



NORMA MEXICANA

NMX-AA-146-SCFI-2008

**SUELOS - HIDROCARBUROS AROMÁTICOS
POLICÍCLICOS (HAP) POR CROMATOGRAFÍA DE
GASES/ESPECTROMETRÍA DE MASAS (CG/EM) O
CROMATOGRAFÍA DE LÍQUIDOS DE ALTA RESOLUCIÓN
CON DETECTORES DE FLUORESCENCIA Y
ULTRAVIOLETA VISIBLE (UV-VIS) – MÉTODO DE
PRUEBA.**

**SOIL - POLYCYCLIC AROMATIC HYDROCARBONS BY GAS
CHROMATOGRAPHY/MASS SPECTROMETRY (GC/MS) OR BY
HIGH RESOLUTION LIQUID CHROMATOGRAPHY USING
FLUORESCENCE AND ULTRAVIOLET VISIBLE DETECTORS (UV-
VIS).**



PREFACIO

En la elaboración de la presente norma mexicana participaron las siguientes empresas e instituciones:

- ASOCIACIÓN NACIONAL DE LABORATORIOS AMBIENTALES (ANLAAC)
- ANARAC
- CANACINTRA
- CENTRO NACIONAL DE INVESTIGACIÓN Y CAPACITACIÓN AMBIENTAL (CENICA)
- CENTRO NACIONAL DE METROLOGÍA (CENAM)
- CIATEC, A.C.
- COMITÉ TÉCNICO DE NORMALIZACIÓN NACIONAL DE MEDIO AMBIENTE Y RECURSOS NATURALES.
- FERROCARRILES NACIONAL DE MEXICO, EN LIQUIDACIÓN
- GRUPO CELANESE
- INSTITUTO MEXICANO DEL PETRÓLEO



NMX-AA-146-SCFI-2008

- INTERTEK TESTING SERVICES
- ITS
- LABORATORIO GRUPO MICROANÁLISIS
- LAQMISA
- ONSITE LABORATORIOS DE MÉXICO, S.A. DE C.V.
- PETRÓLEOS MEXICANOS
- PROCURADURÍA FEDERAL DE PROTECCIÓN AL AMBIENTE
- SECRETARÍA DE MEDIO AMBIENTE DEL GOBIERNO DEL DISTRITO FEDERAL
- TENOLOGÍA DEL AMBIENTE, S.A. DE C.V.
- UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
Instituto de Geografía
Instituto de Ingeniería
Instituto de Química

ÍNDICE DEL CONTENIDO



Número del capítulo		Página
0	INTRODUCCIÓN	1
1	OBJETIVO Y CAMPO DE APLICACIÓN	2
2	RESUMEN DEL MÉTODO	3
3	REFERENCIAS	5
4	DEFINICIONES	5
5	SEGURIDAD	6
6	EQUIPO Y MATERIALES	7
7	REACTIVOS	10
8	RECOLECCIÓN, PRESERVACIÓN Y ALMACENAMIENTO DE MUESTRAS	12
9	CONTROL DE CALIDAD	13
10	PROCEDIMIENTO GENERAL	20
11	CÁLCULOS	37
12	MANEJO DE RESIDUOS	42
13	VIGENCIA	42
14	BIBLIOGRAFÍA	42
15	CONCORDANCIA CON NORMAS INTERNACIONALES	45
	ÁPENDICE INFORMATIVO A Criterios de Aceptación para Control de Calidad	47
	ÁPENDICE INFORMATIVO B Método para Analizar Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos por Cromatografía de Líquidos de Alta Resolución (HPLC) con Detectores de Fluorescencia y Ultravioleta Visible (UV-VIS).	48



NORMA MEXICANA

NMX-AA-146-SCFI-2008

SUELOS - HIDROCARBUROS AROMÁTICOS POLICÍCLICOS (HAP) POR CROMATOGRAFÍA DE GASES/ESPECTROMETRÍA DE MASAS (CG/EM) O CROMATOGRAFÍA DE LÍQUIDOS DE ALTA RESOLUCIÓN CON DETECTORES DE FLUORESCENCIA Y ULTRAVIOLETA VISIBLE (UV-VIS) – MÉTODO DE PRUEBA.

**SOIL - POLYCYCLIC AROMATIC HYDROCARBONS BY GAS
CHROMATOGRAPHY/MASS SPECTROMETRY (GC/MS) OR BY
HIGH RESOLUTION LIQUID CHROMATOGRAPHY USING
FLUORESCENCE AND ULTRAVIOLET VISIBLE DETECTORS (UV-
VIS).**

0 INTRODUCCIÓN

El Programa Nacional de Medio Ambiente y Recursos Naturales 2001-2006, tiene como primer objetivo detener y revertir la contaminación de los recursos naturales, agua, aire y suelo, con el propósito de garantizar su conservación para las generaciones futuras.

Los derrames de hidrocarburos, por las sustancias que involucran, pueden poner en peligro la integridad de los ecosistemas, así como la preservación de los recursos naturales, en los lugares donde se producen.

Cuando un derrame de hidrocarburos permanece sin ser atendido puede causar daños constantes y crecientes al suelo y a otros recursos naturales.

La Dirección General de Normas de la Secretaría de Economía aprobó la presente norma, cuya declaratoria de vigencia fue publicada en el Diario Oficial de la Federación el:



Para dar certidumbre jurídica a los responsables de la remediación de suelos contaminados y asegurar sus resultados, en marzo de 2005, se publicó en el Diario Oficial de la Federación, la norma oficial mexicana NOM-138-SEMARNAT/SS-2003, Límites máximos permisibles de contaminación en suelos por hidrocarburos y las especificaciones para su caracterización y remediación.

Dicha norma presenta, como Anexo, los resúmenes de los métodos analíticos publicados por la *United States Environmental Protection Agency* (USEPA) para evaluar las concentraciones de hidrocarburos en el suelo. Sin embargo, estos métodos pueden ser interpretados en forma diferente, por lo que es necesario proporcionar a los laboratorios en México, los elementos que les permitan generar resultados homogéneos y confiables, así como, acreditarse y aprobarse ante los organismos y dependencias autorizados para tal fin. Para ello, y para apoyar el cumplimiento y la verificación de la NOM-138-SEMARNAT/SS-2003, se elaboró esta norma mexicana.

La presente norma mexicana comprende los métodos para el análisis de los Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos a través de la Cromatografía de Gases con Espectrometría de Masas con base en el método *EPA 8270C* o, bien, a través de la Cromatografía de Líquidos de Alta Resolución con detectores de fluorescencia y ultravioleta visible (UV-VIS), con base en el método *EPA 8310*.

Durante el desarrollo del método, se recomienda que el laboratorio no omita ninguna de las especificaciones establecidas en el mismo. Los términos "debe", "puede" y "deberá" que se mencionan sirven para realzar la importancia de las especificaciones establecidas para producir datos verificables en los intervalos de trabajo del método.

1 OBJETIVO Y CAMPO DE APLICACIÓN

1.1 Esta norma mexicana describe el método analítico para determinar la concentración de hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAP) en extractos preparados a partir de muestras de suelo. Los compuestos a determinar son los siguientes:

Benzo[a]pireno
Dibenzo[a,h]antraceno
Benzo[a]antraceno
Benzo[b]fluoranteno
Benzo[k]fluoranteno
Indeno (1,2,3-cd)pireno

- 1.2** El límite de cuantificación del método (LCM) se ha estimado para determinar compuestos individuales en 660 µg/kg (base húmeda) aproximadamente, para muestras de suelo. El LCM será proporcionalmente mayor para extractos que requieran dilución para evitar saturación del detector.
- 1.3** Este método está restringido al uso o supervisión de analistas experimentados en cromatografía de gases con espectrometría de masas, quienes se apegarán a los criterios de aceptación para el control de calidad establecidos en el capítulo 9.
- 1.4** Cada analista debe demostrar su habilidad para generar resultados aceptables con este método. (véase 9).

2 RESUMEN DEL MÉTODO

El método describe el análisis para determinar la concentración de hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAP) en extractos preparados a partir de muestras de suelo.

- 2.1** La determinación cuantitativa se realizará por Cromatografía de Gases /Espectrometría de Masas (CG/EM) o por Cromatografía de Líquidos de Alta Resolución (HPLC) con Detector de Fluorescencia y Ultravioleta Visible (UV-VIS). Para el análisis es necesario extraer previamente los HAP que están presentes en la muestra de suelo homogeneizada y cribada mediante cualquiera de las siguientes técnicas de extracción: Sonicación (disruptor ultrasónico o baño ultrasónico), Soxhlet o Extracción Acelerada con Disolventes (ASE por sus siglas en inglés).
- 2.2** Los extractos orgánicos obtenidos por cualquiera de las técnicas descritas, se concentran en un sistema Kuderna- Danish (K-D), rotavapor o equivalentes, a un volumen final entre 1 mL y 10 mL según la sensibilidad deseada.
- 2.3** En caso de que el extracto requiera limpieza, aplicar cualquiera de los siguientes métodos:

- a) columna abierta con sílica gel o alúmina (Sobre referencias al método, véase 13.9 y 13.10 b)
- b) permeación en gel (Sobre referencias al método, véase 13.11)
- c) extracción en fase sólida (Sobre referencias al método, véase 13.13).

NOTA 1: Estos métodos de limpieza no son descritos en esta norma, por lo que se recomienda consultar las referencias indicadas sobre cada uno de los métodos.

2.4 El extracto se inyecta al cromatógrafo, los HAP se separan por medio de un programa de temperaturas dentro de la columna capilar, para ser detectados con el espectrómetro de masas (EM) acoplado al cromatógrafo de gases (CG).

La identificación de los analitos de interés se realiza comparando los espectros de masas generados por impacto electrónico de las muestras contra los espectros de los materiales de referencia o de los que se encuentran en la biblioteca electrónica del instrumento.

La cuantificación se realiza por el método de estándar interno utilizando factor de respuesta, comparando las respuestas de los iones principales determinados en las muestras, contra los iones de cada uno de los compuestos en los materiales de referencia, a través de una curva de calibración de mínimo 5 puntos.

2.5 Para el análisis de HAP por HPLC, se debe seguir el método especificado en el apéndice informativo B.

2.6 El método incluye los pasos para realizar la calibración específica y el control de calidad necesario para asegurar la confiabilidad de los resultados.



3 REFERENCIAS

Para la correcta aplicación de la presente norma mexicana, se debe consultar la siguiente norma oficial mexicana vigente:

NOM-138-SEMARNAT/SS-2003 Límites máximos permisibles de hidrocarburos en suelos y las especificaciones para su caracterización y remediación, publicada en el Diario Oficial de la Federación el 29 de marzo de 2005.

4 DEFINICIONES

4.1 Blanco de campo:

Muestra de suelo natural o sintético, libre de los analitos de interés, tratada como una muestra en todos los aspectos, incluyendo el contacto con los equipos de campo y expuesta a las condiciones del sitio de muestreo, almacenaje, preservación y todos los procedimientos analíticos.

4.2 Blanco del método (de laboratorio):

Muestra de suelo natural o sintético, libre de los analitos de interés en la que todos los reactivos se adicionan en volúmenes o proporciones iguales, que las utilizadas al procesar la muestra. El blanco del método debe someterse al mismo proceso de preparación y análisis de la muestra. El blanco del método se utiliza para documentar la contaminación resultado del proceso analítico. Para que el blanco de método sea aceptable para su uso con las muestras que lo acompañan, la concentración en el blanco de cualquier analito de interés no debe superar cualquiera de los siguientes criterios:

- 1) al límite de detección del método, o
- 2) 5 % de límite máximo permisible para el analito de interés, o
- 3) 5 % de la concentración medida en la muestra



4.3 Blanco de reactivo:

Son los reactivos utilizados en el método que, de forma individual o en mezcla (cuando aplique) y con los mismos volúmenes y concentraciones, se analizan para detectar trazas de contaminación provenientes de los reactivos. Estos blancos no deben someterse a todos los pasos del proceso del método.

4.4 Duplicado de campo:

Muestras independientes que fueron colectadas tan cerca como fue posible del mismo punto en espacio y tiempo. Son dos muestras separadas que fueron tomadas de la misma fuente, almacenadas en contenedores diferentes y analizadas independientemente. Estos duplicados se usan para documentar la precisión del proceso de muestreo.

4.5 Límite de Cuantificación del Método (LCM):

Es la menor concentración de analito en una muestra, la cual puede ser cuantificada con precisión y exactitud aceptables, bajo las condiciones en que se lleva a cabo el método. Generalmente es de 5 a 10 veces la desviación estándar del blanco.

4.6 Límite de Detección del Método (LDM):

Es la mínima concentración de un analito en una muestra, la cual puede ser detectada con 99% de confianza de que el analito es mayor a cero, pero no necesariamente cuantificada.

4.7 Muestras de control de laboratorio:

Una matriz conocida adicionada con compuesto(s) representativo(s) de el(los) analito(s) de interés; puede usarse un material de referencia certificado.

5 SEGURIDAD

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

archivo de referencia de las hojas de información de seguridad, el cual debe estar disponible a todo el personal involucrado en estos análisis.

- 5.2 La carcinogenicidad de todos los reactivos no ha sido determinada con precisión; de todas maneras, cada sustancia química debe ser tratada como de potencial peligro a la salud. La exposición a estas sustancias químicas debe ser reducida al menor nivel posible.
- 5.3 Las muestras de suelo de composición desconocida, pueden contener concentraciones altas de compuestos volátiles tóxicos. Los contenedores deben abrirse en campana de extracción y manejarse con guantes.
- 5.4 Cuando se trabaje con alguna de las sustancias químicas descritas en esta norma, deben tenerse las condiciones de seguridad apropiadas, usar ropa y equipo de protección como: batas, guantes, mascarilla, protectores auditivos, lentes de seguridad y zapatos de seguridad.

6 EQUIPO Y MATERIALES

- 6.1 Baño ultrasónico con un mínimo de 300 watts de potencia para asegurar la penetración del disolvente.
- 6.2 Disruptor ultrasónico del tipo con un brazo equipado con punta de titanio o equivalente. Debe tener una potencia mínima de 300 watts con capacidad de pulsación. Se recomienda que tenga un accesorio que reduzca la cavitación.
 - 6.2.1 Brazo de 1,9 cm ($\frac{3}{4}$ de pulgada) para el método de baja concentración y una micropunta de 0,3175 cm ($\frac{1}{8}$ de pulgada).
 - 6.2.2 Brazo de 1.3 cm ($\frac{1}{2}$ de pulgada) para las muestras de media y alta concentración.
- 6.3 Baño María capaz de controlar la temperatura ± 5 °C o bloques de calentamiento para el sistema K-D.
- 6.4 Balanza analítica con una sensibilidad de 0,0001 g.

- 6.5 Rotavapor con baño de calentamiento y bomba de vacío.
- 6.6 Sistema de extracción Soxhlet, 40 mm DI, con un matraz redondo de fondo plano de 500 mL de capacidad.
- 6.7 Aparato Kuderna-Danish (K-D).

Matraz de evaporación de 50 mL
Tubo del concentrador graduado de 10 mL
Columna de Snyder de tres bolas
Columna de Snyder de dos bolas
- 6.8 Mortero con pistilo.
- 6.9 Estufa de secado con control de temperatura de ± 5 °C.
- 6.10 Desecador.
- 6.11 Crisoles de porcelana o charolas de aluminio.
- 6.12 Pipetas Pasteur.
- 6.13 Perlas de ebullición.
- 6.14 Cartuchos de celulosa para extracción.
- 6.15 Viales de 2 mL con tapa y septa recubierta de teflón.
- 6.16 Espátula de acero inoxidable.
- 6.17 Lana de vidrio silanizada
- 6.18 Embudos de filtración rápida de tallo corto.
- 6.19 Vasos de precipitado de 250 mL.
- 6.20 Probetas graduadas de 100 mL.
- 6.21 Matraces redondos de fondo plano y matraces volumétricos Clase A.
- 6.22 Microjeringas de 10 μ L, 25 μ L, 50 μ L, 100 μ L y 500 μ L.

- 6.23** Sistema de Cromatografía de Gases/Espectrómetro de Masas (CG/EM)
- 6.23.1** Cromatógrafo de gases – Sistema analítico con temperatura programable y que sea adecuado para la inyección con o sin división.
- 6.23.2** Columna – Columna capilar de sílice fundida recubierta con silicona (5 % Difenil 95 % Dimetilpolisiloxano) o equivalente de 30 m x 0,25 mm DI (0,32 mm DI) de 0,25 μm , 0,5 μm , o 1 μm de espesor de película. Se puede usar alguna otra columna que sea equivalente.
- 6.23.3** Precolumna (opcional) – Porción de columna de Sílice fundida desactivada, 0,25 mm DI x 6 m, o equivalente conectada entre el puerto de inyección y la columna.
- 6.23.4** Espectrómetro de Masas capaz de realizar barridos de 35 a 500 unidades de masa atómica (μ) cada segundo o menos.

Puede utilizarse un espectrómetro de masas con trampa de iones, si éste es capaz de realizar una modulación axial para reducir las reacciones ión-molécula y producir espectros de masas similares a los obtenidos por impacto electrónico que coincidan con aquellos de la biblioteca electrónica.

- 6.23.5** Interfase CG/EM – Puede usarse cualquier interfase del CG al EM que logre criterios aceptables en el desempeño de la sintonización.
- 6.23.6** Sistema de adquisición de datos – Deberá conectarse al espectrómetro de masas. El sistema debe permitir la adquisición continua y el almacenamiento en un medio de lectura electrónico, de todos los espectros de masa obtenidos durante la duración del programa cromatográfico. La computadora deberá tener un *software* que para cualquier archivo de datos del CG/EM pueda buscar una masa específica para los iones y que pueda graficar las abundancias de los iones contra el tiempo ó el número de barridos. Este tipo de gráfico es definido como un Perfil de Iones Extraídos (PIE). Así mismo, el software debe permitir integrar las abundancias en cualquier PIE en el intervalo de tiempo especificado ó en los límites del número de barrido.

7 REACTIVOS

En todas las pruebas se deben usar disolventes grado HPLC. Si se utilizan otros grados de menor pureza se debe asegurar que no existan interferencias.

7.1 Agua Reactivo: Agua libre de los compuestos de interés o cuya concentración sea menor al Límite de Detección del Método (LDM).

7.2 Sulfato de sodio anhidro grado reactivo secado a 400 °C, al menos 4 horas antes de su uso, o previamente lavado con cloruro de metileno.

7.3 Disolventes de Extracción.

7.3.1 Acetona/Cloruro de metileno (1:1, v/v)

7.3.2 Acetona/Hexano (1:1, v/v)

7.3.3 Cloruro de Metileno

NOTA 2: Se recomienda disminuir progresivamente el uso del Cloruro de Metileno como disolvente de extracción, por su toxicidad.

7.4 Disoluciones iniciales (madre). Los estándares pueden ser preparados con sustancias químicas puras o se pueden adquirir soluciones certificadas trazables.

7.4.1 Preparación de disoluciones iniciales. Pesar aproximadamente 0,0100 g de material puro. Disolver en acetona o en algún disolvente equivalente y aforar a 10 mL en un matraz volumétrico. Se pueden preparar mayores volúmenes si el analista lo considera necesario. Los estándares comerciales se pueden usar a cualquier concentración, si están certificados en concentración.

7.4.2 Transferir las disoluciones de los estándares a viales y sellarlos herméticamente. Almacenarlos a -10° C o menos, protegidos de la luz. Los estándares se deben verificar frecuentemente para detectar señales de evaporación o degradación, especialmente antes de preparar curvas de calibración.

- 7.4.3** Las disoluciones iniciales de estándares se deben reemplazar cuando presenten señales de degradación.
- 7.5** Disoluciones de estándares internos. Los estándares internos recomendados son: Criseno-d12 y Perileno-d12 o la mezcla comercial que contiene: 1,4-diclorobenceno-d4, Naftaleno-d8, Acenafteno-d10, Fenantreno-d10, Criseno-d12 y Perileno-d12.
- 7.5.1** Disolver 0,200 g de cada compuesto con una pequeña cantidad de disulfuro de carbono. Transferir a un matraz aforado de 50 mL y diluir con cloruro de metileno, de tal forma que el disolvente final tenga aproximadamente 20 % de disulfuro de carbono. Una gran parte de los compuestos son solubles en pequeños volúmenes de metanol, acetona o tolueno, excepto el Perileno-d12. La disolución resultante debe contener a cada estándar a una concentración de 4000 ng/ μ L. Por cada 1 mL de muestra bajo análisis, añadir 10 μ L de la disolución de estándares internos, con lo cual se obtiene una concentración de 40 ng/ μ L de cada estándar interno. Se pueden utilizar otras disoluciones de diferente concentración siempre y cuando se llegue a una concentración final de 40 ng/ μ L. Almacenar a -10 °C o menos.
- 7.5.2** Si el espectrómetro de masas alcanza límites de detección más bajos, puede requerirse una disolución de estándar interno más diluida. El área de los picos del estándar interno debe estar entre 50 % y 200 % del área de los analitos de interés en el punto medio de la calibración de los estándares.
- 7.6** Estándar de sintonía del CG/EM. Preparar una disolución de 50 ng/ μ L de decafluorotriphenilfosfina (DFTPP) en cloruro de metileno. Añadir 50 ng/ μ L de 4,4'-DDT, Pentaclorofenol y Bencidina, para verificar que el puerto de inyección es inerte y que la columna analítica trabaja correctamente. Almacenar a -10°C o menos.

- 7.7** Disoluciones de estándares de calibración. Preparar un mínimo de 5 disoluciones de estándares de calibración con diferentes niveles de concentración. Una de las disoluciones deberá estar a una concentración cercana, pero por encima del Límite de Detección del Método (LDM), los estándares restantes corresponden a las concentraciones encontradas en las muestras pero no deben exceder el intervalo de trabajo del CG/EM. Cada estándar contiene los analitos a detectar por este método.
- 7.7.1** Antes del análisis, añadir 10 µL de la disolución de estándares internos a la alícuota de 1 mL del estándar de calibración. Las disoluciones de los estándares de verificación de la calibración se deben preparar semanalmente y se deben almacenar a 4 °C.
- 7.8** *Surrogados*. Los estándares recomendados son: Nitrobenceno-d5, 2-Fluorobifenilo y p-Terfenilo-d14.
- NOTA 3:** Para fines de esta norma se utiliza el término de *surrogado* debido a que es el que se usa comúnmente en la rama analítica y puede ser entendido con mayor facilidad, en lugar de subrogado que es el término correcto en español.
- 7.8.1** Determinar la concentración de *surrogados* adecuada para evaluar los blancos del método después de la extracción, limpieza y concentración. Inyectar esta concentración en el CG/EM para determinar la recuperación de los estándares de *surrogados* en todos los blancos, en los estándares adicionados y en los extractos de muestras. Tomar en cuenta las diluciones de los extractos de las muestras.
- 7.9** Muestras de control de laboratorio. Preparar muestras de control de laboratorio tales como: matrices adicionadas, adicionadas duplicadas, etc.
- 8 RECOLECCIÓN, PRESERVACIÓN Y ALMACENAMIENTO DE MUESTRAS**
- 8.1** Pueden emplearse una gran variedad de contenedores de boca ancha con tapa de rosca y *septum* de PTFE, con una capacidad mínima de 250 mL.



8.2 Recolección de la muestra.

Recolectar la muestra de acuerdo a los procedimientos del plan de muestreo, siguiendo el procedimiento de la normatividad vigente.

Usar siempre guantes cuando se manejen los contenedores. Se recomienda el uso de guantes de nitrilo con monómeros de butadieno, para el manejo de hidrocarburos.

8.2.1 Recolectar aproximadamente 250 g de la muestra, o la que haya determinado como óptima en su plan de muestreo, con un dispositivo adecuado.

8.2.2 Recoger un duplicado de campo. Esto permitirá al laboratorio contar con una muestra adicional para el análisis.

8.2.3 Utilizar una alícuota de muestra para el análisis de exploración y para la determinación de masa seca.

9 CONTROL DE CALIDAD

9.1 Los criterios de aceptación para el control de calidad se pueden consultar en el apéndice informativo A.

9.2 Calibración inicial

La calibración de un instrumento involucra la delimitación de la relación entre la respuesta del instrumento y la cantidad o la concentración de un analito introducido al instrumento. La representación gráfica de esta relación se le conoce como curva de calibración. Para llevar a cabo mediciones cuantitativas, esta relación debe establecerse antes del análisis de cualquier muestra; por ello se le conoce como calibración inicial.



9.2.1 La calibración inicial para cada compuesto de interés debe verificarse cada 12 horas, antes del análisis de muestras, usando la misma técnica de introducción y las mismas condiciones instrumentales usadas para las muestras. Esto se realiza analizando una disolución de estándar de calibración a una concentración cercana al punto medio del intervalo de calibración del CG/EM. Los resultados del análisis de las disoluciones de los estándares de calibración deben cumplir con los criterios de aceptación de la verificación.

9.2.2 Verificación de la calibración inicial.

Cuando se calcula la concentración usando el factor de calibración o el factor de respuesta de la calibración inicial y la concentración teórica es la concentración a la cual el estándar fue preparado, entonces se calcula el % de diferencia (%D) como sigue:

$$\%D = \frac{FC_v - \overline{FC}}{\overline{FC}} \times 100 \quad \text{o} \quad \%D = \frac{FR_v - \overline{FR}}{\overline{RF}} \times 100$$

Donde:

FC_v y FR_v son el factor de calibración y el factor de respuesta respectivamente del análisis del estándar de verificación y \overline{FR} y \overline{FC} son el factor de respuesta promedio y el factor de calibración promedio de la calibración inicial. Excepto cuando se indique, el %D calculado para la verificación de la curva de calibración debe estar dentro del $\pm 15\%$ para cada analito antes de que se lleve a cabo el análisis de cualquier muestra.

Calcular los factores de respuesta (FR) para cada analito de interés relativo a un estándar interno, conforme a 11.2 de esta norma.

9.2.3 Linealidad de los analitos de interés. Si el porcentaje de la desviación estándar relativa (DER o RSD por sus siglas en inglés) de cualquier compuesto de la curva es igual o menor al 15 %, entonces se supone que el factor de respuesta es constante en el intervalo de calibración, y el factor de respuesta promedio se puede usar para la cuantificación.

- 9.2.4** Si el % DER de cualquier compuesto de interés es mayor al 15 %, entonces no se puede suponer una linealidad desde el origen. En este caso, el analista debe emplear la ecuación de regresión sin que pase por el origen. Esta aproximación debe emplearse basándose en experiencias anteriores o en un conocimiento *a priori* de la respuesta del instrumento.
- 9.2.5** Es más sencillo lograr un buen desempeño de una regresión lineal de la respuesta del instrumento contra la concentración de los estándares de calibración. La respuesta del instrumento se trata como la variable dependiente (y) y la concentración como la variable independiente (x). Éste es un requisito estadístico y no simplemente una convención al graficar.
- 9.2.6** Si se utiliza una calibración multipuntos con réplicas, se debe emplear el método de mínimos cuadrados ponderados; por ejemplo: tres para cada cinco puntos de la curva de calibración.
- 9.2.7** Para todos los demás casos, se deberá usar un método de mínimos cuadrados convencional. Cuando se use una regresión de mínimos cuadrados ponderada, deberá usarse el siguiente factor de ponderación:

$$\frac{1}{DE^2}$$

Donde:

DE es la desviación estándar de las replicas de los resultados de cada concentración individual de los estándares de calibración.

- 9.2.8** No forzar a que la línea pase por el origen; el valor de la ordenada al origen se obtendrá de los datos de los cinco puntos de la curva de calibración. De otra forma, se presentarán los problemas encontrados con los valores de DER, por ejemplo, la línea de regresión que pasa por el origen no cumplirá con las especificaciones de control de calidad. En resumen:

- A No incluir el cero como un sexto punto de la curva de calibración.
- B No usar la regresión lineal para extrapolar resultados por debajo del intervalo de calibración demostrado por el análisis de patrones.

9.2.9 El cálculo de regresión generará un coeficiente de correlación (r) que es la medida de qué tan bien se ajustan los datos a una línea de regresión. Un valor de 1,00 indica un ajuste perfecto. Para que la ecuación pueda usarse con fines cuantitativos, (r) debe ser mayor o igual a 0,99.

9.3 Demostración inicial del desempeño.

Cada laboratorio debe demostrar la capacidad inicial en la preparación de muestras en combinación con el método para la determinación, generando datos de exactitud y precisión aceptables para los analitos de interés en una matriz limpia. El laboratorio debe repetir la demostración, si se capacita a un analista nuevo o si se hacen cambios en la instrumentación.

9.4 Preparación y análisis de muestras de control de calidad.

El laboratorio debe contar con procedimientos que documenten los efectos de matriz en el desempeño del método (límites de detección, precisión y exactitud). Como mínimo los análisis de las muestras de control de calidad deben incluir un blanco de método, una matriz adicionada, una matriz adicionada duplicada y la muestra control de laboratorio en cada lote analítico, así como la adición de estándares internos y *surrogados* para cada blanco y muestras.

9.4.1 Adicionar la matriz por duplicado con los analitos de interés; la concentración final obtenida para cada analito adicionado deberá estar cerca del punto medio de la curva. Analizar la matriz adicionada y la matriz adicionada duplicada bajo las condiciones instrumentales establecidas.

- 9.4.2** Calcular el porcentaje de recobro y la diferencia porcentual relativa (%DPR) entre la matriz adicionada y la matriz adicionada duplicada.
- 9.4.3** Ya que muchos métodos no tienen criterios de aceptación recomendados para evaluar los resultados de sus muestras de control de laboratorio, se pueden usar como criterios iniciales de aceptación de los analitos adicionados de 70 % - 130 %, hasta que el laboratorio obtenga sus propios límites dentro del intervalo.
- 9.4.4** El objetivo de analizar muestras adicionadas es conocer el efecto de la matriz de recobro del analito.
- 9.4.5** Después de procesar cualquier muestra, el analista debe demostrar que el sistema analítico está libre de interferencias que provengan del material de vidrio y de los reactivos utilizados, a través de blancos de método. Cada vez que se analice un lote de muestras o que haya un cambio en los reactivos, se debe analizar un blanco de método para asegurar nuevamente que no hay contaminación en el laboratorio. Los blancos deben seguir todas las etapas de la preparación de muestras.
- 9.4.6** El analista deberá documentar los efectos de matriz a través de la matriz adicionada y una muestra duplicada sin adición o de una matriz adicionada con una matriz adicionada duplicada. La decisión de preparar y analizar muestras duplicadas o matrices adicionadas y matriz adicionada duplicada debe basarse en el conocimiento de las muestras en el lote analítico. Si se sospecha que las muestras contienen analitos de interés, entonces el laboratorio puede usar una matriz adicionada y un análisis duplicado de un blanco sin adición, si las muestras no contienen analitos de interés el laboratorio deberá usar matrices adicionadas y matriz duplicada adicionada.

- 9.4.7** Las muestras de control de calidad deberán incluirse en cada lote analítico. Las muestras de control de calidad consisten en una alícuota de la matriz limpia, similar a la muestra matriz en el mismo peso o volumen. Las muestras de control de calidad son adicionadas con los mismos analitos y a la misma concentración, como la matriz adicionada. Cuando los resultados del análisis de una matriz adicionada indican problemas potenciales debido a la matriz misma, deben aplicarse muestras de control de calidad para verificar que el laboratorio puede realizar el análisis en una matriz limpia.
- 9.4.8** Se debe analizar un blanco de método después del estándar de calibración, o durante el proceso de medición analítica, para asegurar que todo el sistema está libre de contaminantes. Si el blanco de método indica que hay contaminación, se puede analizar una alícuota de disolvente para demostrar que la contaminación no es el resultado de los remanentes de los estándares o de las muestras.
- 9.4.8.1** Después del análisis de una muestra de alta concentración deben inyectarse blancos de método y/o blancos de reactivos y/o una alícuota de disolvente, para verificar si existe contaminación por arrastre de componentes en muestras subsecuentes. Cuando no sea posible analizar tales blancos, así como cuando se utilice un automuestreador sin verificar los resultados obtenidos, el analista debe revisar los resultados de al menos las próximas dos muestras posteriores a la muestra de alta concentración. Si existen analitos que aparecen en las muestras de alta concentración que no están presentes en las muestras subsecuentes, entonces queda demostrado que no existe arrastre de una muestra de alta concentración a las subsiguientes. Si hay evidencia de que el arrastre ocurre, entonces deben analizarse nuevamente las muestras.
- 9.4.9** Debe prepararse un blanco de método por cada lote de 20 o menos muestras analizadas y preparadas al mismo tiempo, utilizando el mismo procedimiento.



- 9.4.9.1** Para demostrar que el sistema CG/EM no contribuye en la contaminación de las muestras, se debe analizar un blanco de método en cada instrumento utilizado para el análisis de un mismo lote de muestras.
- 9.4.9.2** Los blancos de método deben someterse al mismo proceso que los extractos de las muestras.
- 9.4.9.3** Los criterios que debe cumplir un blanco de método se describen en 4.2 de esta norma.
- 9.4.9.4** Si los resultados del blanco de método no cumplen con los criterios de aceptación, entonces el laboratorio debe tomar acciones correctivas para localizar y reducir la fuente de contaminación y volver a extraer y analizar cualquier muestra asociada a la contaminación del blanco de método.
- 9.4.9.5** El laboratorio no debe restar los resultados del blanco de método de aquellos asociados a las muestras. Tal "resta de blanco" es inapropiada y frecuentemente produce resultados negativos.
- NOTA 4:** Si los resultados del blanco de método no cumplen con los criterios de aceptación (referirse al 4.2) y no es factible volver a analizar las muestras, entonces se deben tomar las acciones correctivas necesarias.
- 9.5** Recuperación de *surrogados*.

El laboratorio debe evaluar los datos de recuperación de los compuestos *surrogados* en todas las muestras individuales con respecto a los criterios de control obtenidos para éstos en el laboratorio, tomando como referencia los siguientes intervalos:

Nitrobenceno-*d*5 (23-120 %)
2-Fluorobifenilo (30-115 %)
p-Terfenilo-*d*14 (18-137 %)



Utilizar la siguiente ecuación para calcular el % de recuperación (%R):

$$\%R = \frac{C_m - C_a}{C_n} \times 100$$

Donde:

C_m es la concentración medida en la alícuota de la muestra adicionada

C_a es la concentración medida en la alícuota de muestra sin adicionar

C_n es la concentración nominal de la alícuota adicionada.

9.6 Recuperación de estándares internos.

Los estándares internos utilizados están descritos en 7.4 de esta norma. Las áreas de los picos de éstos deben estar entre 50 %-200 % de las áreas de los analitos de interés en el punto medio de la curva de calibración.

9.7 La experiencia del analista en el desempeño del sistema de CG/EM es invaluable para la realización de los métodos.

Al desarrollar un análisis se deberá evaluar diariamente un estándar de verificación de la curva de calibración para determinar si el sistema cromatográfico está operando apropiadamente: si los picos tienen un comportamiento adecuado, si la respuesta obtenida es comparable con la respuesta de calibraciones anteriores, es decir se deberá realizar un examen cuidadoso para detectar si la columna tiene un desempeño aceptable, si el inyector tiene fugas, si es necesario reemplazar el septum, etc. Cualquier cambio que se realice en el sistema, implica que el sistema debe ser recalibrado.

10 PROCEDIMIENTO GENERAL

10.1 Determinación de la fracción de masa seca.

Para determinar el contenido de la masa seca, de la muestra de suelo, debe pesarse una segunda alícuota independiente a la utilizada para la determinación analítica.

10.1.1 Procedimiento

10.1.1.1 Secar el crisol o contenedor a $105\text{ °C} \pm 5\text{ °C}$ hasta que tenga peso constante. Enfriar en un desecador por lo menos 45 minutos. Determinar la masa del contenedor tapado (m_0) con una exactitud de 1 mg.

10.1.1.2 Usar una espátula para transferir 10,0 g de muestra de suelo en el contenedor tapado. Determinar la masa (m_1) con una exactitud de 1 mg.

10.1.1.3 Dejar secar esta muestra durante 16 horas a $105\text{ °C} \pm 5\text{ °C}$.

10.1.1.4 Permitir que la muestra se enfríe en un desecador por lo menos 45 minutos antes de volver a pesar.

10.1.1.5 Determinar la masa del contenedor tapado (m_2) que contiene la muestra seca con una exactitud de 1 mg.

Precaución: La estufa de secado deberá encontrarse en un área con ventilación controlada o dentro de una campana de extracción. El proceso de secado de muestras con concentraciones altas de contaminantes puede producir contaminación en el laboratorio.

10.1.2 Calcular el porcentaje de masa seca utilizando la ecuación de 11.1.

10.2 Preparación de la muestra.

10.2.1 Las muestras se extraen antes del análisis por CG/EM, siguiendo uno de los siguientes métodos:

Extracción por baño ultrasónico

Extracción con disruptor ultrasónico

Extracción Soxhlet

Extracción ASE.

10.2.1.1 Extracción con baño ultrasónico.

La extracción por los métodos ultrasónicos no son tan rigurosos como otros métodos de extracción, por lo que es necesario que se sigan explícitamente las instrucciones (incluyendo las del fabricante) para obtener una mayor eficiencia.

10.2.1.2 Decantar y descartar cualquier capa de agua de la muestra de suelo, así como cualquier objeto extraño, como piedras, hojas y varas.

10.2.1.3 Pesar en recipientes de 250 mL ó 400 mL, entre 10 g a 30 g de muestra con una exactitud de 0,1 g, de acuerdo a los niveles de concentración esperados. Mezclar con una cantidad suficiente de sulfato de sodio anhidro, u otro desecante equivalente, para obtener una textura arenosa.

10.2.1.4 Adicionar 1 mL de la disolución de *surrogado* a cada muestra blanco, muestra control de laboratorio, matriz adicionada y duplicado de matriz adicionada, justo antes de la extracción o del procesamiento de las muestras.

El laboratorio debe evaluar los datos de recuperación de los compuestos *surrogados* en todas las muestras individuales, con respecto a los criterios de control obtenidos para éstos en el laboratorio. Se puede utilizar una concentración de *surrogados* que corresponda a 10 veces el límite de cuantificación. Si se desconoce el límite de cuantificación del (los) compuesto(s) *surrogado(s)*, utilizar el límite de cuantificación correspondiente a los analitos de interés.

10.2.1.5 Muestra adicionada. Para cada lote analítico seleccionar una muestra y adicionar la cantidad necesaria de la disolución de estándares de adición, para alcanzar una concentración dentro del intervalo de la curva de calibración.

10.2.1.6 En un matraz de 250 mL o 500 mL, adicionar 40 mL o la cantidad necesaria del disolvente de extracción para cubrir la muestra de manera que se asegure una extracción eficiente.

- 10.2.1.7 Tapar los recipientes y colocarlos en el baño ultrasónico, durante 5 minutos.
 - 10.2.1.8 Una vez terminado el tiempo de extracción, decantar el disolvente a través del embudo de filtración rápida con un tapón de lana de vidrio silanizada y 5 g de sulfato de sodio anhidro o un desecante equivalente, y recibir el extracto en su respectivo matraz.
 - 10.2.1.9 Con el fin de realizar una extracción cuantitativa, se deberá extraer dos veces más cada muestra, siguiendo el procedimiento anterior.
 - 10.2.1.10 Posteriormente, enjuagar el embudo de filtración tres veces con aproximadamente 5 mL de disolvente en cada enjuague.
 - 10.2.1.11 Si se observa humedad en los extractos, adicionar 2 g de sulfato de sodio anhidro y dejar reposar 5 minutos.
 - 10.2.1.12 Concentrar cada extracto en el sistema disponible (rotavapor o K-D), a una temperatura entre 15 °C y 20 °C arriba del punto de ebullición del disolvente, hasta un volumen final aproximado de 10 mL, retirar el matraz del baño o del bloque de calentamiento y permitir que se enfríe.
 - 10.2.1.13 Concentrar el extracto a 0,5 mL con la ayuda de microcolumnas Snyder de 2 bolas o a 1 mL con corriente de nitrógeno.
 - 10.2.1.14 Una vez que el extracto esté listo, transferir 1 mL a un vial para el análisis por CG/EM o HPLC.
 - 10.2.1.15 Si el análisis de los extractos no se lleva a cabo inmediatamente, tape el tubo concentrador y refrigere. Si el extracto se almacenara por un periodo mayor a 2 días, éste debe transferirse a un vial con tapa y con cubierta interna de PTFE e identificarse adecuadamente.
- 10.3 Extracción con disruptor ultrasónico

Decantar y descartar cualquier capa de agua de la muestra de suelo, así como cualquier objeto extraño, como piedras, hojas y varas.

- 10.3.1** Método de extracción para bajas concentraciones (menores a 20 mg/kg).
- 10.3.1.1** Pesar 30 g de muestra en un recipiente con una exactitud de 0,1 g.
- 10.3.1.2** Adicionar y mezclar con sulfato de sodio anhidro u otro desecante equivalente hasta obtener una textura arenosa.
- 10.3.1.3** Adicionar 1,0 mL de disolución del estándar surrogado a todas las muestras, muestras de control de calidad, blancos y muestras adicionadas.
- 10.3.1.4** Preparar las muestras de matriz adicionada con la cantidad necesaria de una disolución de adición, para alcanzar una concentración en el extracto final dentro del intervalo de concentración de la curva de calibración.
- 10.3.1.5** Adicionar 100 mL de disolvente de extracción o adicionar la cantidad necesaria para cubrir la muestra de manera que se asegure una extracción eficiente.
- 10.3.1.6** Someter a sonicación la muestra por un lapso de 3 minutos, sumergiendo 1,2 cm la punta del disruptor (0,3175 cm de diámetro) por debajo de la superficie del disolvente, sin tocar la muestra. Ajustar el equipo a un modo de pulsaciones al 50 % de su capacidad y el control de salida de energía, a un 10 % de su potencia.
- 10.3.1.7** Decantar el extracto y filtrarlo a través de un embudo de filtración rápida con un tapón de lana de vidrio silanizada y 5 g de sulfato de sodio anhidro o un desecante equivalente, recolectar en un matraz de 500 mL.
- 10.3.1.8** Repetir el proceso de extracción dos veces más, a partir de 10.3.1.5

- 10.3.1.9** Concentrar cada extracto en el sistema disponible (rotavapor o K-D), a una temperatura entre 15 y 20°C arriba del punto de ebullición del disolvente, hasta un volumen final aproximado de 10 mL, retirar el matraz del baño o del bloque de calentamiento y permitir que se enfríe.
- 10.3.1.10** Concentrar el extracto a 0,5 mL con la ayuda de microcolumnas Snyder de 2 bolas o a 1 mL con corriente de nitrógeno.
- 10.3.1.11** Una vez que el extracto esté listo, transferir 1 mL a un vial para el análisis CG/EM o HPLC.
- 10.3.1.12** Si el análisis de los extractos no se lleva a cabo inmediatamente, tape el tubo concentrador y refrigere. Si el extracto se almacenara por un periodo mayor a 2 días, éste debe transferirse a un vial con tapa y con cubierta interna de PTFE e identificarse adecuadamente.
- 10.3.2** Método de extracción para muestras con altas concentraciones.
- 10.3.2.1** En un recipiente adecuado, pesar 2,0 g de muestra con una exactitud de 0,1 g.
- 10.3.2.2** Para preparar la muestra seguir las indicaciones descritas en 10.3.1.2, 10.3.1.3 y 10.3.1.4.
- 10.3.2.3** Adicionar el volumen necesario de disolvente de extracción hasta obtener un volumen final de 10,0 mL, tomando en cuenta el volumen que se adicionó de las disoluciones de *surrogados* y *estándares*.
- 10.3.2.4** Someter la muestra a sonicación por un lapso de 2 min, sumergiendo 1,2 cm la punta del disruptor (0,3175 cm de diámetro) por debajo de la superficie del disolvente sin tocar la muestra. Ajustar el equipo a un modo de pulsaciones al 50 % de su capacidad y el control de salida de energía, a un 5 % de su potencia.
- 10.3.2.5** Para filtrar y concentrar seguir el procedimiento descrito en 10.3.1.7 al 10.3.1.11.

- 10.3.2.6** Si el análisis de los extractos no se lleva a cabo inmediatamente, tape el tubo concentrador y refrigere. Si el extracto se almacenara por un periodo mayor a 2 días, éste debe transferirse a un vial con tapa y con cubierta interna de PTFE e identificarse adecuadamente.
- 10.4** Extracción por sistema Soxhlet
- 10.4.1** Decantar y descartar cualquier capa de agua presente sobre la muestra. Mezclar la muestra vigorosamente, especialmente las muestras mixtas. Descartar cualquier objeto extraño, como piedras, hojas y varas.
- 10.4.2** Mezclar 10 g de muestra de suelo con 10 g, o con la cantidad necesaria, de sulfato de sodio anhidro, para que fluya como arena en el recipiente, y colocar la mezcla en un cartucho de extracción. El disolvente debe drenar libremente a través del cartucho de extracción.
- 10.4.3** Adicionar 1 mL de la disolución de *surrogado* a cada muestra blanco, muestra control de laboratorio, matriz adicionada y duplicado de matriz adicionada, justo antes de la extracción o del procesamiento de las muestras.
- 10.4.4** Preparar las muestras de matriz adicionada con la cantidad necesaria de una disolución de adición, para alcanzar una concentración en el extracto final dentro del intervalo de concentración de la curva de calibración.
- 10.4.5** Colocar aproximadamente 300 mL del disolvente de extracción en un matraz de fondo redondo o plano de 500 mL que contenga perlas de ebullición.
- 10.4.6** Conectar el matraz al sistema de extracción y extraer la muestra de 4 a 6 ciclos/hora (aproximadamente de 16 h a 24 h).
- 10.4.7** Permitir que el extracto se enfríe después de que la extracción se complete.

- 10.4.8** Concentrar cada extracto en el sistema disponible (rotavapor o K-D), a una temperatura entre 15 °C y 20 °C arriba del punto de ebullición del disolvente, hasta un volumen final aproximado de 10 mL, retirar el matraz del baño o del bloque de calentamiento y permitir que se enfríe.
- 10.4.9** Concentrar el extracto a 0,5 mL con la ayuda de microcolumnas Snyder de 2 bolas o a 1 mL con corriente de nitrógeno.
- 10.4.10** Una vez que el extracto esté listo, transferir 1 mL a un vial para el análisis CG/EM o HPLC.
- 10.4.11** Si el análisis de los extractos no se lleva a cabo inmediatamente, tape el tubo concentrador y refrigere. Si el extracto se almacenara por un periodo mayor a 2 días, éste debe transferirse a un vial con tapa y con cubierta interna de PTFE e identificarse adecuadamente. Tiempo máximo de retención del extracto es de 40 días a 4 °C.
- 10.5** Extracción acelerada con disolventes (ASE por sus siglas en inglés)
- 10.5.1** Decantar y eliminar cualquier capa de agua presente en la muestra. Homogeneizar perfectamente la muestra, especialmente las muestras compuestas. Retirar cualquier objeto ajeno a la muestra como pueden ser: varas, hojas y piedras.
- 10.5.2** Secar la muestra a temperatura ambiente por 48 horas, utilizando un vidrio de reloj o en una pieza de papel aluminio previamente lavado con hexano.
- 10.5.3** Alternativamente se puede secar la muestra mezclándola con un volumen igual de sulfato de sodio anhidro o tierra de diatomáceas hasta que fluya libremente. Preparar el material desecante a 400 °C al menos 4 horas y enfriar a 105 °C, mantener esta temperatura hasta su uso.
- 10.5.4** Transferir la muestra a la celda de extracción del tamaño apropiado para la alícuota. Generalmente se utiliza una celda de 11 mL para 10 g de material, de 22 mL para 20 g de material y de 33 mL para 30 g de material.



- 10.5.5** El peso que se adicione a la celda corresponde a la cantidad total de muestra y del agente desecante.
- 10.5.6** Adicionar el estándar *surrogado* a cada muestra y controles (blanco, duplicado, matriz adicionada) antes de la extracción.
- 10.5.7** Colocar las celdas en el automuestreador del instrumento.
- 10.5.8** Colocar un vial de recolección prelavado de 40 mL o 60 mL por cada muestra y por cada control (blanco, duplicado, matriz adicionada).
- 10.5.9** Condiciones de extracción:
- | | |
|--------------------------------|--|
| Temperatura del horno: | 100 °C |
| Presión: | 1,034 x 10 ⁷ Pa a 1,379 x 10 ⁷ Pa (1500 psi a 2000 psi) |
| Equilibrio de Calentamiento: | 5 min |
| Tiempo estático de extracción: | 5 min |
| Volumen de limpieza: | 60 % del volumen de celda |
| Purga de nitrógeno: | 60 s a 1,034 x 10 ⁶ Pa (150 psi) (el tiempo de purga puede variar en función de la capacidad de la celda) |
| Ciclos estáticos: | 1 |
- 10.5.10** Utilizar los disolventes de extracción del apartado 7 Reactivos.
- 10.5.11** Colectar cada extracto en un vial limpio. Permitir que el extracto se enfríe después de concluida la extracción. Si en los extractos existe presencia de agua, ésta se puede eliminar con sulfato de sodio.
- 10.5.12** Concentrar cada extracto en el sistema disponible (rotavapor o K-D), a una temperatura de 15 °C a 20 °C arriba del punto de ebullición del disolvente, hasta un volumen final aproximado de 10 mL, retirar el matraz del baño o del bloque de calentamiento y permitir que se enfríe.

- 10.5.13** Concentrar el extracto a 0,5 mL con la ayuda de microcolumnas Snyder de 2 bolas o a 1 mL con corriente de nitrógeno.
- 10.5.14** Una vez que el extracto esté listo, transferir 1 mL a un vial para el análisis CG/EM o HPLC.
- 10.5.15** Si el análisis de los extractos no se lleva a cabo inmediatamente, tape el tubo concentrador y refrigere. Si el extracto se almacenara por un periodo mayor a 2 días, éste debe transferirse a un vial con tapa y con cubierta interna de PTFE e identificarlo adecuadamente.
- 10.6** Calibración inicial
- 10.6.1** Se deberá realizar una calibración inicial del sistema GC/EM como se describe a continuación:
- 10.6.1.1** Establecer las condiciones de operación del CG/EM usando como guía las siguientes recomendaciones:

Intervalo de masa:	35 μ – 500 μ
Tiempo de barrido:	1 barrido/s
Temperatura inicial:	40 °C, mantener por 4 min.
Programa de temperatura:	40 °C – 270 °C a 10°C/min.
Temperatura final:	270°C, mantener hasta que el benzo [g, h, i] perileno eluya.
Temperatura del inyector:	250 °C – 300 °C
Temperatura de la línea de transferencia:	250 °C – 300°C
Temperatura de la fuente	
De acuerdo a las especificaciones del fabricante Inyector:	Sin división (<i>splitless</i>).
Volumen de inyección:	1 μ L – 2 μ L
Gas acarreador:	Hidrógeno a 50 cm/s o helio a 30 m/s.
Para la trampa de iones únicamente:	Modulación axial, temperatura del <i>manifold</i> y la corriente de emisión de acuerdo a las recomendaciones del fabricante.

La inyección con división se puede utilizar si es suficiente la sensibilidad del espectrómetro de masas.

- 10.6.2** Se debe realizar la sintonía al instrumento con respecto a una sustancia de referencia llamada Perfluorotributilamina (PFTBA), cada 12 horas.
- 10.6.3** El espectrómetro de masas debe ser capaz de producir un espectro para la decafluorotriphenilfosfina (DFTPP), el cual cumpla los criterios de la Tabla 1, cuando se inyecta 1 μL a una concentración de 50 ng/ μL de la referencia para verificar la sintonización a través del cromatógrafo de gases.

NOTA 5: El cumplimiento de este criterio debe demostrarse cada 12 horas de trabajo analítico.

TABLA 1.- Iones principales del DFTPP y sus criterios de abundancia.

Masa	Criterios de la Abundancia de los Iones
51	10 % al 80 % del pico base
68	<2 % de la masa 69
70	<2 % de la masa 69
127	10 % al 80 % del pico base
197	<2 % de la masa 198
198	Pico base, o >50 % de la masa 442
199	5% -9 % de la masa 198
275	10 % -60 % del pico base
365	>1 % de la masa 198
441	Presente pero <24 % de la masa 442
442	Pico base o >50 % de la masa 198
443	15 %-2 % de la masa 442



10.6.4 *Autotune*

El *Autotune* usa PFTBA como compuesto de sintonización y automáticamente ajusta los parámetros del Espectrómetro de Masas (EM) a valores de interés predeterminados. Éste es el llamado *tuning*. Sus objetivos son encontrar las masas de los picos, obtener respuestas y resoluciones adecuadas, optimizar la respuesta de 3 masas principalmente (69, 219 y 502), optimizar la respuesta y resolución de otras masas y obtener asignaciones de masas exactas.

NOTA 6: Para realizar el *autotune*, seguir las indicaciones del fabricante.

10.6.5 DFTPP *Tune*

El DFTPP *Tune* utiliza el archivo de *tune* que está cargado y las abundancias relativas de interés:

PFTBA ion	Rel. %
50	1
131	45
219	55
414	2,4
502	2

Este ajuste (*tune*) asume que el instrumento ya fue sintonizado con PFTBA. Cuando se realiza un *target tune* con DFTPP, los parámetros del instrumento son guardados en un archivo determinado, nombrado según el fabricante.

10.6.6 Para verificar que el ajuste cumple con los criterios del DFTPP, se debe inyectar 50 ng de DFTPP y analizarlo utilizando el método de verificación (nombrado según el fabricante).

Si las abundancias de los iones no cumplen los criterios de la Tabla 1, consultar el manual del fabricante. Los análisis no deben iniciarse hasta que se cumplan los criterios de sintonización. Alternativamente, se pueden utilizar otros criterios de sintonía, si se demuestra que el desempeño del método no se afecta de forma adversa.

Para adquirir el espectro de masas del DFTPP se puede utilizar la siguiente aproximación que ha demostrado ser de utilidad: se adquieren tres barridos y se promedian (el barrido del ápice del pico y los barridos anteriores y posteriores al ápice). La resta del ruido de fondo se debe completar usando un sólo barrido adquirido con no más de 20 barridos previos a la elusión del DFTPP y debe usarse solamente para eliminar el sangrado de la columna o los iones del ruido de fondo del instrumento. No restar la parte correspondiente al pico del DFTPP.

NOTA 7: Se deben usar condiciones instrumentales idénticas en el espectrómetro de masas para todos los estándares subsecuentes, muestras, muestras adicionadas, muestras adicionadas duplicadas y blancos asociados con el análisis del DFTPP.

10.6.7 Los estándares internos indicados en 7.5 deben permitir a la mayoría de los compuestos de interés tener una separación de los tiempos de retención entre 0,80 min – 1,20 min, en relación a uno de los estándares internos. Utilizar el ión del pico base del espectro del estándar interno específico, como el ión primario para la cuantificación véase Tabla 2). Si se notan interferencias, usar el siguiente ión más intenso como el ión primario de cuantificación.

TABLA 2.- Iones característicos de estándares internos para Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos (HAP's).

Estándar Interno	Ión primario de cuantificación	Iones secundarios
Criseno _{d12}	240	120, 236
Perileno _{d12}	264	260, 265

10.6.8 Analizar de 1 µL a 2 µL de cada disolución de estándares de calibración (que contengan los estándares internos) y tabular el área del ión característico primario contra la concentración de cada analito de interés, de acuerdo a la Tabla 3. Realizar al menos una serie de cinco disoluciones de estándares de calibración. El volumen de inyección debe ser el mismo para todos los estándares y para los extractos de las muestras.

NOTA 8: El DFTPP y el estándar de verificación de la calibración deben combinarse dentro de un solo estándar para verificar que los criterios de aceptación se cumplan para asegurar que este análisis se realice sin interferencias.

TABLA 3.- Iones característicos de los compuestos de interés y de los *surrogados para Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos (HAP).**

Compuesto	Ión primario de cuantificación.	Iones secundarios
Benzo(a) antraceno	228	229,226
Benzo(b) fluoranteno	252	253,125
Benzo(k) fluoranteno	252	253,125
Benzo(a) pireno	252	253,125
Indeno(1,2,3-cd) pireno	276	138,227
Dibenzo(a,h) antraceno	278	139,279
Terfenilo d14 *	244	122,212
Nitrobenceno d-5*	82	128,54
2-Fluorobifenilo*	172	171

10.7 Compuestos de verificación del desempeño del sistema (SPCC por sus siglas en inglés).

10.7.1 Realizar una verificación del desempeño del sistema para asegurar que el promedio mínimo de los FR se cumpla antes de que la curva de calibración se use. Para los compuestos semivolátiles, los SPCC son: N-nitroso-di-n-propilamina y hexaclorociclopentadieno. Se debe revisar la inestabilidad y degradación de los SPCCs para evaluar si existen líneas contaminadas o sitios activos en el sistema, cuyo criterio de aceptación es DER de $\leq 15\%$.

- 10.7.2** El promedio mínimo aceptable de los FR para estos compuestos es 0,050. Estos SPCC típicamente tienen FR muy bajos (0,1 – 0,2) y tienden a disminuir su respuesta cuando el sistema cromatográfico empieza a deteriorarse o cuando el material estándar también se deteriora. Usualmente son los primeros en mostrar un desempeño pobre. Por lo tanto, deben cumplir los requisitos mínimos cuando el sistema está calibrado.
- 10.7.3** Si los factores de respuesta mínimos no cumplen, el sistema debe evaluarse y tomar acciones correctivas antes de analizar las muestras, ya que se pueden presentar los siguientes problemas: degradación de la mezcla de estándares, contaminación del puerto de inyección, contaminación al inicio y al final de la columna cromatográfica y sitios activos en la columna o en el sistema cromatográfico.
- 10.7.4** El sistema CG/EM deberá cumplir los criterios establecidos para los Compuestos de Verificación de la Curva (CCC por sus siglas en inglés), cada 12 horas. Los CCC son:
- Acenafteno
Fluoranteno
Benzo(a)pireno
- 10.7.5** Verificar la estabilidad de la curva de calibración preparando un estándar de verificación. Analizar bajo las condiciones instrumentales de operación. Obtener el reporte de evaluación del por ciento de la diferencia (% D) de los factores de respuesta relativos o de concentración para cada uno de los compuestos. Si el % D de cada compuesto es menor o igual a 20 %, la calibración esta vigente.
- 10.8** Análisis de muestras por CG/EM.
- 10.8.1** Antes del análisis por CG/EM, permitir que el extracto de la muestra se equilibre con la temperatura ambiente del laboratorio. Justo antes del análisis, añadir 10 µL de la disolución del estándar interno a 1 mL de extracto de muestra concentrado obtenido de la preparación de la muestra.

- 10.8.2** Inyectar una alícuota de 1 μL -2 μL del extracto de la muestra usando las mismas condiciones de operación que fueron usadas para la calibración (véase 10.6.1.1). El volumen que será inyectado contiene 100 ng de *surrogados* (suponer un 100 % de recuperación) a menos que se use un sistema de CG/EM más sensible y la disolución de *surrogados* sea menos concentrada que la especificada en 10.2.1.4. El volumen de inyección debe ser el mismo que el volumen usado para los estándares de calibración.
- 10.8.3** Si la respuesta de cualquier ión de cuantificación excede el intervalo de la calibración inicial del sistema de CG/EM, el extracto de la muestra debe diluirse y analizarse nuevamente. Se deben adicionar estándares internos adicionales al extracto diluido para mantener la misma concentración que la de los estándares de calibración (40 ng/ μL , a menos que se use un sistema de CG/EM más sensible).
- NOTA 9:** Puede ser útil como herramienta de diagnóstico evaluar periódicamente los tiempos de retención de los estándares internos y sus respuestas (cuentas de áreas) en todas las muestras, muestras adicionadas, blancos y estándares, para verificar la variación del desempeño del método, la ejecución de la inyección, y anticipar las necesidades de inspección y/o mantenimiento del sistema.
- 10.8.4** El uso del método conocido como Monitoreo Selectivo de Iones (*SIM* por sus siglas en inglés) es aceptable para aplicaciones que requieren límites de detección por debajo de los intervalos normales obtenidos con un espectrómetro de masas con impacto electrónico. No obstante, el modo SIM puede proporcionar un grado de confianza menor en la identificación de compuestos a menos que se utilicen varios iones para la identificación de cada compuesto.
- 10.9** Análisis cualitativo.

- 10.9.1** La identificación cualitativa de los compuestos determinados por este método se basa en los siguientes criterios: en los tiempos de retención y en la comparación de los iones de los espectros de masas de cada uno de los compuestos de interés presentes en la muestra, después de la corrección del ruido de fondo, con los iones característicos de los espectros de masas de los estándares de referencia. El laboratorio debe generar el espectro de masas de referencia usando las condiciones de análisis de este método. Los iones característicos del espectro de referencia de masas se definen como los tres iones de mayor intensidad relativa. Si hay menos de tres iones en el espectro de referencia de masas, se deben utilizar los que tengan intensidad relativa mayor a 30 % del ion principal.
- 10.9.2** Las intensidades de los iones característicos de un compuesto deben maximizarse en el mismo barrido o entre un barrido y otro. El criterio para la selección del pico, mediante la búsqueda de rutina en el sistema de datos (biblioteca electrónica), está basada en la presencia de un pico cromatográfico que contiene los iones específicos del compuesto de interés al tiempo de retención específico del compuesto.
- 10.9.3** El tiempo de retención relativo (TRR) del componente de la muestra debe estar dentro de $\pm 0,06$ unidades de TRR del TRR del componente estándar.
- 10.9.4** Las intensidades relativas de los iones característicos de los espectros de las muestras deben estar dentro del 30 % de las intensidades relativas de estos iones en el espectro de referencia.
- NOTA 10:** La identificación se dificulta cuando los componentes de la muestra no se pueden resolver cromatográficamente y producen un espectro de masas que contiene iones que contribuyen a más de un analito. Cuando los picos obtenidos por cromatografía de gases obviamente representan más de un componente de la muestra (por ejemplo, un pico ensanchado con hombros(s) o un valle entre dos o más máximos), es importante una selección apropiada de los espectros de los analitos y de los espectros del ruido de fondo.

10.9.5 La revisión de los perfiles de iones extraídos (PIE) de iones apropiados puede ayudar en la selección del espectro y en la identificación cualitativa de los compuestos. Cuando los analitos coeluyen (por ejemplo, si es aparente solamente un pico cromatográfico), el criterio de identificación se debe cumplir, aún cuando el espectro del analito contenga iones extraños que son contribución de los compuestos que coeluyen.

10.10 Análisis cuantitativo.

10.10.1 Una vez que cada compuesto se ha identificado, la cuantificación del mismo se basará en la abundancia integrada del ion característico primario del PIE.

10.10.2 Si la DER del factor de respuesta de un compuesto es 15 % o menor, entonces la concentración en el extracto debe determinarse usando el factor de respuesta promedio (\overline{FR}) de los datos de la calibración inicial (véase 10.6.7). Si no se cumple con el criterio, utilizar la ecuación de la curva de calibración (véase 9.4.8).

11 CÁLCULOS

11.1 Cálculo del porcentaje de masa seca:

$$\% \text{ masa seca} = \frac{m_2 - m_0}{m_1 - m_0} * 100$$

Donde:

m_0 es la masa en gramos del contenedor tapado vacío a peso constante
 m_1 es la masa en gramos del contenedor tapado con muestra
 m_2 es la masa en gramos del contenedor tapado con la muestra después del proceso de secado

NOTA 11: La muestra utilizada para la determinación de masa seca debe descartarse una vez que se hizo la determinación y no utilizarse en el proceso de extracción.

- 11.2** Cálculo de los factores de respuesta (FR) para cada analito de interés relativos a un estándar interno:

$$FR = \frac{A_m \times C_{ei}}{A_{ei} \times C_m}$$

Donde:

A_m es el área del pico (o altura) del analito o del surrogado
 A_{ei} es el área del pico (o altura) del estándar interno
 C_m es la concentración del analito o del surrogado en $\mu\text{g}/\text{kg}$
 C_{ei} es la concentración del estándar interno en $\mu\text{g}/\text{kg}$

- 11.3** Calcular el promedio de los factores de respuesta y la desviación estándar relativa (DER o RSD por sus siglas en inglés) de los factores de respuesta de cada analito de interés, utilizando las siguientes ecuaciones:

$$\overline{FR} = \frac{\sum_{i=1}^n FR_i}{n} \qquad DE = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (FR_i - \overline{FR})^2}{n-1}}$$

$$DER = \frac{DE}{\overline{FR}} \times 100$$

Donde:

FR es el factor de respuesta
 DER es la desviación Estándar Relativa
 \overline{FR} es el factor de Respuesta promedio.

11.4 Cálculo de la concentración de analitos en la muestra cuando se utiliza estándar interno y factores de respuesta.

Existen fórmulas equivalentes para el cálculo de la concentración de los analitos y se puede usar cualquier versión encontrada en la literatura, siempre y cuando el laboratorio asegure la adecuada aplicación de la misma para el cálculo de la concentración. En esta sección se presentan algunos ejemplos.

Ejemplo 1:

$$C \text{ } \mu\text{g} / \text{kg} = \frac{(A_m)(C_{ei})(FD)(V_i)}{(A_{ei})(\overline{FR})(M_m)(1000)} \quad (a)$$

Donde:

A_m	es el área del pico del ión característico para el compuesto medido
C_{ei}	es la concentración del estándar interno (mg /L)
FD	es el factor de dilución del extracto de la muestra
V_i	es el volumen de del extracto inyectado (μ L)
A_{ei}	es el área del pico del ión característico para el estándar interno
\overline{FR}	es el promedio del factor de respuesta relativo para compuesto medido
M_m	es la masa seca de la muestra extraída (kg)

El 1000 en el denominador representa el número de μ L en 1 mL. Si el volumen de inyección (V_i) se expresa en mL, entonces se puede omitir el 1000.

Si se usan las unidades especificadas para éstos términos se obtendrá la concentración en ng/g que es equivalente a μ g/kg.

Ejemplo 2:

$$\text{Concentración (mg / kg)} = \frac{(A_m)(C_{ei})(V_f)(FD)}{(A_{ei})(\overline{FR})(M_m)} \quad (b)$$



Donde:

- A_m es el área del pico del ión característico para el compuesto medido
 C_{ei} es la concentración del estándar interno (mg /L)
 A_{ei} es el área del pico del ión característico para el estándar interno
 \overline{FR} es el promedio de factor de respuesta relativo para compuesto medido
FD es el factor de dilución del extracto de la muestra
 V_f es el volumen de aforo (L)
 M_m es la masa seca de la muestra extraída (kg)

Ejemplo 3

Cálculo utilizando la ecuación de regresión.

Cálculo de la concentración de analitos en la muestra cuando se utiliza estándar interno y una calibración lineal que no pasa por el origen.

Si se usa la cuantificación con estándar interno la ecuación de regresión se re escribe como sigue:

$$C_m = \frac{\left[\frac{A_m C_{ei} - b}{A_{ei}} \right]}{a}$$

Donde:

- A_m es el área del pico para el analito de interés en la muestra.
 A_{ei} es el área el pico para el estándar interno
 C_m es la concentración del analito en el estándar de calibración
 C_{ei} es la concentración del estándar interno
a es la pendiente
b es la ordenada al origen

El laboratorio debe tomar en cuenta para los cálculos el factor de dilución, el volumen o masa del extracto, la masa total de la muestra analizada y el valor de fracción de masa seca

Ejemplo 4:

Cálculo utilizando la ecuación

$$\text{Concentración } (\mu\text{g}/\text{kg}) = \frac{(A_m)(I_s)(V_t)(FD)}{(A_{ei})(\overline{FR})(V_i)(M_m)} \quad (c)$$

- A_m es el área del pico del ión característico para el compuesto a medir
 I_s es la cantidad del estándar interno inyectado (ng)
 A_{ei} es el área del pico del ión característico para el estándar interno
 \overline{FR} es el promedio de factor de respuesta relativo para compuesto a medir
 FD es el factor de dilución del extracto de la muestra
 V_t es el volumen del extracto concentrado en microlitros (μL)
 V_i es el volumen del extracto inyectado en microlitros (μL)
 M_m es la masa seca de la muestra extraída (g)

En este caso el Factor de Respuesta relativo promedio se calcula de la siguiente forma:

$$FR = \frac{A_m}{A_{ei}} \times \frac{C_{ei}}{C_m}$$

Donde:

- A_m es el área ión característico del compuesto a ser medido
 A_{ei} es el área del ión característico del estándar interno específico
 C_m es la cantidad del compuesto a ser medido inyectado (ng)
 C_{ei} es la cantidad del estándar interno inyectado (ng)



12 MANEJO DE RESIDUOS

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

12.1 Cada laboratorio debe contemplar, dentro de su Programa de Control de Calidad, el destino final de los residuos generados durante la determinación.

12.2 Almacenamiento: El laboratorio debe contar con áreas especiales, que tengan señalamientos adecuados, para almacenar temporalmente las soluciones contaminadas.

13 VIGENCIA

La presente norma mexicana entrará en vigor 60 días naturales después de la publicación de su declaratoria de vigencia en el **Diario Oficial de la Federación**.

14 BIBLIOGRAFÍA

14.1 NOM-138-SEMARNAT/SS-2003, Límites máximos permisibles de hidrocarburos en suelos y las especificaciones para su caracterización y remediación. (*D.O.F. 29 de marzo de 2005*).

14.2 *ISO:18287:2006 (E) Soil quality- Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH)- Gas chromatographic method with mass spectrometric detection (CG-MS). Primera edición. 2006-01-15*

14.3 Burke, J.A. "Gas Chromatography for Pesticide Residue Analysis; Some Practical Aspects," *Journal of the Association of Official Analytical Chemists*, 48, 1037, 1965.



- 14.4** "Development and Application of Test Procedures for Specific Organic Toxic Substances in Wastewaters, Category 9 - PAHs," Report for EPA Contract 68-03-2624 (in preparation).
- 14.5** "Determination of Polynuclear Aromatic Hydrocarbons in Industrial and Municipal Wastewaters," EPA-600/4-82-025, U.S. Environmental Protection Agency, Environmental Monitoring and Support Laboratory, Cincinnati, Ohio 45268, September 1982.
- 14.6** "EPA Method Validation Study 20, Method 610 (Polynuclear Aromatic Hydrocarbons)," Report for EPA Contract 68-03-2624 (in preparation)
- 14.7** *Method 8000C. "Determinative Chromatographic Separations" EPA SW-846, Environmental Protection Agency, Office of Solid Waste and Emergency Response, Washington D.C., March 2003. (Método 8000C, "Separaciones Cromatográficas Determinativas", Agencia de Protección Ambiental, Oficina de Residuos Sólidos y Respuesta a Emergencias, Washington D.C., Marzo de 2003).*
- 14.8** *Method 8270D "Semivolatile organic compounds by gas chromatography/mass spectrometry" (GC/MS), Environmental Protection Agency, Office of Solid Waste and Emergency Response, Washington D.C., December 1996. (Método 8270D, "Compuestos orgánicos semivolátiles por cromatografía de gases/espectrometría de masas (CG/EM)", Agencia de Protección Ambiental, Oficina de Residuos Sólidos y Respuesta a Emergencias, Washington D.C., Diciembre de 1996).*
- 14.9** *Method 3500 B "Organic Extraction and Sample Preparation" (Revision 2, December 1996), Environmental Protection Agency. (Método 3500B, "Extracción Orgánica y Preparación de la Muestra", Agencia de Protección Ambiental, Diciembre de 1996).*
- 14.10** *Method 8310 "Polynuclear Aromatic Hydrocarbons" (Revision 0, September 1986). Environmental Protection Agency. (Método 8310, "Hidrocarburos Aromáticos Polinucleares", Agencia de Protección Ambiental, Septiembre de 1986).*

- 14.11** *Method 3550C, "Ultrasonic Extraction". EPA SW-846, Environmental Protection Agency, Office of Solid Waste and Emergency Response, Washington D.C. November 2000. (Método 3550C "Extracción por Ultrasónico", Agencia de Protección Ambiental, Oficina de Residuos Sólidos y Respuesta a Emergencias, Washington D.C., Noviembre de 2000).*
- 14.12** *Method 3540C "Soxhlet Extraction". EPA SW-846, Environmental Protection Agency, Office of Solid Waste and Emergency Response, Washington D.C. December 1996. (Método 3550C "Extracción por Soxhlet", Agencia de Protección Ambiental, Oficina de Residuos Sólidos y Respuesta a Emergencias, Washington D.C., Diciembre de 1996).*
- 14.13** *Method 3611B "Alumina Column Cleanup and Separation of Petroleum Wastes" (Revision 2, December 1996). (Método 3611B "Limpieza con Columna de Alúmina y Separación de Residuos de Petróleo", Agencia de Protección Ambiental, Diciembre de 1996).*
- 14.14** *Method 3630C "Silica Gel Cleanup" Section 7.2.1 (Revision 3, December 1996). (Método 3630C "Limpieza con Sílica Gel" Sección 7.2.1, Agencia de Protección Ambiental, Diciembre de 1996).*
- 14.15** *Method 3640A "Gel-permeation cleanup" (Revision 1, September 1994). (Método 3640A "Limpieza con permeación de gel", Agencia de Protección Ambiental, Septiembre 1994).*
- 14.16** *Method 3600C "Cleanup" (Revision 3, December 1996). (Método 3600C "Limpieza", Agencia de Protección Ambiental, Diciembre de 1996).*
- 14.17** *Method 3535 "Solid-Phase extraction" (SPE) (Revision 0, December 1996). Método 3535 "Extracción en fase sólida", Agencia de Protección Ambiental, Diciembre de 1996).*
- 14.18** *Provost, L.P. and R.S. Elder, "Interpretation of Percent Recovery Data," American Laboratory, 15, pp. 58-63, 1983.*

- 14.19** Sauter, A.D., L.D. Betowski, T.R. Smith, V.A. Strickler, R.G. Beimer, B.N. Colby, and J.E. Wilkinson, "Fused Silica Capillary Column GC/MS for the Analysis of Priority Pollutants," Journal of HRC&CC 4, 366-384, 1981.
- 14.20** USEPA 40 CFR Part 136, "Guidelines Establishing Test Procedures for the Analysis of Pollutants Under the Clean Water Act; Final Rule and Interim Final Rule and Proposed Rule," October 26, 1984.
- 14.21** USEPA, Solid Waste-846 Test Methods for Evaluating Solid Waste Physical/Chemical Methods. Capítulo Uno, Control de calidad. Washington, DC. U.S.A. Julio 1992.

15 CONCORDANCIA CON NORMAS INTERNACIONALES

- 15.1** Esta norma mexicana coincide básicamente con la norma internacional ISO: 18287 [13.14] para la determinación de Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos en suelo y difiere en los siguientes puntos:
- 15.1.1** En 8.1 Procedimiento de extracción, de la norma ISO: 18287, se describen dos métodos de extracción líquido-líquido y se refieren las técnicas de extracción adicionales que pueden utilizarse y son equivalentes con los métodos mencionados en la norma. Los métodos de extracción referidos son: ultrasonido, microondas y flúidos presurizados. En la misma sección se aclara que al usar otra técnica de extracción diferente a las referidas en dicha sección, la comparabilidad del método descrito deberá evaluarse. En 10.2 Preparación de la muestra de la presente norma mexicana, se encuentran descritas cuatro técnicas de extracción, Soxhlet, Disruptor Ultrasónico, Baño Ultrasónico, y por Disolventes Acelerados. Esta última es la misma que flúidos presurizados, término utilizado en la ISO: 18287.
- 15.1.2** En 8.3 de la norma ISO: 18287 se indica que la técnica de análisis cuantitativo es la de cromatografía de gases con detección de espectrometría de masas. La presente norma mexicana considera el análisis cuantitativo utilizando cromatografía de gases con espectrometría de masas, y adicionalmente en el apéndice

informativo B se describe como opción la detección con cromatografía de líquidos con detectores de Fluorescencia y Ultravioleta-Visible (UV-VIS). Ambas técnicas de detección son válidas y confiables para el análisis cuantitativo de este tipo de compuestos.

- 15.1.3** En 8.3.2 Condiciones del Espectrómetro de Masas, de la norma ISO, se encuentra la tabla 2 en donde se indica 16 HAP con los estándares internos necesarios, y la presente norma mexicana está diseñada para 7 HAP, los cuales son representativos de este grupo de compuestos.
- 15.1.4** En el anexo B, de la norma ISO, se presentan los resultados de diferentes pruebas interlaboratorio sobre el desempeño de los métodos de extracción líquido-líquido (referidos como métodos A y B). En la presente norma mexicana no se presentan datos de desempeño del método.

APÉNDICE INFORMATIVO A

TABLA A.1.- Criterios de Aceptación para Control de Calidad

Tipo de control	Frecuencia	Criterio de Aceptación
Calibración inicial	Cada vez que esté fuera del criterio de aceptación	DER del FR ≤ 15 % por analito
Verificación de la curva de calibración inicial (Linealidad)	1 vez cada calibración inicial	DER ≤ 15 %
Verificación continua de la curva de calibración inicial	Cada 12 horas	DER ≤ 30 %
Muestra control del laboratorio	1 por lote	*Recuperación de 70 % a 130 %
Estándar <i>surrogado</i> adicionado de recobro	En muestra control y blancos	*Recuperación de 70 % a 130 %
Muestra duplicada	1 por lote	* ≤ 30 % DPR entre concentraciones

*Puede utilizarse como una guía

Donde:

% DER es la desviación estándar relativa
 FR es el factor de respuesta relativo al estándar interno
 % DPR es la diferencia porcentual relativa de $|C1-C2|/(C1+C2/2) \times 100$
 C1 es la concentración de la primera alícuota, C2 es la concentración de la segunda alícuota

APÉNDICE INFORMATIVO B

Método para Analizar Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos por Cromatografía de Líquidos de Alta Resolución (HPLC) con Detectores de Fluorescencia y Ultravioleta Visible (UV-VIS).

B.1 Alcance y campo de aplicación

B.1.1 Este método aplica para medir la concentración de ciertos hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAP) en suelos. Específicamente para analizar los siguientes compuestos:

Benzo[a]pireno
Dibenzo[a,h]antraceno
Benzo[a]antraceno
Benzo[b]fluoranteno
Benzo[k]fluoranteno
Indeno (1,2,3-cd)pireno

Si se requiere medir otros HAP, se deberán desarrollar protocolos independientes.

B.1.2 Los límites de detección para cada compuesto analizado por este método corresponden al método EPA 8310 (13.9) y se presentan en la Tabla B.1. La Tabla B.2 indica los límites de cuantificación para diferentes matrices. La sensibilidad del método generalmente depende de los niveles de interferencias, así como de las limitaciones del instrumento. Los límites de detección presentados en la Tabla B.1 para cromatografía de líquidos se pueden alcanzar en ausencia de interferencias.

B.2 Resumen del método

B.2.1 Este método especifica las condiciones de cromatografía de líquidos de alta resolución para la identificación y cuantificación de algunos hidrocarburos aromáticos policíclicos a nivel de $\mu\text{g}/\text{kg}$ (ppb). Antes de la aplicación de este método de análisis, se debe usar una técnica apropiada de extracción para aislar el ó los analitos de interés. Se inyecta un volumen de 5 μL a 25 μL del extracto de la muestra a un cromatógrafo de líquidos, en donde los compuestos se analizan con un detector de UV-VIS y/o fluorescencia.

B.2.2 Si se sospecha de interferencias y para mejorar la detección y cuantificación de los analitos de interés, se recomienda utilizar un método de limpieza del extracto en una columna de silica-gel o con aquellas técnicas analíticas mencionadas en 2.3, consultar las referencias (13.12) y (13.13).

TABLA B.1.- Límites de detección del método (LDM) para HAP por cromatografía de líquidos de alta resolución (13.9).

Compuesto	Tiempo de retención	Factor de Capacidad de la columna (k')	Límite de detección del método (µg/L)
			Fluorescencia
Benzo(a)antraceno	28,5	21,6	0,013
Benzo(b)fluoranteno	31,6	24,0	0,018
Benzo(k)fluoranteno	32,9	25,1	0,017
Benzo(a)pireno	33,9	25,9	0,023
Dibenzo(a,h)antraceno	35,7	27,4	0,03
Indeno(1,2,3-cd)pireno	37,4	28,7	0,043

B.2.3 Condiciones de referencia para el cromatógrafo de líquidos:

Columna analítica fase reversa C18, tamaño de partícula de 0,5 µm, dimensiones: 250 mm de longitud por 2,6 mm de diámetro interno.

TABLA B.2. Límites de cuantificación (LC) prácticos para varias matrices^a (13.9)

Matriz	Factor ^b
Suelo con bajos niveles de HAP extraídos por sonicación y limpieza con CPG preparativa	670
Suelo y sedimentos con altos niveles de HAP extraídos por sonicación	10,000

^a Los LC tienen una alta dependencia con el tipo de matriz, los datos aquí presentados son una guía, y no siempre pueden alcanzarse.

^bLC es el Límite de Detección del Método (Tabla B.1) x [Factor (Tabla B.2)]. Se debe considerar el factor en masa base húmeda.

B.3 Interferencias

B.3.1 El material de vidrio, disolventes, reactivos y aparatos utilizados en el análisis pueden ocasionar contaminación o líneas bases elevadas, causando una errónea interpretación de los cromatogramas. Se debe demostrar que todos los materiales se encuentran libres de interferencias, bajo las condiciones de análisis. Esto se hace incluyendo en el análisis blancos de disolvente y blancos de reactivos. Se requiere de una selección específica de reactivos y disolventes de alta pureza.

B.3.2 La co-extracción de interferencias de las muestras varía considerablemente de una fuente a otra. En el método se menciona una técnica general, sin embargo, algunas muestras pueden requerir de limpieza adicional para alcanzar el límite de detección indicado en la Tabla B.1 para el ó los analitos de interés.

B.3.3 Las condiciones cromatográficas descritas permiten una resolución de los HAP indicados en este método. Otros HAP presentes en la muestra pueden causar interferencia.

B.4 Equipos y Materiales

B.4.1 Aparato Kuderna-Danish (K-D)

B.4.1.1 Tubo concentrador: Capacidad 10 mL, graduado, con tapón de vidrio para evitar la evaporación del extracto.

B.4.1.2 Matraz de evaporación: Capacidad de 500 mL, ajustar con pinzas al tubo concentrador.

B.4.1.3 Columna Snyder: Macro columna de tres bolas

B.4.1.4 Columna Snyder: Micro columna de dos bolas

B.4.2 Perlas de ebullición: Malla de 10/40. Lavarlas con un disolvente apropiado antes de usar.

B.4.3 Baño con agua: Control de temperatura de $\pm 5^{\circ}\text{C}$. Usar dentro de una campana de extracción de vapores.

- B.4.4** Jeringa: Capacidad de 5 mL
- B.4.5** Microjeringas de volúmenes apropiados
- B.4.6** Cromatógrafo de Líquidos de Alta Resolución
 - B.4.6.1** Sistema de bombas para gradiente
 - B.4.6.2** Detectores: Fluorescencia y UV-VIS
 - B.4.6.2.1** Detector de fluorescencia: Excitación a 280 nm y emisión mayor a 389 nm al corte. El fluorómetro debe tener un sistema óptico dispersivo para la excitación y la emisión, o bien utilizar filtros.
 - B.4.6.2.2** Detector UV-VIS: Longitud de onda de 254 nm, acoplado al detector de fluorescencia.
 - B.4.6.3** Sistema para adquisición de datos, que registre las áreas de los picos y los tiempos de retención.
 - B.4.6.4** Columna analítica empacada con material hidrofóbico por ejemplo C18 u octadecilsilano, cubierta con sílica esférica, tamaño de partícula: 0,5 μm , dimensiones: 250 mm de longitud por 2,6 mm de diámetro interno.
- B.4.7** Matraces volumétricos: 1,0 mL ,10 mL, 50 mL y 100 mL
- B.5** **Reactivos**
 - B.5.1** Agua reactivo: Libre de los compuestos de interés y de interferencias.
 - B.5.2** Acetonitrilo: Calidad HPLC.
 - B.5.3** Disoluciones iniciales (madre). Las disoluciones de referencia pueden prepararse con sustancias químicas puras comerciales o materiales de referencia de los analitos en forma pura o en disolución certificados trazables.



- B.5.3.1** Preparar la disolución inicial (madre) a una concentración de 1,00 µg/µL, disolviendo 0,0100 g del analito de interés en acetonitrilo, aforar a la marca en un matraz volumétrico de 10 mL. Se pueden usar volúmenes mayores si lo requiere el analista.
- B.5.3.2** Transferir la disolución inicial (madre) a viales con tapa de rosca y sello de PTFE. Almacenar a 4 °C, proteger de la luz; la disolución inicial (madre) debe revisarse frecuentemente para detectar signos de degradación o evaporación, especialmente antes de la preparación de disoluciones de calibración.
- B.5.3.3** Reemplazar la disolución inicial (madre) después de un año, ó inmediatamente sí presenta problemas en comparación con la disolución estándar de verificación.
- B.5.4** Curva de calibración: La curva de calibración debe contar con al menos cinco niveles de concentración y se prepara a partir de la disolución inicial (madre), usando como disolvente acetonitrilo. El nivel más bajo de la curva debe ser mayor y estar cerca del LDM. Los demás niveles de concentración deben corresponder al intervalo de concentraciones esperado en las muestras reales. Las disoluciones de calibración deben reemplazarse cada seis meses, o antes si presentan problemas cuando se compara con una disolución estándar de verificación.
- B.5.5** Disolución del estándar interno (si se utiliza). El analista debe seleccionar uno o más compuestos que presenten comportamientos similares a los compuestos de interés y deberá demostrar que la determinación del ó los estándares internos, no afectan el método ó producen interferencia de matriz.
- B.5.5.1** Preparar las disoluciones de calibración para cada analito o como mezcla multicomponente con al menos cinco niveles de concentración, como se describe en B.5.4.
- B.5.5.2** Para cada disolución de calibración, adicionar una concentración conocida constante de la disolución del estándar interno (si se utiliza), aforar a la marca con acetonitrilo.

- B.5.5.3** Analizar cada disolución de calibración de acuerdo a B.7.
- B.5.6** Disolución del estándar *surrogado* (sustituto): el analista debe evaluar el desempeño de la extracción, de la limpieza (si es necesario), del sistema analítico y la eficiencia del método, adicionando a cada muestra, disolución de calibración, muestras control y blancos, uno o más surrogados (por ejemplo decafluorobifenilo u otro HAP que no se encuentre en las muestras). Este *surrogado* debe analizarse bajo las condiciones establecidas para el método.
- B.6 Muestreo, preservación y manejo de muestras**
- B.6.1** Las muestras extraídas deben almacenarse en refrigeración, protegerse de la luz y analizarse dentro de los siguientes días de la extracción.
- B.7 Procedimiento**
- B.7.1 Extracción y concentración**
- B.7.1.1** Las muestras se extraen utilizando las técnicas de extracción descritas en 10.2.1.
- B.7.1.2** Antes del análisis por cromatografía de líquidos, debe cambiarse el disolvente de extracción por acetonitrilo. El cambio se realiza durante el proceso de concentración de los extractos utilizando el K-D (u otra técnica de concentración como las descritas en 10.2.1, de acuerdo a lo siguiente:
- B.7.1.2.1** Una vez extraída la muestra con cloruro de metileno y concentrada por K-D a 1 mL, permitir que el aparato alcance la temperatura ambiente y dejar drenar el disolvente por al menos 10 min.

- B.7.1.2.2** Incrementar la temperatura del baño de agua de 95 °C a 100 °C. Retirar rápidamente la columna Snyder, adicionar 4 mL de acetonitrilo, colocar una perla de ebullición, cambiar a una microcolumna Snyder de dos bolas. Humedecer con 1 mL de acetonitrilo la microcolumna y dejar concentrar el extracto, colocando el aparato K-D dentro del agua caliente hasta que el tubo se encuentre parcialmente sumergido en el agua. Ajustar la posición vertical del aparato y la temperatura del agua como se requiera para completar la concentración en 15 min a 20 min. Cuando el volumen aparente sea de 0,5 mL, retirar el aparato del baño de agua, dejar enfriar y drenar todo el disolvente.
- B.7.1.2.3** Una vez que el aparato K-D se ha enfriado, retirar la microcolumna Snyder, enjuagar con una jeringa las paredes internas de la columna utilizando 0,2 mL de acetonitrilo. Ajustar el volumen del extracto a 1,0 mL. Si no se analiza inmediatamente la muestra, tapar el tubo concentrador y almacenar en refrigerador a 4 °C. Si el extracto se almacenara por más de dos días, éste debe transferirse a un vial con tapa rosca y septum de PTFE. Proceder con el análisis si no se requiere de una limpieza posterior a la extracción.
- B.7.2** Condiciones recomendadas para el cromatógrafo de líquidos.
- B.7.2.1** Usar la columna descrita en B.4.6 o equivalente. La elusión se realiza en modo isocrático por 5 minutos usando como base móvil acetonitrilo/agua (4:6) (v/v), después un gradiente lineal hasta 100 % de acetonitrilo durante 25 minutos a un flujo de 0,5 mL/min. Si la columna presenta un diámetro diferente al especificado, ajustar el flujo para mantener una velocidad lineal de 2 mm/s.
- B.7.3** Calibración
- B.7.3.1** Se puede usar el método de calibración por estándar interno o externo y preparar la curva de acuerdo a B.5.4. Como guía para seleccionar el nivel más bajo de la curva de calibración, usar los valores de las tablas B.2 y B.4.

- B.7.3.2** Para confirmar la forma de elusión de los compuestos y la ausencia de interferencias procedentes de los reactivos, se analiza una disolución de referencia conteniendo él o los analitos de interés.
- B.7.3.3** Previo a la medición de los niveles de la curva de calibración, determinar los límites de detección y cuantificación del método. La medición de la curva de calibración se debe realizar bajo las condiciones de análisis establecidas; precisar el intervalo lineal.
- B.7.4** Análisis por Cromatografía de líquidos
- B.7.4.1** La Tabla B.1 indica los tiempos de retención estimados de los HAP que se analizan por este método. La figura B.1 es un ejemplo de la separación que se logra usando las condiciones que se indican en B.7.2.1.
- B.7.4.2** Para realizar los cálculos durante la calibración, en caso de utilizar estándar interno, véase capítulo 11. Para más detalles de la calibración realizada con estándar externo se puede consultar el método EPA 8000 (véase 13.6).
- B.7.4.3** Si el área del pico excede el intervalo de la curva de calibración, extraer de nuevo para reconstituir a la concentración adecuada o construir la curva de calibración en el intervalo correcto.
- B.7.4.4** Si se sospecha la presencia de interferencias en el extracto, es necesario realizar una limpieza previa al análisis cromatográfico.
- B.7.5** Limpieza
- B.7.5.1** La limpieza de extractos en acetonitrilo se realiza aplicando el método EPA que utiliza silica gel (véase 13.13)
- B.7.5.2** Terminada la limpieza, analizar las muestras como se describe en B.7.4.

B.8 Control de Calidad

B.8.1 Para los procedimientos específicos de control de calidad (véase capítulo 9). Para información adicional referirse al método EPA 8000 C, EPA 3500 y EPA 3600 C (véase 13.6, 13.8 y 13.15).

B.8.2 Detalles específicos del control de calidad necesario para evaluar la operación del sistema de cromatografía de líquidos, se encuentran descritos en el Método EPA 8000 C (véase 13.6)

B.8.2.1 Se recomienda que la muestra de control de calidad se prepare a una concentración equivalente al nivel medio de la curva de calibración, debe contener los siguientes analitos en acetonitrilo:

Benzo[a]pireno
Dibenzo[a,h]antraceno
Benzo[a]antraceno
Benzo[b]fluoranteno
Benzo[k]fluoranteno
Indeno(1,2,3-cd)pireno

B.8.2.2 La Tabla B.3 indica los criterios de aceptación de control de calidad para este método. La Tabla B.4 contiene la exactitud y precisión en función de la concentración de los analitos de interés. El contenido de ambas tablas debe utilizarse para evaluar el desempeño del laboratorio y para generar datos aceptables.

B.8.3 Calcular la recuperación del estándar *surrogado* en todas las muestras, blancos y muestras adicionadas. Evaluar si la recuperación se encuentra entre los límites establecidos en los procedimientos del desempeño de control de calidad del método.

B.8.3.1 Si la recuperación no cumple con los criterios, aplicar el siguiente procedimiento:

- Verificar los cálculos de los estándares *surrogados* y de los estándares internos, así como el desempeño del instrumento.
- Volver a calcular los datos y/o analizar de nuevo el extracto, si no se encuentra el error.



SECRETARÍA DE
ECONOMÍA

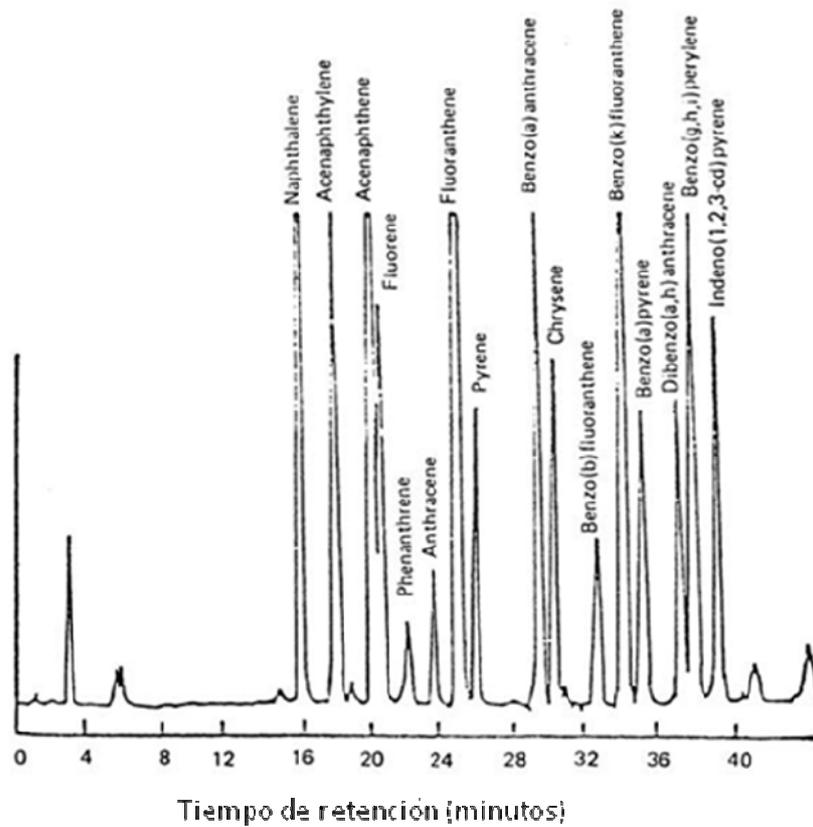
NMX-AA-146-SCFI-2008
57/61

- Extraer y analizar de nuevo la muestra hasta cumplir con los criterios de aceptación.

Columna: HC-ODS SIL-X

Fase móvil: 40 % a 100 % de acetonitrilo en agua

Detector: Fluorescencia





SECRETARÍA DE
ECONOMÍA

NMX-AA-146-SCFI-2008
58/61

Column: HC-ODS SIL-X
Mobile Phase: 40% to 100% Acetonitrile in Water
Detector: Fluorescence

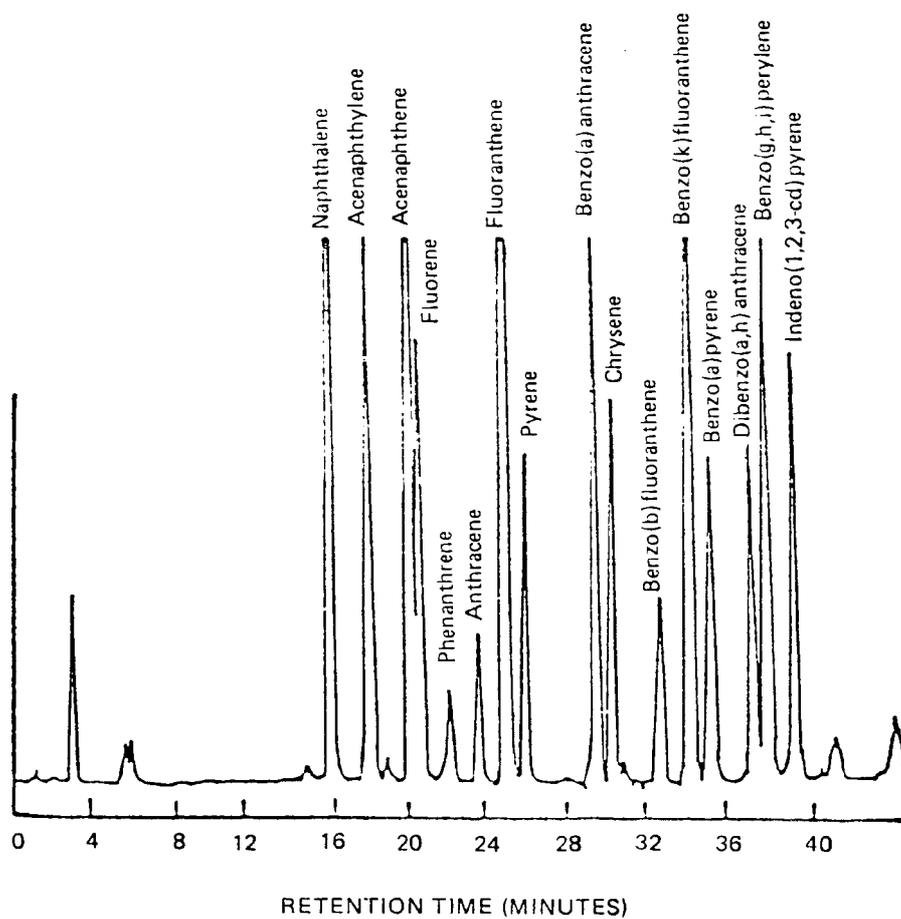


FIGURA 1.- Cromatograma tipo de una mezcla de HAP detectados por fluorescencia en una columna HC-ODS SIL-X.

TABLA B.3. Criterios de aceptación de control de calidad ^a

Parámetro	Concentración de prueba (µg/L)	Límite para s (µg/L)	Intervalo para x (µg/L)	Intervalo p, ps (%)
Benzo(a)antraceno	10	4,0	3,1 - 11,6	12 - 135
Benzo(a)pireno	10	4,0	0,2 - 11,0	D - 128
Benzo(b)fluoranteno	10	3,1	1,8 - 13,8	6 - 150
Benzo(k)fluoranteno	5	2,5	D - 7,0	D - 159
Dibenzo(a,h)antraceno	10	2,0	0,3 - 10,0	D - 110
Indeno(1,2,3-cd)pireno	10	3,0	1,2 - 10,0	D - 116
Pireno	10	3,4	1,4 - 12,1	D-140

- s es la desviación estándar de cuatro mediciones en µg/L.
x es el promedio de cuatro mediciones en µg/L.
p, ps es el porcentaje de recuperación medido.
D es detectado; el resultado debe ser mayor de cero.

^a Criterios del CFR (por sus siglas en inglés) 40 Parte 136 para el Método 610. Estos criterios están basados directamente en los datos de desempeño. De ser necesario, aumentar los límites de recuperación para asegurar la aplicabilidad en aquellas concentraciones menores a las utilizadas para el desarrollo de la tabla 3.

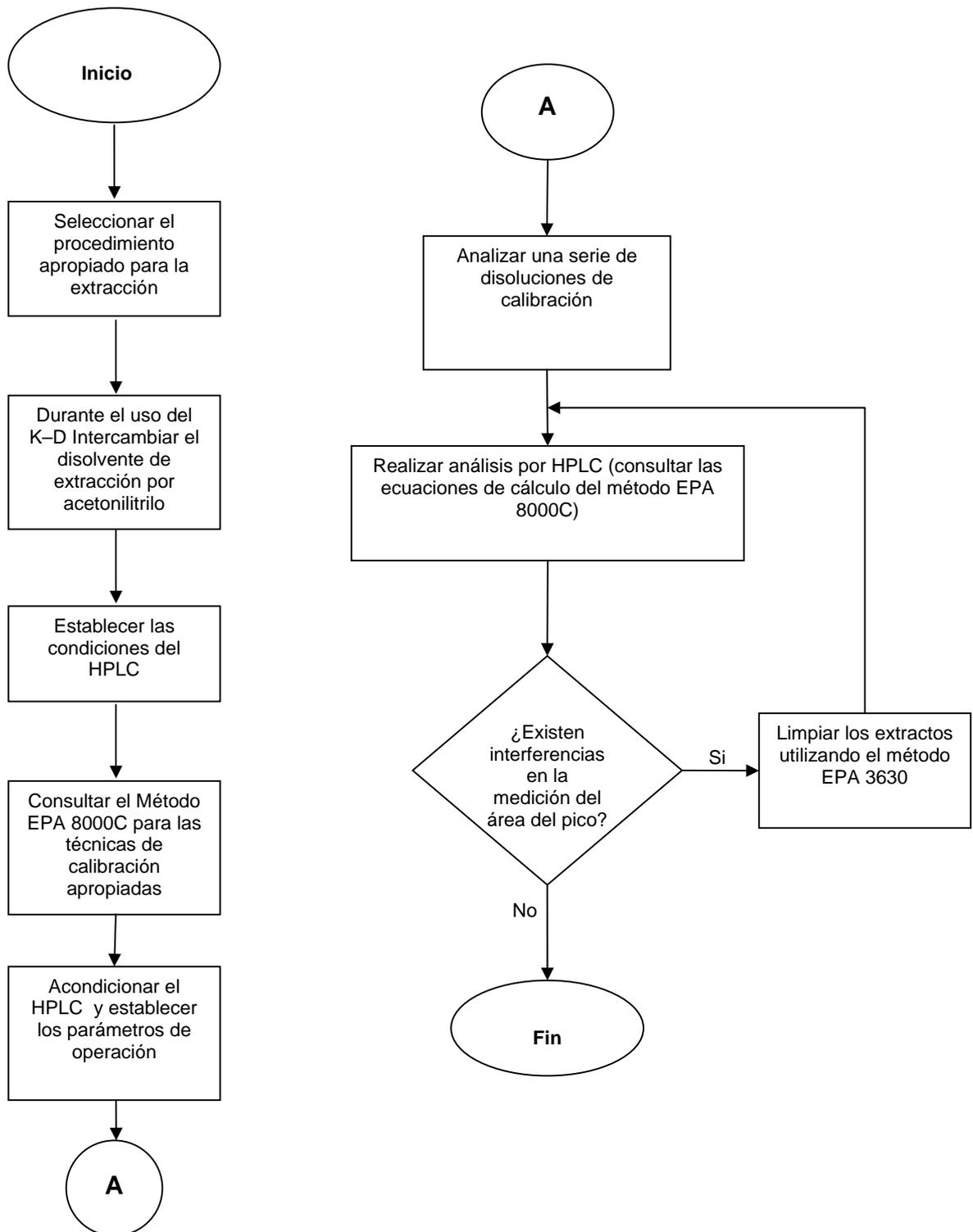


TABLA B.4.- Exactitud y precisión del método en función de la concentración^{a,b}

Parámetro	Exactitud en función de la concentración, x' ($\mu\text{g/L}$)	Precisión del analista, s_r' ($\mu\text{g/L}$)	Precisión total S' ($\mu\text{g/L}$)
Benzo(a)antraceno	$0,73C + 0,05$	$0,28x + 0,04$	$0,34x + 0,02$
Benzo(a)pireno	$0,56C + 0,01$	$0,38x - 0,01$	$0,53x - 0,01$
Benzo(b)fluoranteno	$0,78C - 0,01$	$0,21x + 0,01$	$0,38x + 0,00$
Benzo(k)fluoranteno	$0,59C + 0,00$	$0,44x - 0,00$	$0,69x + 0,10$
Dibenzo(a,h)antraceno	$0,41C - 0,11$	$0,24x + 0,02$	$0,45x + 0,03$
Indeno(1,2,3-cd)pireno	$0,54C + 0,06$	$0,29x + 0,02$	$0,42x + 0,01$
Pireno	$0,69C - 0,12$	$0,25x + 0,14$	$0,42x - 0,00$

- x' es la recuperación esperada para una o más mediciones de una muestra conteniendo una concentración C , en $\mu\text{g/L}$.
- s_r' es la desviación estándar esperada de un analista en una concentración promedio x , en $\mu\text{g/L}$.
- S' es la desviación estándar interlaboratorio de una concentración promedio encontrada de x , en $\mu\text{g/L}$.
- C es el valor verdadero de la concentración, en $\mu\text{g/L}$.
- x es el promedio del recobro encontrado en las muestras medidas conteniendo una concentración C , en $\mu\text{g/L}$.



- a Son los criterios del CFR 40 Parte 136 para el Método 610 (véase 13.20). Estos criterios están basados directamente en los datos de desempeño. De ser necesario, aumentar los límites de recobro para asegurar la aplicabilidad en aquellas concentraciones menores a las utilizadas para el desarrollo de la tabla 3.
- b En el método de referencia demostró que existe una relación lineal de la precisión del analista, la precisión del método y la exactitud con respecto a la concentración de los analitos. Las ecuaciones lineales para describir estas relaciones se presentan en esta tabla.

México D.F., a

DR. FRANCISCO RAMOS GÓMEZ
DIRECTOR GENERAL DE NORMAS

MRM/FLLL/JVG/KFS/LLE.