

PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DEL ECUADOR

FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES

ESCUELA DE CIENCIAS QUÍMICAS

Desarrollo y validación de un método para la determinación de hidrocarburos totales de petróleo (TPH's) mediante espectrofotometría de infrarrojos con transformadas de Fourier en suelos fortificados.

Disertación previa a la obtención del Título Licenciado en Ciencias Químicas, mención Química Analítica.

DAVID FERNANDO ROMERO ESTÉVEZ

Quito 2010

Certificación de la finalización de la disertación:

Certifico que la disertación de Licenciatura en Ciencias Químicas, mención Química Analítica, del candidato David Fernando Romero Estévez, ha sido concluida de conformidad con las normas establecidas; por lo tanto puede ser presentada para la calificación correspondiente.

Fecha: 08/11/10

Ms. Sc. Wendy Heredia Rojas

DEDICATORIA

Dedico el presente trabajo a Dios; a mis padres, Fernando y Patricia, por su amor incondicional, su infinito apoyo y comprensión. Y a mi hermana, Gabriela, presente en cada una de las etapas de mi vida.

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a:

La Pontificia Universidad Católica del Ecuador, sus autoridades, docentes y personal administrativo.

La Facultad de Ciencias Exactas y Naturales.

Al Centro de Servicios Ambientales y Químicos, CESAQ-PUCE.

A mi directora de tesis Ms. Sc. Wendy Heredia Rojas, por ser una gran mentora y guía.

A Ms. Sc. Alexandra Hidalgo, por su gran apoyo.

A Ale, Gaby, Fer, Karina, Sandra, Karen, Maite, Ferni, y Gabi, por ser más que mis compañeras, amigas excepcionales.

TABLA DE CONTENIDOS

RESUMEN	1
ABSTRACT	3
1. PARTE TEÓRICA	5
INTRODUCCIÓN	5
1.1. EL PETRÓLEO	9
1.1.1. Definición y reseña histórica	9
1.1.2. Origen	10
1.1.3. El Petróleo en el Ecuador	12
1.2. LOS HIDROCARBUROS TOTALES DE PETRÓLEO	14
1.2.1. Generalidades	14
1.2.2. Hidrocarburos de petróleo y el medio ambiente	17
1.2.3. Legislación ambiental relativa a hidrocarburos totales de petróleo.	21
1.2.4. Metodología para la determinación de hidrocarburos de petróleo	23
1.2.4.1. Extracción	23
1.2.4.2. Separación	25
1.2.4.3. Cuantificación	26

1.2.4.3.1. Interferencias del método	28
1.2.5. INSTRUMENTACIÓN EN ESPECTROFOTOMETRIA DE INFARROJOS	29
1.2.5.1. Equipos dispersivos	29
1.2.5.2. Equipos no dispersivos	30
1.2.5.3. Equipos de transformadas de Fourier	30
1.3. VALIDACIÓN DE MÉTODOS ANALÍTICOS	35
2. PARTE EXPERIMENTAL	37
2.1. DESARROLLO Y VALIDACIÓN DEL MÉTODO	37
2.1.1. Equipos y materiales	37
2.1.1.1. Equipos	38
2.1.1.2. Reactivos	38
2.1.1.3. Estándares y materiales de referencia	39
2.1.1.4. Materiales	39
2.1.1.5. Soluciones preparadas	40
2.1.2. Desarrollo del método	41
2.1.3. Validación del método	42
2.1.4. Aplicación del método	46

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	49
3.1. Desarrollo	49
3.1.1. Método de análisis: extracción sólido-líquido por baño ultrasonido	49
3.1.2. Método de análisis: espectrofotometría de infrarrojos con transformadas de Fourier	53
3.1.3. Procedimiento de análisis	54
3.2. Validación del método	55
3.3. Aplicación del método	60
4. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	67
BIBLIOGRAFÍA	70
Anexos	76

LISTA DE TABLAS

1.1. Límites permisibles para la identificación y remediación de suelos contaminados, en todas las fases de la industria hidrocarburífera incluidas las estaciones de servicios.	22
2.1. Concentración de las soluciones de calibración de los TPH's.	40
2.2. Optimización de las condiciones de extracción agitación-centrifugación.	42
2.3. Objetivo de la Validación	45
3.1. Resultados de la prueba de solvente óptimo para cuantificar en espectrofotometría de infrarrojos.	50
3.2. Resultados de la prueba de cantidad de suelo óptima para el proceso de extracción.	50
3.3. Resultados de la prueba de volumen de solvente necesario para el proceso de extracción.	51
3.4. Resultados de la prueba de la cantidad de sílica necesaria para el proceso de limpieza (clean up).	52
3.5. Condiciones óptimas para el proceso de extracción de TPH's en suelos.	53

3.6. Pendientes e intersecciones de las curvas de calibración, medias y desviaciones estándar.	56
3.7. Resultados de las pruebas de fortificaciones para la determinación del límite de detección y cuantificación del método.	57
3.8. Resultados de precisión de repetibilidad (r) y reproducibilidad (R) para los TPH's.	58
3.9. Resultados de la recuperación del material de referencia certificado.	59
3.10. Datos generales del suelo	60
3.11. Resultados del análisis de TPH's, en las muestras de agua de percolación recolectadas.	61
3.12. Datos y resultados de los análisis de los suelos de los sistemas de remoción, al final de la simulación.	64

LISTA DE FIGURAS

1.1. Formación del Petróleo.	11
1.2. Resumen de los tipos de productos del petróleo y TPH's, métodos analíticos para TPH's en relación al número de carbonos y a los rangos de puntos de ebullición.	15
1.3. Interferómetros en un espectrómetro de infrarrojo de transformadas de Fourier.	31
2.1. Sistema de columnas.	46
3.1. Esquema del procedimiento.	54
Gráfica N°1. Comparación de los resultados de la determinación de TPH's en las muestras de agua de percolación de los tres sistemas de remoción de crudo recogidas, en función del tiempo.	62
Gráfica N°2. Comparación de las concentraciones de TPH's de los suelos entre los tres sistemas de remoción, luego del derrame, con respecto al tiempo transcurrido.	65

LISTA DE ANEXOS

1. Certificado del material de referencia de hidrocarburos totales de petróleo en suelos marca: ERA, Catálogo 570, Lote: D059-632.	76
2. Certificado del estándar de hidrocarburos totales de petróleo marca: Chemservice, Catálogo: TPH418-1M, mezcla GRO-DRO, Lote: 433-126 ^a .	78
3. Certificado del estándar de hidrocarburos totales de petróleo marca: Chemservice, Catálogo: TPH418-1M, mezcla GRO-DRO, Lote: 422-122 ^a .	80
4. Series de datos meteorológicos de precipitaciones mensuales del sector de Papallacta de 1990 a 2008.	82
5. Espectros de los solventes en estudio en el espectrofotómetro de Infrarrojos.	84
6. Datos y gráficas de las curvas de calibración elaboradas para la validación.	89
7. Espectros de Infrarrojo de las pruebas de límite de detección y cuantificación.	93
8. Espectros de infrarrojos de repetibilidad, por cada día de reproducibilidad.	99
9. Datos generales de la validación del método.	109
10. Cálculo de la incertidumbre del método.	111
11. Hoja de declaración de la validación.	116

ABREVIATURAS

TPH's: en inglés, Total Petroleum Hydrocarbons, abreviación de Hidrocarburos totales de petróleo.

OPEP: Organización de Países Exportadores de Petróleo.

API: en inglés, American Petroleum Institute, Instituto Americano del Petróleo.

ARCH: Agencia de Control y Regulación de Hidrocarburos.

ASTDR: en inglés, Agency for Toxic Substances and Disease Registry, Agencia para las sustancias tóxicas y registro de enfermedades.

EPA: en inglés, Environmental Protection Agency, Agencia de protección ambiental.

PSE: en inglés, Pressure Solvent Extraction, extracción con solvente presurizado.

IR: Infrarrojo.

FID: en inglés, Flame Ionization Detector, Detector de ionización de llama.

MS: en inglés, Mass Spectroscopy, detector de espectrometría de masas.

RESUMEN

En este trabajo se desarrolla y valida un método para la extracción y análisis de hidrocarburos totales de petróleo en suelos, mediante espectrofotometría de infrarrojos con transformadas de Fourier, utilizando la extracción sólido-líquido mediante agitación con ultrasonido y una limpieza (clean up) con sílica gel. Luego, este método se aplica a muestras de suelos y aguas de percolación, en una simulación de un derrame de petróleo.

Así, se evaluó la exactitud, precisión, sensibilidad y eficacia del método, obteniéndose como resultados: una exactitud de 94 %, coeficientes de variación para la precisión de repetibilidad de 9,92% y de reproducibilidad de 9,49%; las recuperaciones en las adiciones de estándar entre 93,74% y 104,71%. El rango de trabajo del método es de 100 a 5000 mg/Kg.

En el estudio de laboratorio realizado como aplicación del método de análisis de TPH's en suelos y aguas de percolación, se realizó una simulación de un derrame de crudo utilizando sistemas de columnas verticales, la posterior remoción física del crudo derramado y la simulación de precipitaciones durante cuatro semanas; se obtuvo como resultados, la comprobación que el método desarrollado y validado es aplicable y funciona para la determinación de TPH's en el rango de trabajo de 100 a 5000 mg/Kg y que cuando un suelo entra en contacto directamente con crudo, los TPH's pueden llegar a atravesarlo por el

simple efecto del agua de percolación y dicha contaminación puede llegar a aguas subterráneas.

El presente trabajo se realizó en el Centro de Servicios Ambientales y Químicos de la Pontificia Universidad Católica del Ecuador. (CESAQ-PUCE)

Palabras Clave: TPH's, Hidrocarburos Totales de Petróleo, Espectrofotometría de Infrarrojos, Extracción Sólido-Líquido, Suelo,

ABSTRACT

In this work is developed and validated a method for the extraction and analysis of total petroleum hydrocarbons in soils by infrared spectrophotometry with Fourier transform, using the solid-liquid extraction with ultrasonic agitation and a clean up with silica gel. This method is applied over samples of soil and percolation water in a laboratory study.

It was evaluated the accuracy, precision, sensitivity and efficiency of the method and there were obtained the following results: an accuracy of 94%, coefficients of variation for accuracy and repeatability and reproducibility: 9.92%, 9.49%; a recovery of standard additions between 93.74% and 104.71%. The work range is from 100 to 5000 mg / kg.

In the applicability of the method for analysis of soil and percolation water in the laboratory study, it was prepared in vertical columns of percolation, resulting: the method developed and validated is applicable, and works for the determination of TPH's in working range of 100-5000 mg / kg. When the soil comes in contact directly with crude oil, TPH's can go through the soil because of the simple effect of water percolation and such contamination can reach groundwater.

The experiment was done at Centro de Servicios Ambientales y Químicos of the Universidad Católica del Ecuador. (CESAQ-PUCE)

Key words: TPH's, Total Petroleum Hydrocarbons, Infrared Spectrophotometry, Solid-Liquid Extraction, Soil.

1. PARTE TEÓRICA

INTRODUCCIÓN

El petróleo es una de las principales fuentes de energía utilizada en casi todos los procesos industriales, domésticos y de transporte; siendo por este motivo, la industria hidrocarburífera, una de las más importantes a nivel mundial; circunstancia que crea la necesidad de establecer controles en todos los procesos relacionados con esta industria, para tratar de evitar el daño ambiental que puedan generar.

En el Ecuador se explota el petróleo desde 1911 cuando fue construido el primer pozo en la península de Santa Elena, llamado Ancón 1, pero fue en 1967 que el Consorcio Texaco-Gulf perforó el pozo de Lago Agrio 1, dando paso al auge de la industria hidrocarburífera [1], convirtiéndose en una de la principales fuentes de ingreso económico, alcanzando a ser, en el año 2008, un 22.2% del Producto Interno Bruto ecuatoriano (PIB), un 63.1% de las exportaciones totales y un 46.6% del presupuesto general del estado [2]. Al ser la industria hidrocarburífera tan importante en la economía ecuatoriana, demanda una infraestructura apta para cada etapa de los procesos: extracción, refinación, almacenamiento y transporte; creando una necesidad del manejo de sistemas industriales limpios, así como gestión de desechos y controles de impacto ambiental, lo que a su vez, exige la existencia de

laboratorios acreditados, que manejen sistemas de gestión de la calidad y emitan resultados confiables.

Dada la importancia de la preservación del medio ambiente y de la gestión de desechos, para evitar desastres producidos por la contaminación, es necesario también tener en claro las legislaciones existentes tanto en preservación de ecosistemas así como de remediación, en caso de existir daños.

En el Ecuador existen normas ambientales generales para todos los contaminantes, pero dada la importancia de los hidrocarburos, existe un apartado especial en el cual se trata a los contaminantes relacionados al petróleo, éste es el Decreto 1215, vigente desde el año 2001, en donde se presentan los límites permisibles de los TPH's en suelos, los cuales son: 1000 mg/kg para protección de ecosistemas sensibles, 2500 mg/kg para usos agrícolas y 4000 mg/kg para usos industriales [3].

Es de suma importancia que tanto el estado, como las empresas dedicadas a todas las actividades hidrocarburíferas, controlen todos sus procesos, cumplan con la normativa para evitar el deterioro del medio ambiente, y manejen un plan de contingencia, en el caso de producirse un accidente ambiental.

En el campo analítico, existen diferentes métodos para la extracción y cuantificación de los TPH's en distintas matrices; en relación a la extracción se encuentran algunos métodos adaptados de la extracción de aceites y grasas. Entre las técnicas de extracción más comunes se encuentran: soxhlet, microondas, solvente presurizado (PSE) y por agitación.

Para la cuantificación de TPH's, se encuentran métodos como: espectrofotometría de infrarrojos, la cromatografía de gases que aunque es una técnica de separación, permite también la cuantificación mediante sus detectores de ionización de llama (FID) o acoplado a espectrometría de masas (MS); entre otros.

El presente estudio se justifica debido a que en la bibliografía revisada [4-16,30], no se encontraron publicaciones que desarrollen y validen métodos similares; únicamente existen métodos que describen otras técnicas y otras matrices para los mismos contaminantes, al igual que la utilización de otros solventes.

El objetivo de este trabajo es determinar los TPH's, utilizando la técnica de extracción por agitación en baño de ultrasonido; una limpieza con sílica gel y para la cuantificación se utiliza la técnica de la espectrofotometría de infrarrojos con transformadas de Fourier.

El presente trabajo se divide en cuatro partes:

La primera parte contiene la introducción que incluye una parte teórica, en la cual se describe como subcapítulos: al crudo, a los hidrocarburos totales de petróleo y la validación de los métodos analíticos de ensayo; dentro de cada subcapítulo se menciona las generalidades y los aspectos que tienen relación directa con este trabajo.

La segunda parte contiene la descripción experimental del proyecto, que incluye: el desarrollo y validación del método analítico, la descripción de los materiales y equipos utilizados en el trabajo y el estudio de aplicación.

Luego, en la tercera parte, se presentan los resultados y su respectiva discusión, organizados de acuerdo al desarrollo del proyecto, empezando por el método de extracción, luego, el método de cuantificación, la validación y por último la aplicación del método.

Como última parte de este trabajo, se presenta las conclusiones y recomendaciones.

1.1. EL PETRÓLEO

1.1.1. DEFINICIÓN Y RESEÑA HISTÓRICA

El petróleo es un líquido natural oleaginoso e inflamable, constituido por una mezcla de hidrocarburos, que se extrae de lechos geológicos continentales o marítimos. En este compuesto químico se encuentran juntas las partes sólidas, líquidas y gaseosas. Está formado por átomos de carbono (85 a 90%) e hidrógeno (10 a 14%), junto a otros elementos como el nitrógeno, azufre, oxígeno y metales variados como vanadio y níquel [17-19].

Hace ya 6000 años atrás, los babilonios y los asirios utilizaban el petróleo para la construcción, para unir ladrillos o piedras. Asimismo, los egipcios utilizaban el petróleo para engrasar pieles; y las culturas mayas y aztecas en México, pintaban esculturas con el crudo. Aquello se daba, por el hecho que en la antigüedad, en estas zonas el petróleo llegaba a surgir de manera natural en la superficie terrestre [20].

La fecha de descubrimiento del petróleo, como se conoce popularmente, corresponde al año 1859, y quien lo descubrió fue el norteamericano Edwin Drake. En Pensilvania, se perforó el primer pozo petrolero con fines útiles en la historia, que daría el inicio a toda la gran industria que hoy conocemos [20,21].

Casi 100 años después, en el país árabe de Irak, se constituyó la Organización de Países Exportadores de Petróleo (OPEP). Un bloque que une a los países productores de petróleo, el más importante del mundo [20].

Uno de los temas recurrentes en los últimos años, se refiere a la contaminación asociada a la utilización del petróleo, principalmente al dióxido de carbono; éste, al ser liberado tras la utilización de combustibles fósiles, contribuye al famoso efecto invernadero y al calentamiento global. Asimismo, el transporte del petróleo, usando buques de carga, supone el peligro de derrames masivos de este componente ya sea en mar abierto, o en las costas; provocado serios daños al ecosistema marino [20].

1.1.2. ORIGEN:

Existen varias teorías con respecto al origen del petróleo, la más aceptada se refiere a la descomposición anaeróbica del plancton verde y restos animales y vegetales acumulados en el fondo marino, estos sedimentos se transforman lentamente, por procesos bioquímicos, inorgánicos y térmicos, en gotas de petróleo. Las gotas formadas se alojan temporalmente en una roca sedimentaria, de donde es imposible realizar una extracción directa. Posteriormente, se da la migración del crudo a rocas semipermeables, en las cuales se forman depósitos, donde se almacena; estos depósitos se encuentran delimitados por una capa de roca de grano fino formando así una trampa de petróleo. Es en esta etapa cuando el petróleo puede extraerse. Por su menor densidad, el petróleo se separa del agua y con el

paso del tiempo se acumula en la parte superior de la trampa. Finalmente, en la parte más alta se encuentra el gas natural [19], esta distribución se puede apreciar en la figura 1.1.

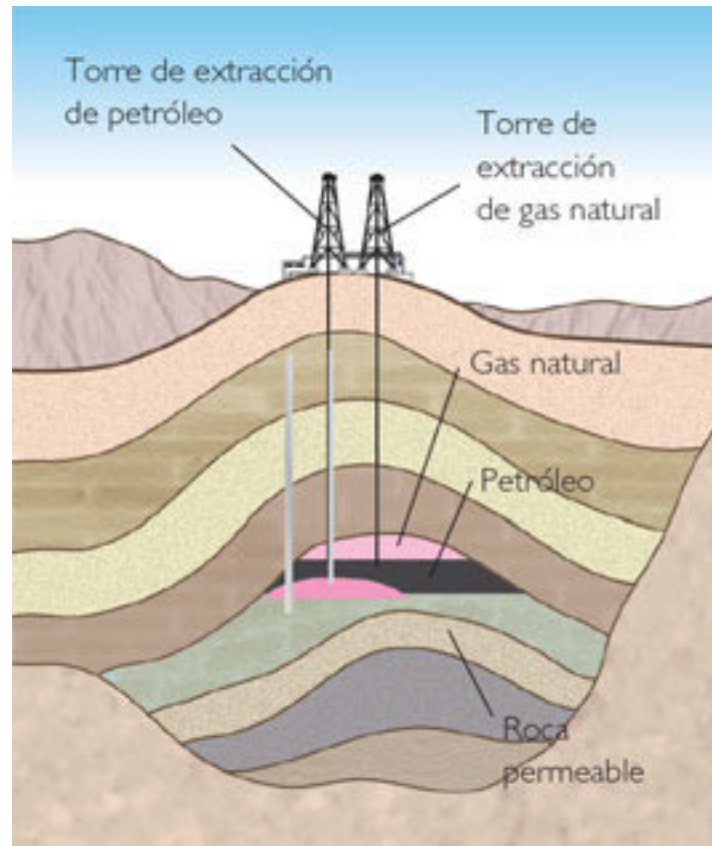


Figura 1.1. Formación del petróleo [22]

Debido a la gran cantidad de compuestos que este posee, es muy difícil caracterizarlo o encontrar similitud con cada uno de los explotados en varios sitios del planeta. Por esto se ha creado una manera de clasificarlo en cuanto a su calidad y costo, basándose en unidades del Instituto Americano del Petróleo (API). La medida de Grados API relaciona el peso de un producto de petróleo con el peso del agua. Si el producto de petróleo es menos pesado que el agua, su grado API es mayor de 10; los productos más pesados, tienen un grado API menor que 10 [21,23].

La industria petrolera se compone de varios procesos, los cuales deben ser rigurosamente controlados, tanto para mantener la calidad del producto, como para evitar daños a los ecosistemas que se encuentren de alguna manera relacionados. Dentro de estos procesos podemos mencionar brevemente a la extracción, la refinación, el transporte, el almacenamiento, la comercialización de todos los subproductos y la utilización de los mismos incluyendo a la gestión de los desechos producidos.

1.1.3. EL PETRÓLEO EN EL ECUADOR.

La historia del petróleo en el Ecuador empieza en 1911, con la perforación del primer pozo petrolero en la Península de Santa Elena, denominado Ancón 1 y se inicia la explotación petrolera; más adelante, en 1933 se crea la Dirección General de Minas y Petróleos, adscrita al Ministerio de Obras Públicas. Pero no es sino hasta 1964 cuando se firma un contrato de explotación de petróleo con el consorcio norteamericano Texaco–Gulf, y empieza así la explotación en Lago Agrio, Oriente ecuatoriano [24].

A partir de 1967, cuando la Compañía Anglo proclama que los yacimientos de la Península de Santa Elena están casi agotados, por lo que su operación no es rentable, se declara que desde esa fecha, Anglo se dedicará únicamente a la refinación [25]. Es entonces cuando las empresas Texaco y Gulf, junto con otras concesiones, empiezan a explotar los yacimientos del oriente ecuatoriano obteniendo gratificantes resultados. Además, dadas las circunstancias internacionales, como la crisis energética, se da una vertiginosa escalada de

los precios del petróleo en el mercado en el año 1970 [26], dando origen al denominado “boom del petróleo” [26, 27].

El petróleo en el Ecuador se convirtió, desde 1972 y de manera progresiva en los años subsiguientes, en el recurso natural no renovable que aporta con un alto porcentaje en los ingresos de la economía nacional [28].

En 1973, el Ecuador ingresa a la Organización de Países Exportadores de Petróleo, en calidad de miembro titular, dando un gran paso para su desarrollo tanto económico como industrial ante el mundo. De aquí en adelante se sigue desarrollando con la construcción de nuevas infraestructuras para extraer mayores cantidades, sistemas de transporte adecuados, como los oleoductos y refinerías [24].

En la actualidad la industria hidrocarburífera está controlada por el Ministerio de Recursos Naturales no Renovables, específicamente por el Viceministerio de Hidrocarburos y la Agencia de Control y Regulación de Hidrocarburos (ARCH).

En la última época, Ecuador empieza a retomar el control y a ejercer soberanía sobre sus recursos naturales, así como a buscar acuerdos estratégicos e inversiones. En el 2009 inició la renegociación de contratos con petroleras extranjeras para cambiar de la modalidad de participación por prestación de servicios [24].

1.2. LOS HIDROCARBUROS TOTALES DE PETRÓLEO

1.2.1. GENERALIDADES

El petróleo está compuesto más del 90% por una mezcla muy compleja de hidrocarburos, que, al ser procesados en las refinerías, son separados en una gran variedad de subproductos con distintos usos [5, 16, 19].

Así, el término de hidrocarburos totales de petróleo (TPH's) se usa para describir una gran familia de varios cientos de compuestos químicos originados de petróleo crudo, tienen en su estructura principalmente hidrógeno y carbono; estos compuestos son inflamables, con densidades variables y diferentes puntos de ebullición dependientes del número de átomos que posean en su estructura, esta última propiedad es primordial para el proceso de refinación por destilación [6, 16, 19, 29].

Los TPH's han sido divididos en grupos compuestos que se comportan en forma similar en el suelo o el agua. Estos grupos se denominan fracciones y cada una de estas contiene muchos productos químicos individuales. Debido a la gran variedad de productos químicos diferentes que conforman cada fracción y los productos derivados, resulta más práctico realizar la medición de los hidrocarburos en su totalidad que medir cada compuesto individualmente [16, 29].

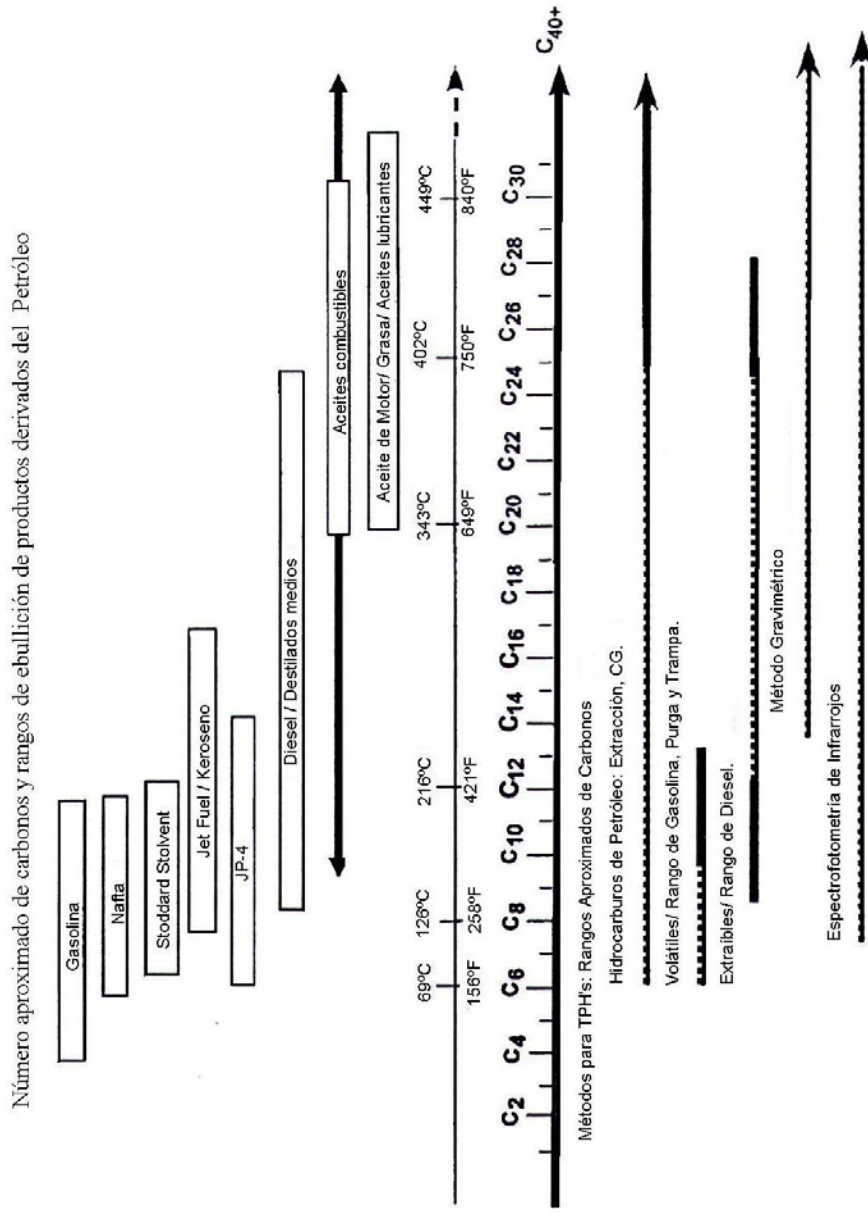


Figura 1.2. Resumen de los tipos de productos del petróleo y TPH's, Métodos analíticos para TPH's, número de carbonos aproximados y los rangos de puntos de ebullición.

Al ser un grupo tan grande de compuestos, los TPH's poseen características distintas entre sí, variando desde el peso molecular, la densidad, la temperatura de ebullición y de congelación y la presión de vapor, incrementándose a medida que se incrementa el número de carbonos, como se observa en la figura 1.2. Existen otras propiedades que agrupan a estos compuestos, las cuales permiten que sus componentes puedan ser separados de otras especies químicas diferentes y cuantificados en su totalidad.

La polaridad es una propiedad química que se define como la desigualdad de las cargas eléctricas entre los átomos de una molécula. En los TPH's existe una diferencia muy leve entre la electronegatividad del carbono y el hidrógeno que son los componentes principales de los hidrocarburos, estos a su vez están constituidos por cadenas: cortas o largas, sencillas, ramificadas, cíclicas o aromáticas; estas estructuras no tienen una diferencia de cargas relativamente fuerte debido a sus átomos constituyentes, por tanto son compuestos no polares, y por esta razón, resultan en general poco solubles en agua. Esta particularidad de poca solubilización en sistemas acuosos resulta muy perjudicial para la vida subacuática, debido a que ciertas fracciones de los hidrocarburos con densidad menor a la del agua, forman una capa e impiden que la luz pase al medio [30].

La propiedad física de los TPH's de ser compuestos no polares, es el factor crítico por el cual se han desarrollado las diferentes técnicas tanto de extracción como de cuantificación de los mismos, obligando a desarrollar compuestos totalmente apolares, que sean no tóxicos, accesibles y efectivos para la solubilización parcial o total de estos compuestos.

1.2.2. HIDROCARBUROS DE PETRÓLEO Y EL MEDIO AMBIENTE

La toxicidad de los TPH's no puede ser cuantificada como tal, ya que depende de los elementos que estén dentro de los hidrocarburos, estos compuestos difieren en TPH's de crudos de diferentes sitios, mientras más compuestos y mayor concentración de los carcinogénicos se encuentren, resulta una toxicidad más elevada [16].

Tomando en cuenta la utilidad de los hidrocarburos para el desarrollo industrial, la toxicidad es una desventaja necesaria que a su vez puede ser controlada y evitada con manejo de sistemas limpios e inspecciones periódicas hechas mediante procedimientos analíticos confiables y certeros.

La contaminación del medio ambiente por los hidrocarburos puede darse por: derrames directos de petróleo en el suelo o agua; infiltraciones de combustibles o aceites; fugas de combustibles por fallas en instalaciones subterráneas; también durante otros procesos de la industria hidrocarburífera como: la explotación, la extracción y el transporte de petróleo se puede producir accidentes que ocasionan contaminación de suelos y aguas superficiales [4, 12].

En los suelos, la contaminación es crítica porque no solamente afecta a la flora y fauna aledaña, sino que también puede afectar a fuentes de agua cercanas, o deteriorarlo y dejar inerte.

El suelo se define como la capa superficial de la corteza terrestre el cual sirve como sustento para el crecimiento y desarrollo de las plantas. Está constituido por cuatro componentes principales: materia mineral, materia orgánica, aire y agua [31].

El suelo es de gran importancia tanto para la vida del hombre como de los animales y plantas, por esto se debe salvaguardar y conservar este recurso. Sin embargo, en la actualidad ha sido amenazado por la práctica de sistemas de producción inadecuados o mal aplicados, que no solamente lo han inhabilitado, sino incluso, han acelerado los procesos de erosión y desertificación de grandes zonas. La industrialización y urbanización también han generado una gran cantidad de desechos que son incorporados al suelo. Por todo lo anterior, es necesario determinar las características particulares del suelo para conocer su grado de contaminación y así poder desarrollar y aplicar tecnologías para la remediación [4, 32].

Los contaminantes del suelo pueden encontrarse cerca a una fuente de agua subterránea o pueden ser transportados mediante el curso del agua ya sea verticalmente (fluvial) u horizontalmente (ríos, riegos, entre otros), y afectar a otros ecosistemas indirectamente relacionados. También, los suelos al ser contaminados, pierden su utilidad para la agricultura, ya que el petróleo y sus residuos pueden permanecer ligados a la materia orgánica constituyente de los suelos luego de haberse producido el accidente.

El comportamiento de los contaminantes orgánicos en el suelo depende de sus características físicas y químicas como: la densidad, solubilidad, polaridad; además de las características del medio en sí, como son: tipo de suelo, permeabilidad, estructura, tamaño

de las partículas, contenido de humedad y materia orgánica; también influyen otro tipo de factores externos como la temperatura y la precipitación pluvial [32].

Dentro de los contaminantes específicos que forman parte de los TPH's, tenemos: los BTEX (benceno, tolueno, etilbenceno y xileno), n-hexano, aceites combustibles y con base mineral, aceite de motor; éstos han sido estudiados por la ATSDR (Agencia para las sustancias tóxicas y registro de enfermedades de los Estados Unidos), la cual ha creado una serie de perfiles toxicológicos de los componentes individuales y los productos derivados del petróleo [6].

La mayor parte de la contaminación en suelos se da por hidrocarburos alifáticos, debido a que éstos son la fracción dominante de hidrocarburos en los derrames. En el suelo se evalúa el grado de degradación y distribución de estos compuestos [6, 8].

La contaminación por TPH's se ve influenciada por la afinidad que tienen estos contaminantes con compuestos de similar condición de "apolaridad," como es el caso de la materia orgánica.

Uno de los procesos de contaminación es la lixiviación, que se define como el movimiento de un compuesto químico a lo largo de todo el perfil del suelo por influencia del agua que migra a través de él (lluvia o de riego). Los compuestos que posean una alta movilidad, son más probables que contaminen el agua subterránea. Los factores determinantes en el proceso de lixiviación son varios [32], entre ellos están:

- Adsorción por los coloides del suelo.
- Características fisicoquímicas del contaminante.
- Características del suelo
- Intensidad y frecuencia de lluvia o riego.

Otro proceso importante es la sorción; la cual incluye al proceso de adsorción y desorción.

La adsorción se define como la acumulación neta de materia en la interfase entre una fase sólida y la fase solución acuosa, sin desarrollarse una estructura tridimensional [45]. En este proceso se utiliza el término “adsorbato” para definir al compuesto que se acumula en la fase sólida y el “adsorbente” para definir a la fase sólida en sí. En el suelo, el proceso de adsorción sucede en la interfase sólido-líquido, en la cual las moléculas orgánicas vienen a ser el adsorbato, y el suelo, el adsorbente [32].

También existen parámetros externos que influyen de manera directa en la movilidad de los contaminantes orgánicos en el suelo, estos son:

El contenido de agua o humedad que influye en el transporte por difusión líquida o gaseosa. En la difusión líquida el transporte aumenta con el contenido de agua, debido a su trayectoria en los espacios porosos reemplazando el aire contenido; inversamente, la difusión de vapor disminuye con el contenido de agua.

También es de suma importancia el contenido de materia orgánica, ya que resulta tener mucha afinidad por los TPH's al igual que el hollín de la atmósfera [32].

1.2.3. LEGISLACIÓN AMBIENTAL RELATIVA A HIDROCARBUROS TOTALES DE PETRÓLEO.

La legislación ambiental pretende la prevención de la contaminación al recurso suelo, está fundamentada en las buenas prácticas de manejo en cada uno de los procesos productivos, con esto se trata de evitar la contaminación de los recursos agua, aire y suelo [3].

Para evitar dicha contaminación, está prohibida la descarga, infiltración o inyección en el suelo o en el subsuelo de efluentes tratados o no, que alteren la calidad de este recurso. Exceptuando las actividades de inyección asociadas a la exploración y explotación de hidrocarburos, estas actividades están sujetas a adoptar procedimientos ambientales existentes en los reglamentos y normas ambientales hidrocarburíferas vigentes en el país [3].

En el Ecuador, el Decreto 1215 también rige sobre los causantes por acción u omisión de contaminación al recurso suelo, a causa de derrames, vertidos, fugas, almacenamiento o abandono de productos o desechos peligrosos, infecciosos o hidrocarburíferos, los cuales deberán proceder a la remediación de la zona afectada, considerando para el efecto los criterios de remediación de suelos contaminados que se encuentren dentro de la norma [3].

Los límites permisibles dependen del uso del suelo, esta matriz contiene una cierta cantidad de hidrocarburos naturales que no afectan el desarrollo de la flora y la fauna, sin embargo, cuando existe un derrame, una emanación, una filtración, o alguna forma de contaminación, se produce un deterioro de la calidad del mismo, así como su productividad y termina por

afectar a la flora y la fauna. Por esta razón, se ha creado pautas en la legislación, las cuales permiten conocer los valores aceptables para los hidrocarburos y otros contaminantes una vez que se ha realizado un derrame y los pasos a seguir para monitorear la remediación [3].

Al realizar actividades hidrocarburíferas que puedan perjudicar la integridad del suelo, se deben inmediatamente generar proyectos de remediación que sean adecuados y que estén aprobados por la Subsecretaría de Protección Ambiental. Dichos proyectos deberán ser ejecutados y monitoreados con cierta frecuencia dependiendo de la gravedad de la contaminación y de la tecnología de la remediación aplicada, hasta lograr cumplir con los límites máximos permisibles que se describen en la tabla 1.1. [3]

Tabla 1.1. Límites permisibles para la identificación y remediación de suelos contaminados, en todas las fases de la industria hidrocarburífera incluidas las estaciones de servicios [3].

Parámetro	Concentración permisible [mg/Kg]		
	Suelo de uso agrícola	Suelo de uso industrial	Suelo de ecosistemas sensibles
TPH's	<2500	<4000	<10000

Se considera suelo de uso agrícola aquel que sirve para fines de cultivo. El suelo de uso industrial, todo aquel que se encuentre en zonas urbanas o rurales con fines para la construcción. Y el suelo de los ecosistemas sensibles, los que se encuentran dentro de áreas protegidas, patrimonios naturales y reservas ecológicas identificados en estudios ambientales.

1.2.4. METODOLOGÍA PARA LA DETERMINACIÓN DE HIDROCARBUROS DE PETRÓLEO.

Como describe la bibliografía, existen diferentes maneras para realizar tanto la extracción como la cuantificación de los hidrocarburos totales de petróleo, las cuales difieren en cuanto a porcentajes de recuperación, metodología, costos, etc.

1.2.4.1. EXTRACCIÓN:

Existen principalmente tres técnicas de extracción que nos aseguran porcentajes de recuperación adecuados, Soxhlet, microondas, agitación-centrifugación, cada una de estas tiene diferentes ventajas y desventajas.

En este proyecto se escogió y comprobó en el laboratorio la técnica de extracción mediante agitación-centrifugación; la cual se describe en los métodos internacionales 3550 y 3580 de la US EPA [33] que se refieren a la extracción por ultrasonido y por disolución en un solvente respectivamente. Este método se basa en la interacción del sólido, que en este caso es el suelo y el solvente escogido para la extracción, tomando en consideración, que el sólido (suelo) debe tener la mayor superficie de contacto, por tanto, el menor tamaño de partícula posible para poder liberar a los hidrocarburos en el solvente, mediante un proceso de agitación.

Se pueden utilizar varios equipos para la agitación, incluso la agitación puede ser manual, aunque esto no se recomienda debido a la poca reproducibilidad que se puede dar en el agitado. También, se puede realizar la agitación utilizando el baño de ultrasonido y establecer los periodos de tiempo más adecuados para asegurar una adecuada extracción; en esta técnica, se está asegurando que las partículas de suelo disgregadas se sometan a vibraciones moleculares, solubilizando los compuestos no polares en el solvente, esto permite que el proceso sea muy efectivo.

En este trabajo se realizaron varias pruebas con material de referencia certificado, para definir los parámetros a seguir en el proceso de extracción y determinar las condiciones mas favorables para obtener los mejores porcentajes de recuperación, dentro de estas pruebas se toma en cuenta:

- Solvente a utilizar.
- Relación entre el peso de la muestra y el volumen de solvente.
- Características de la limpieza (apartado 1.2.4.2.)

Los resultados de las pruebas realizadas se pueden observar en el capítulo 3 de este trabajo. Otra de las técnicas más comunes para la extracción de los TPH's del suelo es la extracción Soxhlet; este método asegura el contacto íntimo de la matriz de la muestra con el solvente de extracción. Está descrito en los métodos internacionales 3540 y 3541 de la US EPA [33].

1.2.4.2. SEPARACIÓN:

Para caracterizar el tipo de hidrocarburos presentes en una mezcla de hidrocarburos proveniente de un suelo contaminado, se recomienda la separación de los diferentes componentes de acuerdo con su polaridad por cromatografía de columna. Con esta metodología es posible separar las fracciones aromática, nitrogenada y azufrada en una muestra de petróleo.

Esta técnica se basa en la separación de los componentes (fracciones) de un extracto orgánico rico en hidrocarburos del petróleo, proveniente de un suelo contaminado, de acuerdo con su polaridad, en una columna empacada con un material muy poroso y granular (alúmina) de pH neutro.

Una forma sencilla, más rápida y económica para realizar la separación de sustancias que pueden estar presentes es realizando una limpieza con un material adecuado, esta puede ser sílica, alúmina, florisil, dependiendo el caso. Como se describe en los métodos 3600, entre estos los 3610, 3611, 3620 y 3630 de la US EPA [33].

Este proceso es de importancia en la determinación de los TPH's en suelos mediante espectrometría de infrarrojos, debido a que a la longitud de onda en el que se cuantifican dichos analitos, también absorben otras sustancias que poseen el mismo tipo de enlace C-H, un ejemplo común de esto son los aceites y grasas de origen animal o vegetal, los cuales pueden contribuir con un valor a la medida de los TPH's. Para eliminar esta interferencia, se realiza el proceso de limpieza, utilizando sílica gel de un tamaño de

partícula adecuado (de 100 a 200 mesh) activada térmicamente en una temperatura de 105 a 110 °C durante 24 horas, esta limpieza cumple la función de separar los compuestos polares y también ayuda a eliminar rastros de agua en el extracto y evitar así otras interferencias.

En este proceso también se realizaron las pruebas necesarias para tener una adecuada separación de las interferencias, y se determinó los parámetros a seguir para obtener resultados adecuados. Los resultados se pueden observar en el capítulo 3 de este trabajo.

1.2.4.3. CUANTIFICACIÓN:

Una forma de separar no solamente a los TPH's de sus interferentes sino en las fracciones que lo componen y cuantificarlas, es mediante la cromatografía de gases, esta técnica se la utiliza para identificar y clasificar de los TPH's por sus componentes y por ser más costosa y requerir de mayor tiempo, resulta menos apropiada para la cuantificación de los hidrocarburos totales [11, 13, 16, 34].

El análisis cuantitativo de los TPH's por espectrofotometría de infrarrojos es una técnica relativamente rápida para determinar la cantidad de analito presente en el suelo. Está basada en el método 8440 de la US EPA [33].

La técnica tiene como principio la medida de la energía calorífica absorbida para producir las vibraciones de estiramiento y flexión en las moléculas, dicha energía pertenece a la región del infrarrojo del espectro electromagnético. Los diferentes grupos funcionales y

tipos de los enlaces absorben radiación en diferentes frecuencias e intensidades, y la intensidad de absorción es directamente proporcional a la cantidad de enlaces, y se relaciona con la concentración del analito [16].

En el caso del análisis de los TPH's, se mide la absorbancia producida por las vibraciones del enlace Carbono-Hidrógeno ya sea a una sola frecuencia, generalmente a 2930 cm^{-1} que corresponde al estiramiento lineal del grupo CH_2 alifático. También se puede realizar la cuantificación usando frecuencias múltiples, incluyendo 2960 cm^{-1} para los grupos metilo y de 2900 a 3000 cm^{-1} para enlaces CH aromáticos [4].

Las muestras se extraen con un disolvente adecuado, que no posee en su estructura enlaces Carbono-Hidrógeno.

Para la determinación mediante esta técnica, se debe realizar un proceso de extracción previo, para lo cual existen limitados solventes, que, en su mayoría tienen muchas restricciones de uso; por ejemplo: El disolvente Freon-113, el cual ya no se fabrica debido a sus efectos en la capa de ozono; el tetracloruro de carbono, que es un conocido carcinógeno, y también afecta a la capa de ozono. En la norma internacional EPA, se utiliza el solvente tetracloro etileno, pero este posee una considerable toxicidad [16].

En este trabajo, se utilizó un solvente estable y no tóxico, que es el policloro trifluoro etileno (S 316).

Para realizar la cuantificación, debe elaborarse una curva de calibración en la cual se

relaciona la concentración con el área de las bandas de absorción de los enlaces. En ésta curva se realiza la comparación con los niveles de absorción de estándares de concentración conocida [16].

Esta técnica permite la identificación de compuestos, debido a que cada compuesto tiene un único espectro, siendo este su “huella digital”. Cuando se trata de mezclas, la interpretación es mucho más difícil debido a que las bandas del espectro se sobreponen, sin embargo, se puede utilizar bandas características de ciertos grupos funcionales que sean particulares de un grupo de compuestos de interés y cuantificarlas por el área que éstas describen.

1.2.4.3.1. Interferencias del Método:

La medida de los TPH's puede estar sujeta a interferencias y los resultados podrían variar, se tiene dos casos principales:

- La determinación de TPH's no es una medida de los hidrocarburos solamente, sino que incluye también a grasas biodegradables y aceites animales, vegetales, estos contaminantes que no corresponden a la familia de los hidrocarburos, pueden causar interferencias positivas en el análisis de IR, si no son totalmente eliminadas por la limpieza de sílica gel. [33].

- Además, debe considerarse que en este método se podrían perder ciertas fracciones de los hidrocarburos, por su alta volatilidad, disminuyendo así el valor de la medida total. Por este motivo se debe tener adecuadas precauciones en el proceso de extracción [33].

1.2.5. INSTRUMENTACIÓN EN ESPECTROFOTOMETRÍA DE INFRARROJOS

Existen algunos tipos de equipos de espectrofotometría de infrarrojos, los cuales cuentan con varios tipos de fuentes de radiación y detectores, se pueden dividir en tres grandes grupos:

1.2.5.1. EQUIPOS DISPERSIVOS:

Estos equipos por lo general son instrumentos de doble haz de luz con un registrador, utilizan redes de reflexión para dispersar la radiación. Estos equipos tienen una gran desventaja debido a que las fuentes de radiación en el rango del infrarrojo son de baja intensidad, además que los detectores poseen baja sensibilidad y necesitan una alta amplificación de las señales; por otra parte, en las determinaciones, se pueden presentar interferencias por el agua y el dióxido de carbono presentes en el aire, aunque se da una compensación gracias al segundo haz de radiación [35].

1.2.5.2. EQUIPOS NO DISPERSIVOS:

Estos equipos son básicamente unos fotómetros de filtro, son sencillos y robustos, poseen como elemento dispersante un filtro de cuña para proporcionar espectros completos; otros no poseen ningún selector de radiación. Los fotómetros de filtro son sensibles a pocas décimas de partes por millón de compuestos específicos como el acetonitrilo, compuestos clorados, monóxido de carbono, fosgeno y cianuro de hidrógeno. Los fotómetros sin filtro son muy selectivos pero únicamente aplicables a gases que absorban radiación en el infrarrojo [35].

1.2.5.3. EQUIPOS DE TRANSFORMADAS DE FOURIER:

Los primeros equipos de transformadas de Fourier fueron construidos para abarcar el rango del infrarrojo lejano (de 10 a 400 cm^{-1}). Actualmente su uso se ha extendido a aparatos que permiten barrer toda la región IR y principalmente el rango del infrarrojo medio que es el de mayor interés, desplazando así a los espectrofotómetros dispersivos.

Como se observa en la figura 1.3. estos instrumentos, en su mayoría, están basados en el principio del interferómetro de Michelson.

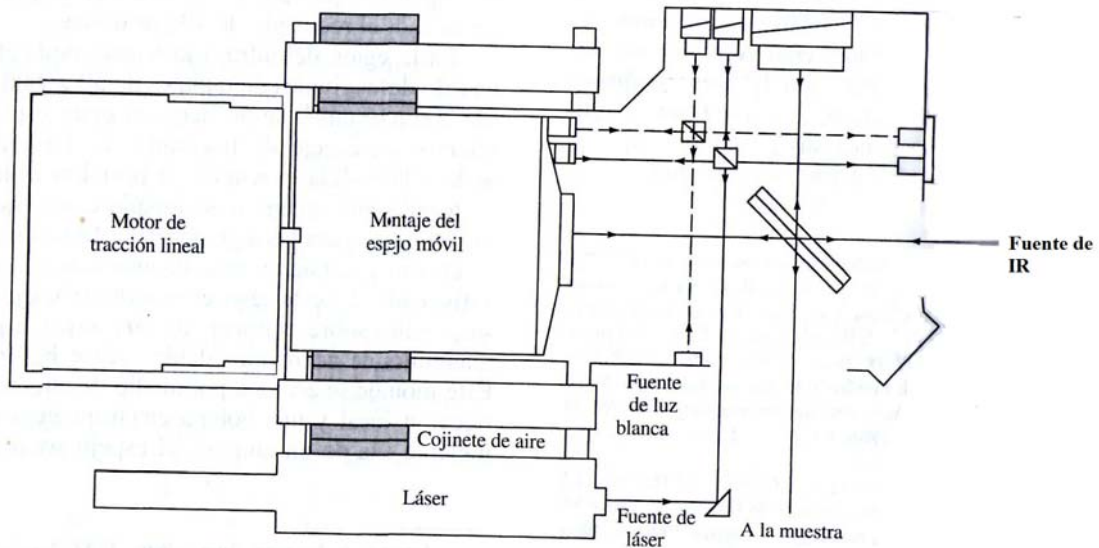


Figura 1.3.: Interferómetros en un espectro infrarrojo de transformadas de Fourier [35].

Los interferómetros de Michelson funcionan de la siguiente manera: inicialmente la radiación choca con un divisor o separador que divide el haz de la luz en dos partes iguales, este divisor de haz es un espejo semirreflejante. Siguen proyectados hacia dos espejos y regresan al divisor de haz, donde, se interfieren constructiva o destructivamente. Uno de estos haces está dispuesto frente a la trayectoria del haz original (espejo móvil) y el otro perpendicular (espejo fijo). En esta trayectoria se dispone la muestra y a continuación el detector IR [35].

La intensidad resultante de la superposición de los dos haces es medida como función del desfase del espejo móvil en su desplazamiento respecto la posición intermedia. El gráfico resultante (Intensidad vs. Desfase) se denomina interferograma [35].

Para poder traducir un interferograma en un espectro se utiliza el método matemático de la transformación de Fourier, este método se constituye por el sumatorio de senos y cosenos de las distintas frecuencias ópticas que componen la radiación. Dicho proceso es largo y complejo, pero se lo resuelve fácilmente gracias a un programa de ordenador y se obtienen resultados exactos y rápidos de las frecuencias elementales contenidas en el interferograma [36, 37].

Cualquier interferograma común es el resultado de la combinación de múltiples frecuencias que son posibles descubrir con las transformadas de Fourier y no solamente la respuesta de una sola longitud de onda del haz.

Para la obtención de interferogramas satisfactorios, se requiere que el espejo móvil tenga una velocidad constante, una verticalidad con respecto al haz y además que se conozca su posición exacta a cada instante; esto se resuelve con un sistema de cojinetes de aire sujetos a unos mangos de acero inoxidable, accionados por un motor de tracción lineal y una bobina electromagnética. El conocimiento de la velocidad y la posición exacta del montaje del espejo móvil, se puede resolver de varias maneras, pero la más común, es utilizando un láser de Helio/Neón, este haz de láser, viaja paralelo al haz de radiación infrarroja, y proporciona intervalos de muestreo muy reproducibles y regularmente espaciados para poder controlar el posicionamiento del espejo móvil [35].

Con la técnica de transformadas de Fourier se tiene dos ventajas: la primera es mejorar la resolución de los espectros y la segunda es obtener una mayor sensibilidad, esta última es

consecuencia de una mayor energía de flujo del haz de luz hasta llegar al detector y de una mejora de la relación señal/ruido.

FUENTES DE RADIACIÓN

Para realizar las determinaciones en el infrarrojo se necesitan fuentes que emitan una radiación continua en esta zona del infrarrojo. Generalmente estas constan de un sólido inerte que al calentarse entre 1500 y 2200 K, emiten la radiación necesaria de 2 a 1,7 μm , aunque variando condiciones se puede llegar a rangos de 1 hasta 15 μm . Entre estas fuentes, se tiene las más comunes: emisor de Nernst, fuente Globar, fuente de filamento incandescente, arco de mercurio, lámpara de filamento de wolframio y fuente de láser de dióxido de carbono [35].

DETECTORES

Existen algunos tipos de detectores de radiación infrarroja: Detectores Térmicos, Termopares, Bolómetros, Detectores Fotoconductores, entre otros. Sin embargo, en los equipos de Transformadas de Fourier, se necesita un detector de respuesta rápida, como los detectores piroeléctricos, que están constituidos por láminas de materiales dieléctricos con propiedades especiales; el más común es el sulfato de triglicina. Al aplicar un campo eléctrico en estos materiales, se da una polarización, cuya magnitud está dada en función de la constante dieléctrica. Al cambiar la temperatura incidente en el material, se da un cambio

en la distribución de carga a través del material, la cual es detectable. La magnitud de la corriente formada es proporcional al área del material y a la velocidad de cambio de la polarización [35].

1.3. VALIDACIÓN DE MÉTODOS ANALÍTICOS

La validación es un proceso establecido para la obtención de pruebas objetivas convenientemente documentadas y demostrativas de que un método analítico es lo suficientemente fiable como para producir el resultado previsto, dentro de intervalos definidos [38, 39, 41].

En una validación existen varios parámetros de desempeño del método que deben ser probados, a continuación se da una breve descripción:

La linealidad es la relación proporcional entre la concentración de los analitos en estudio, con los resultados obtenidos con el método desarrollado. Se determina mediante el tratamiento matemático de los resultados obtenidos en el análisis del analito a diferentes cantidades o concentraciones. La selección del rango y del número de puntos experimentales está estrictamente relacionada con la aplicación del método [30, 40]. Se tiene también como otro parámetro necesario en la validación al límite de detección, que se refiere a la concentración más baja de analito que puede detectarse en una muestra bajo las condiciones experimentales establecidas, con un grado de confianza predeterminado; también debe determinarse el límite de cuantificación que corresponde a la menor cantidad que puede ser determinada cuantitativamente con una incertidumbre asociada, para un dado nivel de confianza. Para el análisis cuantitativo deben emplearse valores atribuibles únicamente al analito, el límite de cuantificación es entre 3 y 10 veces el límite de detección, según cada caso.

La precisión de repetibilidad da una idea del tipo de variabilidad que se puede esperar cuando el método es desarrollado por un mismo analista en un mismo equipo a lo largo de un periodo de tiempo corto. Así como la precisión de reproducibilidad es la precisión más grande esperada. Se refiere a la variabilidad esperada cuando se varía una condición del ensayo: analista, equipo, condiciones de tiempo [40, 41].

La exactitud describe la proximidad entre el resultado de una medición y el valor verdadero del mesurando [40,41].

El intervalo de trabajo, muestra el rango de concentraciones en el que el método ofrece resultados exactos, precisos, según requerimientos [30].

Y por último, la incertidumbre que se define como un parámetro, asociado al resultado de una medida, que caracteriza el intervalo de valores que puede ser razonablemente atribuidos al mensurando. Ésta da una idea de la calidad del resultado ya que muestra un intervalo alrededor del valor estimado dentro del cual se encuentra el valor considerado verdadero [46].

2. PARTE EXPERIMENTAL

2.1. DESARROLLO Y VALIDACIÓN DEL MÉTODO

Se desarrolla un método para la determinación de hidrocarburos totales de petróleo en suelos utilizando como base los métodos EPA [33]. Para la preparación de la muestra, se procede al secado a 60 °C por 24 horas para eliminar toda la humedad existente. Se realiza una extracción sólido-líquido utilizando la agitación mediante el ultrasonido para asegurar un contacto íntimo con el solvente (Método EPA 3550). Se realiza una limpieza (clean up) con sílica gel para eliminar los compuestos polares como grasas y aceites (Método EPA 3630). Se utiliza la espectrofotometría de infrarrojo con transformadas de Fourier para la detección y cuantificación de los TPH's (Método EPA 8440). Las condiciones de extracción, limpieza y cuantificación son probadas y puestas a punto, luego se procede a la validación del método desarrollado y se prueba su eficacia en un estudio de aplicación.

2.1.1. EQUIPOS Y MATERIALES

A continuación se detalla los equipos, materiales, reactivos, estándares y materiales de referencia certificados utilizados en el desarrollo del presente trabajo.

2.1.1.1. EQUIPOS

- Espectrofotómetro Infrarrojo con Transformadas de Fourier marca Perkin Elmer modelo Spectrum BX.
- Equipo de Baño de Ultrasonido Branson.
- Balanza analítica Mettler-Toledo con precisión de 0.1 mg
- Estufa
- Dispensador Eppendorf o similar.

2.1.1.2. REACTIVOS

- Solvente de extracción S 316 (policlorotrifloro etileno) p.a., utilizado para solubilizar los TPH's y extraerlos del suelo.
- Hexano grado técnico, utilizado para eliminar residuos de aceites y TPH's del material de vidrio.
- Ácido Clorhídrico p.a., utilizado para proporcionar el medio ácido a la extracción.
- Sílica gel de 100 a 200 mesh, utilizada en el proceso de clean up.
- Metanol o acetona, utilizado en caso de requerir secado rápido del material de vidrio.

2.1.1.3. ESTÁNDARES Y MATERIALES DE REFERENCIA

- Material de Referencia Certificado marca: ERA, Catálogo 570, Lote: D059-632.
Ver Certificado ANEXO 1.
- Estándar de Hidrocarburos Totales de Petróleo, Marca: Chemservice, Catálogo: TPH418-1M, Mezcla GRO-DRO, Lote: 433-126A. Ver Certificado ANEXO 2.
(Aceite de referencia)
- Estándar de Hidrocarburos Totales de Petróleo, Marca: Chemservice, Catálogo: TPH418-1M, Mezcla GRO-DRO, Lote: 422-122A. Ver Certificado ANEXO 3.
(Aceite de referencia)

2.1.1.4. MATERIALES

- Celdas de cuarzo Marca Perkin Elmer, camino óptico 1.00 cm.
- Puntas Eppendorf de 500 μ L y de 5 mL
- Espátulas metálicas.
- Botellas de vidrio ámbar de 100 mL, boca ancha, con tapa.
- Pipetas volumétricas clase A de 1, 5, 10 mL, calibradas
- Balones de aforo clase A de 10 mL
- Pipetas Pasteur.
- Goteros

2.1.1.5. SOLUCIONES PREPARADAS

Solución de trabajo: a partir del estándar de aceite de referencia puro ver apartado 2.1.1.3, se prepara una solución stock de 50 000 mg/L, esta solución se prepara para cada día de validación, se la utiliza para elaborar las curvas de calibración, y para fortificar las muestras de suelos.

→ Soluciones de las curvas de calibración: se prepara soluciones para elaborar las curvas de calibración de la validación del método analítico como se detalla en la tabla 2.1.

Tabla 2.1. Concentración de soluciones de calibración de TPH's.

Nivel	Concentración
1	10 mg/L
2	100 mg/L
3	500 mg/L
4	1000 mg/L
5	1500 mg/L

2.1.2. DESARROLLO DEL MÉTODO

Se utiliza la extracción sólido-líquido en la cual se realizan varias pruebas, para adaptarla a las condiciones del laboratorio y obtener los mejores porcentajes de recuperación.

Para realizar este proceso se eligió la técnica de extracción por agitación en baño de ultrasonido. Con esta técnica se obtienen recuperaciones de $100 \pm 10\%$ y se evitan pérdidas de las fracciones volátiles por incremento de temperatura; además permite realizar un mayor número de muestras a la vez.

Para poner a punto este método, se realizaron ensayos como el solvente a utilizar, cantidad de muestra y solvente variable, cantidad de sílica en la limpieza, tiempo de duración de los períodos de agitación, como se describe en la tabla 2.2.

Cada una de las condiciones fueron probadas en el laboratorio utilizando material de referencia certificado y realizando la detección y cuantificación mediante el espectrofotómetro de infrarrojos con transformadas de Fourier. Esperando porcentajes de recuperación de $100 \pm 10\%$.

Tabla 2.2. Optimización de las condiciones de extracción agitación-centrifugación:

Parámetro	Pruebas realizadas
Tipo de Solvente	S 316 Tetracloroetileno Hexano
Cantidad de muestra	1,5 g 3 g 5 g
Cantidad de Solvente	5 mL 10 mL
Número de extracciones	1 2
Tiempo de período de extracción	60 min
Cantidad de sílica en la limpieza	0,5 g 0,7 g 1 g 1,5 g
Tipo de empaque para la limpieza	En columna En embudo

2.1.3. VALIDACIÓN DEL MÉTODO:

El método analítico desarrollado para la extracción y determinación de hidrocarburos totales de petróleo del suelo mediante espectrofotometría de infrarrojos con transformadas de Fourier fue validado de acuerdo a los siguientes parámetros de desempeño:

→ **Linealidad:** para evaluar la linealidad del método se realizó curvas de calibración con fortificaciones de estándar puro de hidrocarburos en suelos; el rango fue de 100 a 5000 mg/kg. Las curvas fueron evaluadas mediante regresión lineal, usando el método de mínimos cuadrados. Las rectas analizadas corresponden a la siguiente ecuación:

$$y = mx + b \quad (2.1)$$

En la ecuación 2.1., se puede calcular la pendiente (m) y el intercepto al origen (b). También se determinó el grado de ajuste de la curva, mediante el coeficiente de correlación r^2 , el cual para ser aceptado no debe ser inferior a 0,99.

- **Límite de detección:** debido a la imposibilidad de detectar ruido con los blancos de los suelos, se realizó la determinación de los límites de detección, utilizando fortificaciones de suelos en niveles muy bajos, hasta poder obtener una señal del equipo.
- **Límite de cuantificación:** se determinó utilizando fortificaciones en niveles muy bajos, hasta obtener una recuperación de $100 \pm 10\%$.
- **Precisión de repetibilidad:** se determinó realizando fortificaciones de suelos en cuatro niveles de concentración, dentro del rango de linealidad, cada uno por triplicado. Se evaluó la variabilidad usando la desviación estándar y el coeficiente de variación, esperando valores de este último menores al 10%.
- **Precisión de reproducibilidad:** se determinó realizando la lectura por triplicado de cuatro concentraciones de fortificaciones de suelos durante tres días diferentes.

Cada día se preparó una curva diferente de estándares. Se evaluó la variabilidad de las lecturas en los tres días utilizando la desviación estándar y el coeficiente de variación, esperando valores de este último menores al 10%.

→ **Exactitud:** se evaluó la recuperación del material de referencia certificado, realizando las lecturas durante tres días por triplicado. La exactitud y la recuperación fueron determinadas mediante las ecuaciones 2.2. y 2.3.

$$\% \text{ Exactitud} = \frac{\text{Resultado obtenido} - \text{Resultado real}}{\text{Resultado real}} \times 100 \quad (2.2)$$

$$\% \text{ Recuperación} = \frac{\text{Resultado obtenido}}{\text{Resultado real}} \times 100 \quad (2.3)$$

Los errores de exactitud esperados deben ser menores al 10%, equivalentes a una recuperación de $100 \pm 10\%$.

→ **Intervalo de trabajo:** fue determinado por los niveles de concentraciones de las fortificaciones: 100, 500, 1000 y 5000 mg/kg.

→ **Incertidumbre:** una vez obtenidos todos los parámetros de desempeño se procedió a calcular la incertidumbre expandida de $K=2$. En el Anexo 10 “Cálculo de la incertidumbre del método” se encuentra el cálculo de dicha incertidumbre.

Para el desarrollo de la validación se realizaron triplicados de análisis en tres días consecutivos, a cuatro niveles diferentes de concentración de fortificaciones; además, se realizó triplicados de análisis de material de referencia certificado en los tres días de validación.

El objetivo de esta validación se describe por parámetros en la siguiente tabla:

Tabla 2.3. Objetivo de la validación

Parámetro de desempeño	Objetivo
Linealidad	Coefficiente de correlación mayor a 0,99.
Límite de cuantificación	Menor nivel al que se obtenga recuperaciones de $100 \pm 10\%$.
Precisión de repetibilidad	Variabilidad menor al 10%.
Precisión de reproducibilidad	Variabilidad menor al 10%.
Exactitud	Recuperaciones de $100 \pm 10\%$.
Intervalo de trabajo	Rango comprendido entre 100 y 5000 mg/kg.

2.1.4. APLICACIÓN DEL MÉTODO

El método validado fue aplicado a muestras de suelo, dentro una simulación en laboratorio de la migración de los TPH's a través de un suelo por efecto del agua de percolación, luego de un derrame y remoción controlados de crudo.

Para la realización de este estudio se utilizó una muestra de suelo del orden de Inseptisoles, suborden Andepts del gran grupo Hidrandepts, recolectada de un área comprendida en la reserva Cayambe-Coca, el punto geográfico de la toma de muestra se ubica a una latitud $00^{\circ}19'06.8''$ y una longitud de $078^{\circ}12'29.6''$. Este tipo de suelo es característico de la zona de páramo húmedo con precipitaciones mayores a 1000 mm anuales y a temperaturas entre 3 y 8 °C, tienen contenido de humedad mayor al 50% y un pH ligeramente ácido [31].

Con este suelo se ensambló un sistema de 13 columnas para la simulación de un derrame de crudo, para analizar los efectos del tiempo de remoción y las precipitaciones fluviales que sucedan durante un mes, en la migración de los TPH's a través del suelo a aguas subterráneas. Ver figura 2.1. Se utilizó la simulación en columna vertical [43] debido a su aplicabilidad para el estudio en un sistema de movilidad unidimensional.



Figura 2.1. Sistema de columnas

Los sistemas fueron ensamblados en columnas de vidrio de 30 cm cada una, en cuya base poseen una salida para poder recolectar el agua de percolación; fueron rellenas con cantidades de suelo conocidas, y se procedió al empaque del suelo a presión sin dejar espacios de aire. Una vez listos los 13 sistemas: uno para realizar el blanco del estudio, cuatro sistemas para la simulación de la remoción de crudo a las 24 horas; cuatro sistemas, para la simulación de remoción a las 48 horas; y cuatro sistemas para la simulación de remoción las 72 horas. La remoción se efectuó físicamente, extrayendo el crudo en su totalidad con una espátula. Para cada uno de estos tres grupos, se utilizó un sistema para la recolección del agua de percolación de cada semana, completando así, cuatro semanas de estudio.

Una vez ensamblados los sistemas, se procedió a derramar en la superficie del suelo de cada columna, 5 mL de crudo para simular el derrame. Además, para producir un efecto real, diariamente se fue añadiendo 5,4 mL de lluvia simulada, los valores calculados de la precipitación fueron obtenidos mediante el promedio de la sumatoria de las medias aritméticas de las precipitaciones correspondientes a los meses de mayores precipitaciones del sector (de marzo a agosto) de la tabla de precipitación anual de la zona proporcionada por el Instituto Nacional de Meteorología e Hidrología INAMHI. Ver Anexo 4. El resultado del promedio es dividido para los 28 días (4 semanas) que durará el estudio, de esto resulta que debe existir 5,4 mm de precipitación diarios, y relacionando este dato con el diámetro de las columnas, se calcula el volumen correspondiente.

Luego del inicio, semanalmente se fue recolectando las percolaciones obtenidas y se analizó los TPH's. Al final de las cuatro semanas del estudio, se analizó también los suelos contenidos dentro de las columnas utilizando el método desarrollado.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Este trabajo presenta como resultado un método para la determinación de TPH's en suelos. A continuación se muestran los resultados obtenidos durante el desarrollo del método, su validación y aplicación en un sistema de simulación controlada.

3.1. DESARROLLO

3.1.1. MÉTODO DE ANÁLISIS: EXTRACCIÓN SÓLIDO-LÍQUIDO POR ULTRASONIDO

El método de extracción fue desarrollado realizando pruebas en las condiciones necesarias para obtener una adecuada recuperación de dichos compuestos. Como se observa en el apartado 2.1.2. Los puntos más importantes son: la elección del solvente y la cantidad del mismo con relación a la proporción de la muestra, así como los períodos de tiempo de la extracción y la cantidad de sílica necesaria para un adecuado proceso de limpieza.

Los resultados de las pruebas realizadas son los siguientes:

Como se aprecia en la tabla 3.1. El solvente adecuado, que no presenta señal en la longitud de onda en la cual los hidrocarburos presentan sus bandas características, es el S-316

(Policloro trifloro etileno), que además resulta no tener toxicidad comparado con los otros solventes del ensayo.

Tabla 3.1. Resultados de la prueba del solvente óptimo para la cuantificación en espectrofotometría de infrarrojos.

<i>Solvente</i>	<i>Observaciones</i>
Hexano Anexo 5	Presenta señal en la longitud de onda necesitada (2500-3500 cm ⁻¹)
Tetracloroetileno Anexo 5	Presenta señal en la longitud de onda necesitada. (2500-3500 cm ⁻¹)
S316 (Policloro trifloro etileno) Anexo 57	No presenta señal. (2500-3500 cm⁻¹)

Se realizaron pruebas para determinar la cantidad necesaria de suelo para recuperar la mayor cantidad de TPH's, obteniéndose que: se requiere de 3 g de suelo para obtener recuperaciones de 100 ± 10%; al utilizar 1.5 g de suelo, las recuperaciones no superan el 80%; en cambio, al utilizar 5 g de suelo, la recuperaciones no resultan superiores al 60% debido a la saturación del solvente, lo que impide que los hidrocarburos presentes sean convenientemente extraídos. Esto se lo puede observar en la tabla 3.2.

Tabla 3.2. Resultados de la prueba de cantidad de suelo óptima para el proceso de extracción.

<i>Peso de suelo [g] (A)</i>	<i>Volumen de solvente [mL] (B)</i>	<i>Lectura [mg/L] (C)</i>	<i>Valor CxB/A [mg/kg]</i>	<i>Valor real [mg/kg]</i>	<i>Recuperación</i>
1,6057	5	593.6541	1848,6	2500	73,9%
1,4964	5	594.9666	1988,0	2500	79,5%
3.1993	5	1425,3387	2227,6	2500	89,1%
3.0595	5	1422,3599	2324,5	2500	93,0%
5.0287	5	1461,9591	1453,6	2500	58,1%
5.0040	5	1465,4408	1464,3	2500	58,6%

Como se puede observar en la tabla 3.3. al realizar los ensayos con distintos volúmenes de solvente en el proceso de extracción, los valores de las recuperaciones resultan entre 92.3% y 112,4% en todos los casos; sin embargo, al realizar una sola extracción con 10 mL de solvente S 316, y no dos extracciones de 5 mL cada una, se tiene una recuperación dentro del rango de 10% de desviación del valor ideal.

En esta etapa, también se puede constatar, que al utilizar 10 mL de solvente S 316 se obtienen recuperaciones entre 92,3% y 92,5% utilizando pesos variables de 3 a 5 gramos de suelo. Los datos se encuentran descritos en la tabla 3.3.

Tabla 3.3. Resultados de la prueba de volumen de solvente necesario para el proceso de extracción.

<i>Peso de suelo [g] (A)</i>	<i>Volumen de solvente [mL] (B)</i>	<i>Lectura [mg/L] (C)</i>	<i>Valor CxB/A [mg/kg]</i>	<i>Valor real [mg/kg]</i>	<i>Recuperación</i>
3.2578	5 + 5	887,9813	2725,7	2500	109,0%
5.0537	5 + 5	1420,4738	2810.8	2500	112,4%
3.0475	10	703.2357	2307.6	2500	92,3%
5.0264	10	1161,8154	2311,4	2500	92,5%

Dentro del proceso de limpieza de la muestra, se comprobó, como se describe en la tabla 3.4. que para obtener un adecuado proceso de limpieza de las interferencias de carácter orgánico, se requiere 1 g de sílica gel; en los casos que se utilizó cantidades menores a la establecida anteriormente, se obtuvieron porcentajes de recuperación excesivos, esto se explica porque seguramente se detectan interferentes que no han sido adecuadamente separados dada la saturación del material de limpieza. También, cabe indicar que la

efectividad de la limpieza está estrechamente relacionada al tipo de empaque y al periodo de tiempo que permanezca el extracto en contacto con el material de empaque, es por esta razón que se obtienen mejores resultados cuando se lo realiza en una columna de diámetro de 1 cm que en un embudo que tiene un mayor diámetro horizontal.

Tabla 3.4. Resultados de la prueba de la cantidad de sílica necesaria para el proceso de limpieza (clean up).

<i>Condición</i>	<i>Peso de suelo [g] (A)</i>	<i>Volumen de solvente [mL] (B)</i>	<i>Lectura [mg/L] (C)</i>	<i>Valor CxB/A [mg/kg]</i>	<i>Valor real [mg/Kg]</i>	<i>Recuperación</i>
0,5 g de sílica en columna	3.1142	10	1088,9632	3496.8	2500	139,9%
0,7 g de sílica en columna	3.0618	10	1011,5864	3303.9	2500	132.2%
1 g de sílica en columna	3.0086	10	726,7291	2415,5	2500	96,6%
1,5 g de sílica	3,0785	10	719,3232	2336,6	2500	93,5%
0,7 g de sílica en embudo	3.0265	10	1300,2612	4296,3	2500	171.9%

El tiempo necesario para una adecuada extracción, se lo definió en tres períodos de 20 minutos, garantizando el contacto del suelo con el solvente. Tomando en cuenta que es necesario un lapso de cinco minutos entre cada intervalo de tiempo para evitar el elevado calentamiento del baño ultrasónico, ya que este puede producir pérdida de hidrocarburos por volatilización.

Luego de realizar todas las pruebas anteriormente descritas y de determinar las condiciones a las cuales se tiene los mejores porcentajes de recuperación, se estableció el procedimiento para realizar adecuadamente el proceso de extracción y de limpieza, así se estableció:

Tabla 3.5. Condiciones óptimas para el proceso de extracción de TPH's en suelos.

Parámetro	Condición
Cantidad de suelo	3 g
Volumen de solvente	10 mL
Tiempo de extracción	3 períodos de 20 min
Cantidad de sílica para la limpieza	1 g empacada en columna empacada

3.1.2. MÉTODO DE ANÁLISIS: ESPECTROFOTOMETRÍA DE INFRARROJOS CON TRANSFORMADAS DE FOURIER

Una vez realizada la extracción de los TPH's, se procede a la técnica de la cuantificación utilizando el espectrofotómetro de infrarrojos. En este proceso no existen variantes a probar, lo único e imprescindible es la selección del área del espectro en la que la energía es absorbida por los enlaces C-H característicos de los hidrocarburos, la cual comprende en la zona de 2750-3150 cm^{-1} , y abarca bandas completas de absorción. Esto se describe detalladamente en el apartado 1.2.4.3.

3.1.3. PROCEDIMIENTO DE ANÁLISIS

Una vez que se han determinado las condiciones óptimas para la extracción y los criterios establecidos para la cuantificación, se repite el procedimiento de acuerdo al diseño experimental para la validación del método analítico y su aplicación al estudio de simulación controlada. A continuación, en la figura 3.1 se detalla un esquema para el procedimiento de extracción sólido-líquido y cuantificación por espectrofotometría de infrarrojos para determinar hidrocarburos totales de petróleo en muestras de suelos.

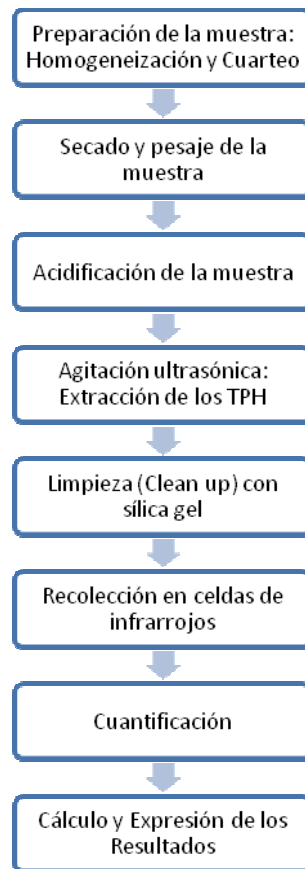


Figura 3.1. Esquema del procedimiento.

En las secciones anteriores, se describe detalladamente el proceso para realizar la extracción por agitación y la cuantificación por espectrofotometría de infrarrojos.

Tanto para las pruebas de la extracción como para la validación se utilizó únicamente el espectrofotómetro de infrarrojos de transformadas de Fourier con las mismas condiciones.

3.2. VALIDACIÓN DEL MÉTODO:

→ Linealidad

La cuantificación de los hidrocarburos totales de petróleo se realizó usando curvas de calibración que relacionan la concentración del analito con el área de los picos correspondientes a las vibraciones moleculares dadas por los enlaces C-H. Se realizó curvas independientes para cada día de validación. Se analizaron las curvas de calibración en los tres días de validación.

Se determinó las pendientes y las intersecciones de las curvas de calibración realizadas, en un intervalo de 10 a 1500 mg/L de TPH's puros. Este es el rango de la curva, y tomando en cuenta la relación del volumen del solvente con el peso de suelo utilizado en el proceso de extracción, se obtiene un rango de 100 a 5000 mg/Kg.

A continuación se detalla un resumen de los resultados descritos en la tabla 3.6., para las curvas de calibración, así como se indica los valores encontrados para las pendientes,

intersecciones y coeficientes de correlación, además se presenta las medias aritméticas, las desviaciones estándar para poder establecer los límites de aceptación; éstos sirven para determinar parámetros de control en análisis futuros, además demuestra la robustez del método al generar curvas reproducibles.

Tabla 3.6. Pendientes e intersecciones de las curvas de calibración, medias y desviaciones estándar.

<i>Curva</i>	<i>Primera</i>	<i>Segunda</i>	<i>Tercera</i>	<i>Media (X)</i>	<i>Desviación estándar (s)</i>	<i>Límites de Aceptación (X ± 3 s)</i>
Pendiente (m)	6,1488	6,1321	6,0605	6,1138	0,0469	5.9731 a 6,2545
Intersección (b)	-3,8866	-3,6414	-2,5383	-3,3554	0,7182	-5.5100 a -1,2008
Correlación (R ²)	0,9997	0,9999	0,9999	-	-	Mayor a 0,9990

Los datos generados y las gráficas correspondientes de las curvas de calibración durante la validación se encuentran en el Anexo 6 “Datos y gráficas de las curvas de calibración elaboradas para la validación”.

Los coeficientes de correlación de las tres curvas de calibración utilizadas para este trabajo, son mayores a 0,999 lo que demuestra que el ajuste de la función lineal es válido para la relación absorbancia – concentración.

→ Límite de detección.

Para la determinación de límite de detección, se realizó la lectura de fortificaciones en niveles bajos: 10, 25, 50, 75, 100 y 250 mg/kg, obteniéndose como valor del límite de

detección a 25 mg/kg que corresponde a la menor concentración a la cual el equipo presenta una lectura. Ver anexo 7

En la tabla 3.7., en el rango de 10 a 75 mg/kg, se obtienen recuperaciones que no están dentro del valor de $100 \pm 10\%$ esperado, lo cual indica que no se puede considerar a los valores de este rango como límites de cuantificación, ya que la recuperación no está dentro del objetivo de validación. Ver anexo 7.

Tabla 3.7. Resultados de las pruebas de fortificaciones para la determinación del límite de detección y cuantificación del método.

<i>Estándar (mg/L)</i>	<i>Media de las lecturas de los triplicados (mg/L)</i>	<i>Desviación estándar S</i>	<i>Recuperación (%)</i>
10	-20,2443	12,3	-202,4
25	56,9404	51,7	227,8
50	119,8566	1,3	239,7
75	127,8116	3,7	170,4
100	98,4483	1,8	98,4
250	237,0501	1,9	94,8

→ Límite de cuantificación.

El límite de cuantificación se obtuvo realizando comprobaciones de la respuesta del espectrofotómetro de infrarrojos con respecto a fortificaciones con estándares de concentración conocida, expresados como recuperación. Se calculó la media aritmética y la desviación estándar de los valores obtenidos según la curva de calibración elaborada para cada día. El límite de cuantificación del método analítico es la concentración de la fortificación que puede ser cuantificada con una recuperación de $100 \pm 10\%$.

Como se observa en la tabla 3.7. se obtuvo una recuperación de 98,4% para la fortificación de 100 mg/kg, y se determinó a ésta concentración como el límite de cuantificación. Se puede observar los espectros de estas pruebas en el anexo 7.

→ Precisión de repetibilidad y reproducibilidad

Se presentan a continuación en la tabla 3.8. los resultados de las pruebas de repetibilidad y reproducibilidad realizadas en cuatro niveles de concentración de los TPH's.

Tabla 3.8. Resultados de precisión de repetibilidad (r) y reproducibilidad (R) para los TPH's.

<i>Nivel</i>	<i>Media</i>	<i>S_r</i>	<i>CV_r</i> %	<i>S_R</i>	<i>CV_R</i> %	<i>Recuperación %</i>
100 mg/kg	104,709	10,4	9,9	9,4	9,5	104,7
500 mg/Kg	468,6991	41,4	8,8	37,3	8,8	93,7
1000 mg/Kg	995,0964	56,9	5,8	62,1	6,2	99,5
5000 mg/Kg	4912,8468	76,1	1,6	72,9	1,5	98,3

Como se puede observar en la tabla 3.7., todos los valores de los coeficientes de variación (%CV) encontrados, tanto en condiciones de repetibilidad y para reproducibilidad, son menores al 10%. Y se obtienen porcentajes de recuperación dentro del objetivo de validación, lo que indica que se da un adecuado proceso de extracción.

→ Exactitud

A continuación en la tabla 3.9. se presentan los resultados que se obtuvieron del análisis de un Material de Referencia Certificado. (Ver Anexo 1), usando el método desarrollado. También se indican el valor real y los límites aceptables que presenta el certificado de dicho material de referencia.

Tabla 3.9. Resultados de la recuperación del material de referencia certificado.

<i>Material de Referencia</i>	<i>Valor Certificado mg/Kg</i>	<i>Límites Aceptables mg/Kg</i>	<i>Resultado mg/Kg</i>	<i>Recuperación.</i>
TPH in soil ERA Cat. 570 Lot. D059-63	2610	1110 - 3550	2530,6227	96,9%

Como se puede observar, se obtuvo una recuperación del 96,9% que está dentro del objetivo de validación, además el valor del resultado está dentro de los límites aceptables incluidos en el certificado del material de referencia.

→ Incertidumbre:

Luego del proceso de validación se procedió a calcular la incertidumbre expandida del método, obteniéndose como resultado una $u(K=2)$ 11,6352 mg/Kg. Se puede ver todo el proceso de cálculo en el Anexo 10 “Cálculo de la incertidumbre del método”.

3.3. APLICACIÓN DEL MÉTODO:

A continuación se muestran los resultados del estudio realizado, se observa la descripción de los sistemas simulados y los resultados de los análisis.

Se realizaron las determinaciones de humedad y pH del suelo utilizado para la simulación. Se puede observar en la Tabla 3.10., que el suelo posee un contenido de humedad de 55,86%, lo que hace que el suelo pueda fácilmente alcanzar su capacidad de campo, hidratarse y permitir una percolación. Además, se tiene un pH de 6,8, es decir, ligeramente ácido, característica propia de un suelo Inseptisol, como se puede observar en el apartado 2.1.4, [31].

Tabla 3.10. Datos generales del Suelo.

<i>Humedad</i>	<i>pH</i>
55,86%	6,8

En el estudio en el laboratorio, Se utilizó una nomenclatura para la recolección de las percolaciones: indicando las horas de remoción, (h) y la semana de recolección (s); así por ejemplo: 24h3s, significa: sistema de remoción a las 24 horas y luego de 3 semanas de precipitaciones.

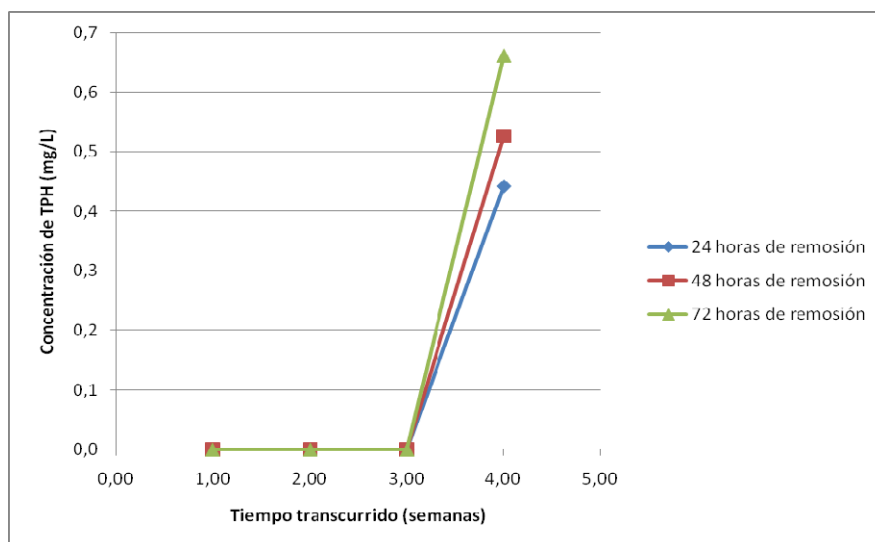
Como se puede observar en la tabla 3.11., todos los valores, excepto los correspondientes a la cuarta semana después de la remoción, presentan valores de TPH's menores al límite de cuantificación de método utilizado.

Tabla 3.11. Resultados del análisis de TPH's en las muestras de agua de percolación recolectadas.

<i>Nombre</i>	<i>Volumen Recogido de la Percolación (mL)</i>	<i>Resultado de TPH's en el agua de percolación (mg/L)</i>
Blanco	30,0	<0,1
Lluvia	50,0	<0,1
24h1s	5,8	<0,1
24h2s	42,5	<0,1
24h3s	91,0	<0,1
24h4s	112,0	0,4
48h1s	10,1	<0,1
48h2s	49,0	<0,1
48h3s	80,0	<0,1
48h4s	129,0	0,5
72h1s	5,9	<0,1
72h2s	49,0	<0,1
72h3s	79,0	<0,1
72h4s	122,0	0,7

En la tabla 3.11. se observa que el valor de los TPH's que lograron migrar a través del agua de percolación, se incrementa a medida que aumenta el tiempo de remoción y aumentan las semanas de precipitación, es decir, el sistema de 24 horas para la remoción, menor contacto del suelo con el crudo tiene un valor de 0,4 mg/L; con un valor de 0,5 en el sistema de 48 horas de remoción; alcanzando hasta un valor de 0,7 mg/L en el sistema de remoción a las 72 horas, este último mantuvo el mayor contacto con el crudo antes de su remediación. A continuación se observa en la gráfica N°1, la manera en que se dan los incrementos de la concentración de TPH's en los sistemas de cuatro semanas después de la remoción.

Gráfica N°1: Comparación de los resultados de la determinación de TPH's en las muestras de agua de percolación de los tres sistemas de remoción del crudo, recogidas en función del tiempo.



En las columnas, se utilizó otro tipo de nomenclatura para identificar a los sistemas: iniciando con la letra “s” indicando las horas de remoción (s) y las semanas transcurridas, así por ejemplo: s24s3, significa, sistema de remoción a las 24 horas y 3 semanas transcurridas.

A continuación en la tabla 3.12. se presentan: la cantidad de suelo dentro de cada columna, el tiempo transcurrido para la remoción física del crudo, el tiempo transcurrido desde la remoción física del crudo, el peso del suelo utilizado para la determinación de TPH's, El volumen de S316 usado, las concentraciones de los TPH's en los suelos, y las medias de los duplicados, y se observa lo siguiente:

- Un incremento de la concentración de los TPH's al transcurrir el tiempo desde la remoción: esto puede deberse a que los hidrocarburos logran distribuirse dentro del sistema y con el continuo paso de la precipitación simulada, la fina capa de crudo que quedó en la superficie del suelo en la columna luego de la remoción física, fue percolando incrementándose así la concentración de TPH's en el agua recogida.

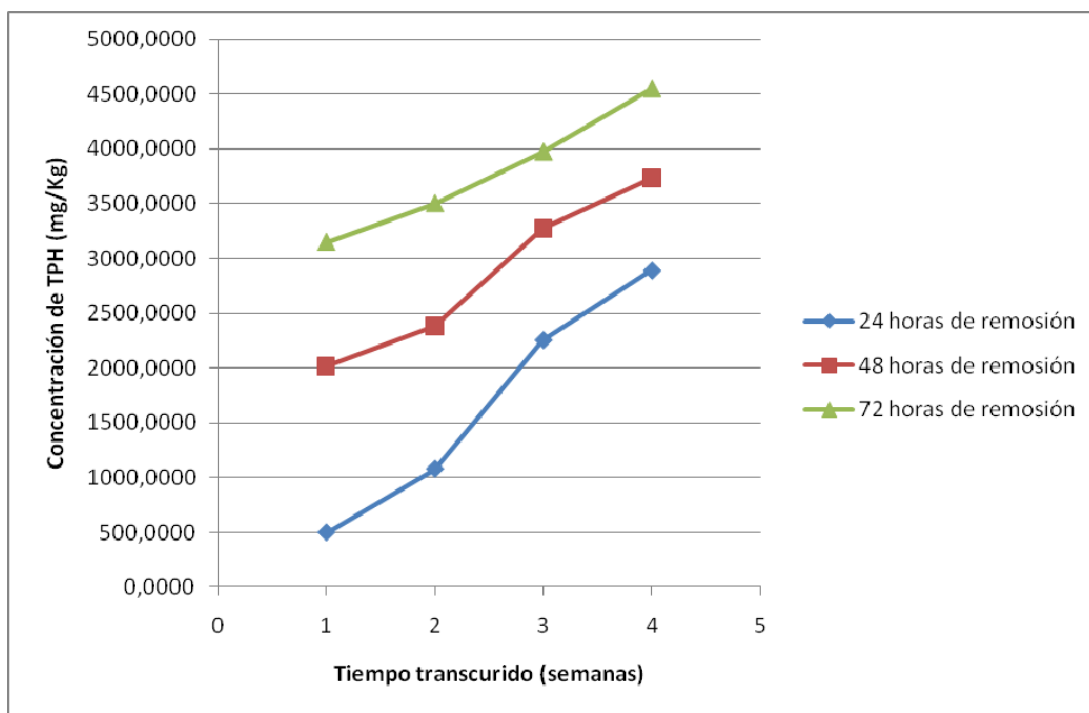
- El incremento también se da por el tiempo de contacto del suelo con el crudo antes de ser removido: este incremento se observa desde los sistemas de remoción a las 24 horas del derrame, éstos presentan una menor concentración con respecto a los sistemas de remoción a las 48 horas, que a su vez tienen concentraciones menores que los sistemas de remoción a las 72 horas.

Estas variaciones en la concentración de TPH's en los sistemas, puede constatarse en la gráfica N°2.

Tabla 3.12. Datos y comparación de resultados de los análisis de los suelos de los sistemas de remoción al final de la simulación.

<i>Nombre</i>	<i>Peso del suelo utilizado en la columna [g]</i>	<i>Tiempo de remoción física del crudo [h]</i>	<i>Tiempo transcurrido desde la remoción [días]</i>	<i>Peso de suelo utilizado en la determinación [g]</i>	<i>Volumen de solvente [mL]</i>	<i>Concentración de TPH's en suelo [mg/Kg]</i>	<i>Medias de los duplicados [mg/Kg]</i>
s24s1	230,15	24	7	3,2823	10	495,1817	497,0196
s24s1d	232,16	24	7	3,1215	10	498,8575	
s24s2	247,66	24	14	3,3113	10	1078,4917	1078,4917
s24s2d	242,27	24	14	3,0982	10	1078,4917	
s24s3	245,33	24	21	3,1675	10	2268,2187	2257,0736
s24s3d	242,91	24	21	3,0023	10	2245,9284	
s24s4	227,67	24	28	3,2162	10	2882,2620	2893,8452
s24s4d	243,60	24	28	3,1490	10	2905,4284	
s48s1	236,72	48	7	3,0712	10	1941,6698	2016,3515
s48s1d	238,80	48	7	3,0538	10	2091,0331	
s48s2	236,73	48	14	3,2001	10	2368,3309	2380,3421
s48s2d	235,88	48	14	3,0324	10	2392,3532	
s48s3	241,98	48	21	3,0021	10	3272,8727	3273,5459
s48s3d	239,87	48	21	3,1204	10	3274,2190	
s48s4	239,01	48	28	3,0752	10	3707,4842	3737,8242
s48s4d	242,33	48	28	3,0922	10	3768,1641	
s72s1	231,76	72	7	3,1008	10	3160,0565	3149,6703
s72s1d	225,45	72	7	3,0592	10	3139,2840	
s72s2	237,23	72	14	3,1431	10	3032,0828	3503,6745
s72s2d	237,87	72	14	3,0129	10	3975,2661	
s72s3	240,25	72	21	3,0377	10	3928,3333	3975,9854
s72s3d	240,12	72	21	3,0086	10	4023,6375	
s72s4	238,99	72	28	3,0105	10	4636,8727	4555,5958
s72s4d	239,21	72	28	3,1098	10	4474,3189	

Gráfica N°2: Comparación de las concentraciones de TPH's de los suelos entre los sistemas de remoción luego del derrame, con respecto al tiempo transcurrido de la simulación.



Existen estudios similares, en los cuales se encuentra la misma tendencia a incrementar de los contaminantes, en este caso los TPH's, tanto en el adsorbente, el suelo (Gráfica N°2.); como en el agua de percolación (Gráfica N°1) [43, 44]. Aunque los procesos sean diferentes dependiendo de las características de los contaminantes en sí (polaridad, solubilidad), todos mantienen la misma tendencia a aumentar la concentración con el paso del tiempo y efecto del agua de percolación, por la estabilidad química y térmica; es decir que no se descomponen ni transforman, por tanto, tienden a acumularse.

Al tratarse de contaminación con sustancias orgánicas en el suelo, se tiene que: las fracciones ligeras, como gasolinas y aceites, forman una capa en la superficie y pueden movilizarse de una manera horizontal; mientras que, las fracciones de hidrocarburos más densas, migran de manera vertical y pueden llegar a acuíferos subterráneos. Este fenómeno migratorio viene dado principalmente por procesos de adsorción que alcanzan el equilibrio rápidamente y al saturarse, permiten el desplazamiento de los contaminantes [47].

Por otra parte, la persistencia de los contaminantes en el suelo, tiene una estrecha relación a los componentes del mismo, es así que, los suelos con alto contenido de arcilla, permiten una mejor asociación con los contaminantes, haciendo que estos permanezcan adsorbidos a la matriz por más tiempo.

Al tener suelos, como en el caso de este trabajo, que posean un alto porcentaje de materia orgánica (ver tabla 3.10.), se tienen mayor número de sitios de adsorción para contaminantes no polares, lo que disminuye la disponibilidad en la fase acuosa; la no polaridad de los TPH's, hace que estos manejen interacciones únicamente relacionadas con las fuerzas de Van der Waals que son fuerzas débiles de atracción; lo que permite que no se dé una estrecha fijación, sino que estos contaminantes puedan migrar por acción del agua y la gravedad. [48]

4. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

CONCLUSIONES:

- El método desarrollado para el análisis de los hidrocarburos totales de petróleo en suelos, mediante a espectrofotometría de transformadas de Fourier, utilizando extracción sólido-líquido por agitación en ultrasonido, logra el aislamiento, extracción, separación de interferencias, detección y cuantificación adecuada de dichos compuestos en un rango de 100 a 5000 mg/Kg.
- La técnica de extracción sólido líquido mediante agitación en ultrasonido permite tener porcentajes de recuperación de 90 a 100%, lo cual es favorable conociéndose que los TPH's son compuestos altamente volátiles y que además pueden ser interferidos por los aceites y grasas de origen animal y vegetal.
- El proceso de validación del método desarrollado da una evidencia objetiva de que se tiene una adecuada precisión en los niveles efectuados, ya que cumple con lo estipulado para la aceptación de los coeficientes de variabilidad, tanto para repetibilidad como para reproducibilidad. El método desarrollado se declara validado por cumplir los parámetros del objetivo de validación (Anexo 11) con una incertidumbre de 11,6352 mg/Kg (Anexo 10).

- Las recuperaciones del material de referencia certificado analizado con este método, es mayor al 96% y se encuentra dentro de los valores aceptables del certificado.
- Los resultados del estudio demuestran que cuando sucede un derrame de crudo, se puede dar una contaminación no solamente del recurso suelo, sino también de las aguas de ríos o reservas subterráneas existentes, porque, los TPH's logran migrar verticalmente por efecto del agua de percolación a través del suelo.
- El método desarrollado sirve como punto de partida para investigar más acerca de la contaminación producida por la industria hidrocarburífera y todas las complicaciones que conlleva, así como para tratar de resolver problemas ya existentes por el indiscriminado uso del petróleo como principal fuente de energía.

RECOMENDACIONES:

- Se recomienda este método desarrollado para los análisis rutinarios, debido a que es muy sencillo y relativamente económico. Tomando en cuenta el control de la calidad ya que se trata de un parámetro un tanto complicado, esto se resuelve con la preparación de curvas de calibración, análisis de duplicados, análisis de estándares de control en todo el rango de trabajo, elaboración de fortificaciones variando los tipos de suelos matrices; además es muy importante que se realice controles del método y mejoramiento continuo; así como, la participación en ensayos interlaboratorios, para confirmar la eficacia del método.
- Al existir un derrame de crudo, se debe realizar el respectivo tratamiento de remediación, no solamente remoción física, sino el aislamiento o tratamiento microbiológico necesario, debido a que con el pasar del tiempo y las precipitaciones, sobretodo en lugares donde se tenga una gran cantidad de lluvia, los hidrocarburos migrarán por acción del agua y la materia orgánica soluble presente en el suelo, y podrán llegar a contaminar las aguas subterráneas y no solamente a perjudicar la actividad involucrada con este recurso, sino a terminar con la flora y la fauna del lugar.

BIBLIOGRAFÍA

1. Gerencia de estudios cambiarios, Subgerencia de economía internacional (Departamento de estudios de hidrocarburos) (1990) *La actividad petrolera en el Ecuador en la década de los 80*, Banco central del Ecuador, Ecuador.
2. Acosta, A., Ecuador: (2009) *¿Un país maniatado frente a la crisis?*, Banco Central del Ecuador, Boletín 1886.
3. *Decreto 1215* (2001), Registro Oficial N° 265, Martes 13 de febrero de 2001.
4. Fernández, L., et al, (2006), *Manual de técnicas de análisis de suelos aplicadas a la remediación de sitios contaminados*, Instituto Mexicano del Petróleo, México.
5. Strategic Diagnostics Inc., (s.f.), *Interpretation of Total Petroleum Hydrocarbon (TPH) Results with RaPID Assay Kits*, Newark.
6. ATSDR, (s.f), *Identity and analysis of total petroleum hydrocarbons*, www.atsdr.cdc.gov/toxprofiles/tp123-c3.pdf, 30 de agosto 2010.
7. Vilaña, G., (2007), *Determinación de hidrocarburos totales de petróleo (TPH) en aguas por cromatografía de gases*, Tesis, Escuela Politécnica Nacional, Ecuador.
8. Christensen, J., (2005), *Chemometrics as a tool to analyse complex chemical mixtures*, Tesis, Roskilde University, Department of Life Sciences and Chemistry, Dinamarca.
9. Soukup, D., Ulery, A., Jones, S., (2007), *Distribution of Petroleum and Aromatic Hydrocarbons at a Former Crude Oil and Natural Gas Production Facility*, Taylor and Francis Group, EEUU.

10. Ventura, K., Adam, M., Dosta'lek, J., (2003), *Comparison of Modern Extraction Techniques in Analysis of Soil Contaminated with Fuel and Crude Oil Spills*, Journal of liquid chromatography & related technologies, República Checa, vol. 26, n° 2, pp. 247 – 259.
11. Atlantic RBCA, (1999), *Guidelines for Laboratories Tier 1 and Tier 2 Petroleum Hydrocarbon Methods*, Canadá.
12. Romaniuk, R., et al, (2007) *Atenuación natural y remediación inducida en suelos contaminados con hidrocarburos*, Argentina.
13. Washington State Department of Ecology Toxics Cleanup Program And The Ecology Environmental Laboratory, (1997), *Analytical methods for petroleum hydrocarbons*, Estados Unidos.
14. OECD/OCDE, (2004), *OECD Guidelines for the testing of chemicals*.
15. Louchouart, P., et al, (s.f.), *Quantitative determination of oil films/slicks from water surfaces using a modified solidphase extraction (SPE) sampling method*, Department of Civil Engineering, Texas A&M University, Estados Unidos.
16. Total Petroleum Hydrocarbons Criteria Working Group Series, (1998), *Analysis of Petroleum Hydrocarbons in Enviromental Media*, Estados Unidos.
17. *El petróleo*, www.info-petroleo.com, 24 de agosto 2010.
18. *El petróleo*, <http://www.educar.org/inventos/petroleo.asp>, 28 de octubre 2009.
19. *Petróleo: origen y características fundamentales*, http://www.quiminet.com.mx/ar6/ar_armzgt-petroleo-origen-y-caracteristicas-fundamentales.htm, 26 Agosto 2010.
20. *¿Qué es el petróleo?*, <http://www.misrespuestas.com/que-es-el-petroleo.html>, 24 de agosto 2010.

21. Éspér, J., *El petróleo*, Avisora,
http://www.avizora.com/publicaciones/ciencias/textos/petroleo_0011.htm, 29 de octubre de 2009.
22. *Fuentes de Energía, Depósito de petróleo*, Kalipedia,
http://www.kalipedia.com/fisica-quimica/tema/trabajo-energia-calor/fotos-deposito-petroleo.html?x1=20070924klpcnafyq_176.Ies&x=20070924klpcnafyq_235.Kes,
13 de septiembre de 2010.
23. *Grados API y el peso específico*, Widman International SRL,
http://www.widman.biz/Seleccion/grados_api.html, 26 de agosto de 2010.
24. *El petróleo en el Ecuador*, Ministerio de Recursos No Renovables,
<http://www.recursoSnoRenovables.gov.ec/es/inicio/boletines-de-prensa/131-el-petroleo-en-el-ecuador.html>, 29 de octubre de 2009
25. *Historia del petróleo*,
http://bibliotecadigital.ilce.edu.mx/sites/ciencia/volumen1/ciencia2/39/html/sec_7.html, 26 de agosto de 2010
26. Salgado, G., Maldonado, C., (s.f.), *La investigación económica en el Ecuador*, Antología de las Ciencias Sociales, ILDIS.
27. Betancourt, F., (1991), *El sector petrolero y la economía ecuatoriana, Ecuador siglo XXI*, Proyecto Conade/GTS, Ecuador.
28. Zuñiga, L., (1996), *La actividad petrolera en el Ecuador: Aspectos ambientales y sociales*, Fundación Natura, Ecuador.
29. *Overview of total petroleum hydrocarbons*, ATSDR,
www.atsdr.cdc.gov/toxprofiles/tp123-c2.pdf, 29 de octubre de 2009

30. Carpintero, N., (2006), *Estudio de hidrocarburos totales de petróleo (TPH's) como contaminantes de aguas de descarga en colectores API, por espectrometría infrarroja*, Tesis, Pontificia Universidad Católica del Ecuador, Ecuador.
31. González, A., Maldonado, F., Mejía, L., (1986), *Memoria explicativa del mapa general de suelos del Ecuador*, Sociedad Ecuatoriana de la Ciencia del Suelo, Ecuador.
32. Real, M., (2009), *Adsorción, persistencia y movilidad de compuestos orgánicos polares contaminantes de suelos*, Tesis, Universidad de Sevilla, España.
33. EPA (1996), www.epa.gov/osw/hazard/testmethods, 16 de septiembre 2010.
34. Arambarri, I., et al, (2004), *Determination of fuel dialkyl ethers and BTEX in water using headspace solid-phase microextraction and gas chromatography-flame ionization detection*, Departamento de Química Aplicada, Facultad de Química, Universidad del País Vasco. País Vasco.
35. Skoog, D., Holler, J., Nieman, T., (2001) *Principios de Análisis instrumental*, quinta edición, McGraw Hill, España.
36. Duoandikoetxea, J., (2003), *Lecciones sobre las series y transformadas de Fourier*, UNAN, Nicaragua.
37. *Transformada de Fourier (Parte 1)*,
www.diac.upm.es/acceso_profesores/asignaturas/tdi/tdi/transformadas/pdf/fourier1.pdf, 16 de septiembre de 2010.
38. Rius, X., et al, (1996), *La validación de métodos analíticos*, Departamento de Química Analítica y Química Orgánica, Instituto de estudios avanzados, Universitat Rovira i Virgili, España.

39. Fernández, A., et al, (2001), *Validación de los métodos analíticos para la identificación y cuantificación del dextrometorfano jarabe*, Centro de Investigación y Desarrollo de Medicamentos, Cuba.
40. Aguilar, B., González, R., (1996), *Protocolo de validación de métodos analíticos para la cuantificación de fármacos*, Revista Cubana de Farmacia, vol. 30, n°1.
41. Miller, J., (1993), *Estadística Para Química Analítica*, Addison-Wesley,
42. Cáceres, T., Heredia, W., (2010), *Contaminación de recursos renovables con hidrocarburos totales de petróleo: Un desafío para los químicos ambientales*, Revista Nuestra Ciencia, Pontificia Universidad Católica del Ecuador, Ecuador. N°12, edición corregida, pp. 48-50.
43. Ghosh, S., et al, (2007), *Breakthrough Absorption Study of Migratory Nickel in Fine-Grained Soil*, Water Environmental Research, Agriculture Journals, vol. 79 n°9, pp.1023-1032
44. Kumar, S., et al, (2006), *A study for evaluation of contaminant transport characteristics through fine-grained soil*, Water Environmental Research, Agriculture Journals, n° 11, 2006 , pp. 2261-2267.
45. Sposito, G., (1989), *The chemistry of soils*, Oxford University press, Californy, Estados Unidos.
46. Maroto, A., et al, (s.f.), *Incertidumbre y Precisión*, Departamento de Química Analítica y Química Orgánica, Instituto de Estudios Avanzados, Universitat Rovira i Virgili, España.
47. Barcelona, M., et al, (1990), *Contamination of Groundwater Prevention Assessment, Restoration*, Noyes Data Corporation. Estados Unidos.

48. Mackay, M., et al, (1985), *Transport of Organic Contaminants in Groundwater*,
Environmental Science & Technology, 19(5): 384-392.

Anexo 1: Certificado del Material de Referencia de
Hidrocarburos Totales de Petróleo en suelos marca:
ERA, Catálogo 570, Lote: D059-632.



DataPack™
Lot No. D059-632

Total Petroleum Hydrocarbons (TPH) in Soil
Catalog No. 570

Certification

Parameter	Certified Value	QC Performance Acceptance Limits™	PT Performance Acceptance Limits™
	mg/kg	mg/kg	mg/kg
Std #1 (fatty acids not present)			
non-Polar Extractable Material (TPH) (Gravimetric)	2120	625 - 2950	641 - 2770
non-Polar Extractable Material (TPH) (IR)	2610	1110 - 3550	1030 - 3850

Analytical Verification

Parameter	Certified Value	Proficiency Testing Study		
		Mean Recovery	n	
	mg/kg	mg/kg	%	
Std #1 (fatty acids not present)				
non-Polar Extractable Material (TPH) (Gravimetric)	2120	1710	80.7	13
non-Polar Extractable Material (TPH) (IR)	2610	2440	93.5	6

The Certified Values are the actual 'made-to' concentrations confirmed by ERA analytical verification.

The QC Performance Acceptance Limits (QC PALS™) are based on the actual historical data collected in ERA's Proficiency Testing program. The QC PALS™ reflect any inherent biases in the methods used to establish the limits and closely approximate a 95% confidence interval of the performance that experienced laboratories should achieve using accepted environmental methods. Use the QC PALS™ to realistically evaluate your performance against your peers.

The PT Performance Acceptance Limits (PT PALS™) are calculated using the regression equations and fixed acceptance criteria specified in the USEPA National Standards Criteria Document and/or the NELAC compliant PT proficiency testing requirements. Use the PT PALS™ when analyzing this QC standard alongside USEPA and NELAC compliant PT standards. Please note that many PT acceptance limits are concentration dependent (some non-linearly) and, therefore, the acceptance limits of this QC standard and any PT standard may differ relative to their difference in concentrations.

The Analytical Verification data include the mean value, percent recovery and number of data points reported by the laboratories in our Proficiency Testing study compared to the Certified Values.

Method Specific Certification Values are given for total petroleum hydrocarbon concentration (gravimetric -- Standard Methods 503A, 16th Edition; infrared -- Standard Methods 503B, 16th Edition or EPA 600 Method 418.1). The infrared value is higher due to the fact that the total petroleum hydrocarbon substrate used by ERA has approximately 23% more carbon-hydrogen bonds per milligram than the reference oil required by Method 418.1.

Please call ERA at 1-800-372-0122 if you have any questions or need technical assistance.

Handwritten signature: Arabella Hill 1/21/09

Anexo 2: Certificado del Estándar de Hidrocarburos
Totales de Petróleo Marca: Chemservice, Catálogo:
TPH418-1M, Mezcla GRO-DRO, Lote: 433-126A.



660 Tower Lane • P.O. Box 599 • West Chester, PA 19381-0599
1-800-452-9994 • 1-610-692-3026 • Fax 1-610-692-8729
info@chemservice.com • www.chemservice.com

CERTIFICATE OF ANALYSIS

INVOICE #: CS316042
PO #: PO-07-2010

CATALOG #: TPH418-1M

DESCRIPTION: Petroleum Hydrocarbons Reference Oil Mixture - GRO/DRO - 418.1

LOT #: 433-126A

EXPIRATION DATE: 08/11

The following compounds are contained in the mixture at the stated concentrations:

25.0%	F7	Chlorobenzene
37.5%	F2185	n-Hexadecane
37.5%	F2189	2.2.4-Trimethylpentane

Chem Service, Inc. guarantees the concentration of the above to be as stated \pm 5%.

This product was compared to an independently prepared sample.
Determined by either GC/FID, GC/TCD, GC/ECD, GC/MS or HPLC.
This data is available upon request.

Weights of analytes less than or equal to 99% are corrected for impurities.

Our standards are suitable for use with all EPA methods.

Certified By:

John Conrad
CSM/TC



Anexo 3: Certificado del Estándar de Hidrocarburos

Totales de Petróleo Marca: Chemservice, Catálogo:

TPH418-1M Mezcla GRO-DRO, Lote: 422-122A.



660 Tower Lane • P.O. Box 599 • West Chester, PA 19381-0599
1-800-452-9994 • 1-610-692-3026 • Fax 1-610-692-8729
info@chemservice.com • www.chemservice.com

CERTIFICATE OF ANALYSIS

INVOICE #: CS307952
PO #: PO-12-2009

CATALOG #: TPH418-1M

DESCRIPTION: Petroleum Hydrocarbons Reference Oil Mixture - GRO/DRO - 418.1

JT #: 422-122A

EXPIRATION DATE: 12/10

The following compounds are contained in the mixture at the stated concentrations:

25.0%	F7	Chlorobenzene
37.5%	F2185	n-Hexadecane
37.5%	F2189	2.2.4-Trimethylpentane

Chem Service, Inc. guarantees the concentration of the above to be as stated \pm 5%.

This product was compared to an independently prepared sample.
Determined by either GC/FID, GC/TCD, GC/ECD, GC/MS or HPLC.
This data is available upon request.

Weights of analytes less than or equal to 99% are corrected for impurities.

Our standards are suitable for use with all EPA methods.

Certified By:

John Conrad
CSM/TC



Anexo 4: Series de Datos Meteorológicos de las
Precipitaciones mensuales del sector de Papallacta
desde 1990 a 2008

S E R I E S D E D A T O S M E T E O R O L O G I C O S

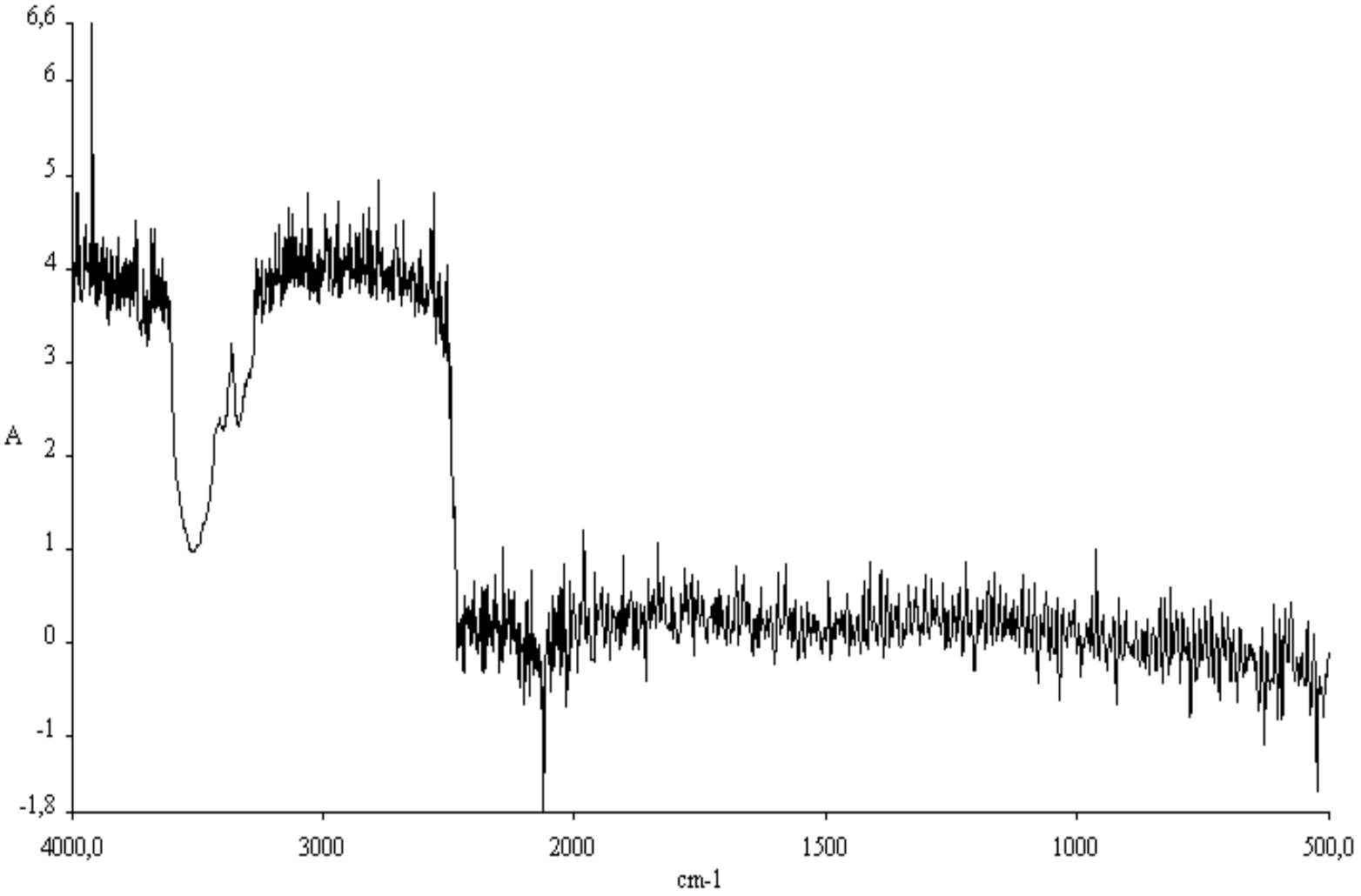
NOMBRE: PAPALLACTA CODIGO: M188
PERIODO: 1990 - 2008 LATITUD: 0 21 LONGITUD: 78 8 41 W ELEVACION: 3150

AÑOS	VALORES MENSUALES												VALORES ANUALES	
	ENE	FEB	MAR	ABR	MAY	JUN	JUL	AGO	SEP	OCT	NOV	DIC	SUMA	MEDIA
1990	53.1	36.8	158.6	106.1	149.2	179.6	163.0	110.5	87.9	105.7	35.1	57.8	1243.4	103.6
1991	51.6	139.2	73.2	103.9	133.3	190.0	192.9	144.4	68.4	70.3	72.2	20.8	1260.2	105.0
1992	41.2	68.1	131.3	114.2	109.9	109.9	112.4	112.4	94.8	40.0	52.7	63.9		
1993	65.3	69.3	168.8	85.2	144.5	204.1	199.4	99.8	138.9	63.9	64.8	52.3	1356.3	113.0
1994	56.0	43.3	89.1	117.8	139.0	191.5	187.7	257.0	102.2	82.2	93.5	100.6	1459.9	121.6
1995	40.9	27.5	51.6	65.8	102.9	131.3	112.6	72.2	71.1	43.1	105.6	53.2	877.8	73.1
1996	48.5	122.8	74.3	80.2	104.9	126.5	257.4	116.8	120.1	44.4	57.4	41.1	1194.4	99.5
1997	78.6	100.6	55.9	97.7	183.9	130.7	226.7	103.6	55.9	52.0	75.3	63.1	1224.0	102.0
1998	66.4	43.8	54.0	84.6	70.6	276.1	257.3	113.0						
2003			706.0	436.9	557.9		195.6	51.5	79.0	62.9	66.5	76.3		
2004	9.6	73.5	145.2	115.9	165.7	203.7	210.2	126.1	60.1	72.9	37.1	50.8	1270.8	105.9
2005	30.1	87.4	123.3	236.0	133.0	190.1	96.8	66.6	60.1	34.4	61.7	102.3	1221.8	101.8
2006	81.0	41.5	65.9	116.8	99.7	212.0	110.9	86.9	84.0	57.6	87.4	46.2	1089.9	90.8
2007	65.6	51.6	133.6	181.5	76.8		28.3	188.7	92.6	95.7	99.2	83.3		
2008	63.1	93.7	51.2	118.2	151.5	175.1	162.4	140.9	122.8	132.2	51.6	103.5	1366.2	113.8
suma	751.0	999.1	2082.0	2060.8	2212.9	2320.6	2401.2	1790.4	1237.9	957.3	960.1	915.2	18688.5	1557.3
media	53.6	71.3	138.8	137.3	158.0	178.5	171.5	119.3	88.4	68.3	68.5	65.3	1319.3	109.9
minima	9.6	27.5	51.2	65.8	70.6	109.9	28.3	51.5	55.9	34.4	35.1	20.8		9.6
maxima	81.0	139.2	706.0	436.9	557.9	276.1	257.4	257.0	138.9	132.2	105.6	103.5		706.0
amplit	71.4	111.7	654.8	371.1	487.3	166.2	229.1	205.5	83.0	97.8	70.5	82.7		696.4
desvia	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0		
coefi-	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0		
ciente-variacion														

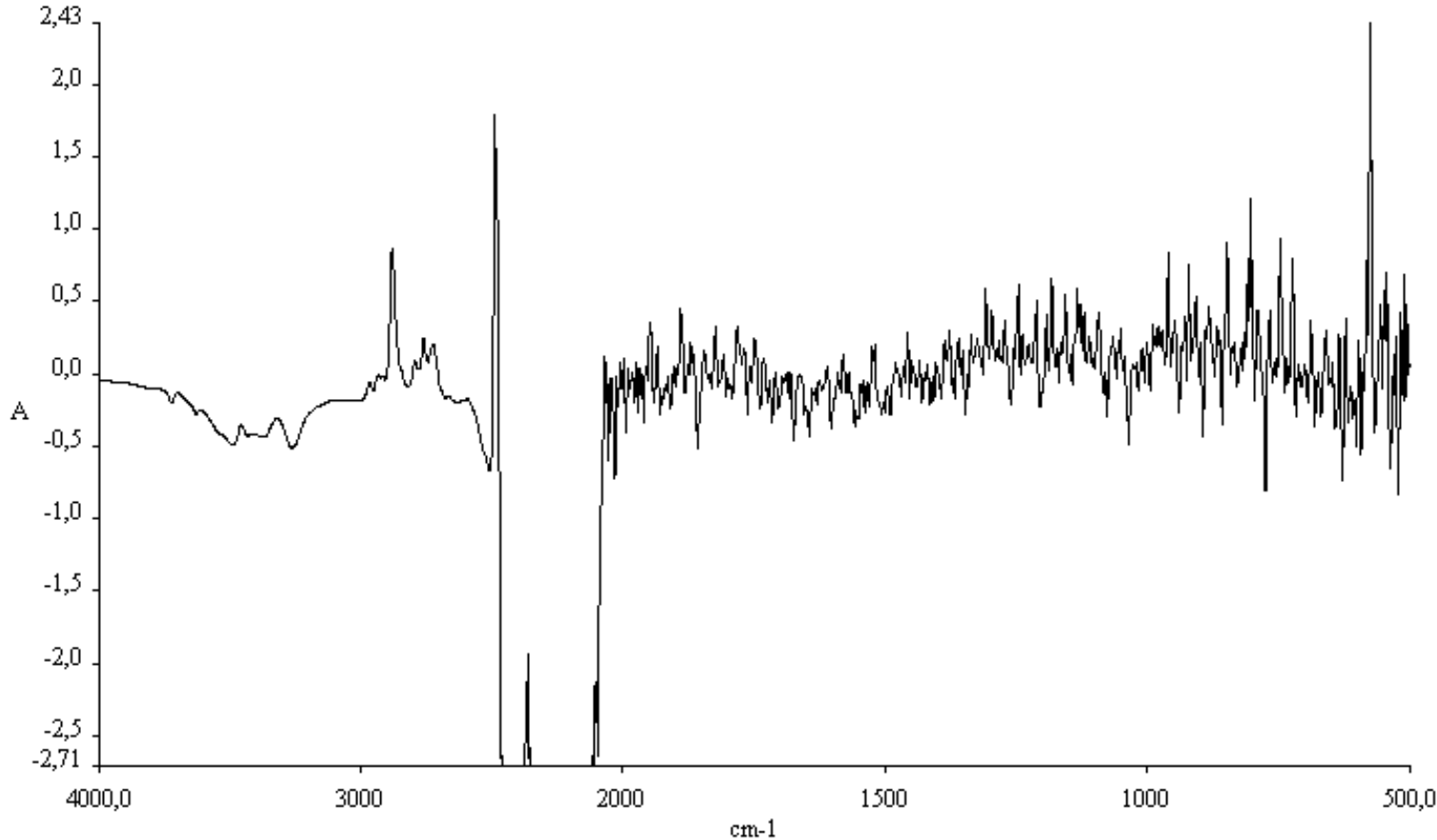


Anexo 5: Espectro de los solventes en estudio en el
Espectrofotómetro de Infrarrojo.

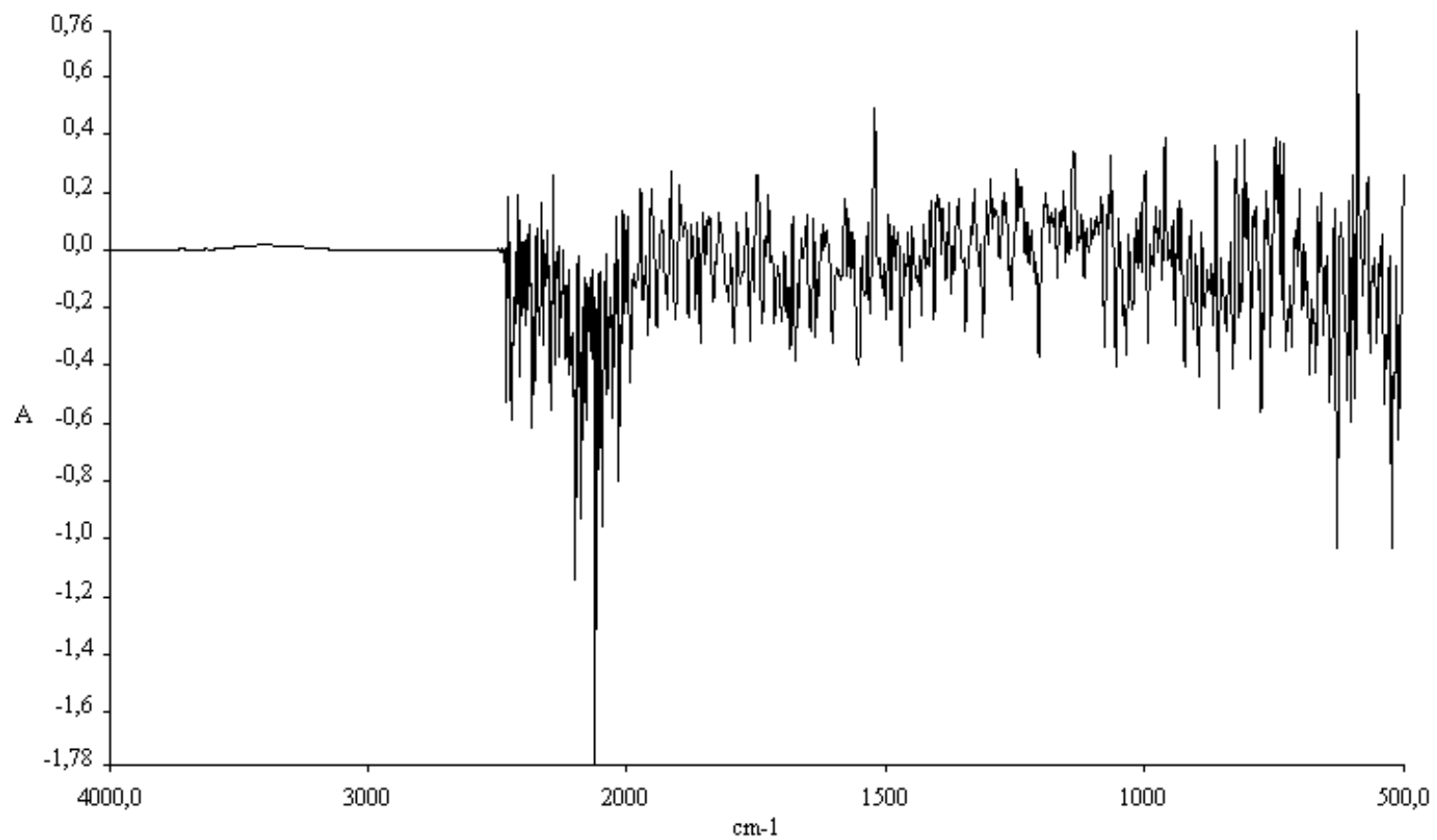
Espectro del Hexano en el Espectrofotómetro de Infrarrojo.



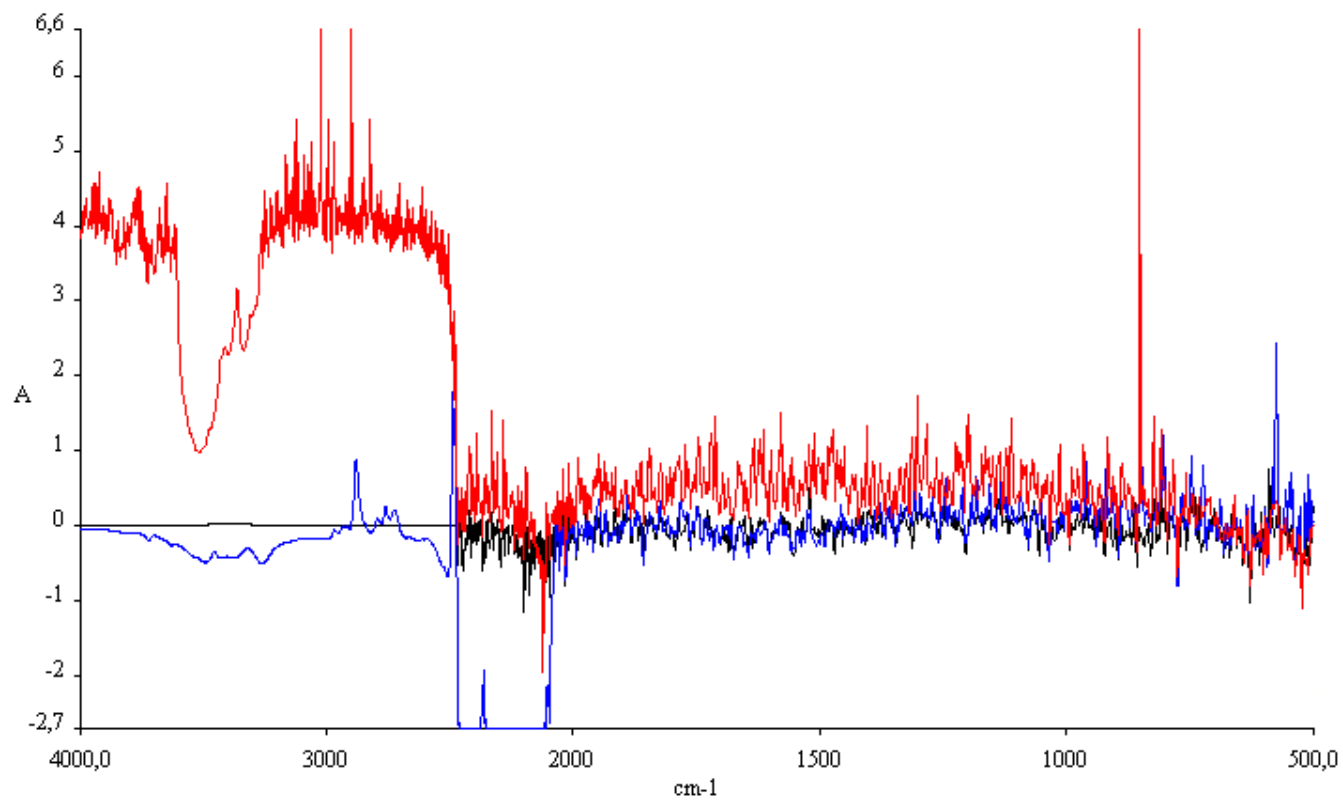
Espectro del Tetracloroetileno en el Espectrofotómetro de Infrarrojo.



Espectro del S 316 en el Espectrofotómetro de Infrarrojo.



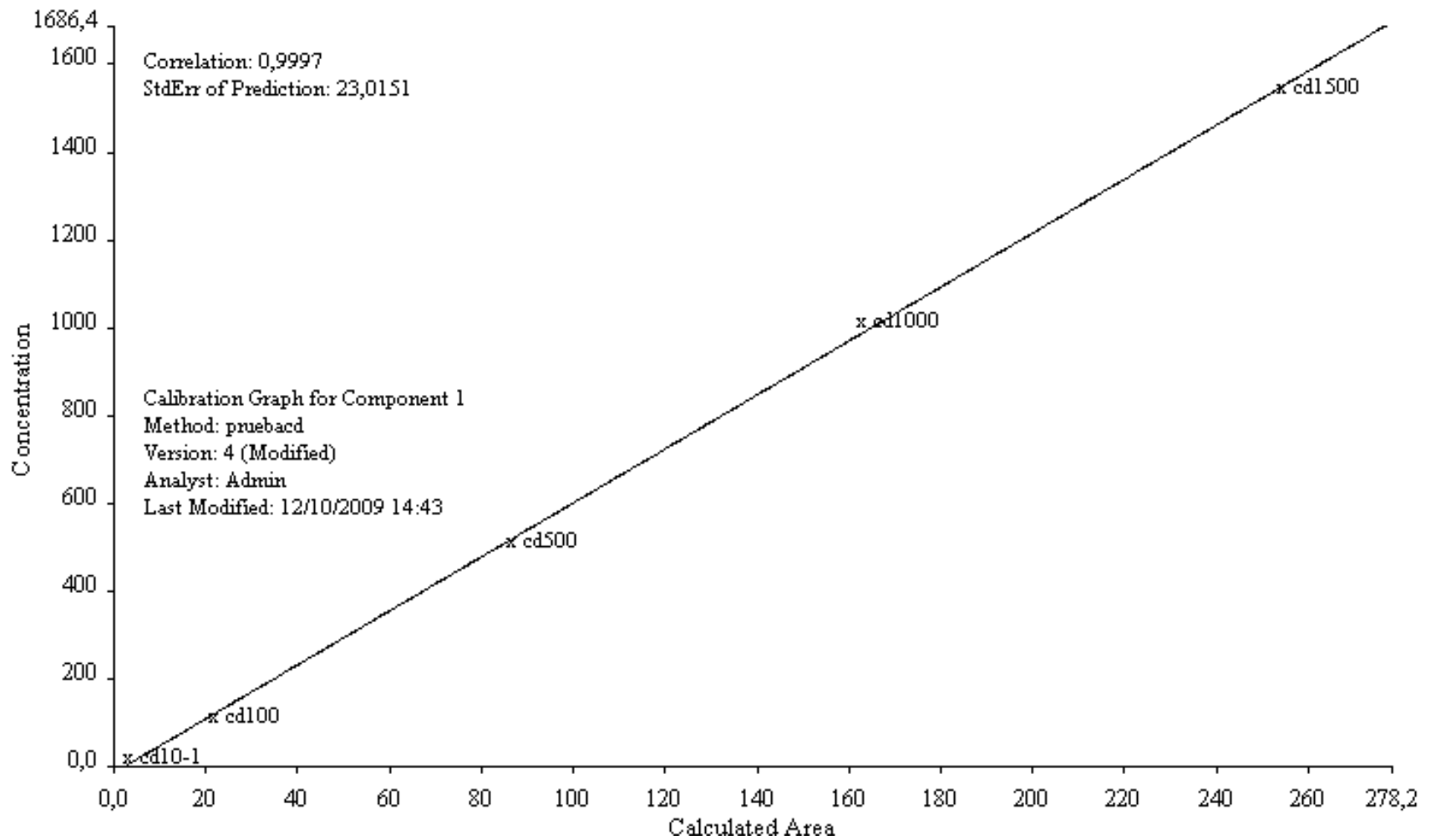
Comparación de espectros de IR de los solventes probados.



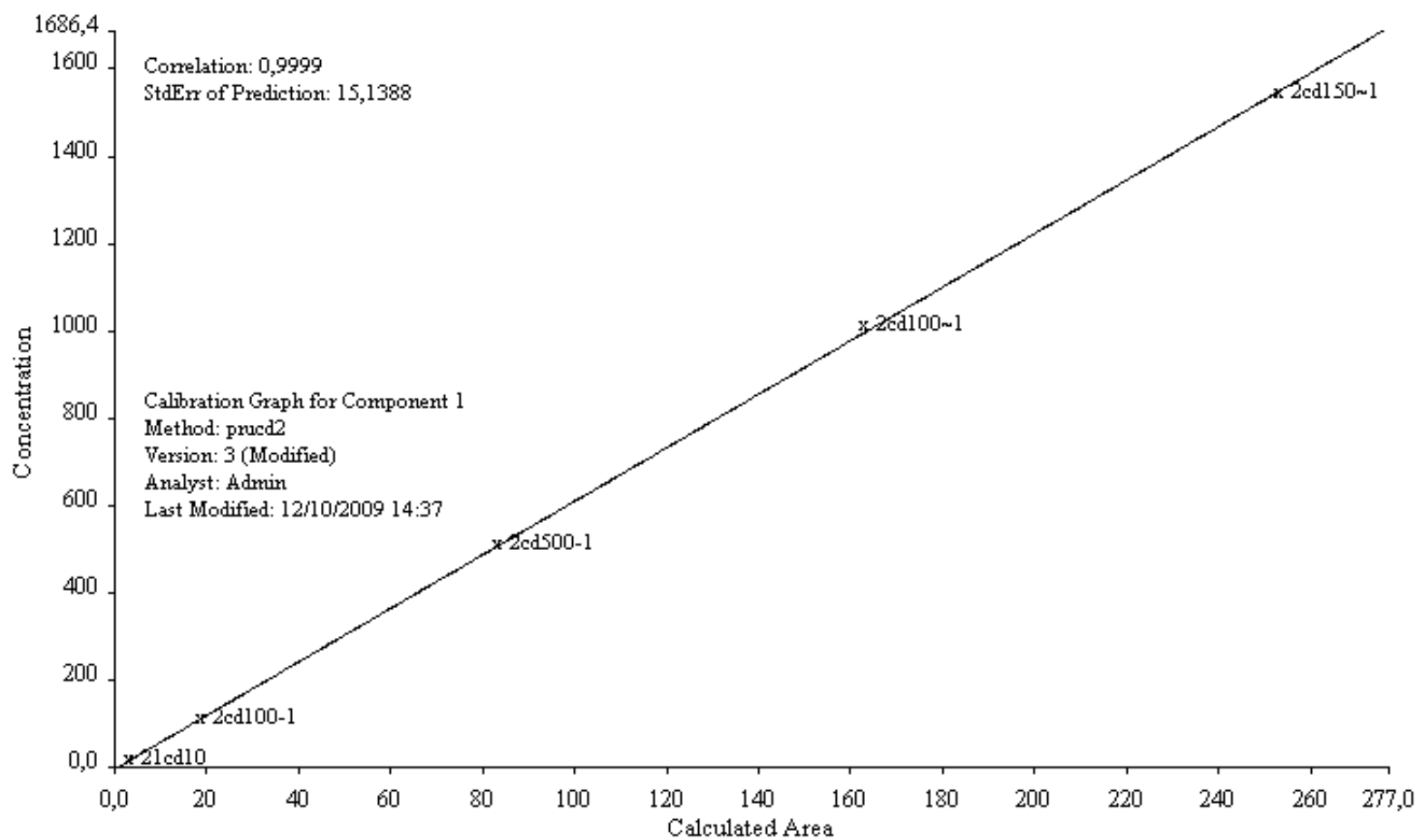
Hexano, Tetracloroetileno, S316

Anexo 6: Datos y Gráficas de las Curvas de
Calibración elaboradas para la validación.

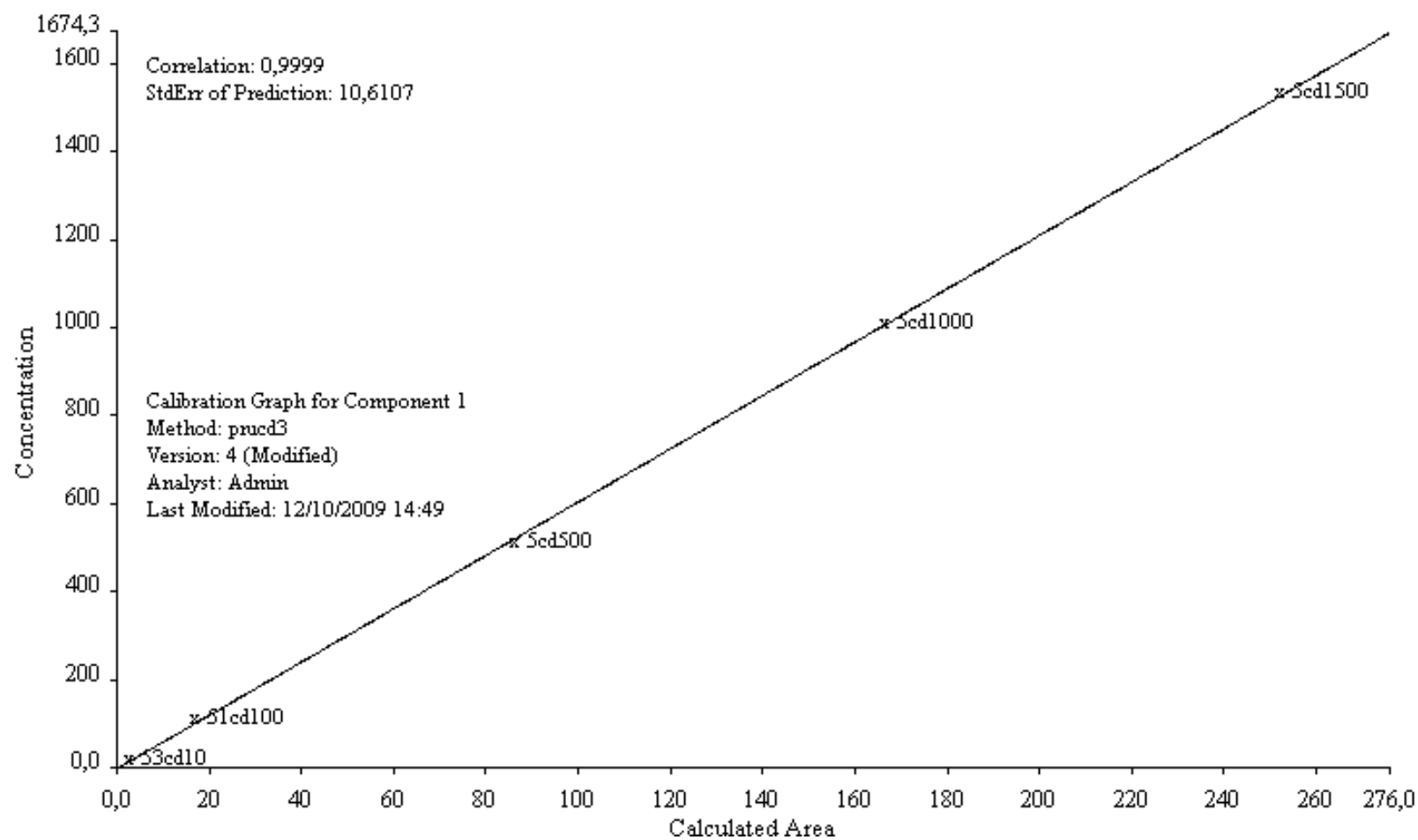
Datos y Gráfica de la primera Curva de Calibración



Datos y Gráfica de la segunda Curva de Calibración

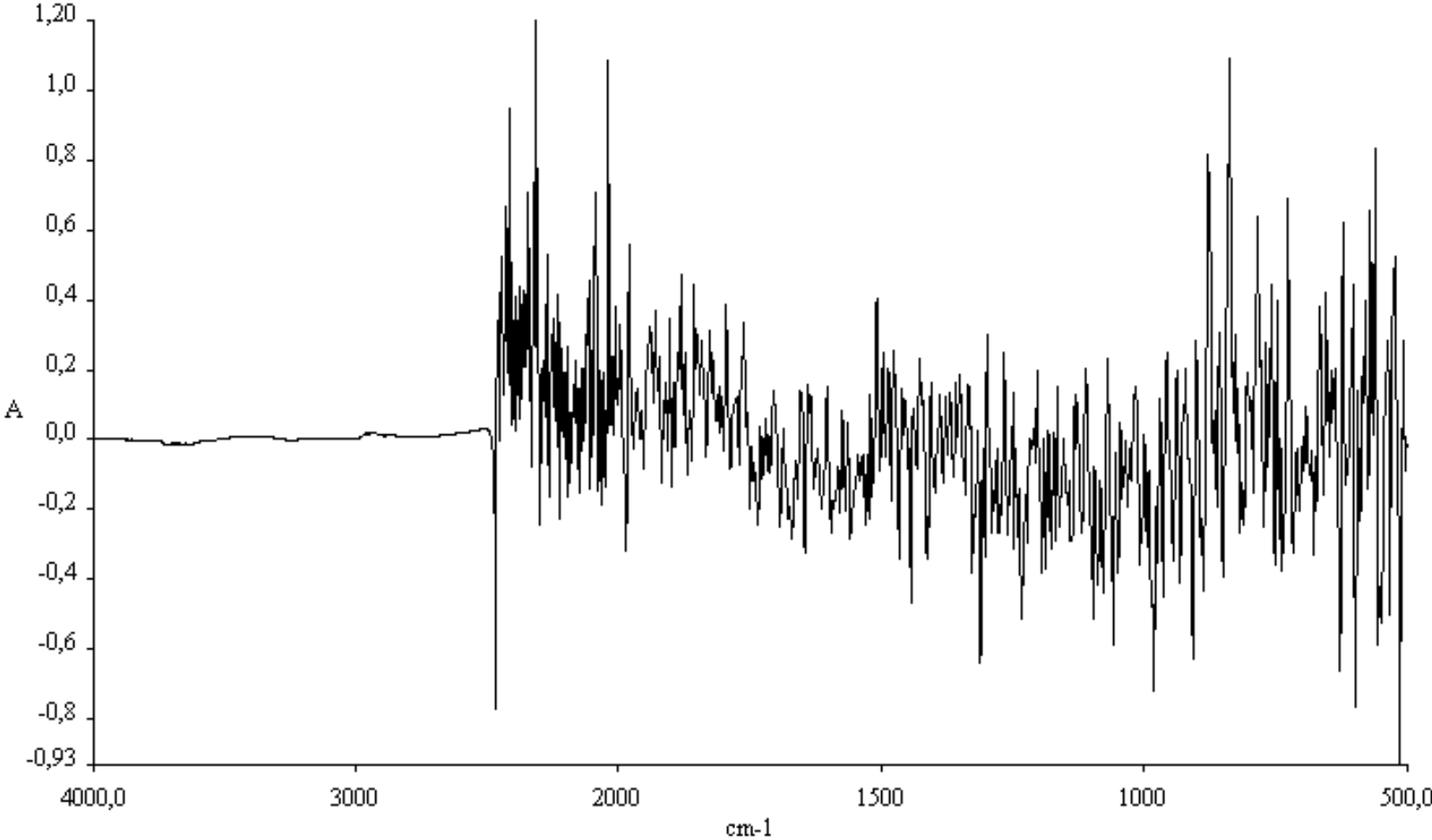


Datos y Gráfica de la tercera Curva de Calibración

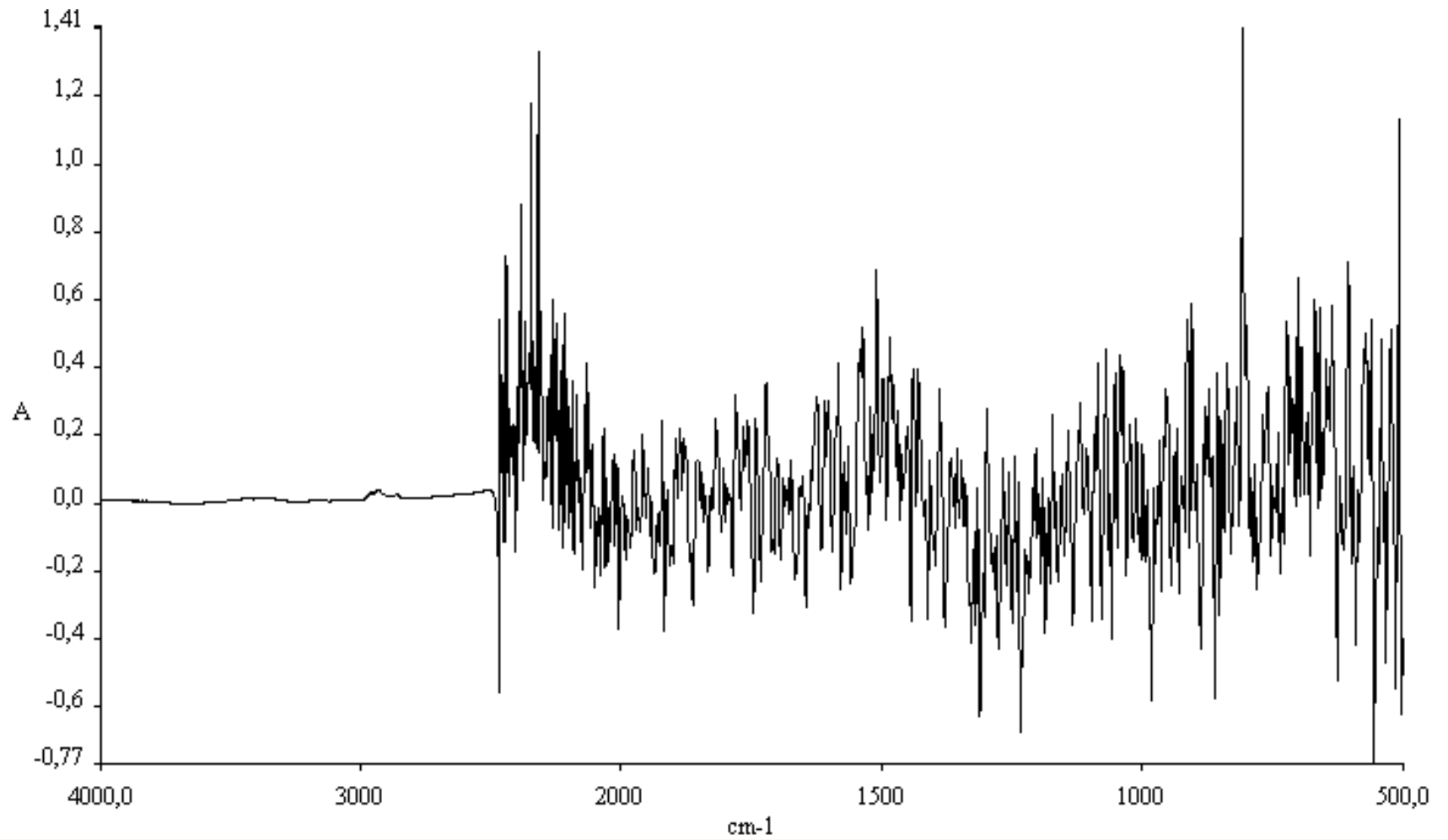


Anexo 7: Espectros de Infrarrojo de las pruebas de
límite de detección y cuantificación.

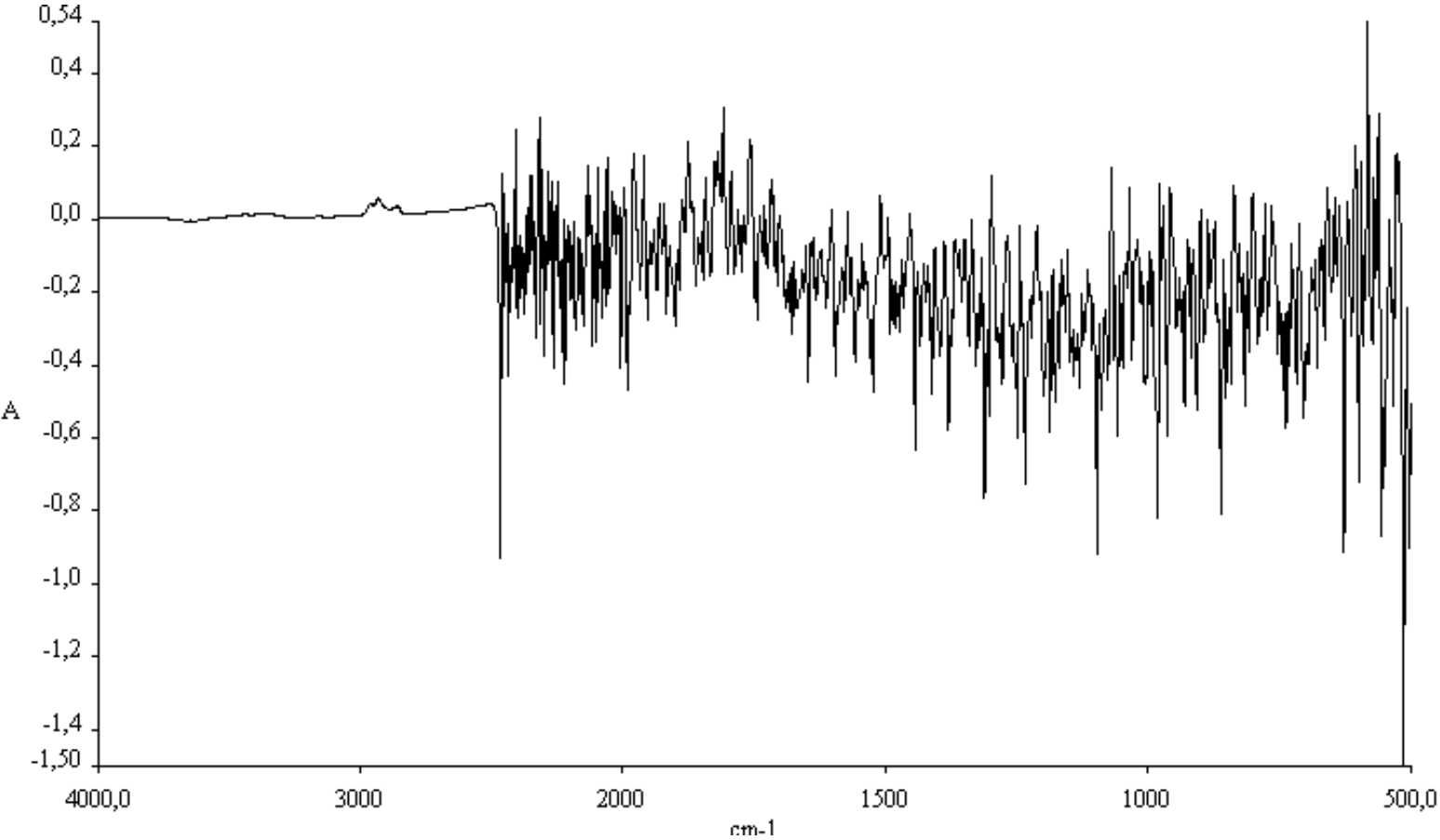
Prueba de límites de cuantificación 10 mg/kg. (Un ejemplo de espectro por cada concentración).



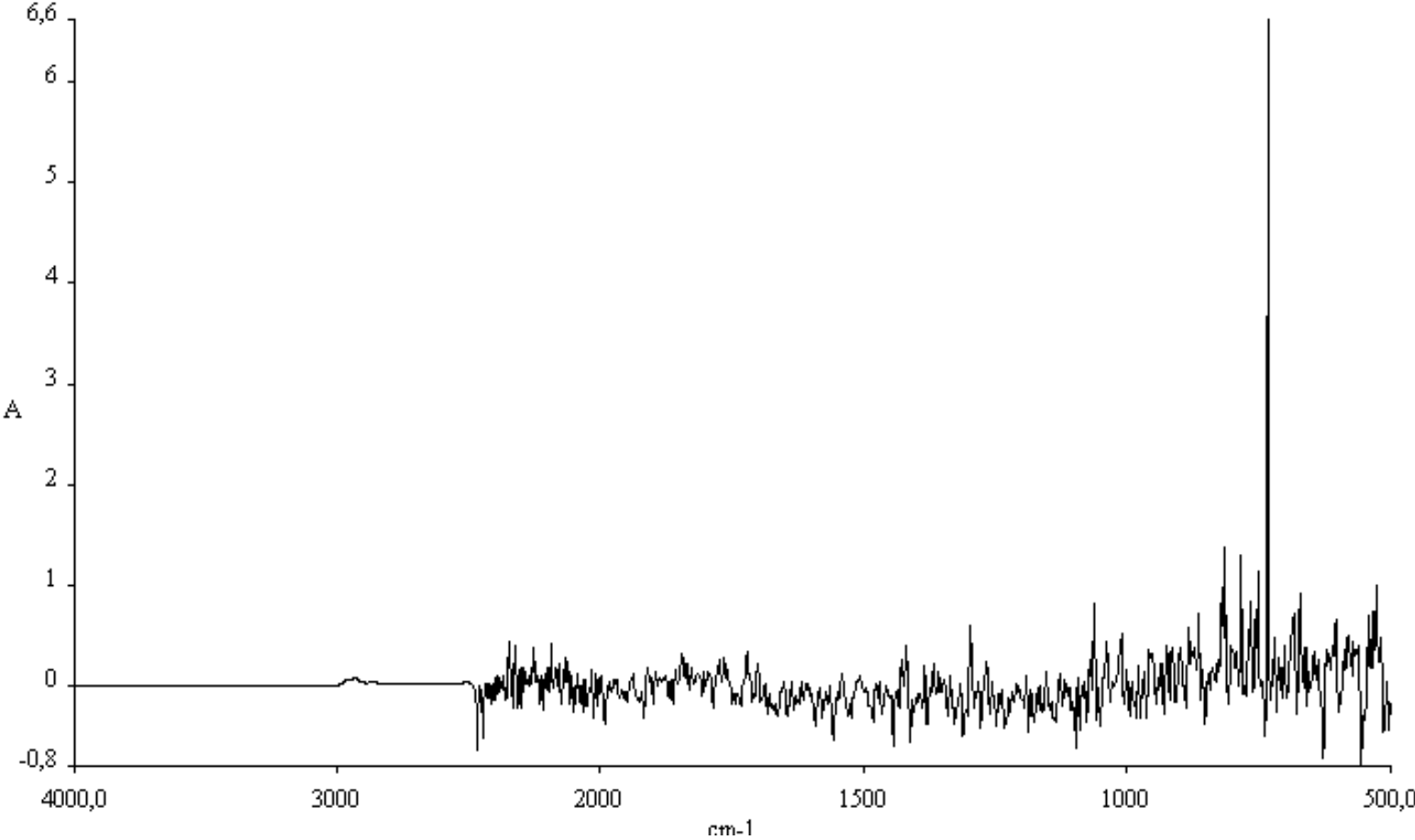
Prueba de límites de cuantificación 50 mg/kg. (Un ejemplo de espectro por cada concentración).



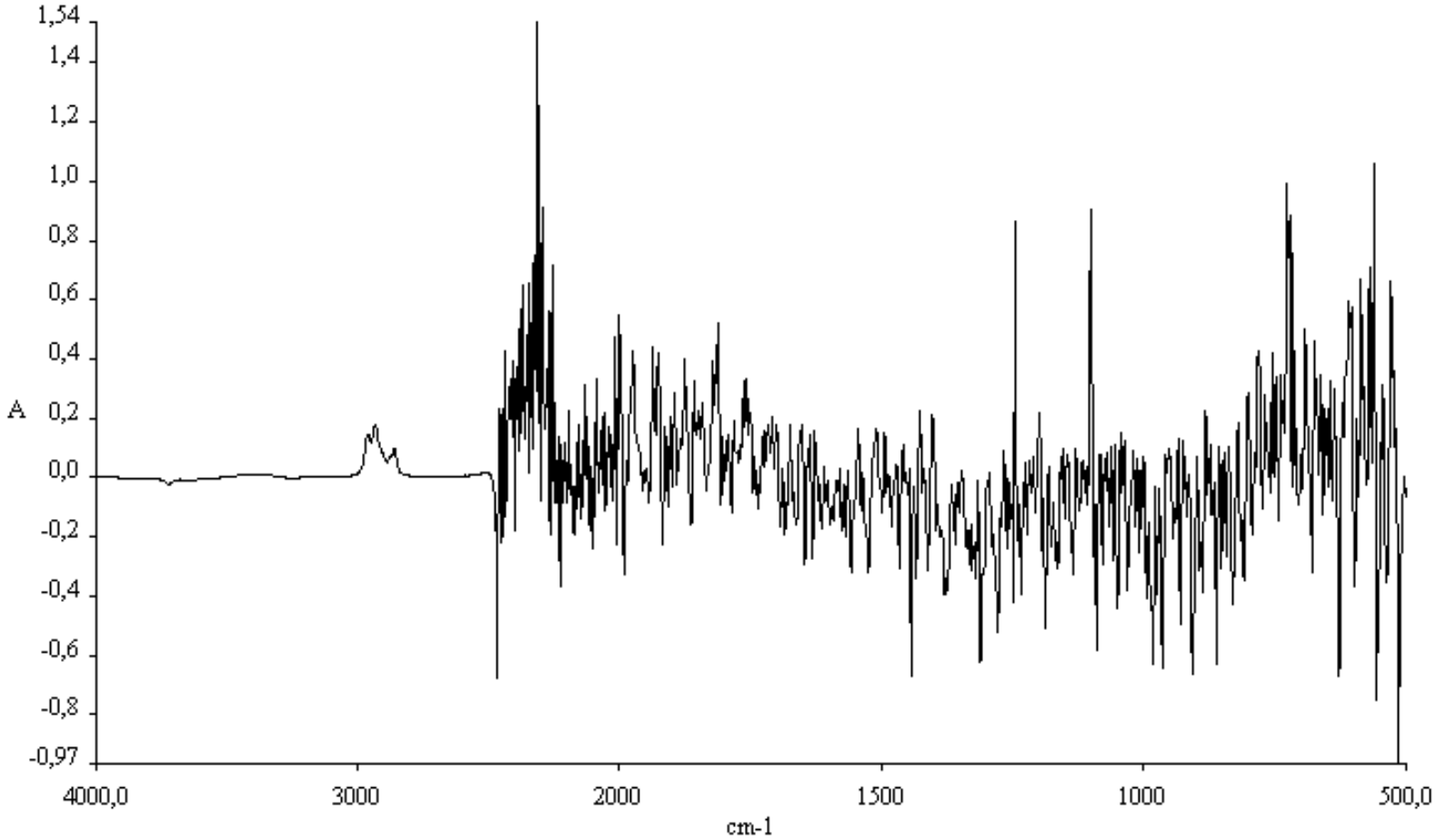
Prueba de límites de cuantificación 75 mg/kg. (Un ejemplo de espectro por cada concentración).



Prueba de límites de cuantificación 100 mg/kg. (Un ejemplo de espectro por cada concentración).

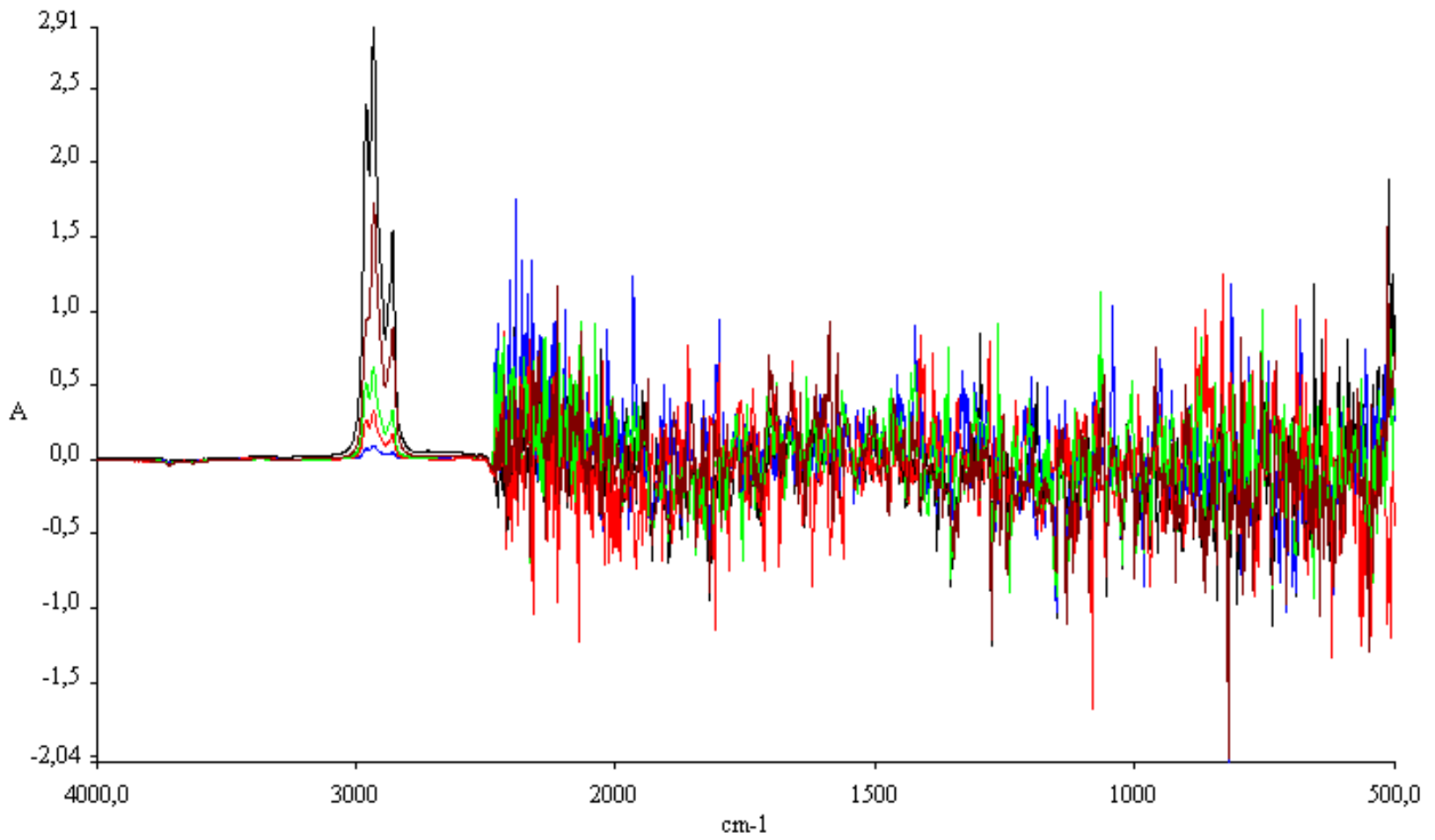


Prueba de límites de cuantificación 250 mg/kg. (Un ejemplo de espectro por cada concentración).



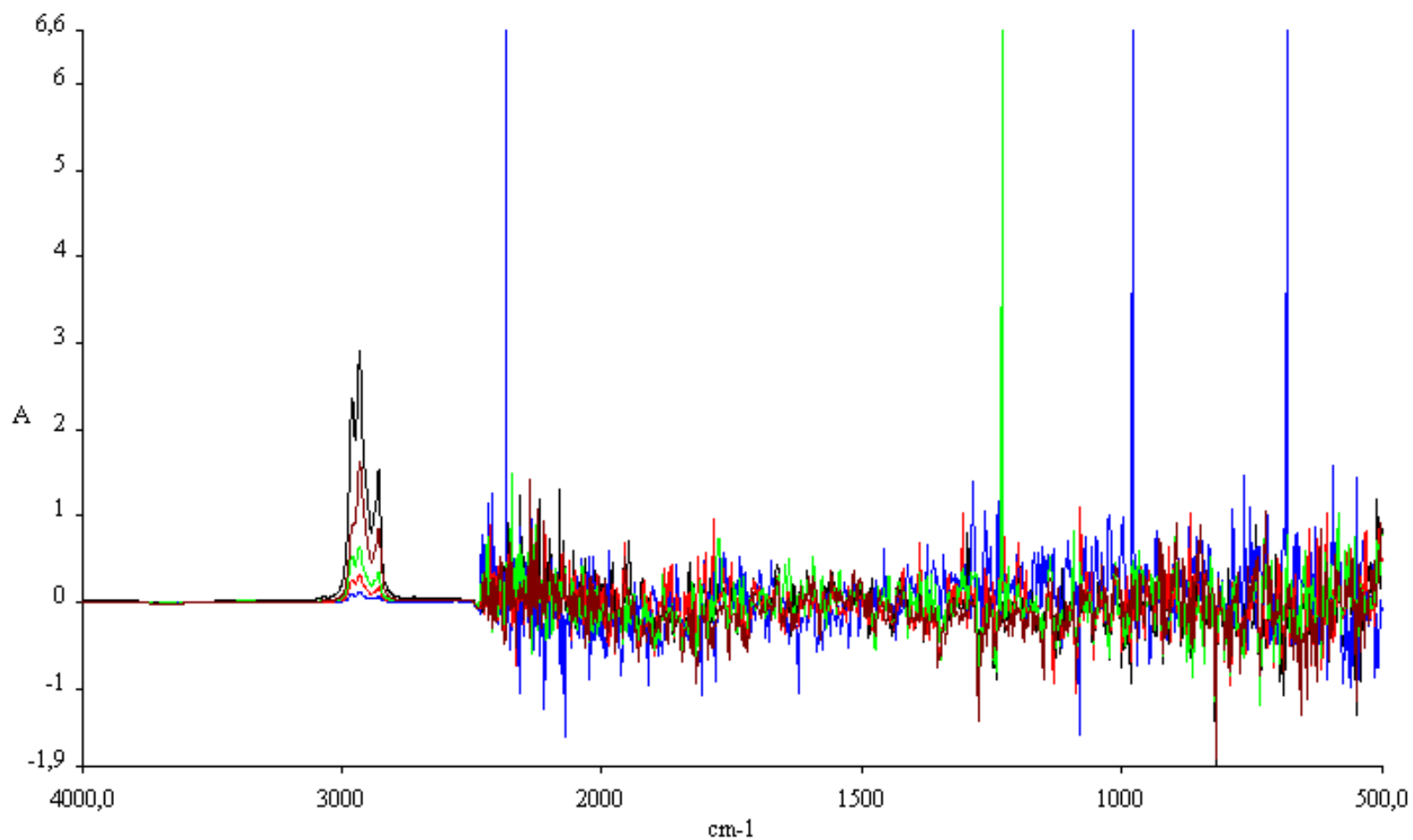
Anexo 8: Espectros de Infrarrojo de repetibilidad por cada día de reproducibilidad.

Espectros de Infrarrojo del primer grupo de repetibilidad del primer día de reproducibilidad.



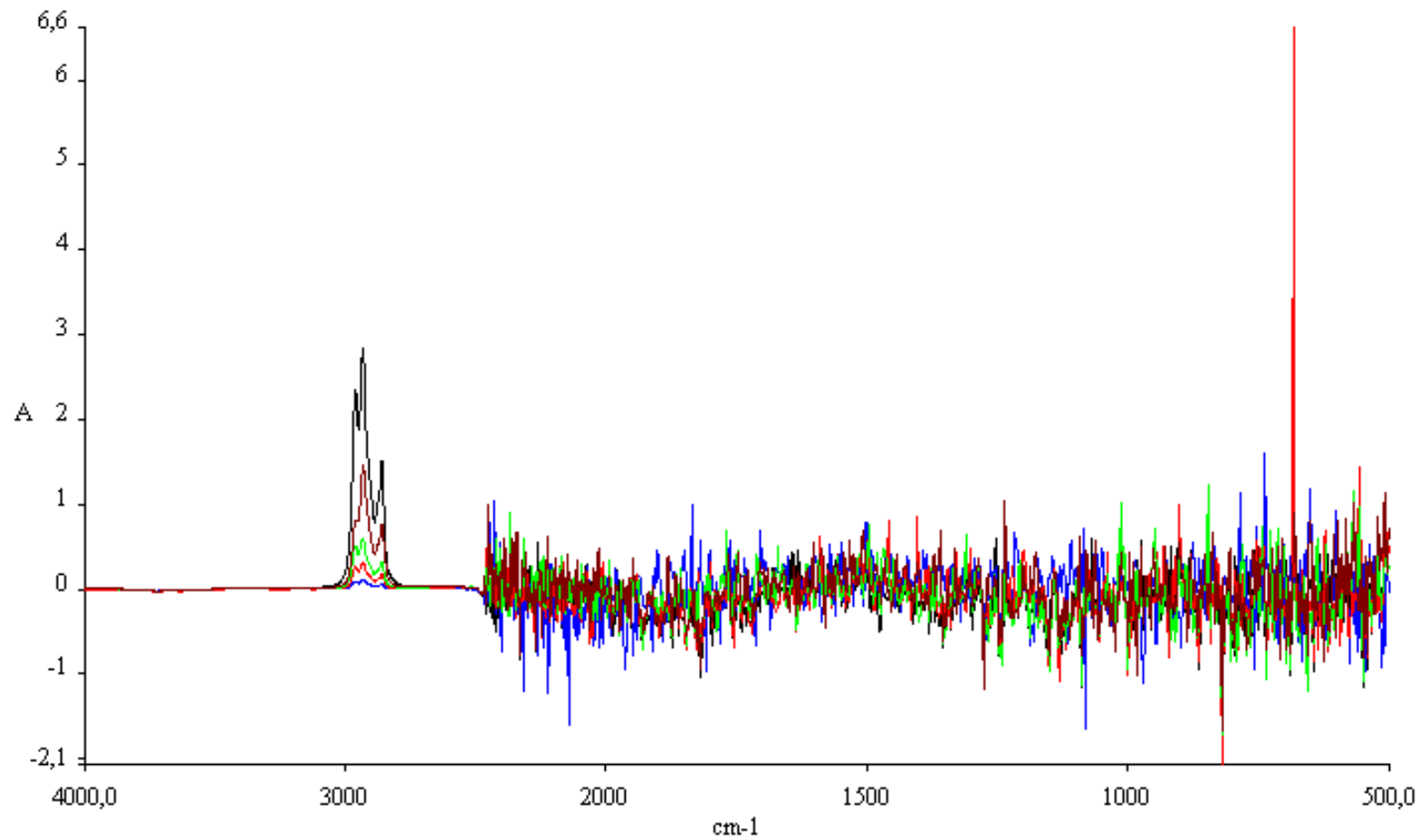
Espectros: Fortificación 100 mg/kg, Fortificación 500 mg/kg, Fortificación 1000 mg/kg, Material de Referencia Certificado, Fortificación 5000 mg/kg.

Espectros de Infrarrojo del segundo grupo de repetibilidad del primer día de reproducibilidad.



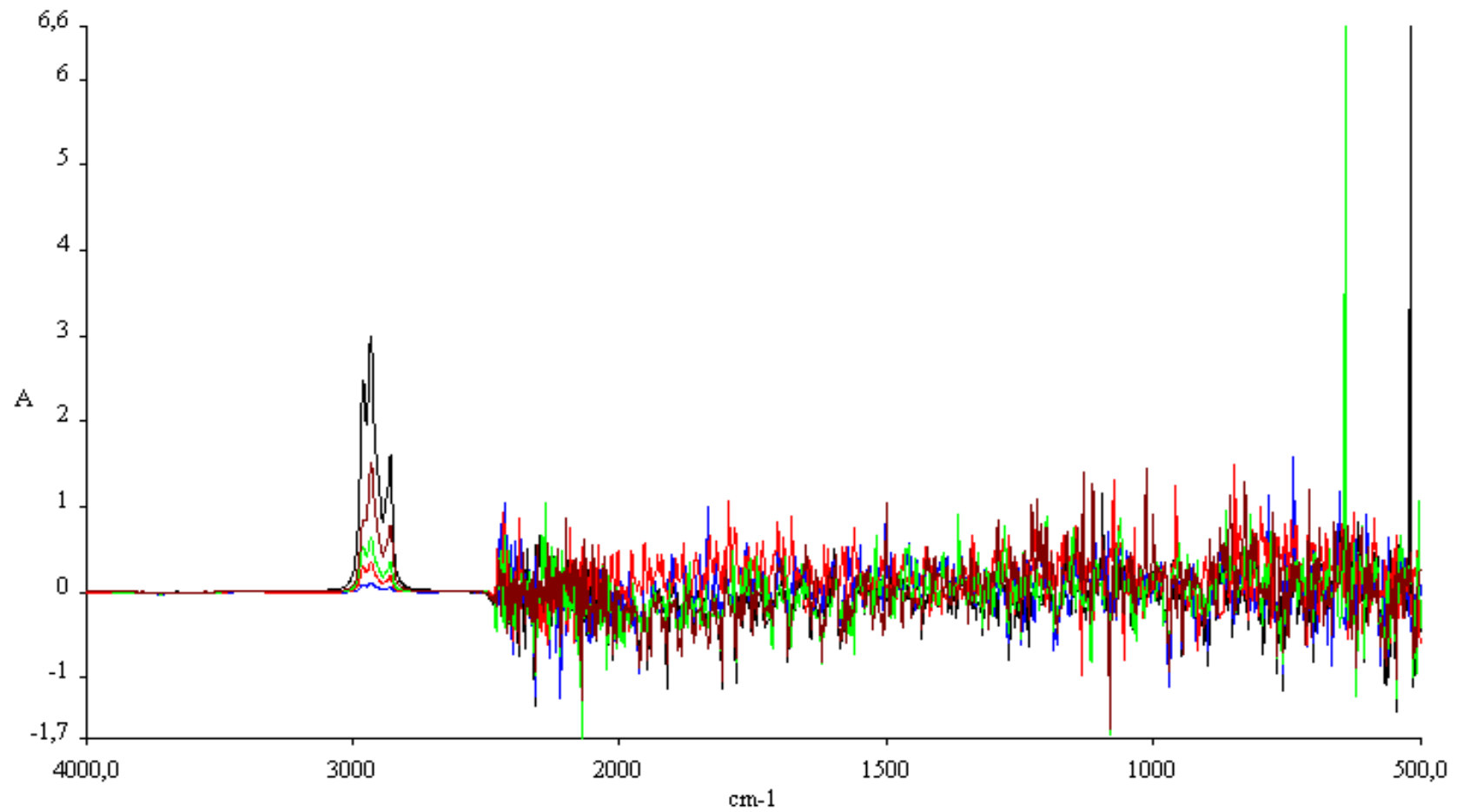
Espectros: Fortificación 100 mg/kg, Fortificación 500 mg/kg, Fortificación 1000 mg/kg, Material de Referencia Certificado, Fortificación 5000 mg/kg.

Espectros de Infrarrojo del tercer grupo de repetibilidad del primer día de reproducibilidad.



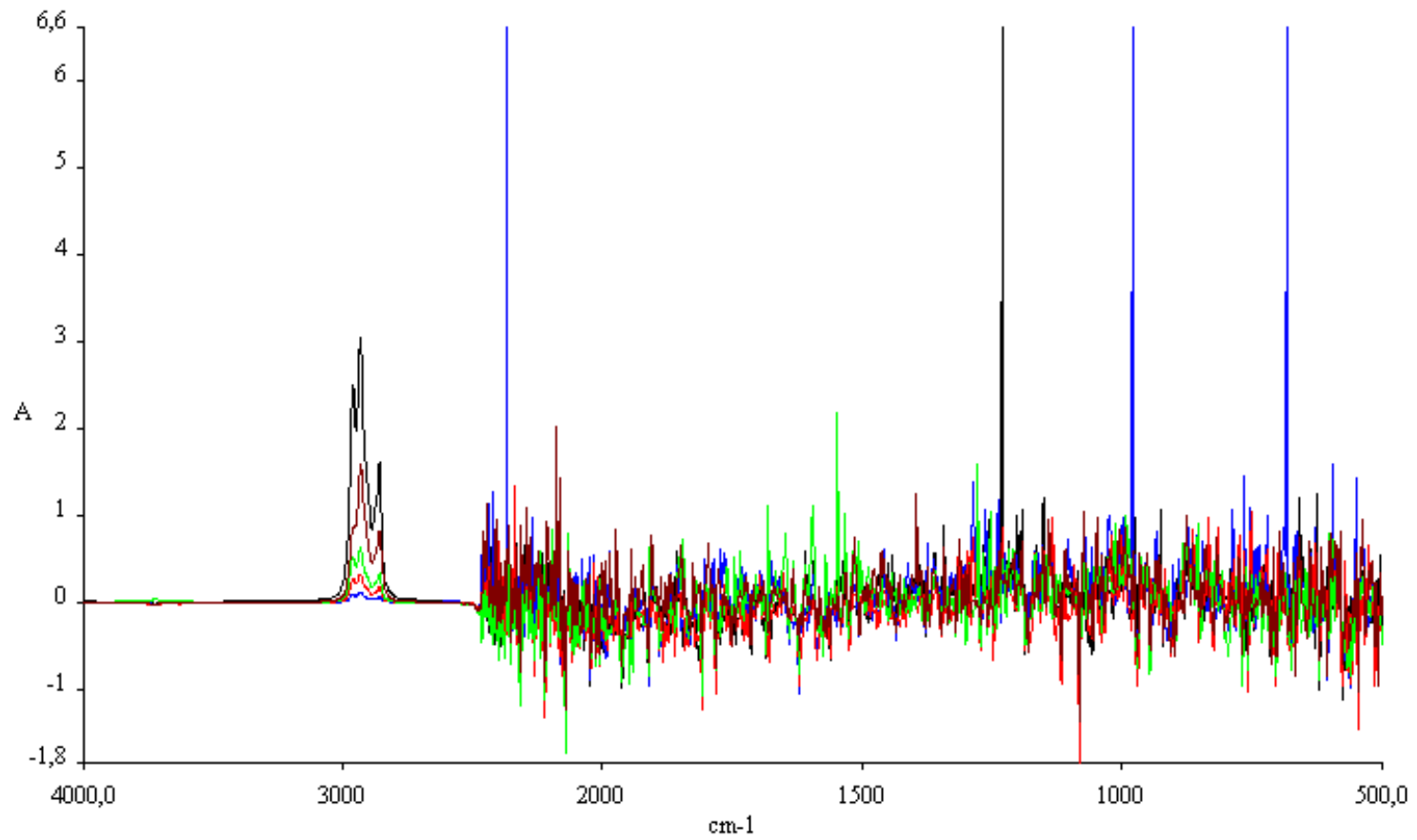
Espectros: Fortificación 100 mg/kg, Fortificación 500 mg/kg, Fortificación 1000 mg/kg, Material de Referencia Certificado, Fortificación 5000 mg/kg.

Espectros de Infrarrojo del primer grupo de repetibilidad del segundo día de reproducibilidad.



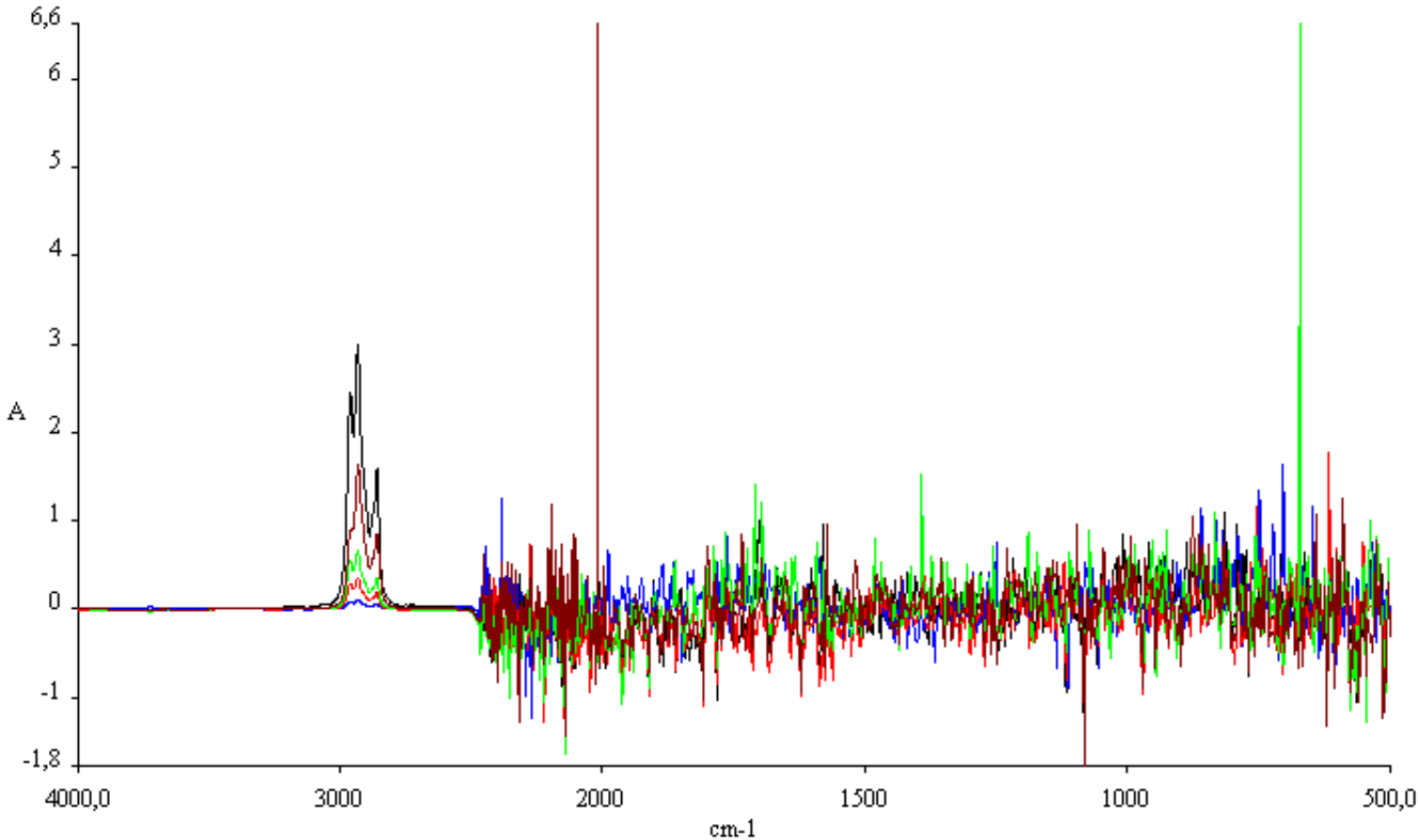
Espectros: Fortificación 100 mg/kg, Fortificación 500 mg/kg, Fortificación 1000 mg/kg, Material de Referencia Certificado, Fortificación 5000 mg/kg.

Espectros de Infrarrojo del segundo grupo de repetibilidad del segundo día de reproducibilidad.



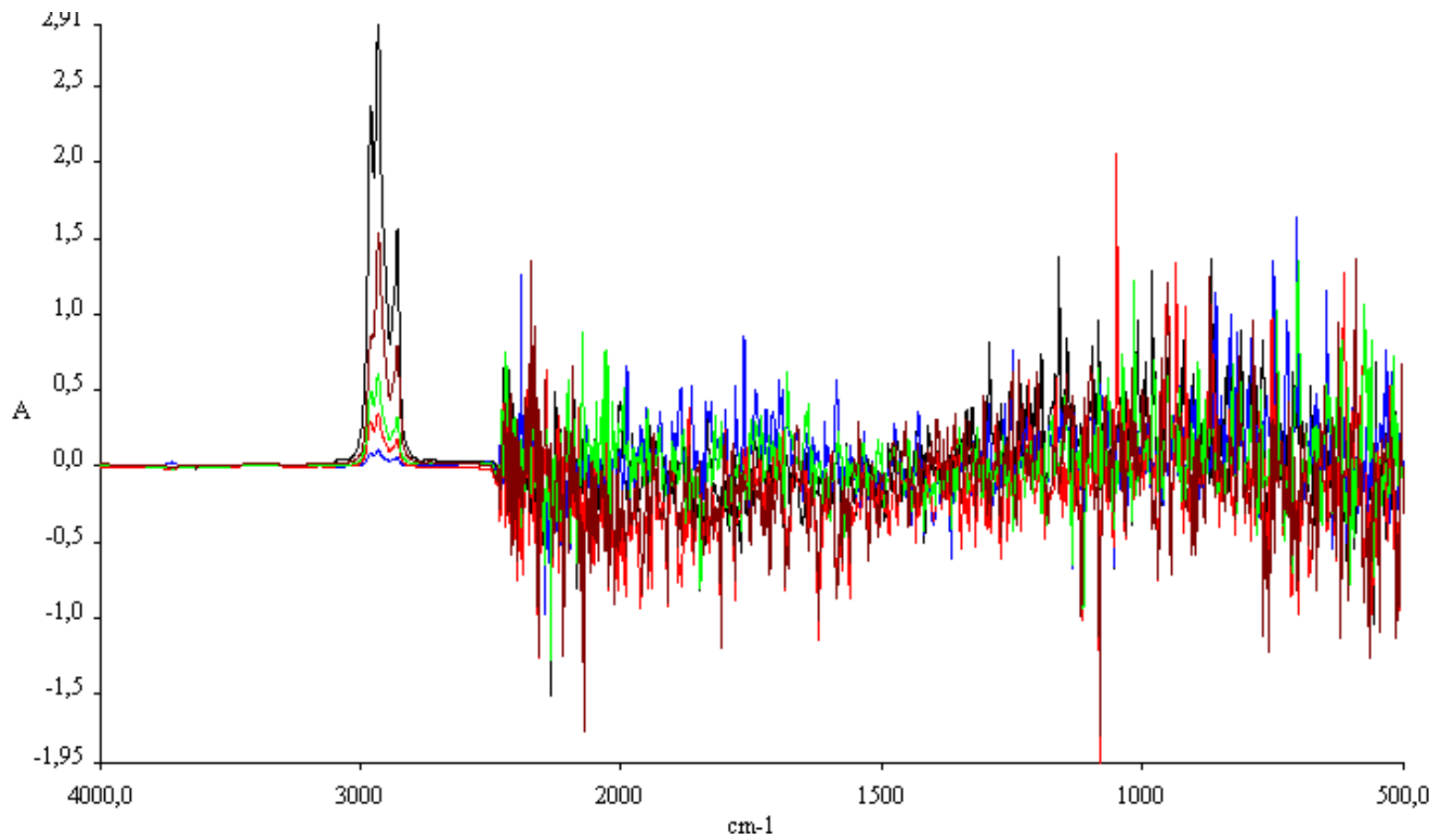
Espectros: Fortificación 100 mg/kg, Fortificación 500 mg/kg, Fortificación 1000 mg/kg, Material de Referencia Certificado, Fortificación 5000 mg/kg.

Espectros de Infrarrojo del tercer grupo de repetibilidad del segundo día de reproducibilidad.



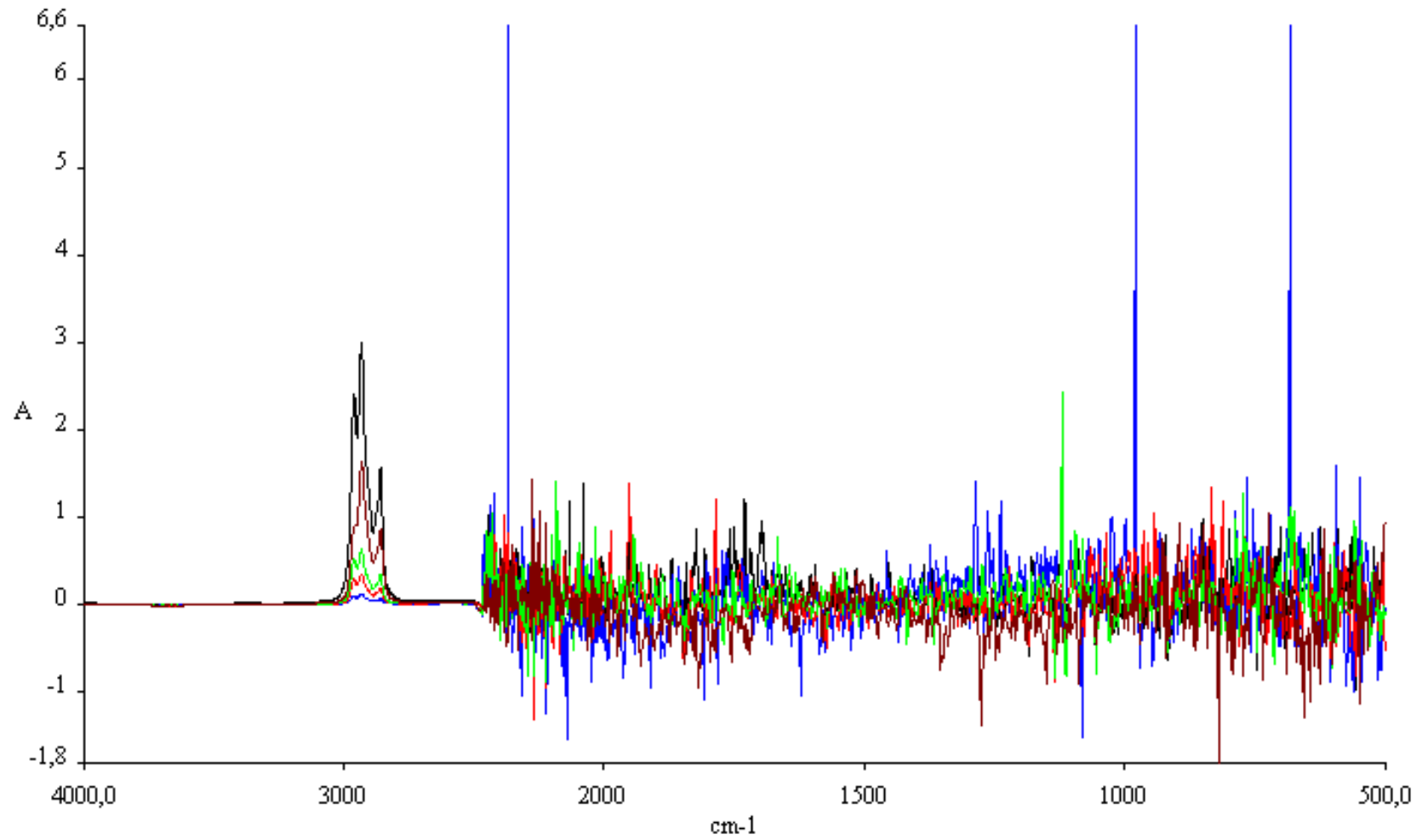
Espectros: Fortificación 100 mg/kg, Fortificación 500 mg/kg, Fortificación 1000 mg/kg, Material de Referencia Certificado, Fortificación 5000 mg/kg.

Espectros de Infrarrojo del primer grupo de repetibilidad del tercer día de reproducibilidad.



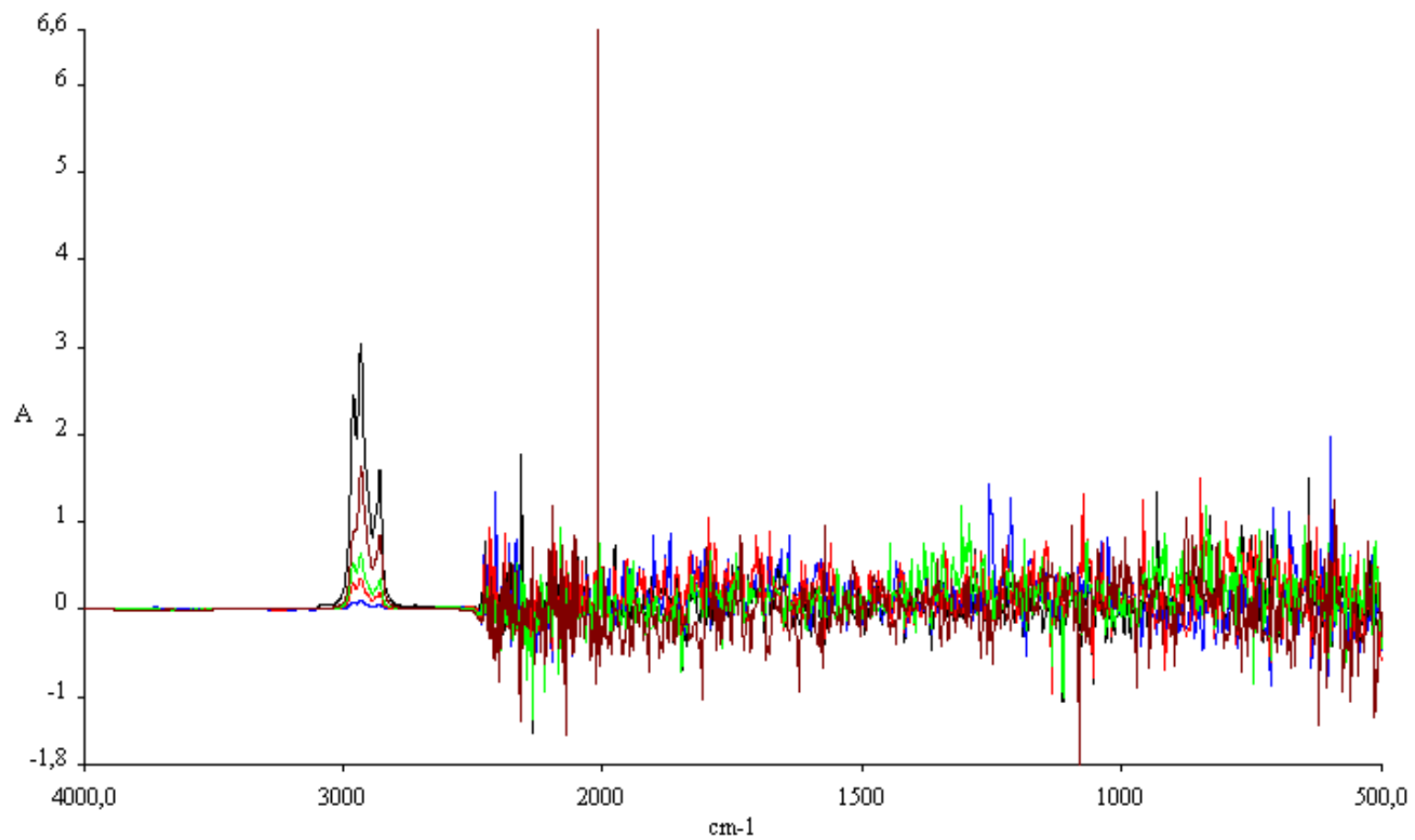
Espectros: Fortificación 100 mg/kg, Fortificación 500 mg/kg, Fortificación 1000 mg/kg, Material de Referencia Certificado, Fortificación 5000 mg/kg.

Espectros de Infrarrojo del segundo grupo de repetibilidad del tercer día de reproducibilidad.



Espectros: Fortificación 100 mg/kg, Fortificación 500 mg/kg, Fortificación 1000 mg/kg, Material de Referencia Certificado, Fortificación 5000 mg/kg.

Espectros de Infrarrojo del tercer grupo de repetibilidad del tercer día de reproducibilidad.



Espectros: Fortificación 100 mg/kg, Fortificación 500 mg/kg, Fortificación 1000 mg/kg, Material de Referencia Certificado, Fortificación 5000 mg/kg.

Anexo 9: Datos generales de la validación del método.

ESTÁNDAR 1: 100 mg/kg								
DÍA	1	2	3	Media	s	C.V.	% Recup.	
1	109,8708	100,3958	103,0515	104,4393667	4,89	4,68%	104,4393667	
2	115,5395	115,0630	92,8355	107,8126667	12,97	12,03%	107,8126667	
3	93,9580	117,2031	94,4638	101,8749667	13,28	13,03%	101,8749667	
Precisión de Reproducibilidad				Media	104,709	10,38	9,92%	104,71
				S	9,938126629			
				CV	9,49%			
ESTÁNDAR 2: 500 mg/L								
DÍA	1	2	3	Media	S	C.V.	% Recup.	
1	444,25	498,6078	487,1407	476,6661667	28,6527397	6,01%	95,33323333	
2	510,1614	450,2275	421,9437	460,7775333	45,0451779	9,78%	92,15550667	
3	419,2443	466,8358	519,8807	468,6536	50,3428202	10,74%	93,73072	
Precisión de Reproducibilidad				Media	468,6991	41,35	8,84%	93,74
				s	37,32890385			
				CV	7,96%			
ESTÁNDAR 3: 1000,000 mg/L								
DÍA	1	2	3	Media	S	C.V.	% Recup.	
1	991,8602	1075,1867	1053,3736	1040,140167	43,2107535	4,15%	104,0140167	
2	1064,4325	911,7621	927,7116	967,9687333	83,9198448	8,67%	96,79687333	
3	950,9456	953,1832	1027,4125	977,1804333	43,5166302	4,45%	97,71804333	
Precisión de Reproducibilidad				Media	995,0964444	56,88	5,76%	99,51
				s	62,11311513			
				CV	6,24%			
ESTÁNDAR 4: 5000 mg/L								
DÍA	1	2	3	Media	s	C.V.	% Recup.	
1	5012,415	4963,1594	4807,7274	4927,767267	106,834946	2,17%	98,55534533	
2	4869,6417	4982,2555	4940,7082	4930,868467	56,9480663	1,15%	98,61736933	
3	4853,5229	4832,7859	4953,4056	4879,9048	64,4924918	1,32%	97,598096	
Precisión de Reproducibilidad				Media	4912,846844	76,0918347	1,55%	98,26
				s	72,91250529			
				CV	1,48%			

Anexo 10: Cálculo de la incertidumbre del método

CÁLCULO DE LA INCERTIDUMBRE DE LA DETERMINACIÓN DE TPH'S EN SUELOS

Características Técnicas del ensayo:

Técnica de Análisis: Espectrofotometría de infrarrojos con transformadas de Fourier.

Equipos Utilizados: Espectrofotómetro IR Perking Elmer Spectrum BX

1. Concentración de TPH's:

TPH's (mg/L) = Lectura de TPH's en mg/L

$$\text{TPH's (mg/Kg)} = \frac{\text{TPH's (mg/L)} \times \text{volumen de solvente}}{\text{Peso de la muestra}}$$

CONTRIBUCIONES A LA INCERTIDUMBRE:

1.1. Incertidumbre de la calibración del equipo:

Incertidumbre del Estándar:	0,005
K=	2
u	2,5E-3

1.2. Incertidumbre de la resolución del equipo:

Resolución del espectrofotómetro	0,01
u res	5,77E-3

1.3. Incertidumbre de la precisión del equipo (repetibilidad de fábrica):

Linealidad del espectrofotómetro IR (s)	0,0001 nm
u linealidad	5,77E-5

1.4. Incertidumbre de la reproducibilidad del método:

Reproducibilidad	10
u rep	5,77

1.5. Incertidumbre del pesaje de la muestra:

Incertidumbre de la calibración de la balanza	0,0133
K=	2
u pesado	6,65E-3

1.6. Incertidumbre del secado de la muestra:

Incertidumbre de de calibración de la estufa	1,43
K=	2
u estufa	7,15E-1

2. Función de respuesta (FR):

Ecuación de la recta de calibración:

$$L = L_0 + m \cdot C$$

$$C = \frac{L - L_0}{m}, \text{ donde:}$$

L = Lectura en absorbancia

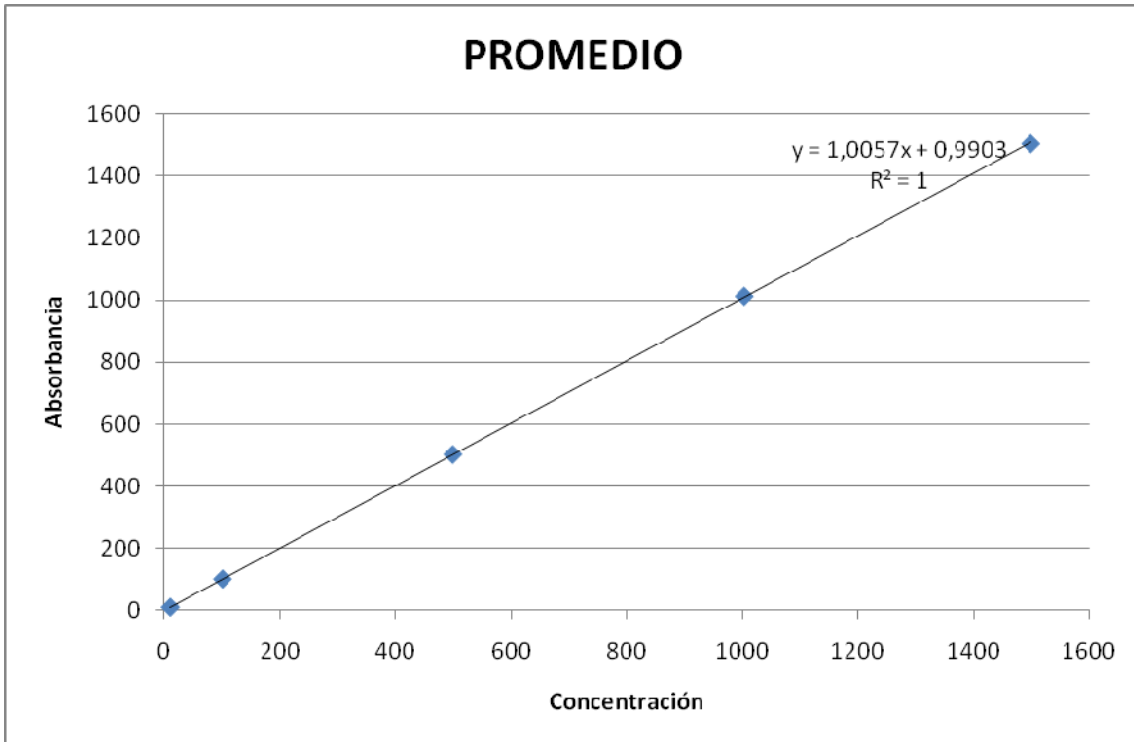
L₀ = intersección de la recta con el eje de ordenadas (ordenada en el origen)

m = pendiente de la recta obtenida por regresión lineal (y sobre x)

C = concentración

Curva de calibración:

Estándar (mg/L)	Lectura (absorbancia)	Concentración calculada	Lobs-Lcalc
10	10,12	10,00069143	0,001
100	101,068	100,2549564	0,255
500	503,08	498,7426173	-1,257
1000	1013,76	1003,117926	3,118
1500	1505,712	1498,869926	-6,842



u (FR)= se tomará en cuenta como una corrección no realizada de acuerdo al rango

3. Incertidumbre Típica de la determinación de TPH's:

u estándar	2,5E-3
u ² estándar	6,25E-6
u res	5,77E-3
u ² res	3,33E-5
u linealidad	5,77E-5
u ² linealidad	3,33E-9
u rep	5,77
u ² rep	33,33
u pesado	6,65E-3
u ² pesado	4,42E-5
u estufa	7,1E-1
u ² estufa	5,11E-1
$\sum u^2$	33,84
$\sqrt{\sum u^2}$	5,817614816
Incertidumbre Típica (u)	5,81761

INCERTIDUMBRE EXPANDIDA (U):

u x k	k = 2
u	11,6352 mg/kg

Anexo 11: Hoja de declaración de la validación.

DECLARACIÓN DE VALIDACIÓN
Analito: TPH's Unidades: mg/Kg Matriz: Suelo Métodos de Referencia: EPA 3550, EPA 3630, EPA 8440

LÍMITE DE DETECCIÓN (L.D.)	25 mg/Kg
LÍMITE DE CUANTIFICACIÓN (L.C.)	100 mg/Kg

FUNCIÓN DE RESPUESTA DEL MÉTODO	
m	6,1138
S _m	0,0469
b	-3,3554
S _b	0,7182

PRECISIÓN, EXACTITUD, INCERTIDUMBRE					
Nivel: conc.	Repetibilidad		Reproducibilidad		Exactitud
	S _r	%CV _r	S _R	%CV _R	% recuperación.
1: 100 mg/Kg	10,4	9,9	9,9	9,5	104,7
2: 500mg/Kg	41,4	8,8	37,3	7,9	93,7
3: 1000 mg/Kg	56,9	5,8	62,1	6,2	99,5
4: 5000 mg/Kg	76,1	1,6	72,9	1,5	98,3

CRITERIOS DE ACEPTACIÓN / RECHAZO:
 Se declara validado el método debido a que se cumple los parámetros del objetivo de validación:

Se presenta una linealidad mayor a 0.99.
 Se tiene porcentaje de recuperación en el límite de cuantificación de 98.4%.
 Se tiene variabilidades en la precisión de repetibilidad y de reproducibilidad menores al 10%.
 Se tiene una exactitud de 96,9%.
 Un intervalo de trabajo de 100 a 5000 mg/Kg.

INTERVALO DE TRABAJO VALIDADO: 100 – 5000 mg/Kg