TÍTULO: Determinación de bifenilos policlorados en muestras de suelo mediante cromatografía de gases

---

1.- INTRODUCCIÓN

Este protocolo describe un procedimiento para la determinación cuantitativa en el suelo de doce bifenilos policlorados (PCBs). El método es aplicable para el análisis cuantitativo en todos los tipos de suelo.

2.- PRINCIPIO

Los PCBs objeto de este protocolo, se extraen de la muestra de suelo con un disolvente hidrocarbonado. Tras una concentración del extracto, se eliminan los compuestos polares haciendo pasar el extracto concentrado a través de una columna rellena de óxido de aluminio.

Se concentra el eluato, y el extracto final se analiza por cromatografía de gases. Los diversos compuestos se separan mediante una columna capilar con una fase estacionaria de baja polaridad. La detección se realiza mediante un sistema de detección adecuado (detector de captura electrónica, ECD) o detector selectivo de masas

3.- MATERIAL

- Embudo de decantación de 1 litro de capacidad.
- Probetas de 50 ml.
- Pipetas de 2 y 5 ml.

- Matraces aforados de 1 ml.

- Material habitual de vidrio de laboratorio.

- Columna capilar para cromatografía de gases impregnada con una fase estacionaria de media polaridad (BP-5, SBP-5, CP-Sil 8, HP-5, o equivalentes), de 60 m de longitud y con un diámetro interno adecuado a las características del cromatógrafo que se pretenda utilizar.

- Microjeringas para cromatografía de gases.

El material de vidrio a utilizar deberá estar completamente limpio, debiendo enjuagarse previamente a su utilización con agua desmineralizada, con la propia muestra o con el reactivo a utilizar según sea el caso.

El material volumétrico a utilizar deberá ser siempre de clase A.

4.- APARATOS

- Aparato de agitación, con movimiento horizontal (200 a 300 oscilaciones por minuto).

- Baño de agua, que pueda calentarse a 100 ºC.

- Generador de ultrasonidos, con una potencia mínima de 300 W.

- Evaporador rotatorio provisto de un baño de agua con control adecuado de temperatura.

- Cromatógrafo de gases, equipado con un sistema de inyección no discriminante, columna capilar y detector adecuado (captura electrónica o selectivo de masas) para el análisis que se pretenda realizar.

5.- REACTIVOS

- Agua desmineralizada de calidad ISO tipo 1 (Milli Q o equivalente).

- Éter de petróleo, de intervalo de ebullición entre 40ºC y 60ºC.

- Acetona.

- *n*-Heptano.

- Sulfato sódico anhidro.

- Cloruro sódico.

- Papel de filtro de tamaño de poro fino (Whatman nº 2 o equivalente).

- Columnas para cromatografía preempaquetadas con 1 g de alúmina neutra (IST Isolute 714-0100-C o equivalente).

- Patrones certificados de PCBs (PCB-28, PCB-52, PCB-101, PCB-118, PCB-138, PCB-149, PCB-151, PCB-153, PCB-170, PCB 174, PCB-180 y PCB-187).

Todos los disolventes y reactivos a utilizar deberán ser de calidad P.A. o, preferiblemente, de calidad "para análisis de residuos". Todos los reactivos de calidad P.A. a utilizar, deberán ser chequeados mediante la realización de un análisis en blanco para comprobar que no contienen compuestos que puedan dar lugar a interferencias.

6.- PROCEDIMIENTO

6.1.- PREPARACIÓN DE DISOLUCIONES PATRÓN

Preparar disoluciones patrón estándar individuales de aproximadamente 0,5 mg/ml en *n*-heptano; combinar pequeñas cantidades de las disoluciones individuales en una disolución mezcla inicial de trabajo que contenga aproximadamente 5 μg/ml de cada uno de los compuestos individuales.

Preparar series de patrones a partir de la disolución inicial de trabajo, hasta concentraciones de 100 ng/ml, para realizar las rectas de calibración.

6.2.- PREPARACIÓN DE LA MUESTRA

6.2.1.- Extracción de la muestra

Pesar 20 gramos de la muestra de suelo, previamente tamizada a 2 mm, en un matraz

Erlenmeyer de 100 ml. Añadir 50 ml de acetona a la muestra y extraer agitando fuertemente durante 15 min; decantar el extracto y filtrarlo mediante vacío a través de un papel de filtro Whatman Nº 2 o equivalente. Realizar una segunda extracción con 50 ml de éter de petróleo y agitar de nuevo fuertemente durante 15 min. Repetir la extracción con 50 ml adicionales de éter de petróleo y filtrar el extracto.

Los extractos se juntan en un embudo de decantación de 1 litro de capacidad y se lavan por dos veces agitando con 500 ml de disolución de cloruro sódico al 1% para eliminar la acetona. Secar el extracto con sulfato sódico anhidro, lavar el sulfato sódico tres veces con 10 ml de éter de petróleo y añadir los líquidos de lavado al extracto. (Ver nota 8.1). Transferir éste a un matraz de fondo redondo y concentrar mediante un evaporador rotatorio hasta un volumen aproximado de 1 ml.

6.2.2.- Limpieza y acondicionamiento del extracto

Transferir con una pipeta, el extracto a la parte superior de una columna de alúmina; lavar dos veces el tubo de ensayo con 1 ml de éter de petróleo y transferir los lavados a la columna con la misma pipeta tan pronto como el nivel de líquido alcance el extremo superior del empaquetamiento de la columna. Eluir con aproximadamente 20 ml de éter de petróleo.

Concentrar el eluato mediante un evaporador rotatorio, hasta un volumen menor de 1 ml y enrasar con *iso*-octano o n-heptano.

TÍTULO: Determinación de bifenilos policlorados en muestras de suelo mediante cromatografía de gases

---

6.3.- ANÁLISIS CROMATOGRÁFICO

Ajustar las condiciones de trabajo del cromatógrafo de acuerdo con los siguientes parámetros:

Temperatura de inyección:	210 °C
Temperatura de columna:	Programada, 80 hasta 300 °C con una rampa de 4 ºC/min.; 2ª rampa: 20 °C/minuto hasta 320 °C; isoterma final: 5 minutos a 320 °C
Temperatura del detector:	280 °C
Gas portador:	Helio
Presión de gas portador:	25 p.s.i.
Inyección:	"Splitless", 2 minutos

Los parámetros de análisis mencionados son indicativos y puede ser necesario modificarlos en función del instrumento y de la columna utilizada.

En caso de utilizar un detector no cualitativo (captura electrónica o selectivo de masas en modo SIM), inyectar la muestra en el cromatógrafo e identificar, por medio de sus tiempos de retención, los PCBs que pudiesen estar presentes en ella. La detección de los PCBs mediante un detector selectivo de masas en modo SIM se realizará por medio de los iones de m/e 256, 292, 326, 360 y 394.

Para la cuantificación de los compuestos presentes, se realizará una curva de calibrado inyectando las diluciones preparadas en (6.1) a partir de la disolución inicial de trabajo.

En el caso de que la respuesta de alguno de los componentes de interés de la muestra se

salga fuera del intervalo lineal del detector, repetir la inyección después de diluir la muestra hasta un nivel adecuado.

7.- CÁLCULOS

Calcular, por medio de una regresión lineal, la recta de calibrado concentración/área de pico a partir de los cromatogramas de las diferentes disoluciones patrón e interpolar en ella el valor del área del pico de la muestra para hallar la concentración de analito en el extracto final.

Calcular a partir de la concentración en el extracto final y del peso inicial de muestra la concentración de analito en ésta, teniendo en cuenta los pasos de concentración o dilución realizados.

8.- OBSERVACIONES

8.1.- Debe tratarse por todos los medios de minimizar las pérdidas a lo largo de todo el proceso preparación de la muestra; todo el material, reactivos de secado, filtros, etc. que hayan estado en contacto con la muestra o los extractos deben lavarse con una pequeña cantidad de disolvente que se incorporará al extracto en el paso siguiente del proceso.

8.2.- El procedimiento de concentración mediante un evaporador rotatorio conlleva siempre un cierto riesgo de pérdida de analitos, particularmente de los más volátiles; este riesgo se ve atenuado debido a la existencia de un equilibrio disolución/vapor que tiende a minimizar la volatilización de los analitos disueltos, particularmente cuando su solubilidad en el disolvente implicado es muy elevada. Es necesario, en consecuencia, que el disolvente no llegue a

evaporarse totalmente en ningún momento durante el proceso de concentración. Si se sospecha la perdida de analitos debido a este procedimiento de concentración, puede ser necesaria la utilización de un evaporador de Kuderna-Danish en lugar del evaporador rotatorio.

9.- EXCEPCIONES

No procede.

10.- CLAUSULA DE ESCAPE

De existir algún problema acudir al técnico responsable.

11.- REVISIONES

Una vez al año salvo introducción de modificaciones.

12.- RESPONSABILIDADES

El operario es responsable del seguimiento de este PNT.

TÍTULO: Determinación de bifenilos policlorados en muestras de suelo mediante cromatografía de gases

---

13.- DOCUMENTACIÓN

ISO 10382. Soil Quality - Determination of organochlorine pesticides and polychlorinated biphenyls - Gas chromatographic method with electron capture detection.