

# Método analítico para detectar hidrocarburos aromáticos policíclicos en agua potable

Nora Emma Díaz Moroles\*, Juan Manuel Alfaro Barbosa\*, Humberto Garza Ulloa\*\*

Los hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAPs) se generan como productos al quemar combustibles fósiles y material orgánico<sup>1</sup>. Las principales fuentes incluyen emisiones de la quema de carbón y madera, emisiones de automóviles, plantas generadoras de energía y quema de desperdicios. Los HAPs se encuentran en una gran variedad de alimentos y son componentes significativos del humo del tabaco<sup>2</sup>. A nivel mundial hay estudios que revelan su presencia en aire<sup>3,4</sup>, agua<sup>5</sup>, suelos<sup>6</sup>, alimentos<sup>7</sup> y cosméticos<sup>8</sup>. En México se han hecho estudios en sedimentos de la costa de Tabasco<sup>9</sup>.

Los HAPs se encuentran en la lista de contaminantes prioritarios debido a sus propiedades carcinogénicas y mutagénicas en general, aunque su propiedad carcinogénica varía de un compuesto a otro. Por ejemplo, el benzo(a)pireno se considera un potente carcinógeno, el criseno se considera menos carcinógeno y el naftaleno es no carcinógeno.

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

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

La Comisión Nacional del Agua<sup>10</sup> (CNA) clasifica a los parámetros indicativos de la calidad del agua en inorgánicos, orgánicos, físicos y microbiológicos. Dentro de los parámetros orgánicos se incluyen tres Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos que son: Acenafteno, Fluoranteno y Naftaleno.

Para este trabajo es de interés el agua potable, según la Ley Federal de Derechos en Materia de

Agua, publicada por la CNA en febrero de 1998, los límites máximos permitidos son 0.02 y 0.04 mg/L para acenafteno y fluoranteno respectivamente, (para el naftaleno no especifica el límite); por lo cual es importante desarrollar un método de análisis químico que permita cuantificar esos bajos niveles de concentración y preferentemente valores inferiores a ellos.

El análisis de contaminantes orgánicos en agua a niveles de trazas requiere el empleo de instrumentación analítica avanzada, y el reto consiste precisamente en desarrollar métodos analíticos que reúnan las cualidades de ser confiables, reproducibles, y sobre todo sensibles, es decir, que permitan alcanzar los niveles de detección y cuantificación lo más bajo posible, tratando de que éstos sean inferiores a los que marque la normatividad. En México no existe una metodología oficial de análisis para los PAHs, pero en Estados Unidos de América la Agencia de Protección Ambiental (EPA) incluye el análisis de estos compuestos en el método 525, que es para la determinación de compuestos orgánicos en agua potable mediante Cromatografía de Gases<sup>11</sup>; y en el método 550 de la EPA, que es para HAPs en agua potable mediante Cromatografía de Líquidos.

## Metodología

Se desarrolló un método analítico para la determinación de hidrocarburos aromáticos policíclicos en agua potable, utilizando como técnica analítica la Cromatografía de Gases Capilar con detección por

\* Facultad de Ciencias Químicas, UANL.

\*\* INDEQUIM, S.A. de C.V.

Espectrometría de Masas, (CGC/EM).

## Criterios utilizados en la selección del método analítico

En la actualidad la Cromatografía de Gases es una de las técnicas analíticas más ampliamente utilizadas en el monitoreo ambiental y, en combinación con el detector de Espectrometría de Masas, constituye una herramienta esencial en el análisis de especies orgánicas en agua<sup>12</sup>.

El espectrómetro de masas es el mejor detector que se puede acoplar con el cromatógrafo de gases, ya que presenta las ventajas de ser sensible y específico en la identificación de sustancias desconocidas o en la confirmación de presencia de compuestos. Su alta sensibilidad resulta de la acción del analizador que actúa como filtro de masas, reduciendo así la interferencia de fondo, además, la alta sensibilidad de los multiplicadores de electrones permiten amplificar la señal hasta en una potencia de  $10^6$ . La excelente especificidad en la identificación es el resultado de los patrones de fragmentación característicos que proporcionan información acerca de la masa y la estructura molecular<sup>13</sup>.

Otra ventaja importante del detector basado en la espectrometría de masas consiste en la posibilidad de identificar y cuantificar dos sustancias, aun y cuando eluyan juntas<sup>14</sup>. El acoplamiento CG/EM inició<sup>15</sup> en 1960.

La figura 1 muestra un esquema de los componentes de un instrumento CGC/EM.

Para la identificación de los componentes de la muestra se comparan los espectros de masas obtenidos con los espectros de masas almacenados en

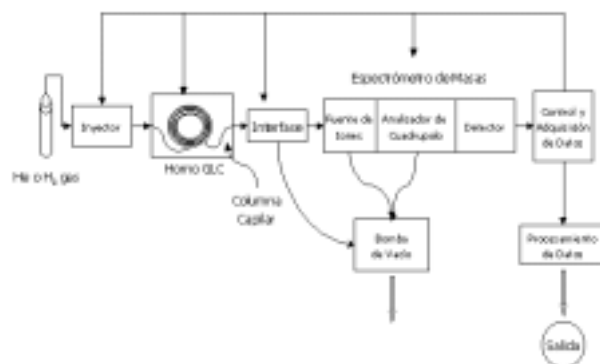


Fig. 1. Esquema del sistema CGC/EM.

una biblioteca de espectros. Esta operación es sólo posible utilizando un software basado en algoritmos matemáticos, que calculan el porcentaje de semejanza entre los patrones de fragmentación de los espectros de masas. En este trabajo se emplea la base de datos Wiley Library<sup>16</sup>, que es la que incluye un mayor número de espectros, la sexta edición de esta biblioteca ofrece 275 000 espectros.

## Extracción y concentración de HAPs

Se realizaron procedimientos de extracción de HAPs de estándares, para ello se utilizó la técnica de extracción en fase sólida (SPE) en su modalidad de discos y tubos SPE, se usaron fases C18. La elución de los compuestos orgánicos se llevó a cabo con cloruro de metileno y la concentración por medio de la técnica Kuderna–Danish, que presenta la ventaja de reducir significativamente el volumen de los solventes empleados para la preparación de muestras, lo cual representa una mejora ambiental.

Se prepararon soluciones primarias de 16 HAPs a partir de estándares certificados, las cuales sirvieron para la preparación de las soluciones secundarias. Además se prepararon soluciones de estándar interno (naftaleno d-8) y surrogados (nitrobenzono d-5 y 2,4,6 tribromofenol). La optimización del detector se llevó a cabo con una solución de PFTBA (perfluorotributilamina) por autoinyección y se calibró con DFTPP (decafluorotriphenilfosfina). Para obtener la curva de calibración se prepararon por triplicado disoluciones a cinco niveles de concentración y tres blancos. Se empleó un Cromatógrafo de Gases Hewlett Packard modelo G1800 A con automuestreador y detector de espectrómetro de masas de cuadrupolo. La tabla 1 muestra las condiciones de operación óptimas para el análisis de PAHs, mediante CGC/EM, incluye el tipo de columna empleada, el programa de temperatura, el tiempo de corrida, gas acarreador utilizado y su velocidad de flujo, el volumen de inyección y el intervalo de masas.

## Cuantificación

Se empleó la técnica de estándar interno.

## Evaluación del desempeño del método analítico

Se determinaron los siguientes parámetros estadís-

Tabla I. Condiciones de operación del CGC/EM

Cromatógrafo de gases	HP G1800A
Automuestreador	HP 6890
Detector	Espectrómetro de masas de cuadrupolo
Columna	Supelco PTE-5, poli 5% difenil 95 % dimetilsiloxano 30 m x 0.25 mm D.I. X 0.25 µm film
Programa de temperatura	40°C-4 min, rampa 10°C/min hasta 300°C.
Tiempo de corrida	35 minutos
Gas	He 1 ml/min
Volumen de inyección	1 µL, splitless
Intervalo de masas	30-450 m/z.

ticos, que definen el alcance y la calidad de los resultados obtenidos bajo las condiciones operativas del método aquí desarrollado.

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

## Resultados

Se obtuvieron los cromatogramas que muestran la separación de los 16 HAPs, los surrogados y el estándar interno, la tabla 2 muestra los tiempos de retención de uno de los cromatogramas obtenidos. En la figura 2 se presenta un espectro de masas de uno de los 16 analitos, el benzo(k)fluoranteno.

Los espectros de masas de cada analito se compararon con los espectros de la base de datos para su identificación.

Para la validación instrumental del método cromatográfico se manejaron cinco niveles de concentración por triplicado y tres blancos.

Para evaluar el desempeño del método aquí desarrollado, se obtuvieron los datos para las 3 curvas de calibración para cada uno de los 16 analitos.

Tabla II. Tiempos de retención de los 16 HAPs, estándar interno y surrogados. Datos de un cromatograma

Compuesto	Tiempo de retención (min)
Nitrobenceno d-5 (estándar surrogado)	11.18
Naftaleno d-8 (estándar interno)	12.72
Naftaleno	12.76
Acenaftileno	16.47
Acenafteno	16.91
Fluoreno	18.10
2,4,6 Tribromofenol (estándar surrogado)	18.75
Fenantreno	20.32
Antraceno	20.42
Fluoranteno	23.12
Pireno	23.62
Benzo(a)antraceno	26.48
Criseno	26.57
Benzo(b)fluoranteno	28.87
Benzo(k)fluoranteno	28.93
Benzo(a)pireno	29.51
Indeno(1,2,3-cd)pireno	31.85
Dibenzo(a,h)antraceno	31.92
Benzo(g,h,i)perileno	32.45

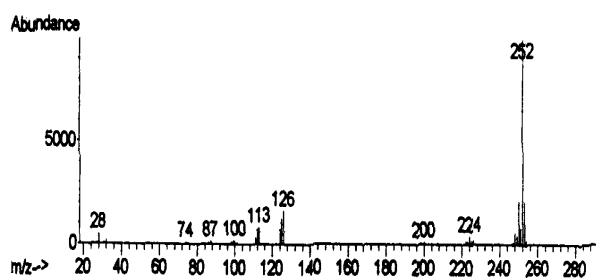


Fig.2. Espectro de masas para el benzo(k)fluoranteno

La figura 3 muestra la curva promedio de calibración para el benzo(k)fluoranteno. Los resultados de la evaluación del desempeño inicial del método se resumen en la tabla 3.

## Discusión de resultados

Los intervalos de trabajo se establecen de manera individual para los 16 analitos y los valores obteni-

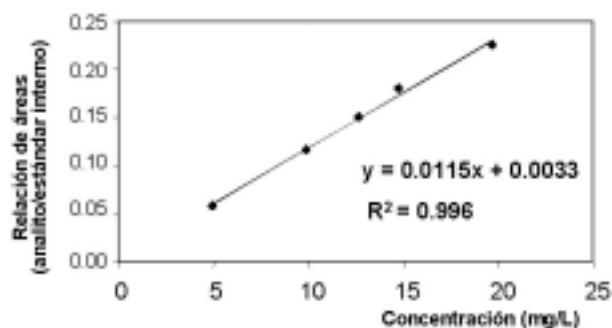


Fig. 3. Curva de Calibración del Benzo(k)fluoranteno.

dos se muestran en la tabla 3, por ejemplo, para el naftaleno el intervalo de trabajo es de 5.21 a 26.06 mg/L; en general se puede decir que los intervalos de trabajo para los 16 analitos oscilan entre 5 y 25 mg/L.

Se asume linealidad cuando la desviación estándar relativa del conjunto de los Factores de Calibración en el intervalo de trabajo es menor de 20%, según los criterios de aceptación establecidos por la Agencia de Protección Ambiental de Estados Unidos de América (US EPA). Para esta validación, en todos los casos se cumple la condición de linealidad. El mínimo valor obtenido fue de 1.91 para el benzo(k)fluoranteno y el máximo valor obtenido fue de 8.54 para el benzo(g,h,i)perileno.

La precisión expresada como porcentaje de coeficiente de variación (%CV) debe ser menor que 15 %, (US EPA). De acuerdo a este criterio de aceptación en esta validación en todos los analitos se cumple dicha condición, ya que se obtuvieron valores de 1.10 % CV para el naftaleno y el acenafteno, que fueron los más bajos, y el más alto fue para el Indeno(1,2,3-cd)pireno con 11.18 % CV.

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

## Conclusiones

Con varias corridas de prueba se lograron determinar las condiciones óptimas para el análisis por CGC/EM.

Se logró mejorar el tiempo de análisis para HAPs reportado hasta el momento por Cromatografía de Gases, ya que una publicación reciente<sup>17</sup> separa a los 16 compuestos en 54 minutos y a temperatura programada, pero usa un detector de ionización de flama.

En este estudio también se trabajó a temperatura programada, pero con un detector de espectrometría de masas y se logró la separación en menos de 35 minutos, el analito número 16 tiene un tiempo de retención de 32.45 minutos.

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

Los rangos de trabajo que se manejaron para las curvas de calibración de los 16 analitos se establecen en mg/L (ppm), pero con el procedimiento de tratamiento de muestra, donde un litro se concentra a un mililitro, es posible cuantificar muestras con niveles de concentración en general de 5 a 25 µg/L (0.005 a 0.025 mg/L). Esto permite cuantificar concentraciones inferiores a las que marca la CNA para el acenafteno (0.02 mg/L) y fluoranteno (0.04 mg/L).

Se utilizó el procedimiento de extracción SPE en disco y en tubo, que evita el consumo excesivo de disolventes y por lo tanto se generan menos residuos de laboratorio, contribuyendo de esta forma a la conservación del medio ambiente.

Por las ventajas del método analítico desarrollado en este trabajo, se propone utilizarlo para la etapa de medición instrumental de HAPs en agua potable. La propuesta formal de este método a la CNA (NMX AA116 SCFI-2001) deberá incluir la metodología para el tratamiento de muestra, la cual está en proceso de validación.

## Resumen

Los Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos (HAPs) tienen propiedades carcinogénicas y mutagénicas. Se generan al quemar combustibles fósiles y material orgánico. En México están regulados los niveles de algunos de los HAPs en agua, pero no existe una metodología oficial de análisis. Se presenta un método para el análisis de HAPs en agua potable mediante Cromatografía de Gases Capilar con detector de Espectrometría de Masas (CGC/EM). Se establecieron las condiciones óptimas de operación del CGC/EM y se evaluó el desempeño inicial del método. Se presentan los resultados. El tratamiento de la muestra emplea Extracción en Fase Sólida (EFS)

Tabla III. Resultados de la validación instrumental para los 16 HAPs estudiados

Analito	Intervalo de trabajo mg/L	DER de FC	Precisión %CV	Límite de Detección mg/L	Límite de Cuantificación mg/L	Coefficiente de correlación
Naftaleno	5.21 – 26.06	8.19	1.10	0.36	1.07	0.9914
Acenaftileno	5.22 – 26.09	6.47	1.20	0.31	0.91	0.9881
Acenafteno	5.37 – 26.86	7.51	1.10	0.85	2.55	0.9879
Fluoreno	5.48 – 27.73	7.38	1.22	0.68	2.03	0.9856
Fenantreno	5.24 – 26.18	7.23	1.17	0.64	1.93	0.9855
Antraceno	5.27 – 26.33	7.99	1.27	0.84	2.53	0.9842
Fluoranteno	5.18 – 25.88	7.49	1.45	1.08	3.25	0.9834
Pireno	5.27 – 26.33	7.98	1.57	1.29	3.86	0.9806
Benzo(a)antraceno	5.66 – 28.27	6.64	2.24	1.46	4.37	0.9844
Criseno	5.51 – 27.55	7.10	2.56	1.82	5.47	0.9807
Benzo(b)fluoranteno	5.28 – 26.40	7.64	4.96	1.66	4.97	0.9839
Benzo(k)fluoranteno	4.92 – 19.68	1.91	5.89	0.26	0.78	0.9980
Benzo(a)pireno	10.92 – 27.29	6.12	6.06	3.46	10.39	0.9727
Indeno(1,2,3-cd)pireno	10.81 – 27.03	5.54	11.18	1.80	5.39	0.9774
Dibenzo(a,h)antraceno	5.45 – 27.25	8.24	8.74	0.88	2.64	0.9853
Benzo(g,h,i)perileno	5.54 – 27.72	8.54	8.14	1.09	3.27	0.9818

DER de FC = Desviación Estándar Relativa de los Factores de Calibración.

y concentración con Kuderna-Danish.

*Palabras clave:* PAH, HAPs, Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos, Polinucleares, Contaminantes del agua.

## Abstract

Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs) have carcinogenic and mutagenic properties. They are formed as products of combustion of fossil fuels and other organic matter. In Mexico the maximum permissible concentration levels have been established for some PAHs in water, but there is no official methodology for PAHs analysis yet. We present a method for PAHs analysis in drinking water by Capillary Gas Chromatography with Mass Spectrometric detection (CGC/MS). We established the optimal conditions of CGC/MS operation and evaluated the initial performance of the method. Here

the results are presented. The sample preparation include Solid Phase Extraction (SPE) and enrichment of PAHs in Kuderna-Danish.

*Keywords:* PAH, PAHs, Polycyclic Aromatic Hydrocarbons, Polynuclear, Water pollution.

## Agradecimientos

A SIREYES por el apoyo financiero al proyecto 970-406035. A PAICYT por el apoyo al proyecto CA 209-99. A la UANL y a la empresa Investigación y Desarrollo Químico, S.A. de C.V. por las facilidades otorgadas.

## Referencias

1. Harvey R.G. Polycyclic Aromatic Hydrocarbons Chemistry and Carcinogenicity, Cambridge Monographs on Cancer Research. Great Britain

- Cambridge University Press. 1991.11-26.
2. Hoffmann, D., Schmeltz, I., Hecht, S.S. & Wynder, E.L. Tobacco Carcinogenesis. Polycyclic Hydrocarbons and Cancer, Vol. 1., eds H. V. Gelboin & P.O.P. Ts'o. New York: Academic Press. 1978. 85-117.
  3. Albagli, A., Oja, H. & Dubois, L. Size-distribution Pattern of PAHs in Airborne Particulates. *Environ. Lett.* 1974. 6,241-51.
  4. Schure, M.R. & Natusch, D.F.S. The Effect of Temperature on the Association of POM with Airborne Particles. *Polynuclear Aromatic Hydrocarbons: Physical and Biological Chemistry*, eds M. Cooke, A. J. Dennis & G.L. Fisher, Columbus, OH: Battelle. 1982. 713-14.
  5. Baum, E.J. Occurrence and Surveillance of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons. *Polycyclic Hydrocarbons and Cancer*, Vol. 1, eds H.V. Gelboin & P.O.P. Ts'o. New York: Academic Press. 1978. 45-70.
  6. Blumer, M. Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Nature. *Sci. Am.*, USA, 234 (10), 35-45.
  7. Grimmer, G. Carcinogenic Hydrocarbons in the Human Environment. *Dtsch. Apoth. Ztg.* 1968.108,529.
  8. IARC Monographs on the Evaluation of the Carcinogenic Risk of Chemicals to Humans: Polynuclear Aromatic Compounds, Part 1, Chemical, Environmental and Experimental Data, Vol. 32, Lyon, France: Internat. Agency Res. Cancer. 1983.
  9. Botello A.V., González C. and Díaz G. Pollution by Petroleum Hydrocarbons in Sediments from Continental Shelf on Tabasco State, México, *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 1991. 47:565-571.
  10. Comisión Nacional del Agua. Gerencia de Recaudación y Control. Ley Federal de Derechos en Materia de Agua. México, Febrero, 1998. 26-35.
  11. Eichelberger J.W., Behymer T.D. and Budde W.L., EPA method 525, Revision 2.1, 1988, US, Environmental Protection Agency, Cincinnati, Ohio 45268.
  12. Soniassy Riezve, Sandra Pat, Schlett Claus. *Water Analysis Organic Micropollutants*. Hewlett Packard Company, Germany, 1994 1-127.
  13. Willard H. H., Merrit L. Jr., Dean J.A., Settle F.A. Jr., *Métodos Instrumentales de Análisis*. 7ª. Edición. Grupo Editorial Iberoamérica, S.A. de C.V., México. D.F. 1991. 455-500,562.
  14. McMaster Marvin, McMaster Christopher, *GC/MS A Practical Users Guide*. Wiley-VCH. New York. 1998.3-113.
  15. Fowls Ian A. *Gas Chromatography*. Second Edition. *Analytical Chemistry by Open Learning*. John Wiley and Sons. New York, 1995. 1-75.
  16. Wiley Library 275, *Mass Spectrometry Spectra*, 6th. ed. 1996, USA.
  17. Alltech. Bulletin, 06/09/00 Product Support Sheet Deerfield, IL. [www.alltechweb.com](http://www.alltechweb.com).