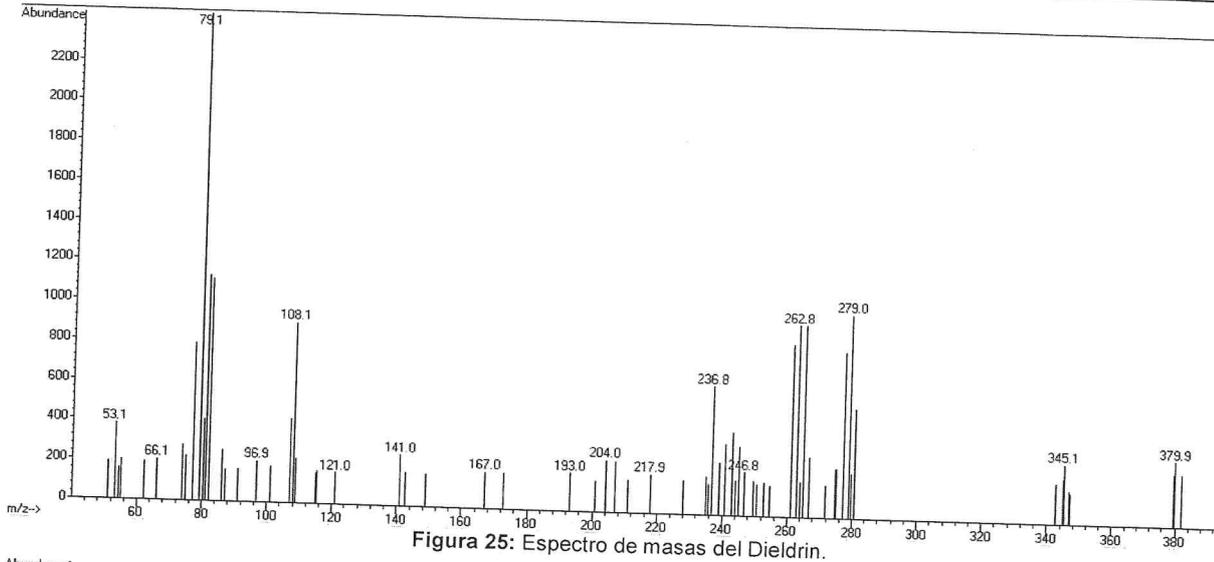


Figura 18: Espectro de masas del Aldrin.







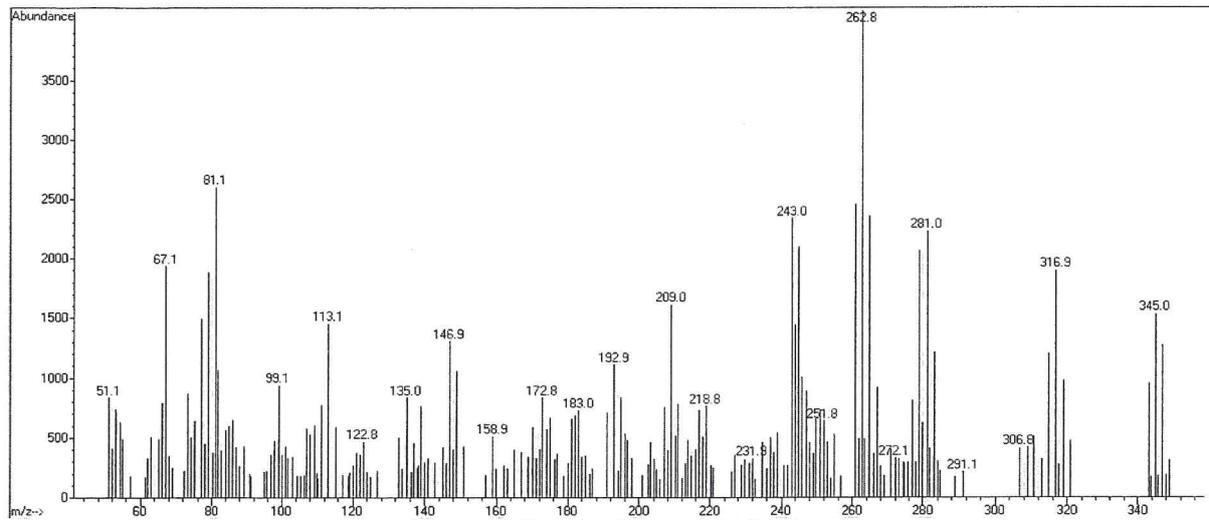


Figura 28: Espectro de masas del Endrin.

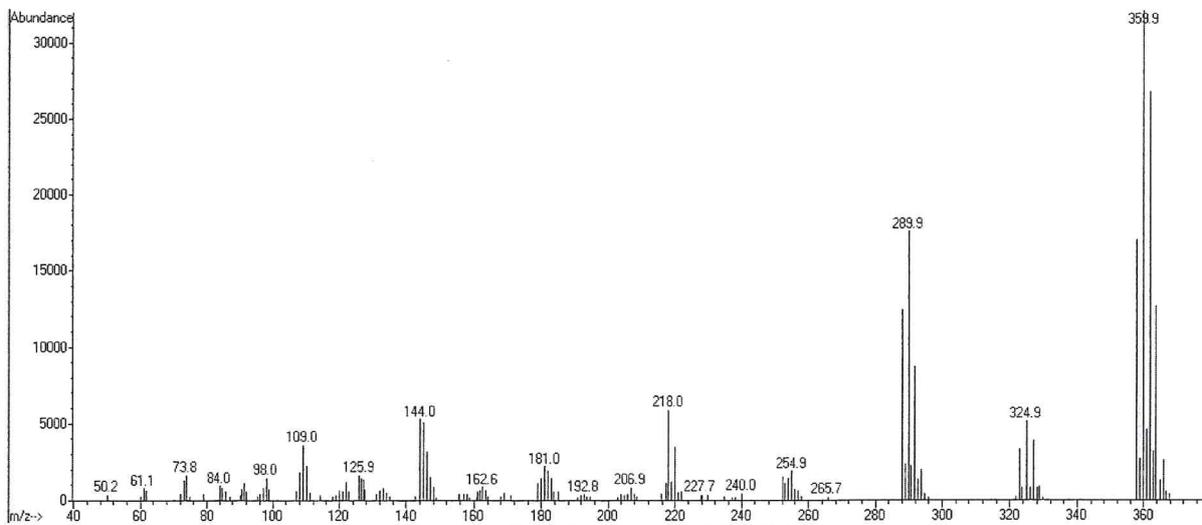


Figura 29: Espectro de masas del PCB-138.

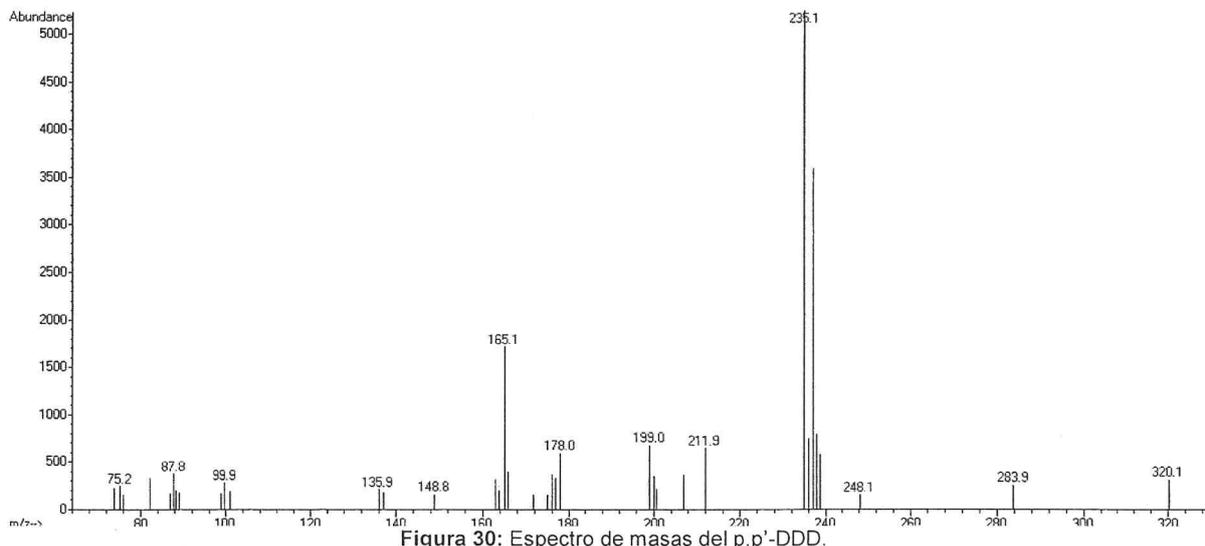
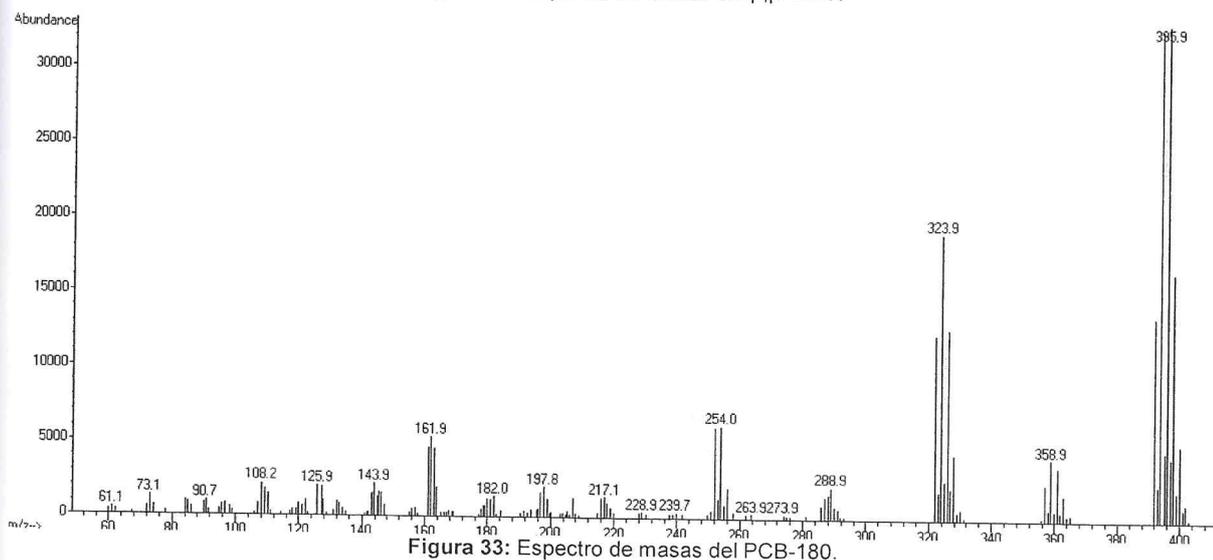
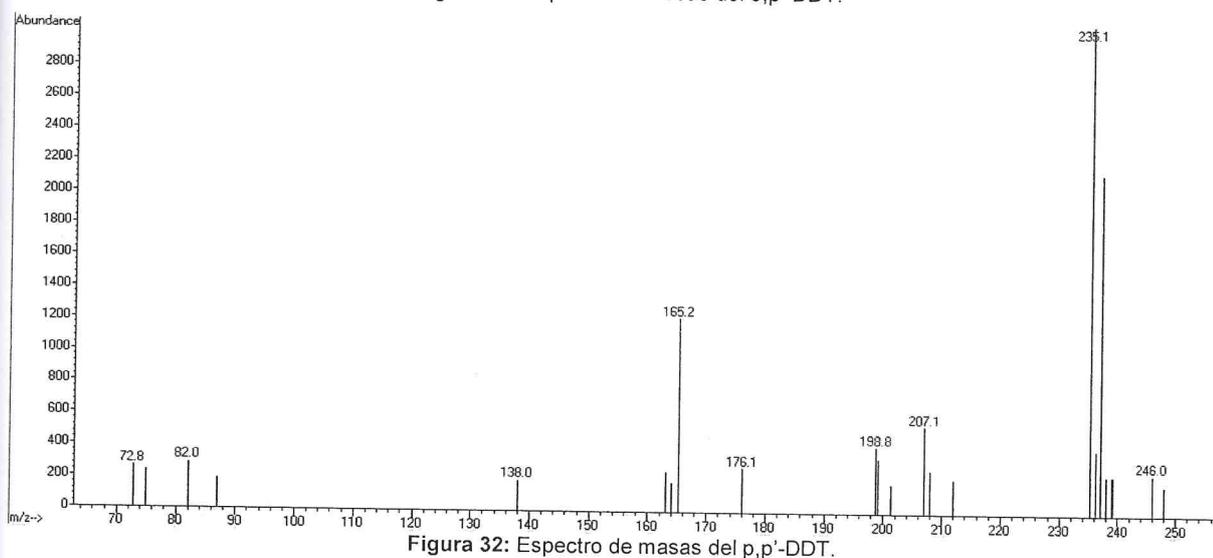
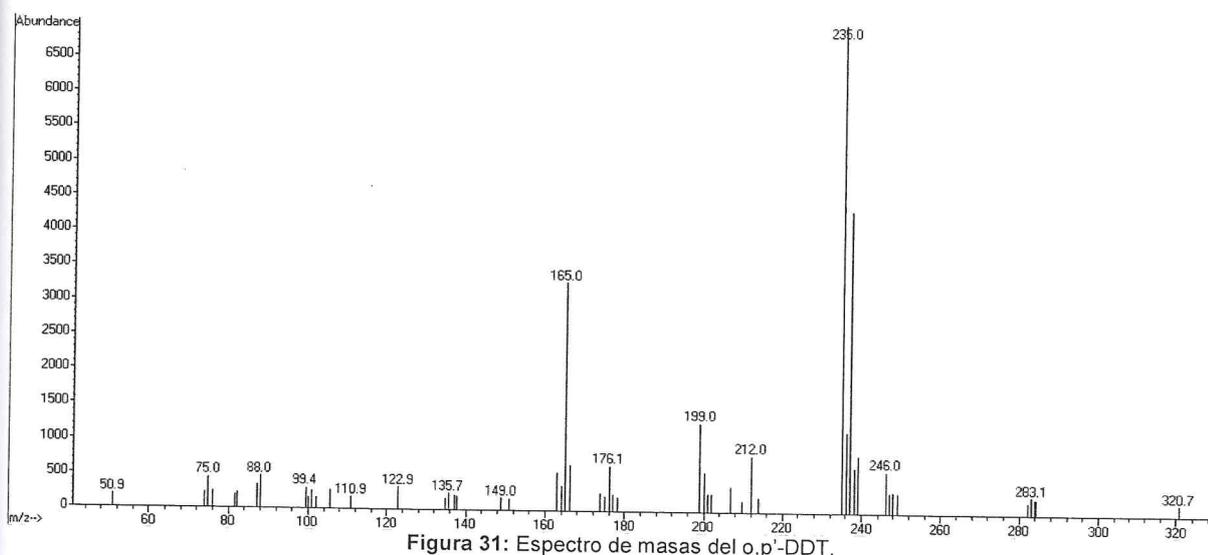
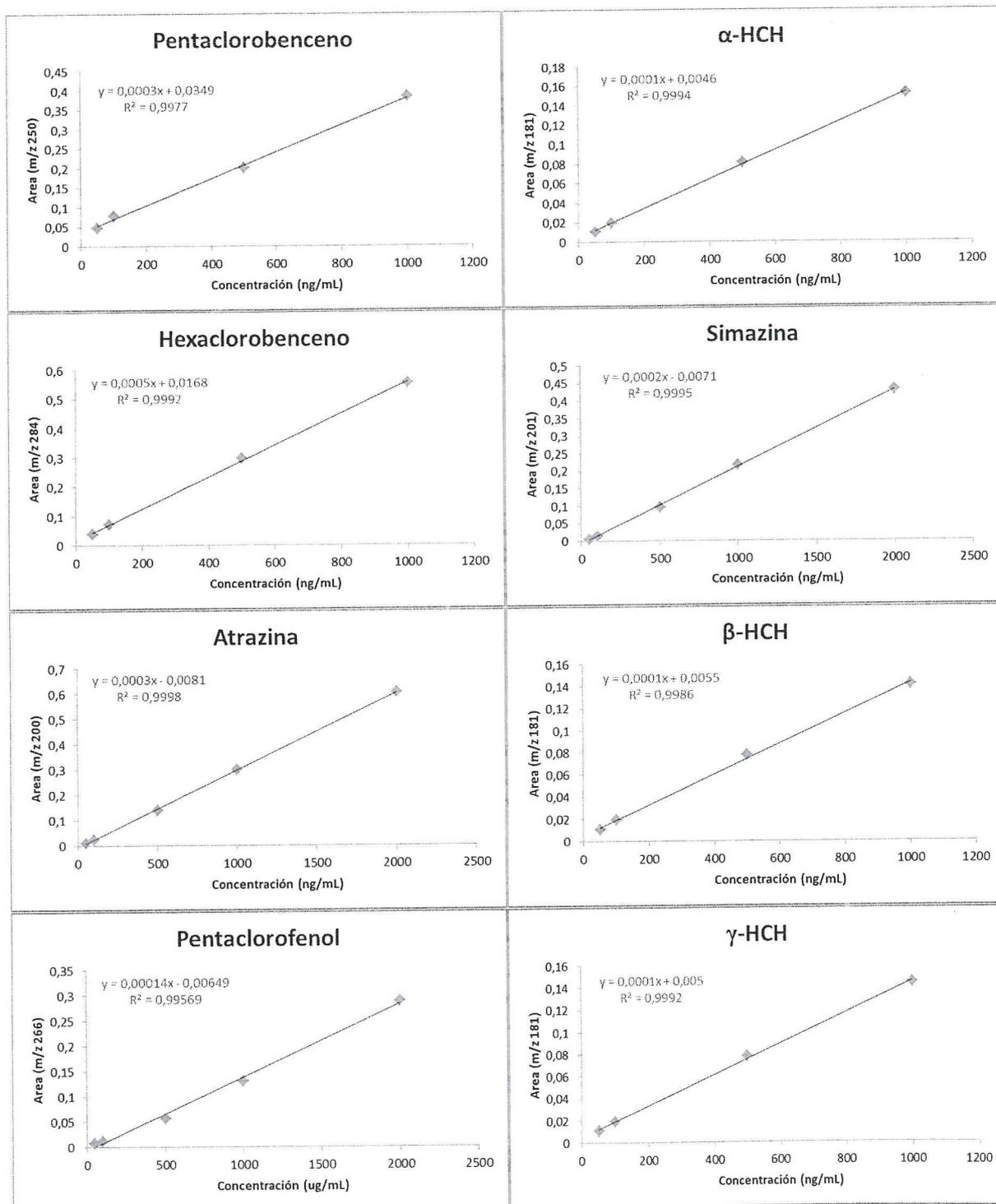
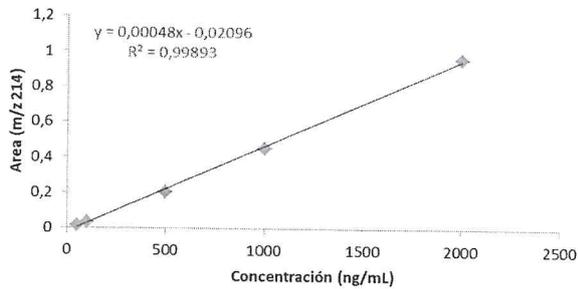
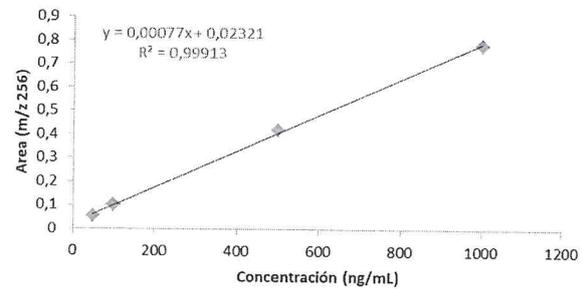
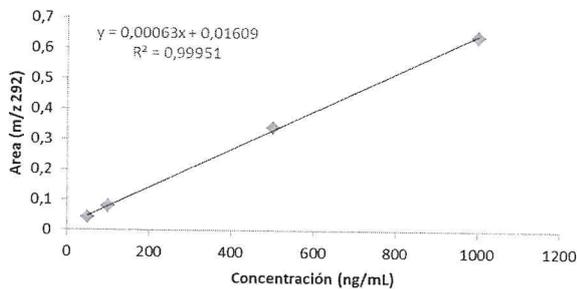
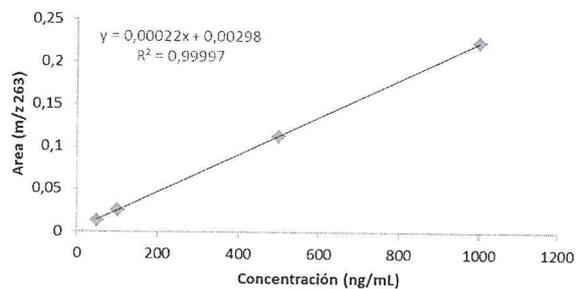
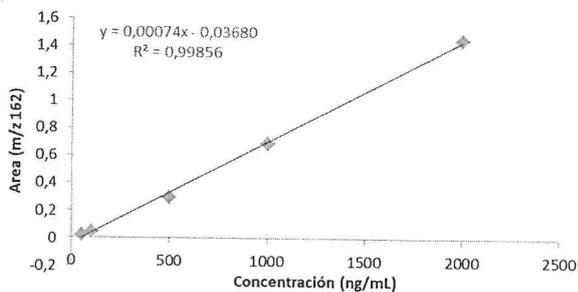
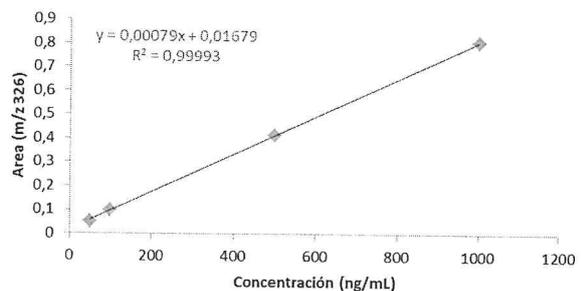
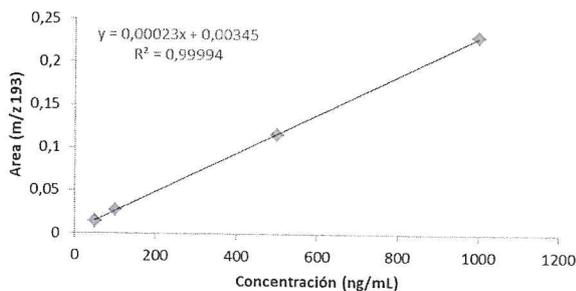
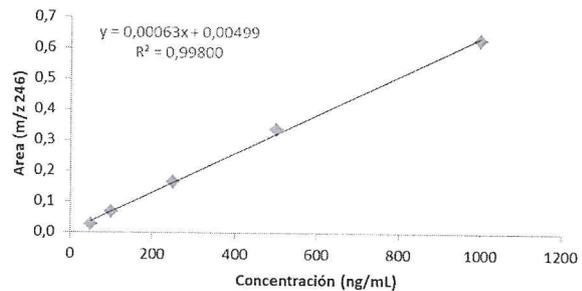


Figura 30: Espectro de masas del p,p'-DDD.



Anexo 6: Rectas de calibrado.

Terbutilazina**PCB 28****PCB 52****Aldrin****Metacloro****PCB 101****Isodrin****o,p'-DDE**

 Centro de Investigaciones Energéticas, Medioambientales y Tecnológicas	DEPARTAMENTO DE TECNOLOGÍA DIVISIÓN DE QUÍMICA (DQ)	Código: QM-PT-TC-11
	PROCEDIMIENTO DE TRABAJO DETERMINACIÓN DE PESTICIDAS Y PCBs EN AGUAS CONTINENTALES	Edición:0

Anexo 7: Control de calidad.

Compuesto	LD (ng/L)	LQ (ng/L)	Linealidad (ng/mL)
Pentaclorobenceno	0,4	1	10 – 1000
α-HCH	1	2	10 – 1000
Hexaclorobenceno	0,6	1	10 – 1000
Simazina	4	6	10 – 2000
Atrazina	3	5	10 – 2000
β-HCH	0,6	1	10 – 1000
Pentaclorofenol	6	8	10 – 2000
γ-HCH	1	2	10 – 1000
Terbutilazina	6	8	10 – 2000
PCB 28	0,9	1	10 – 1000
PCB 52	1	2	10 – 1000
Aldrin	1	3	10 – 1000
Metacloro	6	8	10 – 2000
PCB 101	1	2	10 – 1000
Isodrin	1	2	10 – 1000
o,p'-DDE	1	2	10 – 1000
PCB 118	1	2	10 – 1000
p,p'-DDE	1	2	10 – 1000
Dieldrin	1	2	10 – 1000
o,p'-DDD	1	1	10 – 1000
PCB 153	0,9	2	10 – 1000
Endrin	1	3	10 – 1000
PCB 138	1	2	10 – 1000
p,p'-DDD	1	2	10 – 1000
o,p'-DDT	1	2	10 – 1000
p,p'-DDT	1	2	10 – 1000
PCB 180	1	2	10 - 4000