

PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DEL ECUADOR

FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES

ESCUELA DE CIENCIAS QUÍMICAS

**Estudio de la técnica de Extracción Asistida por Microondas (MAE) para su aplicación
en la determinación de Hidrocarburos Totales de Petróleo (TPH's) en suelos**

**Disertación previa a la obtención del título Licenciado en Ciencias Químicas, mención
Química Analítica**

CARLOS EDUARDO RODRÍGUEZ PALMA

Quito, 2013

Certificación de la finalización de la disertación:

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

Fecha:

Ms. Sc. Wendy Heredia Rojas

DEDICATORIA

Este trabajo lo dedico a Dios por darme la salud e inteligencia que me han ayudado a conseguir esta meta; a mi familia por su apoyo, paciencia y orientación; y a María Emilia por brindarme amor, apoyo y fortaleza.

AGRADECIMIENTOS

A la Pontificia Universidad Católica del Ecuador, por proveer los docentes capacitados y el entorno en donde me he desenvuelto hacia mis metas profesionales.

A la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, en donde pude culminar mis estudios en Ciencias Químicas y encaminarme como profesional.

Al Centro de Servicios Ambientales y Químicos, CESAQ-PUCE, por brindarme el apoyo económico y la oportunidad de desarrollar el presente estudio.

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

A Ms. Sc. Alexandra Hidalgo por su apoyo e impulsar el desarrollo de este proyecto.

A todo el personal del CESAQ-PUCE.

A Maya, Angie, Vane; a mis compañeros de promoción y todos aquellos que me acompañaron en mi formación humana y académica.

TABLA DE CONTENIDOS

Portada.....	i
Certificación.....	ii
Dedicatoria.....	iii
Agradecimientos.....	iv
Tabla de contenidos.....	v
Lista de tablas.....	ix
Lista de figuras.....	xii
Lista de anexos.....	xiii
Abreviaturas.....	xvi
Resumen.....	1
Abstract.....	3
Introducción.....	5
CAPÍTULO I.....	8
1.1.HIDROCARBUROS TOTALES DE PETRÓLEO.....	8
1.1.1. Definición y caracterización de los TPH's.....	8

1.2. PROPIEDADES FÍSICAS, QUÍMICAS Y TOXICOLÓGICAS.....	11
1.2.1. Propiedades físicas y químicas.....	11
1.2.2. Propiedades toxicológicas.....	14
1.3. RIESGOS PARA LA SALUD Y EL MEDIO AMBIENTE.....	16
1.4. HIDROCARBUROS DE PETRÓLEO EN SUELOS.....	17
1.5. LEGISLACIÓN AMBIENTAL ECUATORIANA.....	19
1.6. ANÁLISIS QUÍMICO DE TPH'S.....	20
1.6.1. Breve descripción de los métodos de extracción.....	20
1.6.2. Extracción usando energía microondas.....	23
1.6.2.1. Estudios previos.....	24
1.6.2.2. Principio del calentamiento usando energía microondas.....	26
1.6.2.3. Descripción del equipo microondas.....	28
1.6.3. Breve descripción de los métodos de cuantificación.....	31
1.6.3.1. Cromatografía de gases.....	31
1.6.3.2. Espectrofotometría de infrarrojos.....	33
1.6.3.3. Método gravimétrico.....	34
CAPÍTULO II.....	36

2.1. METODOLOGÍA.....	36
2.2. OPTIMIZACIÓN DE LAS CONDICIONES DE EXTRACCIÓN Y VALIDACIÓN DEL MÉTODO.....	38
2.3. DESARROLLO DEL MÉTODO.....	39
2.4. EQUIPOS Y MATERIALES.....	43
2.4.1. Equipos.....	43
2.4.2 Materiales.....	43
2.4.3. Reactivos.....	44
2.4.4. Estándares y materiales de referencia.....	44
2.4.5. Preparación de soluciones estándar.....	45
2.5. PROCEDIMIENTO.....	46
CAPÍTULO III.....	49
3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	49
3.1. RESULTADOS DE LA OPTIMIZACIÓN DEL MÉTODO MAE.....	49
3.1.1. Optimización de la cantidad de sílica para limpieza de impurezas.....	49
3.1.2. Optimización del volumen de solvente para la extracción.....	51
3.1.3. Optimización de la cantidad de muestra para la extracción.....	54
3.1.4. Optimización de la temperatura de extracción en el equipo microondas.....	60

3.1.5. Optimización del tiempo de extracción en el equipo microondas.....	66
3.2. RESULTADOS DE LA VALIDACIÓN DEL MÉTODO MAE.....	70
3.2.1. Linealidad.....	70
3.2.2. Límite de detección, límite de cuantificación e intervalo de trabajo.....	71
3.2.3. Repetibilidad y reproducibilidad.....	72
3.2.4. Exactitud.....	75
3.2.5. Aplicabilidad del método.....	76
CAPÍTULO IV.....	79
4. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	79
4.1. CONCLUSIONES.....	79
4.2. RECOMENDACIONES.....	81
BIBLIOGRAFÍA.....	83
ANEXOS.....	88

LISTA DE TABLAS

Tabla 1.1. Composición básica de las fracciones del petróleo.....	10
Tabla 1.2. Principales fracciones comercializables obtenidas por destilación del petróleo....	12
Tabla 1.3. Límites permisibles para la identificación y remediación de suelos contaminados en todas las fases de la industria hidrocarburífera, incluidas las estaciones de servicios.....	20
Tabla 2.1. Optimización de las condiciones de extracción.....	39
Tabla 2.2. Objetivos de validación del método propuesto.....	40
Tabla 2.3. Preparación de soluciones estándar.....	45
Tabla 3.1. Resultados de análisis, optimización de la cantidad de sílica para eliminar interferencias.....	50
Tabla 3.2. Resumen de la optimización de sílica.....	51
Tabla 3.3. Resultados de análisis usando 25 mL de solvente en la extracción.....	52
Tabla 3.4. Resultados de análisis usando 10 mL de solvente en la extracción.....	53
Tabla 3.5. Resumen de la optimización de volumen.....	54
Tabla 3.6. Resultados de análisis usando 2g de muestra en la extracción.....	55
Tabla 3.7. Resultados de análisis usando 3g de muestra en la extracción.....	56
Tabla 3.8. Resultados de análisis usando 4g de muestra en la extracción.....	57

Tabla 3.9. Resultados de análisis usando 5g de muestra en la extracción.....	58
Tabla 3.10. Resumen de la optimización del peso de muestra para la extracción.....	59
Tabla 3.11. Resultados de análisis a una temperatura de extracción de 40°C.....	61
Tabla 3.12. Resultados de análisis a una temperatura de extracción de 50°C.....	62
Tabla 3.13. Resultados de análisis a una temperatura de extracción de 60°C.....	62
Tabla 3.14. Resultados de análisis a una temperatura de extracción de 70°C.....	63
Tabla 3.15. Resultados de análisis a una temperatura de extracción de 80°C.....	64
Tabla 3.16. Resumen de la optimización de la temperatura de extracción.....	64
Tabla 3.17. Resultados de análisis a un tiempo de extracción de 5 minutos.....	67
Tabla 3.18. Resultados de análisis a un tiempo de extracción de 10 minutos.....	67
Tabla 3.19. Resultados de análisis a un tiempo de extracción de 15 minutos.....	68
Tabla 3.20. Resultados de análisis a un tiempo de extracción de 20 minutos.....	69
Tabla 3.21. Resumen de la optimización del tiempo de extracción.....	69
Tabla 3.22. Resumen de los datos de las curvas de calibración en los 4 días de validación.....	70
Tabla 3.23. Resumen de la determinación del límite de detección y cuantificación.....	71
Tabla 3.24. Resumen de precisión de repetibilidad y reproducibilidad, estándar de 250 mg/kg.....	73

Tabla 3.25. Resumen de precisión de repetibilidad y reproducibilidad, estándar de 1000 mg/kg.....	73
Tabla 3.26. Resumen de precisión de repetibilidad y reproducibilidad, estándar de 2500 mg/kg.....	73
Tabla 3.27. Resumen de precisión de repetibilidad y reproducibilidad, estándar de 5000 mg/kg.....	74
Tabla 3.28. Resumen de variabilidad, repetibilidad y reproducibilidad.....	74
Tabla 3.29. Especificaciones del MRC utilizado.....	75
Tabla 3.30. Resultados de análisis de MRC-1 en condiciones de repetibilidad.....	75
Tabla 3.31. Resultados de análisis de MRC-2 en condiciones de reproducibilidad.....	75
Tabla 3.32. Resultado de análisis de muestra contaminada extraída por Microondas.....	77
Tabla 3.33. Resultado de análisis de muestra contaminada extraída por Ultrasonido.....	77
Tabla 3.34. Resultado de análisis de MRC-1 extraído por Microondas.....	77
Tabla 3.35. Resultado de análisis de MRC-1 extraído por Ultrasonido.....	78

LISTA DE FIGURAS

Figura 1.1. Compuestos tóxicos presentes en los hidrocarburos totales de petróleo.....	15
Figura 1.2. Principales ruta de transporte de contaminantes en el ambiente.....	18
Figura 1.3. Equipo microondas marca CEM MARS <i>Xpress</i>	28
Figura 1.4. Esquema de los principales componentes de un equipo microondas.....	29
Figura 1.5. Espectro de infrarrojo típico de una muestra de TPH's.....	34
Figura 2.1. Diagrama de flujo del procedimiento realizado.....	46

LISTA DE ANEXOS

Anexo 1: Espectros infrarrojos de los estándares de calibración en rango bajo (60mg/L-300mg/L) (2750cm^{-1} - 3150cm^{-1}).....	88
Anexo 2: Espectros infrarrojos de los estándares de calibración en rango alto (300 mg/L-1500 mg/L) (2750 cm^{-1} – 3150 cm^{-1}).....	89
Anexo 3: Curva de calibración en rango bajo (60 mg/L-300 mg/L).....	90
Anexo 4: Curva de calibración rango alto (300 mg/L-1500 mg/L).....	91
Anexo 5: Linealidad, curva de calibración del primer día de validación (5 mg/L-1500 mg/L).....	92
Anexo 6: Linealidad, curva de calibración del segundo día de validación (5 mg/L-1500 mg/L).....	93
Anexo 7: Linealidad, curva de calibración del tercer día de validación (5 mg/L-1500 mg/L).....	94
Anexo 8: Linealidad, curva de calibración del cuarto día de validación (5 mg/L-1500 mg/L).....	95
Anexo 9: Límite de detección y cuantificación, espectros infrarrojos de las fortificaciones en los 5 niveles de concentración (2750 cm^{-1} – 3150 cm^{-1}).....	96

Anexo 10: Repetibilidad y reproducibilidad, espectros infrarrojos del primer grupo del triplicado del primer día de reproducibilidad (2750 cm ⁻¹ – 3150 cm ⁻¹).....	97
Anexo 11: Repetibilidad y reproducibilidad, espectros infrarrojos del segundo grupo del triplicado del primer día de reproducibilidad (2750 cm ⁻¹ – 3150 cm ⁻¹).....	98
Anexo 12: Repetibilidad y reproducibilidad, espectros infrarrojos del tercer grupo del triplicado del primer día de reproducibilidad (2750cm ⁻¹ - 3150cm ⁻¹).....	99
Anexo 13: Repetibilidad y reproducibilidad, espectros infrarrojos del primer grupo del triplicado del segundo día de reproducibilidad (2750 cm ⁻¹ – 3150 cm ⁻¹).....	100
Anexo 14: Repetibilidad y reproducibilidad, espectros infrarrojos del segundo grupo del triplicado del segundo día de reproducibilidad (2750 cm ⁻¹ – 3150 cm ⁻¹).....	101
Anexo 15: Repetibilidad y reproducibilidad, espectros infrarrojos del tercer grupo del triplicado del segundo día de reproducibilidad (2750 cm ⁻¹ – 3150 cm ⁻¹).....	102
Anexo 16: Repetibilidad y reproducibilidad, espectros infrarrojos del primer grupo del triplicado del tercer día de reproducibilidad (2750 cm ⁻¹ – 3150 cm ⁻¹).....	103
Anexo 17: Repetibilidad y reproducibilidad, espectros infrarrojos del segundo grupo del triplicado del tercer día de reproducibilidad (2750 cm ⁻¹ – 3150 cm ⁻¹).....	104
Anexo 18: Repetibilidad y reproducibilidad, espectros infrarrojos del tercer grupo del triplicado del tercer día de reproducibilidad (2750 cm ⁻¹ – 3150 cm ⁻¹).....	105
Anexo 19: Exactitud, espectros infrarrojos de los Materiales de Referencia Certificados (2750 cm ⁻¹ – 3150 cm ⁻¹).....	106

Anexo 20: Estándar de Hidrocarburos Totales de Petróleo, Marca: Chemservice, Catálogo: M-TPH4181-10ML, Mezcla GRO-DRO-418, Lote: 410000.....	107
Anexo 21: Blanco de suelo, DataPack™, Catálogo N° 056, Lote N° 56013.....	109
Anexo 22: Material de Referencia Certificado marca ERA, Catálogo 570, Lote D069-632.....	111
Anexo 23: Material de Referencia Certificado marca ERA, Catálogo 570, Lote D071-632.....	113
Anexo 24: Material Safety Data Sheet S-316 (MSDS).....	115

ABREVIATURAS

TPH's: en inglés, Total Petroleum Hydrocarbons, Hidrocarburos Totales de Petróleo.

MAE: en inglés, Microwave-Assisted Extraction, Extracción Asistida por Microondas.

PAH's: en inglés, Polycyclic Aromatic Hydrocarbons, Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos.

ASTDR: en inglés, Agency for Toxic Substances and Disease Registry.

GC: en inglés, Gas Chromatography.

MARS: en inglés, Microwave-Accelerated Reaction System.

PTFE: politetrafluoroetileno.

FTIR: Espectrofotometría de Infrarrojos con Transformadas de Fourier.

FID: en inglés, Flame Ionization Detector.

ASTM: en inglés, American Society for Testing and Materials.

MSDS: en inglés, Material Safety Data Sheet.

MS: en inglés, Mass Spectrometry.

RESUMEN

El presente proyecto propone establecer un método analítico eficiente para la extracción de Hidrocarburos Totales de Petróleo (TPH's) en suelos usando Extracción Asistida por Microondas (MAE) y realizando la detección y cuantificación por Espectrofotometría de Infrarrojos. Este trabajo presenta a la extracción asistida por microondas como una alternativa de extracción confiable, eficiente en cuanto a costo, tiempo, cantidad de análisis realizados y sobretodo como una opción segura para el ambiente y el analista; este artículo recalca la importancia de la etapa de extracción dentro del procedimiento analítico para el análisis posterior de TPH's; para este propósito, se evaluaron las diferentes condiciones de extracción usando un equipo Microondas programable para mejorar la extracción y optimizar la técnica. En el apartado final de esta investigación se presentan los resultados obtenidos para estos objetivos planteados en los cuales se logró establecer las condiciones de extracción para: cantidad de muestra (2 g.), volumen de solvente (10 mL), temperatura de extracción (40 °C), tiempo de extracción (10 minutos) y remoción de interferencias (1 g de sílica gel). Con el fin de satisfacer la necesidad analítica del método, se realizó un estudio de ciertos parámetros de validación que permitieron avalar el procedimiento propuesto; se muestran los datos de linealidad de las curvas de calibración ($R^2 > 0,99$), rango de trabajo (25-7500 mg/kg), límite de detección (25 mg/kg), límite de cuantificación (100 mg/kg), precisión de repetibilidad (C.V. < 10%) y precisión de reproducibilidad (C.V. < 10%) obtenidos durante los días de validación; se realizó un análisis comparativo final de una muestra contaminada y de un material de referencia certificado usando extracción asistida por microondas frente a una

técnica ya establecida, con lo cual se evaluó la aplicabilidad del método. Finalmente se discute las ventajas del método propuesto.

Palabras clave: Extracción Asistida por Microondas, Hidrocarburos Totales de Petróleo, TPH's, Espectrofotometría de Infrarrojos, suelo.

ABSTRACT

This project proposes to establish an efficient analytical method for the extraction of Total Petroleum Hydrocarbons (TPH's) in soils using Microwave-Assisted Extraction (MAE) and performing the detection and quantification by Infrared Spectroscopy. This paper presents the Microwave-Assisted Extraction technology as an alternative extraction process with benefits such as low solvent consumption, lower time of extraction, number of analysis performed, reliable data obtained and safety for the environment and the analyst; this article recalls the importance of the extraction step within the analytical procedure for the analysis of TPH's; for this purpose, different extraction conditions in the microwave-assisted extraction system were evaluated to optimize the analytical technique. The final section of this work presents the results obtained for these objectives and noted the final extraction conditions: amount of sample (2 g), solvent volume (10 mL), extraction temperature (40 ° C), extraction time (10 minutes) and amount of silica to remove interferences (1 g). To satisfy the analytical method requirement, some validation parameters were evaluated enabling the proposed procedure to be executed; the following results are shown: linearity of the calibration curves ($R^2 > 0.99$), working range (25-7500 mg/kg), limit of detection (25 mg/kg), limit of quantification (100 mg/kg), repeatability (C.V. < 10%) and reproducibility precision (C.V. < 10%). Two additional analyses which involved a contaminated soil sample and a certified reference material were performed by microwave-assisted extraction and a conventional technique to make an accuracy comparison. Finally, advantages of the proposed method are discussed.

Key words: Microwave-Assisted Extraction (MAE), TPH, Total Petroleum Hydrocarbons, Infrared Spectroscopy, Soil.

INTRODUCCIÓN

El desarrollo e industrialización de las actividades hidrocarburíferas en el mundo se ha incrementado y expandido con gran intensidad, alcanzando un apogeo comercial y económico realmente notorio desde hace ya varias décadas; la industria hidrocarburífera se ha convertido en la principal fuente de abastecimiento energético y es el motor fundamental en la economía de muchos países.

El creciente desarrollo en la explotación, transporte, manejo y producción de derivados del petróleo han generado un aumento de la contaminación ambiental, provocando que el cuidado y remediación del medio ambiente sea una preocupación latente a nivel mundial. La continua realización de estas actividades representa una inevitable exposición de los hidrocarburos totales de petróleo al medio ambiente; la mayoría de estos compuestos ingresan al ambiente a manera de desechos o liberaciones industriales, accidentes o derrames de petróleo o como subproducto de uso comercial, por lo que se ha requerido llevar un control de la contaminación. Una vez en el ambiente, estos productos representan un peligro para la vida marina, terrestre y son perjudiciales para la salud humana, por lo cual es importante llevar un seguimiento de la contaminación mediante estudios de impacto ambiental y evaluar las áreas afectadas para impulsar las remediaciones pertinentes, tanto en la matriz agua como en la matriz suelo.

Los análisis de hidrocarburos totales de petróleo (TPH's) son usados frecuentemente con el fin de encontrar áreas de contaminación y resulta un indicador medioambiental necesario; la determinación de TPH's provee información acerca del conjunto de compuestos químicos provenientes del petróleo que han sido evaluados por una técnica analítica determinada.

El campo de la química analítica ofrece varias alternativas para la extracción, determinación y cuantificación del conjunto de hidrocarburos de petróleo. En la actualidad se trata de desarrollar, establecer y optimizar procesos analíticos cada vez más eficientes que permitan una detección de este tipo de analitos de una forma rápida, confiable, segura, aminorando los costos e incrementando la eficiencia del número de análisis. Algunos procedimientos convencionales presentan desventajas en cuanto al tratamiento de la muestra, siendo esta etapa generalmente la más larga y aquella que representa la mayor fuente de error dentro de todo el proceso; hoy en día la tendencia de los laboratorios ambientales se ha inclinado a buscar métodos y técnicas alternativas que enfatizen el mejoramiento de esta etapa y ofrezcan resultados analíticos equivalentes y de mejor rendimiento. Es así que para el caso de la determinación de hidrocarburos totales de petróleo existe una necesidad de implementar técnicas de extracción más sofisticadas.

De esta manera, el presente estudio se propone como objetivo principal optimizar y establecer una técnica de extracción de hidrocarburos totales de petróleo en la matriz suelo usando Extracción Asistida por Microondas (MAE) y realizando la detección de los analitos por Espectrofotometría de Infrarrojos con Transformadas de Fourier. La extracción microondas ya

ha sido empleada anteriormente con la finalidad de extraer compuestos de matrices como alimentos, agua contaminada, muestras biológicas, entre otros, además de su uso para la digestión de muestras en el análisis de metales. Las técnicas microondas empezaron a desarrollarse en base a la necesidad de encontrar e implementar métodos más rápidos, seguros, eficientes y relativamente más baratos.

Este trabajo se ha dividido en cuatro capítulos: el Capítulo I corresponde al marco teórico y revisión bibliográfica que respaldan los conceptos y fundamentos científicos sobre los cuales se ha llevado a cabo la presente investigación; el Capítulo II describe la parte experimental del estudio, en el cual se detalla la metodología empleada, materiales, equipos y procedimiento realizado para cumplir el objetivo propuesto; el Capítulos III expone los resultados obtenidos de la optimización del método de extracción y de los ensayos de aptitud del método para la validación del mismo; finalmente en el Capítulo IV se presentan las conclusiones de la investigación basadas en los hallazgos experimentales y se realizan las recomendaciones adecuadas para estudios posteriores, nuevos o complementarios.

CAPÍTULO I

MARCO TEÓRICO

1.1. HIDROCARBUROS TOTALES DE PETRÓLEO

1.1.1. DEFINICIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE LOS TPH'S

Los hidrocarburos totales de petróleo (o TPH's por sus siglas en inglés: total petroleum hydrocarbons) son un amplio grupo de compuestos químicos originados del petróleo crudo, cuya estructura está compuesta principalmente por carbono e hidrógeno; también pueden contener otros elementos en menor proporción como oxígeno, nitrógeno, azufre, fósforo, halógenos, entre otros. Su composición exacta puede variar de acuerdo al tipo de petróleo y al origen del mismo. [1]

Debido a esta variedad de compuestos químicos presentes en el petróleo, se lo ha dividido en grupos o fracciones de hidrocarburos de petróleo que se comportan de manera similar en matrices como el suelo o el agua; se pueden encontrar fracciones livianas que pueden ser gases o líquidos poco viscosos, ligeramente coloreados y altamente volátiles; mientras que fracciones más pesadas componen otros líquidos más viscosos o semi sólidos no volátiles. [2]

Los tres grandes grupos de hidrocarburos presentes en el petróleo son los hidrocarburos saturados, hidrocarburos insaturados y los hidrocarburos aromáticos. Los hidrocarburos saturados son el principal tipo de compuestos encontrados en el petróleo e incluyen los compuestos alifáticos saturados de cadena abierta o alcanos (también conocidos como parafinas o hidrocarburos parafínicos) y los compuestos alicíclicos o cicloalcanos (también llamados cicloparafinas o naftenos); los alcanos se caracterizan por ser átomos de carbono unidos entre sí para formar cadenas abiertas y son saturados en el sentido de que el máximo número de átomos de hidrógeno están combinados con un número dado de átomos de carbono tetravalentes; en los hidrocarburos alicíclicos, los átomos de carbono están unidos entre sí de tal manera que forman anillos. Dentro de los hidrocarburos insaturados se encuentran los alquenos (también llamados olefinas o hidrocarburos olefínicos) formados por enlaces dobles entre carbonos y los alquinos (conocidos también como acetilenos) formados por triples enlaces entre carbonos. Los compuestos aromáticos son un tipo especial de hidrocarburos insaturados, derivados de la estructura del anillo del Benceno conformada por 6 carbonos y 6 hidrógenos; uno o más hidrógenos pueden ser reemplazados por radicales alquilo, formando alquil bencenos como el tolueno o los xilenos; además pueden existir dos o más anillos aromáticos unidos, a los cuales se los conoce como hidrocarburos aromáticos policíclicos (o PAH's por sus siglas en inglés: polycyclic aromatic hydrocarbons) y son contaminantes ambientales comunes en sitios en los cuales han ocurrido derrames de petróleo y representan un peligro potencial para la salud humana. [3][4][5]

La Tabla 1.1 muestra la composición de las fracciones químicas que contiene el petróleo.

Tabla 1.1. Composición básica de las fracciones del petróleo

Fracción	Composición	Ejemplo
Hidrocarburos saturados	n-alcanos, alcanos de cadena ramificada, cicloalcanos o naftenos	Heptano, ciclohexano
Hidrocarburos insaturados	Alquenos u olefinas y alquinos o acetilenos.	Etileno, acetileno
Hidrocarburos aromáticos	Hidrocarburos monoaromáticos y aromáticos policíclicos (HAP's)	Benceno, naftaleno
Otros compuestos	Compuestos orgánicos que contienen azufre, nitrógeno y oxígeno que no se consideran hidrocarburos, compuestos organometálicos, sales inorgánicas, asfaltenos	Furano, tiofeno, pirrol

Anualmente en el mundo se producen millones de toneladas de petróleo crudo; alrededor del 10% de los productos finales derivados del petróleo contaminan ambientes marinos y terrestres debido a la producción, transporte y uso de los cientos de productos que se obtienen de éste. [6] Esta contaminación causada por los productos del petróleo puede contener una amplia variedad de hidrocarburos, por lo que no es usual ni práctico medir individualmente la contaminación causada por cada uno de estos compuestos; sin embargo la medición de la cantidad total de hidrocarburos de petróleo en conjunto resulta un indicador de contaminación ambiental más apropiado. [2]

Los TPH's están definidos como la cantidad medible de hidrocarburos a base de petróleo en una matriz ambiental; de manera general, los hidrocarburos totales de petróleo están divididos en dos grandes grupos, los hidrocarburos alifáticos y los hidrocarburos aromáticos. El valor de

TPH representa una mezcla de todos estos compuestos en la muestra; es equivalente a la suma de hidrocarburos alifáticos desde un número de carbonos C₉ hasta C₃₆ e hidrocarburos aromáticos desde C₁₁ hasta C₂₂. [7] El término TPH es usado para referirse al estudio de dichos hidrocarburos en muestras ambientales. Según la ATSDR (Agency for Toxic Substances and Disease Registry por sus siglas en inglés) establece que cuando se trata de la determinación y cuantificación de TPH's, la definición de hidrocarburos totales de petróleo está relacionada con el método analítico usado para la determinación, ya que la medida de TPH's es la concentración total de hidrocarburos extraídos y medidos por un método analítico específico. [8]

Para dar una definición generalizada, se puede establecer que los hidrocarburos totales de petróleo son un grupo extenso y complejo de compuestos provenientes del petróleo, que son examinados y medidos globalmente y se los entiende como una mezcla total de sus constituyentes, medidos por un método analítico específico, cuyo resultado puede ser usado como un indicador de contaminación.

1.2. PROPIEDADES FÍSICAS, QUÍMICAS Y TOXICOLÓGICAS

1.2.1. PROPIEDADES FÍSICAS Y QUÍMICAS

Como se ha mencionado anteriormente, el petróleo es una mezcla compleja de cientos de hidrocarburos que abarca desde compuestos ligeros, volátiles, de cadenas cortas hasta

compuestos pesados, de cadenas largas, complejos y ramificados por lo que su comportamiento fisicoquímico en matrices como agua y suelo puede ser variable. La división de estos compuestos en fracciones facilita el estudio de sus propiedades; estas fracciones son separadas de manera general mediante procesos de refinación del petróleo crudo, agrupándolas en fracciones de puntos de ebullición cercanos para producir derivados comercializables. [2] La Tabla 1.2 muestra otro tipo de clasificación de fracciones de petróleo obtenidas por procesos de destilación basándose en su punto de ebullición.

Tabla 1.2. Principales fracciones comercializables obtenidas por destilación del petróleo[1]

Fracción	Tª ebullición (°C)	Composición aproximada	Usos
Gasolina ligera	20-100	C ₅ H ₁₂ -C ₇ H ₁₆	Disolvente
Bencina	70-90	C ₆ -C ₇	Limpieza en seco
Ligroína	80-120	C ₆ -C ₈	Disolvente
Gasolina	20-180	C ₆ -C ₁₁	Carburante de motores
Queroseno, Jet fuel	200-300	C ₁₂ -C ₁₆	Alumbrado y carburante
Gasoil. Diesel	200-350	C ₁₃ -C ₁₈	Carburante de motores
Aceite lubricante	200-350	C ₁₆ -C ₂₀	Lubricantes
Grasas, vaselinas	250-400	C ₁₈ -C ₂₂	Farmacéutica
Cera de parafina	245-540	C ₂₀ -C ₄₅	Velas
Betum asfáltico (35% peso)	> 540	C ₃₀ -C ₄₅	Alquitrán asfáltico coque de petróleo

La gran diversidad de compuestos que abarcan los TPH's, les otorga características diferentes que pueden variar entre cada fracción; propiedades como el peso molecular, el punto de ebullición, la presión de vapor, la volatilidad, la solubilidad (en agua), la densidad, la polaridad, entre otros, son características importantes tomadas en cuenta en el estudio de la influencia de los contaminantes, su distribución, persistencia y conducta sobre el ambiente y sobre sistemas biológicos en las diferentes matrices ambientales. [9] A continuación se describen las principales:

La solubilidad es una característica importante que influye en la migración de los constituyentes del petróleo hacia suelos, aguas superficiales y subterráneas; es decir, los compuestos muy solubles en agua no son adsorbidos o retenidos en un suelo contaminado, facilitando el rápido transporte de los contaminantes hacia cuerpos de agua; mientras mayor sea el valor de solubilidad, mayor será la tendencia de un constituyente a disolverse en agua. [1][10]. Esta propiedad a su vez está íntimamente relacionada con la polaridad de las sustancias; la polaridad representa la desigualdad de las cargas entre átomos de una molécula, dependiendo del tipo de átomo, de su electronegatividad y del tipo de enlace. Para el caso de los hidrocarburos, por su estructura molecular principal carbono-hidrógeno, la diferencia de electronegatividad es muy baja, lo que no favorece la presencia de cargas relativamente fuertes entre sus átomos; así, los hidrocarburos de petróleo son considerados de manera global como compuestos no polares. [11]

La volatilidad y la presión de vapor son características que están relacionadas mediante la constante de la ley de Henry; la volatilidad es el proceso por el cual los contaminantes químicos pasan de una fase líquida o sólida a una fase gaseosa y afecta la movilidad y la persistencia de los componentes orgánicos y algunos componentes inorgánicos; el valor de la constante de Henry es un indicador de la tendencia que tiene un compuesto químico para volatilizarse y pasar de una fase líquida a un estado gaseoso y depende intrínsecamente de la presión de vapor y la solubilidad del compuesto. [1][10]

1.2.2. PROPIEDADES TOXICOLÓGICAS

Tanto la variabilidad de compuestos presentes en el petróleo como los productos derivados de él, dificulta la caracterización del perfil toxicológico de los hidrocarburos totales de petróleo. Sin embargo se puede hacer un acercamiento a sus potenciales implicaciones para la salud y el medio ambiente de acuerdo al estudio de ciertos componentes del petróleo.

La ATSDR ha considerado varios puntos de vista en cuanto a la toxicidad de los hidrocarburos de petróleo y ha difundido diferentes estudios de evaluación de toxicidad enfocados en los riesgos y efectos en la salud, principalmente de aquellos compuestos considerados sustancias tóxicas y posiblemente carcinogénicas; algunos de estos compuestos tóxicos incluyen el benceno, benzo(a)pireno, benzo(a)antraceno, indeno (1,2,3-cd) pireno, dibenzo (a, h) antraceno, criseno, benzo (b) fluoranteno y benzo (k) fluoranteno, entre otros. [2]

En la Figura 1.1 se puede apreciar algunos ejemplos de los compuestos considerados peligrosos para la salud y que involucran un alto riesgo potencial para contraer cáncer si la exposición es prolongada.

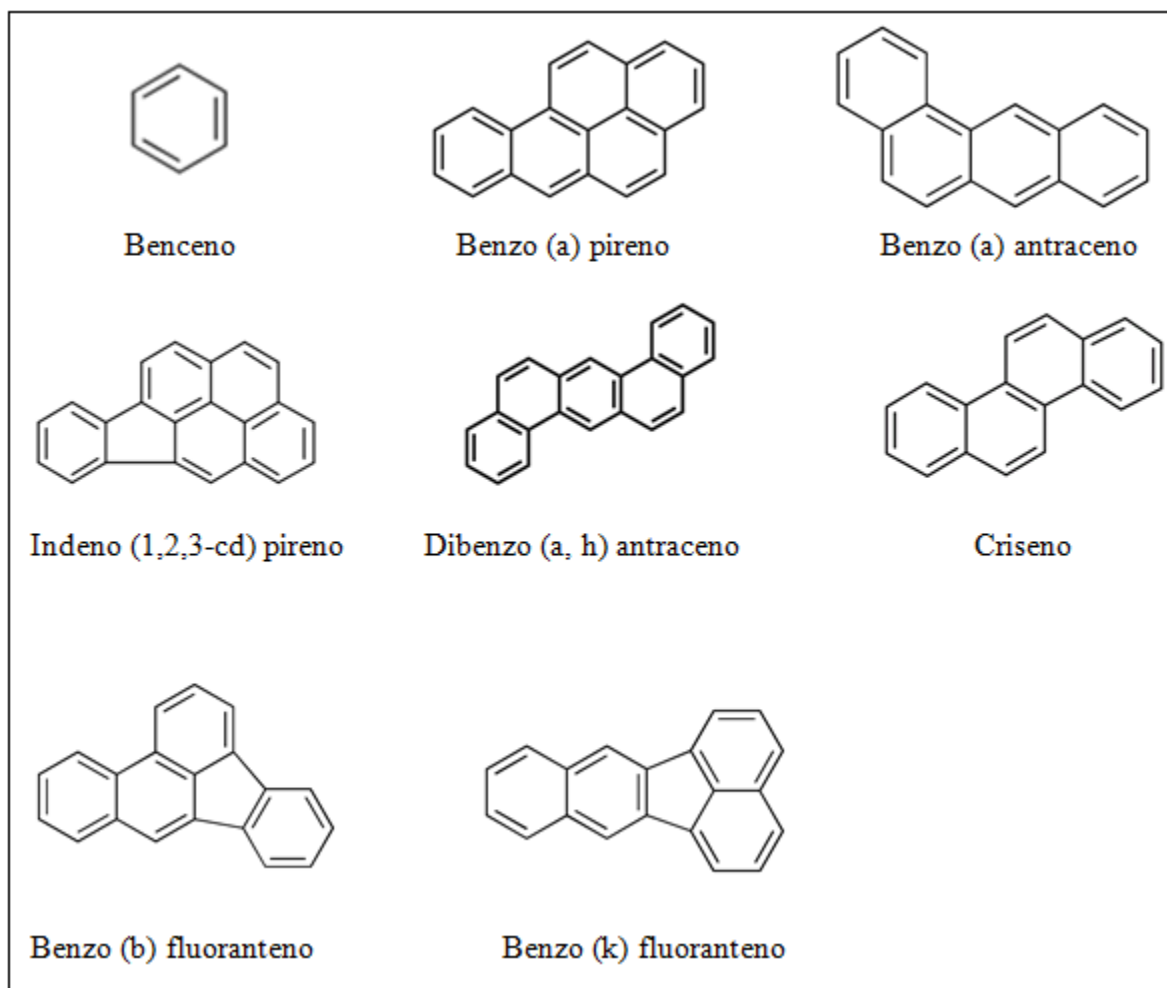


Figura 1.1. Compuestos tóxicos presentes en los hidrocarburos totales de petróleo

1.3. RIESGOS PARA LA SALUD Y EL MEDIO AMBIENTE

Los TPH's pueden ingresar al ambiente por varias razones: actividades hidrocarburíferas, liberaciones industriales, accidentes o derrames de petróleo o como subproducto de uso comercial o privado, que pueden causar un alto impacto ambiental, por lo cual es necesario llevar un control de la contaminación causada por TPH's. El principal uso de los hidrocarburos es como combustibles para generación de energía y también como lubricantes para la industria y el transporte; un alto porcentaje de contaminación es producido desde los procesos de extracción, refinación, transporte y almacenamiento de estas sustancias.

Cuando se ha producido descargas o derrames de hidrocarburos, las matrices ambientales pueden verse severamente afectadas a corto, mediano o largo plazo y pueden significar un alto impacto ambiental para la flora y fauna acuática o terrestre, debido a las características y persistencia de los compuestos contenidos en el petróleo.

Una vez que los contaminantes han entrado en el ambiente, pueden ser variadas las fuentes de exposición a los TPH's, ya sea respirando el aire de las gasolineras, utilizando productos químicos en el hogar, consumiendo agua contaminada por TPH's, viviendo o trabajando en un área cercana a un derrame o escape de TPH's en un suelo o en ocupaciones que usan productos derivados del petróleo; si la exposición es permanente o prolongada, pueden producirse daños al sistema nervioso, en los pulmones, en los ojos, alteraciones en la sangre y

al sistema inmunológico; también se han efectuado estudios en animales que han demostrado presentar daño hepático, renal y alteraciones fetales por la exposición a ciertos compuestos.

[1][2]

La intención del presente proyecto no es proveer una extensa información sobre las afecciones de los hidrocarburos de petróleo a la salud; sin embargo se recomienda seguir la información de los perfiles toxicológicos y las recomendaciones difundidas por las diferentes organizaciones internacionales dedicadas a este fin.

1.4. HIDROCARBUROS DE PETRÓLEO EN SUELOS

Los derrames o descargas de hidrocarburos de petróleo debido a la explotación, transporte y manejo de los desechos, es una de las principales razones para la presencia de estos contaminantes en la matriz suelo, aun cuando esta presencia puede ser atribuida al transporte atmosférico de los contaminantes por aportes de la combustión. [9] Cuando los hidrocarburos han ingresado en el ambiente, su comportamiento está determinado por las características y propiedades fisicoquímicas de los contaminantes y de la matriz ambiental; todos los procesos físicos, químicos o biológicos que se produzcan por la interacción de los contaminantes con el suelo, pueden determinar el nivel de daño o impacto ambiental, con lo cual se debe tomar medidas remediadoras para disminuir los efectos dañinos sobre el ambiente. [1] Es por estas razones que resulta importante el estudio de la presencia de los hidrocarburos de petróleo, sea

por las repercusiones en el ambiente o en la salud de las personas expuestas a este tipo de contaminación.

Cuando los contaminantes se encuentran interactuando en el ambiente, debido a las propiedades físicas y químicas de la matriz y del contaminante, es realmente importante considerar el alcance que pueden llegar a tener los contaminantes cuando se transportan en el ambiente por diferentes medios; este transporte de los contaminantes se puede producir por movimientos de masas gaseosas, líquidas y partículas sólidas provocadas por corrientes de aire, flujos de agua superficial o subterránea, lixiviación de contaminantes a través del suelo, entre otras; además pueden darse transformaciones físicas, químicas o biológicas que contribuyen al transporte de los contaminantes. Al tratarse de la matriz suelo, es importante tomar en cuenta características como su composición, porosidad y permeabilidad, que influyen en la distribución de los contaminantes dentro de la matriz. La Figura 1.2 muestra de manera simplificada las rutas de transporte de los contaminantes.

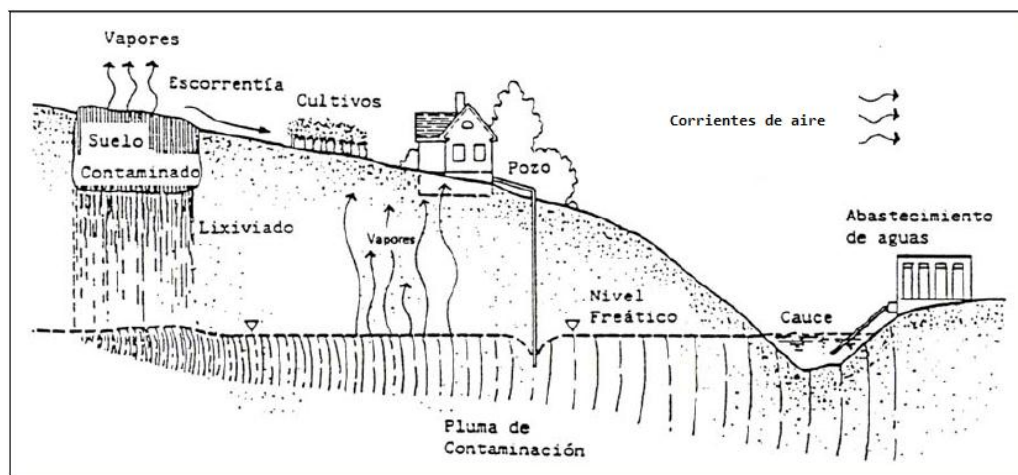


Figura 1.2. Principales ruta de transporte de contaminantes en el ambiente [1]

1.5. LEGISLACIÓN AMBIENTAL ECUATORIANA

La legislación ambiental establece un extenso perfil de disposiciones y criterios de control de la contaminación ambiental, de acuerdo al Reglamento Ambiental de Actividades Hidrocarburíferas, Decreto Ejecutivo 1215, Registro Oficial 265 del 13 de febrero del 2001. Este reglamento expone de manera clara y a profundidad su intención de la prevención de la contaminación ambiental basado en el control de procesos de producción y buenas prácticas de manejo dentro de la mayoría de actividades hidrocarburíferas.

El reglamento, en el Capítulo XII de su documento, establece los límites permisibles para los distintos tipos de contaminación ambiental, que constituyen una referencia para el monitoreo ambiental y la base para la implementación de proyectos de remediación. [12]

En el Anexo 2, Tabla N° 6 del reglamento, se encuentran tabulados los límites permisibles de hidrocarburos totales de acuerdo al uso de suelo. La Tabla 1.3 presenta el extracto de los límites permisibles expuestos en el decreto.

Tabla 1.3. Límites permisibles para la identificación y remediación de suelos contaminados en todas las fases de la industria hidrocarburífera, incluidas las estaciones de servicios [12]

Parámetro	Expresado en	Unidad	Uso agrícola	Uso industrial	Ecosistemas sensibles
Hidrocarburos totales	TPH	mg/kg	<2500	<4000	<1000
Hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAPs)	HAP	mg/kg	<2	<5	<1
Cadmio	Cd	mg/kg	<2	<10	<1
Níquel	Ni	mg/kg	<50	<100	<40
Plomo	Pb	mg/kg	<100	<500	<80

1.6. ANÁLISIS QUÍMICO DE TPH'S

1.6.1. BREVE DESCRIPCIÓN DE LOS MÉTODOS DE EXTRACCIÓN

En el ámbito analítico existen varios métodos que permiten la extracción y cuantificación de los TPH's en diferentes matrices. La información y los valores de TPH's obtenidos pueden variar dependiendo del método analítico empleado, lo que dificulta en parte la interpretación de los análisis de este tipo debido a la gran variedad de alcances en los diferentes métodos. [2]

También es importante considerar las ventajas y desventajas de cada método; ciertas técnicas de extracción pueden presentar deficiencias que podrían influir en los resultados y perjudicar al ambiente y al analista si no son empleadas adecuadamente, además de representar altos tiempos de análisis. Actualmente, los laboratorios ambientales buscan métodos y técnicas alternativas poniendo especial énfasis en mejorar el tiempo y eficiencia de los análisis, disminuir la cantidad de solvente empleado, aminorar la producción de desechos y exposición de éstos por parte del personal de laboratorio y del medio ambiente. [13][14]

A continuación se resumen algunas de las principales técnicas de extracción empleadas para el estudio de hidrocarburos totales de petróleo en suelos: purga y trampa (componentes volátiles), técnica espacio-cabeza (componentes volátiles), Soxhlet, agitación por ultrasonido, extracción por agitación-centrifugación, extracción con fluidos supercríticos y extracción con energía microondas (objeto de estudio en el presente proyecto).

La técnica de purga y trampa es realizada usualmente mediante agitación del suelo con metanol, una porción del extracto de metanol se coloca en un recipiente de purga y se diluye en agua de grado reactivo. La técnica de espacio cabeza también funciona bien para componentes volátiles en suelos, en donde la muestra es colocada en un vial y calentada usando sales para una mejor distribución de los analitos desde la muestra hacia el espacio vacío del contenedor de la muestra; los componentes volatilizados son recogidos mediante una jeringa y analizados posteriormente; son técnicas de extracción usadas generalmente cuando la cuantificación es realizada mediante Cromatografía de Gases (GC). La extracción para

compuestos volátiles suele ser relativamente rápida y barata, pero presentan la desventaja de regirse solo a compuestos volátiles. [15]

La extracción Soxhlet es una de las técnicas más eficientes en cuanto a la extracción de compuestos orgánicos semivolátiles y no volátiles en sólidos; la técnica se basa en el calentamiento y reflujo continuo del solvente de extracción a través de la muestra durante un tiempo prolongado. Sin embargo, este método presenta enormes desventajas: utilización de grandes cantidades de solvente, el tiempo de extracción puede extenderse de 8 a 24 horas, el número de muestras a analizarse simultáneamente es reducido debido al equipo necesario para la extracción y la técnica está dirigida apropiadamente para compuestos semivolátiles puesto que en ocasiones es necesario concentrar el extracto mediante calentamiento. [15][6]

La extracción por agitación- centrifugación es una de las técnicas más simples para la extracción de hidrocarburos no volátiles y semivolátiles de muestras de suelos; para esto se utiliza un matraz que contiene la muestra y el solvente y es agitada vigorosamente en extracciones sucesivas para ser separados finalmente mediante centrifugación. Sin embargo la eficiencia de la extracción puede variar dependiendo del tipo de suelo. [15][6]

Los fluidos supercríticos también son empleados para este tipo de extracciones; se requiere calentar y presurizar una fase móvil hasta su punto supercrítico, la cual pasa a través de la muestra recuperando los analitos de interés que son concentrados en un sorbente o atrapados

criogénicamente; los analitos son eluidos con un solvente y posteriormente analizados. La desventaja principal de este método son los elevados costos de operación. [15]

La extracción usando ultrasonido es aplicable y bastante eficiente para analitos semivolátiles; la técnica usa ondas sónicas que provocan vibraciones moleculares y ofrece un contacto íntimo entre la muestra de suelo y el solvente en extracciones sucesivas. [11] Una de las pocas desventajas de este método es el tiempo de extracción y la posible pérdida de fracciones livianas durante el calentamiento en el baño ultrasónico.

1.6.2. EXTRACCIÓN USANDO ENERGÍA MICROONDAS

El presente proyecto propone establecer un método eficiente de extracción de hidrocarburos totales de petróleo en suelos usando extracción asistida por microondas, que permita utilizar menor cantidad de solventes, menor tiempo de análisis, disminuir el riesgo para el ambiente y el analista y que proporcione resultados confiables.

La extracción microondas ha sido usada por muchos años para extraer compuestos de diferentes matrices: muestras biológicas, alimentos, agua contaminada y muchos otros tipos de muestras. La energía microondas ha sido empleada y desarrollada en los últimos años para la extracción de compuestos orgánicos a partir de matrices ambientales, además de su uso para la digestión de muestras para el análisis de metales. Las técnicas microondas empezaron a

desarrollarse en base a la necesidad de encontrar e implementar métodos más rápidos, seguros, eficientes y relativamente más baratos. [16]

1.6.2.1. ESTUDIOS PREVIOS

En 1947 fue introducido el uso de hornos microondas en la industria de los alimentos por primera vez, pero fue en 1975 cuando ocurrió su primera aparición en laboratorios químicos; en primera instancia se usó las microondas para las digestiones ácidas en condiciones atmosféricas que ayudaron a reducir significativamente el tiempo en la etapa de tratamiento de la muestra, de aproximadamente 2 horas a 15 minutos de digestión; a partir de entonces, se propusieron y promovieron aplicaciones como: destilaciones, hidrólisis ácido y base, síntesis de compuestos orgánicos e inorgánicos y extracciones con solventes. [17]

Ganzler y sus colaboradores publicaron en 1986 los resultados de sus primeros estudios referentes al uso de la energía microondas para la partición de varios compuestos de matrices como suelos, semillas y alimentos. Sus estudios comprendieron comparaciones en la eficiencia de extracción frente a la técnica Soxhlet tradicional, obteniendo recuperaciones superiores en tiempos mucho menores; concluyeron sus estudios postulando que la mejorada eficiencia obtenida usando microondas se debía a la naturaleza polar de los compuestos extraídos o al agua contenida en ellos y notaron una disminución de la eficacia de extracción de compuestos no polares usando disolventes apolares. [16][17]

En 1990, Freitag y John realizaron estudios similares en los que verificaron la eficiencia de extracción de aditivos a partir de poliolefinas usando calentamiento con microondas a elevada temperatura y presión comparada con la extracción Soxhlet, obteniendo resultados favorables en la extracción con microondas. [17]

En el área farmacéutica, Bichi y sus asistentes publicaron trabajos en 1992 en los cuales probaron la extracción asistida por microondas usando viales cerrados y manteniendo un control de retroalimentación de temperatura; concluyeron que el uso de esta tecnología proveía resultados cualitativa y cuantitativamente idénticos en relación a la extracción Soxhlet, pero con una reducción excepcional en tiempos de análisis y en consumo de solventes, demostrando además que el control de retroalimentación de temperatura producía resultados altamente reproducibles. [17]

Años después, no tardó en realizarse estudios de extracción de contaminantes a partir de muestras ambientales; en 1994 Lopez-Avila y colaboradores experimentaron el uso de la extracción asistida por microondas para compuestos orgánicos volátiles y semivolátiles de la matriz suelo; sus resultados aprobaron la viabilidad de la técnica usando bajas cantidades de solvente y en tiempos de tan solo 10 minutos. [18]

1.6.2.2. PRINCIPIO DEL CALENTAMIENTO USANDO ENERGÍA MICROONDAS

Las microondas son un tipo de radiación electromagnética compuesta por 2 campos perpendiculares oscilantes: un campo eléctrico y un campo magnético. Las microondas son usadas como portadores de información y como vectores de energía, que es la razón por la cual las ondas ejercen una acción directa sobre el material que es capaz de absorber una parte de energía electromagnética y transformarla en el calor.

Las microondas comprenden un rango de frecuencia entre 300 MHz y 300 GHz y una longitud de onda entre 1m y 1 mm. Para propósitos industriales y científicos, la frecuencia utilizada comúnmente es de 2450 MHz que corresponde a una longitud de onda de 12.2 cm y una energía de 0.94 J/mol que alcanza para provocar rotación de las moléculas. El componente eléctrico de las ondas cambia 4.9×10^9 veces por segundo provocando un movimiento desorganizado de las moléculas afectadas por este tipo de radiación electromagnética. [16][19]

Para facilitar el entendimiento del fenómeno que se produce durante la aplicación de energía microondas, es indispensable comprender las características generales del disolvente que absorberá este tipo de radiación. Las dos constantes físicas a tomar en cuenta son la constante dieléctrica de un disolvente y el momento dipolar de las moléculas del mismo; estas dos constantes se emplean con frecuencia para caracterizar la polaridad de una sustancia, aunque el momento dipolar no necesariamente representa su polaridad. Para referirse a que una

molécula es polar, se dice que tiene un elevado momento dipolar; sin embargo, cuando se dice que un disolvente es polar, significa que tiene una elevada constante dieléctrica. [20]

Durante el proceso de extracción, sucede una alineación de moléculas dipolares de la mezcla solvente-muestra debido a la exposición al componente eléctrico de las microondas, lo que produce migración de iones y rotación de moléculas con momentos dipolares generando consecuentemente energía en forma de calor. La transformación de energía electromagnética a energía calorífica producida por la migración de iones se debe a la resistencia del medio al flujo del ion; esto a su vez provoca colisiones moleculares debido al cambio de dirección de los iones tantas veces como cambia el campo eléctrico de las microondas. De igual manera la rotación de moléculas con momentos dipolares produce múltiples choques intermoleculares y por tanto una liberación de energía, incrementando la temperatura. [16][19]

De manera general, aquellos compuestos con constantes dieléctricas altas (compuestos polares) absorben adecuadamente la energía microondas; las sustancias poco polares o compuestos que no poseen momento dipolar absorben pobremente la energía microondas, pero al tratarse de moléculas que sí tienen momentos dipolares constantes, la energía microondas será correctamente absorbida y transformada en calor. [20]

1.6.2.3. DESCRIPCIÓN DEL EQUIPO MICROONDAS

Como se explicó en el apartado anterior, el sistema de Extracción Asistida por Microondas (MAE, Microwave Assisted Extraction por sus siglas en inglés) utiliza energía microondas para calentar la mezcla de muestra-solvente, en un vial cerrado y en condiciones de extracción controladas para obtener una distribución de los analitos de interés desde la muestra hacia el solvente.

La mayoría de los equipos microondas disponibles en la actualidad son desarrollados por el principal fabricante de instrumentos microondas CEM Corporation, que ofrece modelos “MARS” (Microwave-Accelerated Reaction System) dependiendo del requerimiento analítico.

(Figura 1.3.)



Figura 1.3. Equipo microondas marca CEM MARS *Xpress*

El diseño instrumental está basado en este tipo de modelos y están compuestos esencialmente de los siguientes componentes: un generador de microondas o magnetrón, una cavidad interior (horno), un aislador, un ventilador de escape, un tubo hueco para ventilar gases, un disco giratorio dentro del horno y un minicomputador programable con monitor. Se adjuntan como accesorios el carrusel porta viales con estuches de kevlar a prueba de explosiones, los viales de teflón para contener la mezcla muestra-solvente, pastillas de calentamiento de Carboflón, un sensor de solventes, un sensor de temperatura y un sensor de presión. [21] (Figura 1.4.)

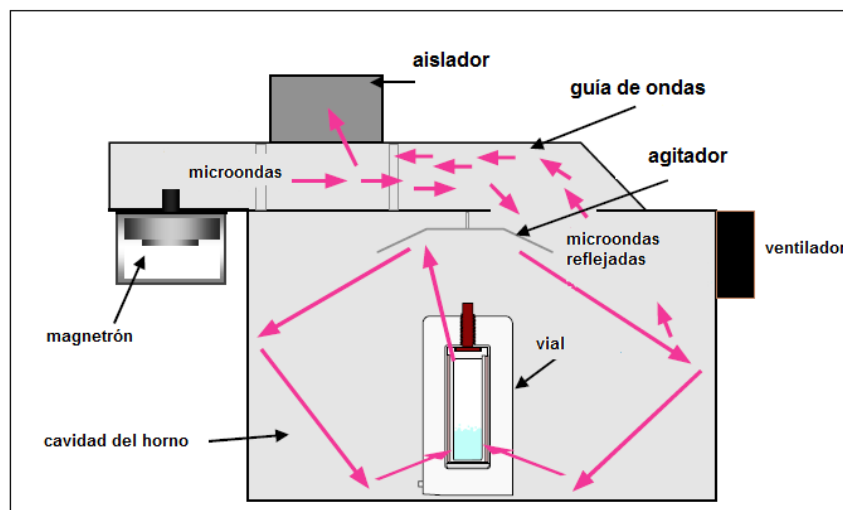


Figura 1.4. Esquema de los principales componentes de un equipo microondas [19]

El funcionamiento comienza cuando la energía de microondas se genera en el magnetrón y las ondas se propagan hacia el interior de la cavidad del horno. El modo agitador distribuye la energía microondas en varias direcciones dentro de la cavidad que retiene esta energía hasta

ser absorbida por la mezcla muestra-solvente. El aislador protege el magnetrón de la energía no absorbida por la carga de la mezcla muestra-solvente, que podría ser reflejada nuevamente hacia el magnetrón y podría provocar daños. El disco giratorio dentro de la cavidad del equipo ayuda a girar los viales que contienen a la muestra y al solvente, asegurando una distribución uniforme de la energía. [17][20]

Debido al desarrollo de utilización de técnicas de extracción empleando solventes orgánicos, muchos de ellos inflamables, la tecnología de equipos microondas está diseñada para detectar posibles fuentes de ignición y para detectar fugas de solventes, por lo que está provista de las características necesarias para resguardar la seguridad en el laboratorio. Estas características abarcan al ventilador de escape y al tubo hueco para ventilar gases; este ventilador es capaz de evacuar hacia el exterior un volumen de aire determinado dentro de la cavidad en periodos constantes de tiempo; además el sistema está diseñado para detener y bloquear el equipo en caso de existir una falla del ventilador y así evitar posibles accidentes. También dispone del sensor de solventes que monitorea la concentración del solvente dentro de la cavidad del microondas; en caso de sobrepasar un límite de concentración establecido, el sistema se detiene automáticamente, activando una alarma y un mensaje en el monitor del equipo. [19]

Los viales de teflón (PTFE, politetrafluoroetileno) para contener la mezcla muestra-solvente están diseñados para resistir temperaturas de hasta 200 °C y 200 psi de presión; este material es inerte a los solventes y absorbe una cantidad de energía microondas casi nula.

Para el desarrollo de este proyecto es preciso resaltar la importancia del uso de las pastillas de carboflón para el calentamiento durante la extracción; estos insertos carboflón consisten en un fluoropolímero químicamente inerte llenado con carbón negro que actúa como un fuerte absorbente de energía microondas, suministrando un calentamiento suplementario cuando se emplean solventes apolares o de muy baja polaridad. Estas pastillas son colocadas dentro de los viales durante la extracción para captar la energía microondas y transferirla al solvente apolar, facilitando la distribución de los analitos desde la muestra hacia el solvente. [19]

1.6.3. BREVE DESCRIPCIÓN DE LOS MÉTODOS DE CUANTIFICACIÓN

La determinación de los TPH's, como una mezcla total de todos sus componentes, se realiza principalmente mediante Espectrofotometría de Infrarrojos (FTIR) y método gravimétrico. La Cromatografía de Gases con detector de ionización de llama (GC/FID) es otro método muy empleado, pero es considerado como método de separación para estudiar y cuantificar los componentes de los hidrocarburos de petróleo en forma individual.

1.6.3.1. CROMATOGRAFÍA DE GASES

Una de las técnicas alternativas para el análisis de hidrocarburos es la cromatografía de gases con detector de ionización de llama, es posible identificar y medir cuantitativamente los componentes de una muestra de hidrocarburos totales de petróleo.

Una vez realizada la extracción y el tratamiento de la muestra, ésta ingresa al cromatógrafo de gases donde requiere estar en fase de vapor, por lo cual es calentada en el inyector hasta una temperatura que alcance el punto de ebullición de los compuestos. La muestra es separada en sus componentes individuales al atravesar la columna cromatográfica arrastrada por un gas portador; esta separación ocurre gracias a una combinación de características de los componentes como el punto de ebullición, el peso molecular, la polaridad y la afinidad de los componentes con el material de la columna. El tiempo que tarda el compuesto en recorrer la columna hacia el detector bajo condiciones cromatográficas de ensayo y tipo de columna específicas se llama tiempo de retención, que es característico y reproducible para cada compuesto. El detector comúnmente usado para la determinación de TPH's es el detector de ionización de llama (FID, Flame Ionization Detector por sus siglas en inglés), el cual responde a todos los compuestos susceptibles a quemarse y expresa la respuesta emitida en un cromatograma para su identificación y cuantificación. [6][15]

La técnica de GC/FID tiene la ventaja de analizar una amplia gama de compuestos del petróleo, sin embargo se limita a compuestos no polares que contengan cadenas a partir de los 6 átomos de carbono. También puede presentar inconvenientes con ciertos compuestos que contengan nitrógeno, oxígeno y azufre ya que pueden dañar la columna cromatográfica. [6][15]

Cabe recalcar que esta técnica de cuantificación resulta más útil cuando se requiere analizar componentes puntuales e individuales del grupo de hidrocarburos. En el presente trabajo de investigación se pretende evaluar y proveer una medida de los hidrocarburos totales de petróleo como un indicador primario de contaminación. De requerirse un estudio de impacto o remediación ambiental más específico en cuanto a las unidades o compuestos contaminantes, la cromatografía de gases resulta una técnica secundaria para el estudio a profundidad de los mismos.

1.6.3.2. ESPECTROFOTOMETRÍA DE INFRARROJOS

El fundamento de la espectrofotometría de infrarrojos es la medición de las vibraciones moleculares que ocurren en las moléculas cuando absorben energía en forma de calor en la región infrarroja del espectro electromagnético, según el grupo funcional y tipo de enlace que presente la molécula; la técnica de infrarrojos para TPH's mide la absorbancia de la suma de todos los compuestos medibles en la región infrarroja que contribuye al resultado total de TPH's; para este caso mide la absorbancia producida por las vibraciones de los enlace C-H de los hidrocarburos medidos en un rango de longitud de onda de 3250 a 2750 cm^{-1} . [15] La huella característica de los TPH's en un espectro de infrarrojos produce 3 picos en 2956, 2926 y 2855 cm^{-1} . (Figura 1.5) [6]

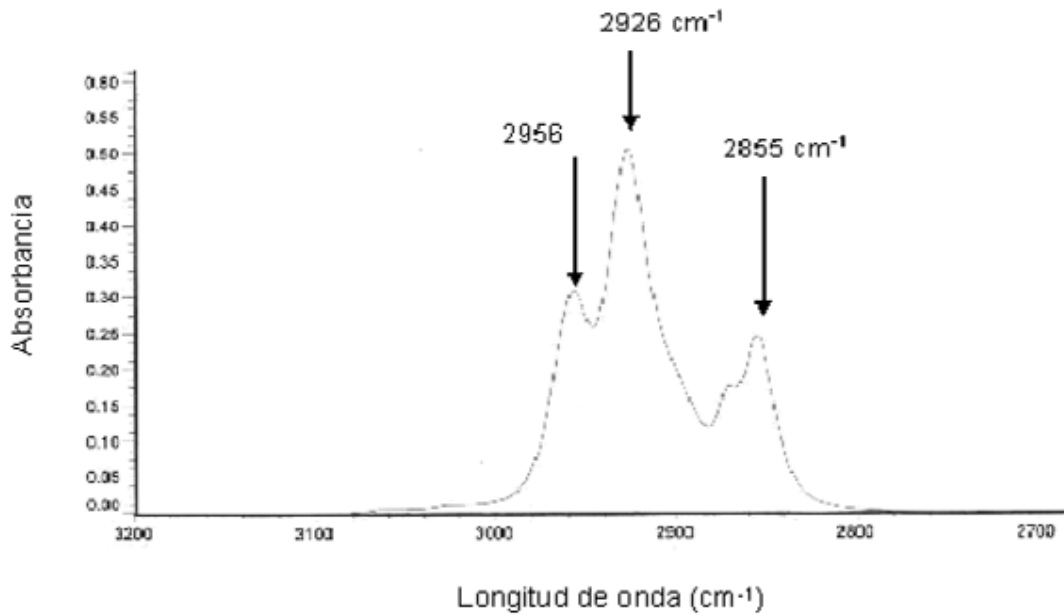


Figura 1.5. Espectro de infrarrojo típico de una muestra de TPH's [6]

Para todos los métodos de análisis de hidrocarburos totales de petróleo por infrarrojos, la absorbancia es cuantificada comparándola con la absorbancia de estándares de concentración conocida. Además es necesario obtener los resultados considerando la cantidad de solvente que se utilizó en la extracción y la cantidad de suelo pesado expresado usualmente en mg/kg. [6]

1.6.3.3. MÉTODO GRAVIMÉTRICO

Es uno de los procedimientos más sencillos, rápidos y baratos para la determinación de hidrocarburos totales de petróleo en suelos; se basa simplemente en la medición en una

balanza analítica del peso de los analitos totales extraídos con un solvente que es posteriormente evaporado y permite pesar el extracto obtenido; es una técnica de baja resolución, que obtiene resultados generalmente en el orden de porcentaje. No es una técnica adecuada para fracciones volátiles de hidrocarburos. [6]

CAPÍTULO II

PARTE EXPERIMENTAL

2.1. METODOLOGÍA

El método analítico tiene el objetivo de determinar Hidrocarburos Totales de Petróleo en la matriz suelo, realizando la extracción con un equipo microondas, usando S-316 como solvente de extracción y realizando la detección y cuantificación con Espectrofotometría de Infrarrojos con transformadas de Fourier.

El solvente S-316 (clorotrifluoroetileno) resulta un solvente adecuado para la extracción y posterior cuantificación de hidrocarburos totales de petróleo según lo sugiere el método D7066-04 propuesto por la ASTM internacional para la determinación por Espectrofotometría de Infrarrojos. [22]

El solvente S-316 es un solvente apolar e invisible en la región infrarroja de interés lo que lo hace idóneo para disolver y extraer hidrocarburos totales de petróleo; para propósitos analíticos el S-316 se encuentra en forma de dímero/trímero aproximadamente en un 70% de su composición; esto le permite exhibir un momento dipolar permanente debido a la asimetría de la molécula por la repetición de sus unidades como polímero; así, como se ha explicado en el marco teórico del presente proyecto, esta característica del S-316 habilita al solvente para

absorber energía microondas. Además de esta característica, el proceso de extracción se llevó a cabo usando las pastillas de carboflón, que absorben energía microondas facilitando la partición de los analitos y la extracción eficiente de los TPH's. [22] [23] (Anexo MSDS S-316)

La Extracción Asistida por Microondas (MAE) se realiza empleando viales con la muestra y el solvente, calentando hasta una cierta temperatura de extracción durante un intervalo de tiempo determinado; la mezcla es enfriada, el vial se abre y se filtra el contenido a través de una columna de sílica gel seca para eliminar interferencias e impurezas provenientes de grasas animales y vegetales que pueden ser identificadas inapropiadamente como constituyentes de petróleo. El extracto se recoge en celdas de cuarzo y se realiza el procedimiento de lectura y cuantificación en el espectrofotómetro de infrarrojo.

La técnica de extracción asistida por microondas ofrece ventajas en cuanto a una mejor recuperación y mejor reproducibilidad comparada con otros métodos tradicionales; el monto de muestras a ser analizadas simultáneamente puede llegar a 40 en un periodo de tiempo relativamente menor. MAE es un proceso que se resume en el calentamiento de bajas cantidades de solvente en contacto con la muestra en un vial cerrado mientras se aplica energía microondas; en el vial, la muestra y el solvente están sujetos a un incremento de presión debido a la aplicación de calor en un sistema cerrado; las elevadas temperaturas pueden ser controladas por el analista y puede seleccionar la mejor temperatura para la distribución de los analitos desde la muestra hacia el solvente; el control de la temperatura es una variable que no

es posible en técnicas como Soxhlet o Ultrasonido, lo que provee una extracción más precisa, eficiente y en menor tiempo. [24]

La detección y cuantificación de TPH's mediante Espectrofotometría de Infrarrojos con transformadas de Fourier permite medir la absorbancia de la suma de todos los compuestos medibles en la región infrarroja que contribuye al resultado total de TPH's. Para todos los métodos de análisis de hidrocarburos totales de petróleo por infrarrojos, la absorbancia es cuantificada comparándola con la absorbancia de estándares de concentración conocida. [15]

2.2. OPTIMIZACIÓN DE LAS CONDICIONES DE EXTRACCIÓN Y VALIDACIÓN DEL MÉTODO

El estudio se dividió en dos etapas: en la primera etapa se establecieron las condiciones óptimas de extracción que permitieron obtener los más altos porcentajes de recuperación de blancos de suelos fortificados; en la segunda etapa se evaluaron los requerimientos analíticos que permiten calificar a la técnica como confiable y aplicable (validación), para lo cual se realizó fortificaciones en suelos limpios y blancos de suelos; además se recopilaron los porcentajes de recuperación de materiales de referencia certificados para evaluar la exactitud del método y se lo comparó con la recuperación empleando un método alternativo (extracción por ultrasonido).

2.3. DESARROLLO DEL MÉTODO

Para la optimización de las condiciones óptimas de extracción se realizó la puesta a punto del método analítico, se consideraron las variables que pueden presentar variaciones durante el proceso de extracción: volumen de solvente, cantidad de muestra, temperatura de extracción, tiempo de extracción y limpieza de impurezas; cada condición fue evaluada de manera individual manteniendo constantes el resto de variables consideradas.

La Tabla 2.1 muestra los parámetros tomados en cuenta para la optimización de las condiciones de extracción.

Tabla 2.1. Optimización de las condiciones de extracción

Condición	Pruebas realizadas
Volumen de solvente (mL)	10, 25
Cantidad de suelo (g)	2, 3, 4, 5
Temperatura (°C)	40, 50, 60, 70, 80
Tiempo (min)	5, 10, 15, 20
Limpieza con sílica (g)	0,5; 0,7; 1,0; 1,5

En la etapa de validación del método analítico se definieron las principales características y requerimientos que debe satisfacer el método en cuestión; este proceso de validación se lo realiza con el fin de obtener pruebas documentadas y demostrativas de que la técnica es lo suficientemente confiable para producir un resultado previsto bajo condiciones establecidas;

este estudio de los parámetro de validación es muy importante puesto que los resultados que se obtengan a partir de éstos proporcionan un grado de confianza y seguridad del método y de la calidad de sus resultados. [25][26] Es así que se determinaron los objetivos de validación y se escogieron los siguientes parámetros a ser evaluados: linealidad, límite de detección, límite de cuantificación, precisión de repetibilidad y reproducibilidad, exactitud e intervalo de trabajo, según lo muestra la Tabla 2.2.

Tabla 2.2. Objetivos de validación del método propuesto

Parámetro	Objetivo establecido
Linealidad	Se espera un coeficiente de correlación mayor a 0,99
Límite de detección	Se establece a la concentración más baja en la que se obtenga una lectura
Límite de cuantificación	Se establece a la concentración más baja en la que se obtenga una recuperación de $100 \pm 10\%$
Precisión (repetibilidad)	Se espera una variabilidad menor al 10%
Precisión (reproducibilidad)	Se espera una variabilidad menor al 10%
Exactitud	Se espera recuperación de MRC de $100 \pm 10\%$
Intervalo de trabajo	25 – 7500 mg/kg

LINEALIDAD E INTERVALO DE TRABAJO

Lo que se pretende al evaluar la linealidad del método es la capacidad del éste para proveer resultados donde la señal del equipo sea directamente proporcional a la concentración del analito, es decir cuya respuesta sea lineal dentro de un intervalo determinado; dicho intervalo

se refiere a un rango de concentraciones dentro de las cuales el analito puede ser cuantificado con precisión, exactitud y linealidad. Para esto es recomendable establecer diferentes valores de concentración dentro de un rango amplio y evaluar el ajuste de la curva de calibración, informando principalmente el coeficiente de correlación y la pendiente de la recta de regresión. [25][26]

LÍMITE DE DETECCIÓN

El límite de detección permite establecer la concentración de analito más baja que puede ser detectada en una muestra siguiendo las condiciones de extracción preestablecidas; para estimar el límite de detección es preciso obtener una relación de la señal de la muestra con la señal de ruido del instrumento de al menos 2:1.

LÍMITE DE CUANTIFICACIÓN

El límite de cuantificación se establece con aquella concentración de analito en una muestra que pueda ser cuantificada con una precisión y exactitud propuestas (para este caso $\pm 10\%$) bajo las condiciones de extracción establecidas. La relación de señal-ruido es aceptable entre 3:1 y 10:1.

PRECISIÓN DE REPETIBILIDAD Y REPRODUCIBILIDAD

El estudio de la precisión de repetibilidad y reproducibilidad permite observar el grado de variabilidad de los resultados; la repetibilidad expresa la variación más pequeña esperada cuando el método se ejecuta por un solo analista, en muestras por duplicado, en un mismo equipo y en un periodo de tiempo corto; la reproducibilidad representa una variabilidad intermedia al variar el analista o en un periodo de tiempo mayor. Estas variaciones de los resultados se determinan por lo general en términos de desviación estándar o en términos de coeficiente de variación y deben realizarse a varias concentraciones. [25] [27] [28]

EXACTITUD

La exactitud permite verificar la proximidad entre el resultado obtenido y el valor real de la concentración del analito; para esto se puede aplicar el método en un material de referencia certificado o por comparación de los resultados del método propuesto con los de otro método validado. Los datos deben evaluarse dentro del intervalo de trabajo, en muestras por duplicado o triplicado y se deben determinar los valores de porcentaje de recuperación del analito. [25]

2.4. EQUIPOS Y MATERIALES

2.4.1. EQUIPOS

- Estufa marca Memmert
- Balanza analítica marca Mettler-Toledo con precisión de 0.1 mg.
- Balanza semi analítica marca Boeco con precisión de 0,01g.
- Equipo Microondas marca CEM MARS *Xpress*
- Espectrofotómetro Infrarrojo con Transformadas de Fourier marca Perkin Elmer modelo Spectrum BX.

2.4.2. MATERIALES

- Espátulas metálicas
- Tamices número mesh: 16 (apertura 1.18mm), 30 (apertura 600 μ m) y 40 (apertura 425 μ m).
- Pipetas volumétricas de 1, 5,10 mL, clase A calibradas
- Probetas graduadas de 10 y 25 mL
- Balones de aforo de 10 y 25 mL clase A
- Vasos de precipitación de 25 y 50 mL
- Pipetas automáticas de 100-1000 μ L y de 1-10 mL
- Puntas Eppendorf de 500 μ L y de 5 mL
- Celdas de cuarzo marca Perkin Elmer, camino óptico 1.00 cm.

- Goteros
- Papel aluminio
- Lana de vidrio
- Tijeras
- Papel toalla
- Desecador de vidrio

2.4.3. REACTIVOS

- Solvente S-316 (clorotrifluoroetileno) p.a. (MSDS Anexo 24)
- Silica gel de 100 a 200 mesh
- Agua destilada de conductividad menor a 0.1 $\mu\text{S}/\text{cm}$
- Metanol

2.4.4. ESTÁNDARES Y MATERIALES DE REFERENCIA

- Estándar de Hidrocarburos Totales de Petróleo, Marca: Chemservice, Catálogo: M-TPH4181-10ML, Mezcla GRO-DRO-418, Lote: 410000. Certificado (Anexo 20)
- Blanco de suelo, DataPackTM, Catálogo N° 056, Lote N° 56013. (Anexo 21)
- Material de Referencia Certificado marca ERA, Catálogo 570, Lote D069-632. Certificado (Anexo 22)
- Material de Referencia Certificado marca ERA, Catálogo 570, Lote D071-632. Certificado (Anexo 23)

2.4.5. PREPARACIÓN DE SOLUCIONES ESTÁNDAR

Para el análisis de cada uno de los parámetros del proceso de extracción, se prepararon 4 soluciones estándar madre para fortificación a partir del Aceite de Referencia de Hidrocarburos Totales de Petróleo, siguiendo la Tabla 2.3:

Tabla 2.3. Preparación de soluciones estándar

Nombre	Concentración (mg/L)	Solución Madre	Alícuota a tomar	Volumen de aforo
Sol. Madre 1	50000	Aceite de referencia	0.5000 g	10 mL
Sol. Madre 2	10000	Madre 1	2 mL	10 mL
Sol. Madre 3	1000	Madre 1	200 μ L	10 mL
Sol. Madre 4	100	Madre 2	100 μ L	10 mL

Inicialmente se elaboraron curvas de calibración con estándares de concentración conocida partiendo de las soluciones madre preparadas; se realizó una curva de calibración en un rango bajo de trabajo desde 60 mg/L a 300 mg/L y una curva de calibración en un rango alto desde 300 mg/L a 1500 mg/L. (Anexos 1- 4). Estas curvas de calibración sirvieron de referencia para la cuantificación de los hidrocarburos totales de petróleo en los suelos fortificados en la etapa de optimización de las condiciones de extracción; posteriormente, en el análisis de validación, quedaron establecidos los rangos de trabajo definitivos para el método propuesto.

2.5. PROCEDIMIENTO

Para la evaluación de las condiciones de extracción y posterior validación, se siguió un procedimiento propuesto con el fin de asegurar que los resultados obtenidos sigan un mismo proceso, afianzando la repetibilidad del método y minimizando los errores sistemáticos que puedan presentarse durante el desarrollo del experimento. La Figura 2.1 muestra un diagrama de flujo del procedimiento realizado.

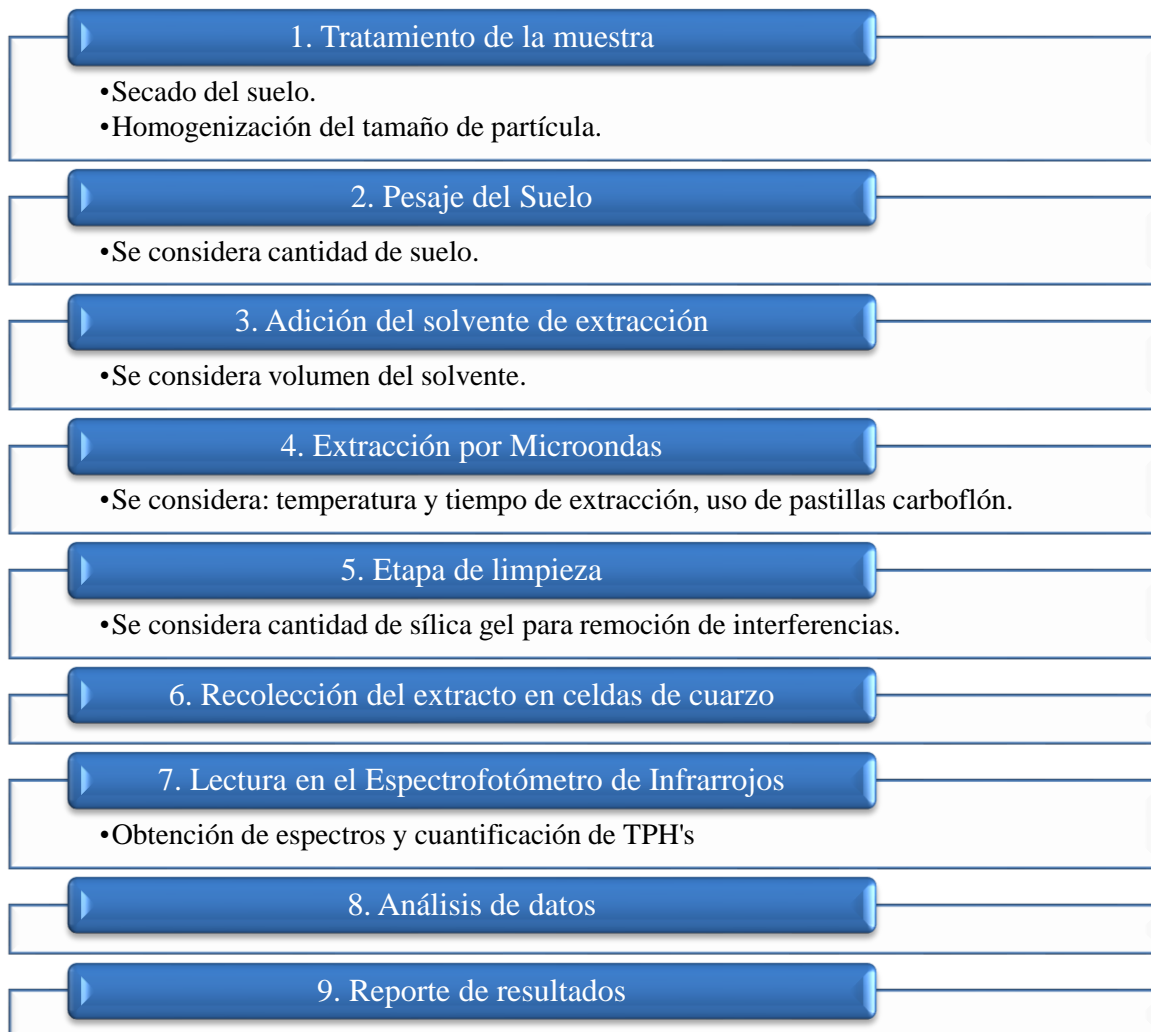


Figura 2.1. Diagrama de flujo del procedimiento realizado

Como se expone en la Figura 2.1, el desarrollo del experimento comenzó con el tratamiento de la muestra. Inicialmente se toma una porción de suelo en un papel de aluminio y se lleva a la estufa para secar la muestra a 60 °C durante 24 horas; transcurrido ese tiempo, la muestra se enfría en un desecador y se homogeniza empleando un sistema de tamices de número mesh 16, 30 y 40 en orden descendente hasta alcanzar un tamaño de partícula menor a 425 μm .

Posteriormente se procede a pesar una cantidad determinada de muestra en los viales de extracción del equipo microondas (según lo sugiera la optimización de la cantidad de muestra utilizada en el proceso de extracción), se añade un volumen determinado de solvente S-316 (según el resultado obtenido de la optimización del volumen en el proceso de extracción) y se adiciona un inserto de carboflón para cada vial; el vial se cierra herméticamente y se coloca en el estuche de kevlar dentro del carrusel portaviales para ingresarlo al equipo Microondas.

Una vez acoplados los viales en el equipo, se seleccionan las condiciones de temperatura y tiempo de extracción deseada y se inicia el sistema; cuando termine el tiempo de extracción, existe una etapa corta de enfriamiento y se puede proceder a retirar los viales del equipo.

Los analitos ya extraídos en el solvente, se los pasa a través de un ensamble de lana de vidrio y sílica gel dentro de una punta Eppendorf (la cantidad de sílica utilizada se establece luego de

las pruebas de optimización de la cantidad de sílica para la limpieza de interferencias) y se recoge el extracto limpio en celdas de cuarzo limpias.

Finalmente se procede a realizar la lectura en el Espectrofotómetro de Infrarrojos, obteniendo el espectro correspondiente para cada muestra y cuantificada en curvas de calibración elaboradas con estándares de concentración conocida; se anotan los datos obtenidos y se realiza el análisis de resultados.

CAPÍTULO III

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

A lo largo de este capítulo se expone el detalle de los resultados obtenidos en el proceso de optimización y validación del método para la determinación de Hidrocarburos Totales de Petróleo en suelos mediante Extracción Asistida por Microondas y cuantificación por Espectrofotometría de Infrarrojos. En cada uno de los apartados se presentan los resultados parciales y finales a partir de los cuales se realiza la discusión correspondiente.

3.1. RESULTADOS DE LA OPTIMIZACIÓN DEL MÉTODO MAE

3.1.1. OPTIMIZACIÓN DE LA CANTIDAD DE SÍLICA PARA LIMPIEZA DE IMPUREZAS

El primer paso para la optimización de la cantidad de sílica empleado para la eliminación de interferencias fue preparar las soluciones estándar para las fortificaciones de blancos de suelo; se escogió un punto dentro del rango de la curva de calibración y se realizó el cálculo correspondiente para preparar la solución de fortificación tomando en cuenta el peso de la muestra y el volumen de solvente utilizados; además se consideró el peso medido del aceite

estándar de hidrocarburos totales de petróleo para realizar la corrección de la concentración teórica de la fortificación; de igual manera se corrió paralelamente un blanco de suelo también con el fin de realizar la corrección respectiva en los resultados.

El ensayo se realizó en un mismo nivel de concentración de fortificación (80 mg/L que corresponde a 1000 mg/kg) en 3 muestras de suelos; se pesó aproximadamente 2 g de suelo, utilizando 25 mL de S-316, durante un tiempo de extracción de 5 minutos en el equipo microondas a una temperatura de 40 °C. Para cada una de las muestras se probó las cuatro cantidades de sílica gel propuestas para la limpieza: 0,5 g, 0,7 g, 1,0 g y 1,5 g. En las Tablas 3.1 y 3.2 se presentan respectivamente los resultados obtenidos y el promedio de recuperación para la cantidad óptima de sílica utilizada para la limpieza de impurezas.

Tabla 3.1. Resultados de análisis, optimización de la cantidad de sílica para eliminar interferencias

Vial	Peso de la muestra (g)	Volumen S-316 (mL)	Sílica (g)	Lectura Muestra (mg/L)	Resultado (mg/kg)	Valor teórico corregido (mg/kg)	Recuperación (%)
1	2,03	25	0,5	90,1549	1110,3	1255,7	88,4
			0,7	93,9118	1156,5	1255,7	92,1
			1,0	91,9500	1132,4	1255,7	90,2
			1,5	82,1858	1012,1	1255,7	80,6
2	2,05	25	0,5	84,0627	1025,2	1255,7	81,6
			0,7	82,7624	1009,3	1255,7	80,4
			1,0	84,8041	1034,2	1255,7	82,4
			1,5	83,0840	1013,3	1255,7	80,7
3	2,04	25	0,5	78,7003	964,5	1255,7	76,8
			0,7	82,0577	1005,6	1255,7	80,1
			1,0	87,5607	1073,0	1255,7	85,5
			1,5	89,8879	1101,6	1255,7	87,7

Tabla 3.2. Resumen de la optimización de sílica

Sílica (g)	Promedio de recuperación (%)
0,5	82,3
0,7	84,2
1,0	86,0
1,5	83,0

Como se puede observar en la Tabla 3.2, se determinó que la cantidad más apropiada para la limpieza de impurezas de la muestra es de 1,0 g. Se sabe que el proceso de limpieza es muy importante especialmente cuando se realiza la identificación por Espectrofotometría de Infrarrojos puesto que éste es un método sensible a interferencias que pueden ser medidas y confundidas con hidrocarburos de petróleo; compuestos que no provienen del petróleo como grasas de origen vegetal o animal en cuya estructura se encuentren enlaces C-H pueden representar interferencia. [15] En el ensayo se pudo apreciar que a menores cantidades de sílica gel en el proceso de limpieza, la recuperación es baja; empleando 1.0 g. de sílica, solo los compuestos interferentes son removidos, sin embargo algunos constituyentes polares del petróleo podrían ser también removidos cuando se limpia con mayores cantidades de sílica, por lo que con 1,5 g. de sílica, la recuperación se redujo.

3.1.2. OPTIMIZACIÓN DEL VOLUMEN DE SOLVENTE PARA LA EXTRACCIÓN

En la optimización del volumen de solvente para la extracción se realizaron de igual manera los cálculos correspondientes para las fortificaciones tomando en cuenta el peso de la muestra

y el volumen de solvente utilizados; también se realizó la corrección de la concentración teórica basado en el peso del aceite estándar de hidrocarburos totales de petróleo empleado.

Prueba con 25 mL de solvente:

Este ensayo se realizó en 2 niveles de concentración de fortificación, un nivel bajo (60 mg/L que corresponde a 750 mg/kg) y un nivel medio (240 mg/L que corresponde a 3000 mg/kg); se fortificaron 8 muestras en total, 4 en nivel bajo y 4 en nivel medio; se pesó aproximadamente 2 g de suelo, utilizando 25 mL de S-316, durante un tiempo de extracción de 5 minutos en el equipo microondas a una temperatura de 40 °C; el extracto se recogió a través de 1,0 g de sílica gel, de acuerdo a los porcentajes de recuperación obtenidos en el ensayo de optimización de la cantidad de sílica para la eliminación de interferencias. La Tabla 3.3 muestra los resultados de análisis obtenidos para 25 mL de solvente en el proceso de extracción; en el número de vial se especifica con la letra “B” el nivel bajo y con la letra “M” el nivel medio.

Tabla 3.3. Resultados de análisis usando 25 mL de solvente en la extracción

Vial	Peso de la muestra (g)	Volumen S-316 (mL)	Lectura Muestra (mg/L)	Resultado (mg/kg)	Valor teórico corregido (mg/kg)	Recuperación (%)	Promedio de recuperación (%)
1-B	2,02	25	59,7726	739,8	797,8	92,7	95,3
2-B	2,02	25	62,3129	771,2	797,8	96,7	
3-B	2,05	25	60,9374	743,1	797,8	93,2	
4-B	2,03	25	61,2278	754,0	797,8	94,5	
5-M	2,03	25	238,2139	2933,7	3051,8	96,1	
6-M	2,01	25	234,8461	2921,0	3051,8	95,7	
7-M	2,06	25	244,8491	2971,5	3051,8	97,4	
8-M	2,01	25	235,1947	2925,3	3051,8	95,8	

Prueba con 10 mL de solvente:

El ensayo se probó en 2 niveles de concentración de fortificación, un nivel bajo (150 mg/L que corresponde a 750 mg/kg) y un nivel alto (600 mg/L que corresponde a 3000 mg/kg); se fortificaron 8 muestras en total, 4 en nivel bajo y 4 en nivel alto; se pesó aproximadamente 2 g de suelo, utilizando 10 mL de S-316, durante un tiempo de extracción de 5 minutos en el equipo microondas a una temperatura de 40°C y el extracto se recogió a través de 1,0 g de sílica gel. La Tabla 3.4 muestra los resultados de análisis obtenidos para 10 mL de solvente en el proceso de extracción; en el número de vial se especifica con la letra “B” el nivel bajo y con la letra “A” el nivel alto. La Tabla 3.5 presenta el resumen de los valores de recuperación obtenidos para 10 mL y 25 mL de solvente utilizado en el proceso de extracción.

Tabla 3.4. Resultados de análisis usando 10 mL de solvente en la extracción

Vial	Peso de la muestra (g)	Volumen S-316 (mL)	Lectura Muestra (mg/L)	Resultado (mg/kg)	Valor teórico corregido (mg/kg)	Recuperación (%)	Promedio de recuperación (%)
1-B	2,03	10	158,7364	781,6	811,3	96,4	98,7
2-B	2,01	10	161,7471	804,7	811,3	99,2	
3-B	2,00	10	164,3628	821,8	811,3	101,3	
4-B	2,00	10	157,8109	789,1	811,3	97,3	
5-A	1,99	10	626,7409	3149,5	3114,5	101,1	
6-A	2,03	10	618,9025	3048,8	3114,5	97,9	
7-A	2,01	10	622,1885	3095,5	3114,5	99,4	
8-A	2,07	10	624,8472	3018,6	3114,5	96,9	

Tabla 3.5. Resumen de la optimización de volumen

Volumen (mL)	Promedio de recuperación (%)
10	98.7
25	95,3

Las Tablas 3.3 y 3.4 exhiben resultados satisfactorios dentro de un rango de $100 \pm 10\%$ de recuperación para los 2 niveles de fortificación asignados a cada volumen de prueba; la Tabla 3.5 presenta los valores finales para la prueba de condicionamiento del volumen de solvente usado durante la extracción y muestra un promedio de recuperación superior al 95% para cada volumen; experimentalmente se estima que no existen variaciones significativas en cuanto al volumen de solvente utilizado, sin embargo se perciben recuperaciones mayores al utilizar 10 mL de solvente, por lo cual se seleccionó 10 mL de solvente como volumen óptimo para el procedimiento propuesto, tanto por la recuperación conseguida como por el ahorro de solvente.

3.1.3. OPTIMIZACIÓN DE LA CANTIDAD DE MUESTRA PARA LA EXTRACCIÓN

Una vez determinado el volumen de solvente óptimo para la extracción, se procedió a realizar pruebas con la cantidad de muestra de suelo para la extracción realizando los cálculos correspondientes para las fortificaciones tomando en cuenta el peso de la muestra y el volumen de solvente; además se considera el peso del aceite estándar de hidrocarburos totales de petróleo para la corrección del valor de concentración. En este apartado del estudio se comenzó a probar varios niveles de concentración de las fortificaciones para evaluar las

recuperaciones en niveles bajos y altos cercanos a los límites de las curvas de calibración, que sirvieron de referencia para posteriormente extender el rango de trabajo en la validación del método propuesto.

Prueba con 2 g de muestra:

El ensayo se realizó en 7 niveles de concentración de fortificación, 4 niveles bajos: 40 mg/L (200 mg/kg), 100 mg/L (500 mg/kg), 150 mg/L (750 mg/kg), 200 mg/L (1000 mg/kg) y 3 niveles altos: 300 mg/L (1500 mg/kg), 600 mg/L (3000 mg/kg), 1000 mg/L (5000 mg/kg); se fortificaron 7 muestras en total más 1 blanco aparte; se pesó aproximadamente 2 g de suelo, utilizando 10 mL de S-316, durante un tiempo de extracción de 5 minutos en el equipo microondas a una temperatura de 40 °C y el extracto se recogió a través de 1,0 g de sílica gel. La Tabla 3.6 muestra los resultados de análisis obtenidos para 2 g de muestra en el proceso de extracción; en el número de vial se especifica con la letra “B” el nivel bajo y con la letra “A” el nivel alto.

Tabla 3.6. Resultados de análisis usando 2 g de muestra en la extracción

Vial	Peso de la muestra (g)	Volumen S-316 (mL)	Lectura Muestra (mg/L)	Resultado (mg/kg)	Valor teórico corregido (mg/kg)	Recuperación (%)	Promedio de recuperación (%)
1-B	2,01	10	53,8958	268,1	256,8	104,4	97,8
2-B	2,00	10	112,0524	560,3	559,3	100,2	
3-B	2,00	10	157,8109	789,1	811,3	97,3	
4-B	2,01	10	197,214	981,2	1063,4	92,3	
5-A	2,03	10	308,4392	1519,4	1602,2	94,8	
6-A	2,01	10	622,1885	3095,5	3114,5	99,4	
7-A	2,07	10	1025,0601	4952,0	5130,9	96,5	

Prueba con 3 g de muestra:

Se evaluaron 7 niveles de concentración de fortificación, 4 niveles bajos: 60 mg/L (200 mg/kg), 150 mg/L (500 mg/kg), 225 mg/L (750 mg/kg), 300 mg/L (1000 mg/kg) y 3 niveles altos: 450 mg/L (1500 mg/kg), 900 mg/L (3000 mg/kg), 1500 mg/L (5000 mg/kg); se fortificaron 7 muestras en total más 1 blanco aparte; se pesó aproximadamente 3 g de suelo, utilizando 10 mL de S-316, durante un tiempo de extracción de 5 minutos en el equipo microondas a una temperatura de 40 °C y el extracto se recogió a través de 1,0 g de sílica gel. En la Tabla 3.7 se exponen los resultados de análisis obtenidos para 3 g de muestra en el proceso de extracción; en el número de vial se especifica con la letra “B” el nivel bajo y con la letra “A” el nivel alto.

Tabla 3.7. Resultados de análisis usando 3 g de muestra en la extracción

Vial	Peso de la muestra (g)	Volumen S-316 (mL)	Lectura Muestra (mg/L)	Resultado (mg/kg)	Valor teórico corregido (mg/kg)	Recuperación (%)	Promedio de recuperación (%)
1-B	3,05	10	66,4128	217,7	254,8	85,5*	97,0
2-B	3,05	10	166,1777	544,8	560,7	97,2	
3-B	3,04	10	241,9221	795,8	815,7	97,6	
4-B	2,98	10	319,2378	1071,3	1070,6	100,1	
5-A	3,06	10	474,4121	1550,4	1604,4	96,6	
6-A	3,02	10	888,1998	2941,1	3134,1	93,8	
7-A	3,02	10	1512,7429	5009,1	5173,7	96,8	

*Valor atípico descartado mediante la prueba Q de Dixon.

Prueba con 4g de muestra:

En este ensayo se evaluaron 7 niveles de concentración de fortificación, 3 niveles bajos: 80 mg/L (200 mg/kg), 200 mg/L (500 mg/kg), 300 mg/L (750 mg/kg) y 4 niveles altos: 400 mg/L (1000 mg/kg), 600 mg/L (1500 mg/kg), 1200 mg/L (3000 mg/kg), 2000 mg/L (5000 mg/kg); se fortificaron 7 muestras en total más 1 blanco aparte; se pesó aproximadamente 4 g de suelo, utilizando 10 mL de S-316, durante un tiempo de extracción de 5 minutos en el equipo microondas a una temperatura de 40°C y el extracto se recogió a través de 1,0 g de sílica gel. En la Tabla 3.8 se presentan los resultados de análisis obtenidos para 4 g de muestra en el proceso de extracción; en el número de vial se especifica con la letra “B” el nivel bajo y con la letra “A” el nivel alto.

Tabla 3.8. Resultados de análisis usando 4 g de muestra en la extracción

Vial	Peso de la muestra (g)	Volumen S-316 (mL)	Lectura Muestra (mg/L)	Resultado (mg/kg)	Valor teórico corregido (mg/kg)	Recuperación (%)	Promedio de recuperación (%)
1-B	4,06	10	80,2392	197,6	221,1	89,4	96,5
2-B	4,03	10	195,1797	484,3	521,1	92,9	
3-B	4,04	10	309,4643	766,0	771,2	99,3	
4-A	4,03	10	405,8579	1007,1	1039,1	96,9	
5-A	4,06	10	605,3712	1491,1	1539,2	96,9	
6-A	4,07	10	1213,8199	2982,4	3039,5	98,1	
7-A	4,02	10	2068,1075	5144,5	5039,9	102,1	

Prueba con 5 g de muestra:

Se ensayaron 7 niveles de concentración de fortificación, 2 niveles bajos: 100 mg/L (200 mg/kg), 250 mg/L (500 mg/kg) y 5 niveles altos: 375 mg/L (750 mg/kg), 500 mg/L (1000 mg/kg), 750 mg/L (1500 mg/kg), 1500 mg/L (3000 mg/kg), 2500 mg/L (5000 mg/kg); se fortificaron 7 muestras en total más 1 blanco aparte; se pesó aproximadamente 5 g de suelo, utilizando 10 mL de S-316, durante un tiempo de extracción de 5 minutos en el equipo microondas a una temperatura de 40 °C y el extracto se recogió a través de 1,0 g de sílica gel. La Tabla 3.9 muestra los resultados de análisis obtenidos para 5 g de muestra en el proceso de extracción; en el número de vial se especifica con la letra “B” el nivel bajo y con la letra “A” el nivel alto. En la Tabla 3.10 se presenta el resumen de los valores de recuperación obtenidos para 2 g, 3 g, 4 g y 5 g de cantidad de muestra de suelo utilizado en el proceso de extracción.

Tabla 3.9. Resultados de análisis usando 5 g de muestra en la extracción

Vial	Peso de la muestra (g)	Volumen S-316 (mL)	Lectura Muestra (mg/L)	Resultado (mg/kg)	Valor teórico corregido (mg/kg)	Recuperación (%)	Promedio de recuperación (%)
1-B	5,02	10	100,418	200,0	226,0	88,5	92,6
2-B	5,03	10	235,1507	467,5	529,0	88,4	
3-A	5,00	10	374,6769	749,4	795,8	94,2	
4-A	5,06	10	503,3449	994,8	1048,4	94,9	
5-A	5,04	10	746,5358	1481,2	1553,5	95,3	
6-A	5,08	10	1459,8734	2873,8	3068,8	93,6	
7-A	5,05	10	2391,8097	4736,3	5089,2	93,1	

Tabla 3.10. Resumen de la optimización del peso de muestra para la extracción

Peso (g.)	Promedio de recuperación (%)
2	97,8
3	97,0
4	96,5
5	92,6

En los resultados de análisis de la Tabla 3.7 para la prueba de condicionamiento de 3 g, se encontró que el valor de la muestra 1-B es un valor atípico puesto que se realizó el cálculo de la prueba Q de Dixon (95% de confianza) para descartar valores atípicos, por lo que dicho valor no fue considerado para el promedio de recuperación final; este valor discordante puede ser atribuido a cualquier error sistemático cometido durante cualquiera de las etapas del procedimiento y no representa un valor real verdadero.

La Tabla 3.10 muestra el promedio de recuperación obtenido para cada peso, sin valores atípicos, mostrando recuperaciones superiores al 90% para cada caso; sin embargo se observa una tendencia a disminuir la recuperación a medida que se aumenta la cantidad de suelo utilizado, posiblemente por la saturación del solvente. [11] De esta manera se estableció que 2 g es la cantidad de suelo apto para obtener los mejores resultados en la extracción de hidrocarburos totales de petróleo.

3.1.4. OPTIMIZACIÓN DE LA TEMPERATURA DE EXTRACCIÓN EN EL EQUIPO MICROONDAS

Para establecer la temperatura óptima de extracción en el equipo Microondas se continuó con la evaluación de los porcentajes de recuperación de muestras de suelos fortificadas, tomando en cuenta el peso de la muestra y el volumen de solvente optimizados en la sección anterior; para esta etapa del estudio, se evaluaron 7 únicos niveles de fortificación que se usaron para cada una de las pruebas de temperatura.

Todas las pruebas de temperatura se realizaron bajo las siguientes condiciones: extracciones en 7 niveles de concentración de fortificación, 4 niveles bajos: 40 mg/L (200 mg/kg), 100 mg/L (500 mg/kg), 150 mg/L (750 mg/kg), 200 mg/L (1000mg/kg) y 3 niveles altos: 300 mg/L (1500 mg/kg), 600 mg/L (3000 mg/kg), 1000 mg/L (5000 mg/kg); se fortificaron 7 muestras en total más 1 blanco aparte; se pesó aproximadamente 2 g de suelo, utilizando 10 mL de S-316, durante un tiempo de extracción de 5 minutos en el equipo microondas. El único parámetro variable durante estas pruebas de condicionamiento es la temperatura de extracción programada en el equipo microondas; se ensayaron extracciones a 40 °C, 50 °C, 60 °C, 70 °C y 80 °C. Al igual que en los experimentos anteriores, el extracto se recogió en celdas de cuarzo a través de 1,0 g de sílica gel.

Prueba a una temperatura de extracción de 40 °C en el equipo microondas:

En la Tabla 3.11 se presentan los resultados de análisis obtenidos para una temperatura de extracción de 40 °C; en el número de vial se especifica con la letra “B” el nivel bajo y con la letra “A” el nivel alto.

Tabla 3.11. Resultados de análisis a una temperatura de extracción de 40 °C

Vial	Peso de la muestra (g)	Volumen S-316 (mL)	Lectura Muestra (mg/L)	Resultado (mg/kg)	Valor teórico corregido (mg/kg)	Recuperación (%)	Promedio de recuperación (%)
1-B	2,01	10	53,8958	268,1	256,8	104,4	97,8
2-B	2,00	10	112,0524	560,3	559,3	100,2	
3-B	2,00	10	157,8109	789,1	811,3	97,3	
4-B	2,01	10	197,214	981,2	1063,4	92,3	
5-A	2,03	10	308,4392	1519,4	1602,2	94,8	
6-A	2,01	10	622,1885	3095,5	3114,5	99,4	
7-A	2,07	10	1025,0601	4952,0	5130,9	96,5	

Prueba a una temperatura de extracción de 50 °C en el equipo microondas:

La Tabla 3.12 presenta los resultados de análisis obtenidos para una temperatura de extracción de 50 °C; en el número de vial se especifica con la letra “B” el nivel bajo y con la letra “A” el nivel alto.

Tabla 3.12. Resultados de análisis a una temperatura de extracción de 50 °C

Vial	Peso de la muestra (g)	Volumen S-316 (mL)	Lectura Muestra (mg/L)	Resultado (mg/kg)	Valor teórico corregido (mg/kg)	Recuperación (%)	Promedio de recuperación (%)
1-B	2,02	10	53,0962	262,9	299,7	87,7	91,4
2-B	2,06	10	105,1001	510,2	603,5	84,5	
3-B	2,06	10	160,9251	781,2	856,6	91,2	
4-B	2,05	10	208,2937	1016,1	1109,8	91,6	
5-A	2,03	10	317,9191	1566,1	1651,4	94,8	
6-A	2,06	10	647,9289	3145,3	3170,3	99,2	
7-A	2,06	10	973,7589	4727,0	5195,5	91,0	

Prueba a una temperatura de extracción de 60 °C en el equipo microondas:

La Tabla 3.13 contiene los resultados de análisis obtenidos para una temperatura de extracción de 60 °C; en el número de vial se especifica con la letra “B” el nivel bajo y con la letra “A” el nivel alto.

Tabla 3.13. Resultados de análisis a una temperatura de extracción de 60 °C

Vial	Peso de la muestra (g)	Volumen S-316 (mL)	Lectura Muestra (mg/L)	Resultado (mg/kg)	Valor teórico corregido (mg/kg)	Recuperación (%)	Promedio de recuperación (%)
1-B	2,02	10	48,6412	240,8	299,6	80,4	95,2
2-B	2,02	10	110,6510	547,8	605,6	90,5	
3-B	2,01	10	170,1791	846,7	860,6	98,4	
4-B	2,02	10	220,5926	1092,0	1115,6	97,9	
5-A	2,01	10	319,8956	1591,5	1661,1	95,8	
6-A	2,00	10	652,2620	3261,3	3191,1	102,2	
7-A	2,02	10	1067,2058	5283,2	5231,1	101,0	

Prueba a una temperatura de extracción de 70 °C en el equipo microondas:

La Tabla 3.14 muestra los resultados de análisis obtenidos para una temperatura de extracción de 70 °C; en el número de vial se especifica con la letra “B” el nivel bajo y con la letra “A” el nivel alto.

Tabla 3.14. Resultados de análisis a una temperatura de extracción de 70 °C

Vial	Peso de la muestra (g)	Volumen S-316 (mL)	Lectura Muestra (mg/L)	Resultado (mg/kg)	Valor teórico (mg/kg)	Recuperación (%)	Promedio de recuperación (%)
1-B	1,99	10	37,7413	189,6	254,9	74,4*	94,7
2-B	1,96	10	104,9406	535,4	555,2	96,4	
3-B	1,99	10	151,7207	762,4	805,4	94,7	
4-B	2,06	10	196,969	956,2	1055,7	90,6	
5-A	1,97	10	304,7728	1547,1	1591,8	97,2	
6-A	2,05	10	600,966	2931,5	3093,3	94,8	
7-A	2,03	10	977,9536	4817,5	5095,3	94,5	

*Valor atípico descartado mediante la prueba Q de Dixon.

Prueba a una temperatura de extracción de 80 °C en el equipo microondas:

La Tabla 3.15 muestra los resultados de análisis obtenidos para una temperatura de extracción de 80 °C; en el número de vial se especifica con la letra “B” el nivel bajo y con la letra “A” el nivel alto.

Tabla 3.15. Resultados de análisis a una temperatura de extracción de 80 °C

Vial	Peso de la muestra (g)	Volumen S-316 (mL)	Lectura Muestra (mg/L)	Resultado (mg/kg)	Valor teórico corregido (mg/kg)	Recuperación (%)	Promedio de recuperación (%)
1-B	2,01	10	31,1693	155,1	261,3	59,3*	93,4
2-B	2,04	10	97,7001	478,9	564,9	84,8	
3-B	1,99	10	157,8006	793,0	817,9	97,0	
4-B	2,12	10	207,5119	978,8	1070,9	91,4	
5-A	2,02	10	315,7307	1563,0	1611,4	97,0	
6-A	2,07	10	625,7073	3022,7	3129,4	96,6	
7-A	2,07	10	997,6313	4819,5	5153,4	93,5	

*Valor atípico descartado mediante la prueba Q de Dixon.

En la tabla 3.16 se muestra el promedio del porcentaje de recuperación obtenido para cada temperatura de extracción probada.

Tabla 3.16. Resumen de la optimización de la temperatura de extracción

Temperatura (° C)	Promedio de recuperación (%)
40	97,8
50	91,4
60	95,2
70	94,7
80	93,4

En la Tabla 3.14, en los resultados de análisis obtenidos para la prueba de condicionamiento a 70 °C, se encontró que el valor de la muestra 1-B es un valor atípico según el cálculo de la prueba Q de Dixon (95% de confianza) para descartar valores dudosos; en los resultados de la prueba de condicionamiento a 80°C presentados en la Tabla 3.15 también se encontró que la muestra 1-B resulta ser un valor discordante; para ambos casos, dichos valores no fueron

considerados para los promedios de porcentajes de recuperación. La discordancia de estos valores pudieron surgir por la presencia de errores sistemáticos en el proceso de extracción; además, estos valores se encuentran en el menor nivel de concentración de fortificación y se encuentran al límite de la curva de calibración, por lo que los datos son más propensos a un nivel de error mayor y no se garantiza completamente la exactitud de los resultados.

La Tabla 3.16 recopila el promedio de recuperación obtenido para cada temperatura probada, sin valores atípicos, mostrando recuperaciones por encima de 90%; estudios previos han concluido que no existe una variabilidad considerable con respecto a la influencia de la temperatura en la mayoría de procesos de extracción. [16][17] Para el presente estudio, también se observa que experimentalmente no existen variaciones significativas al realizar la extracción a cada una de estas temperaturas, pero se detecta un ligero decrecimiento de la recuperación a temperaturas mayores a 40 °C por lo que se podría suponer que existe algún tipo de pérdida o degradación de los componentes más livianos de la mezcla de hidrocarburos.

De los resultados obtenidos en las pruebas de condicionamiento de la temperatura de extracción en el equipo microondas, se seleccionó a 40 °C como la temperatura óptima para el procedimiento propuesto.

3.1.5. OPTIMIZACIÓN DEL TIEMPO DE EXTRACCIÓN EN EL EQUIPO MICROONDAS

El último parámetro considerado para la optimización de las condiciones fue el tiempo de extracción en el equipo microondas. Nuevamente se evaluaron las fortificaciones realizadas tomando en cuenta cantidad de muestra y volumen de solvente para la preparación de los estándares; para el ensayo se evaluaron 7 niveles de concentración de fortificación, 4 niveles bajos: 40 mg/L (200 mg/kg), 100 mg/L (500 mg/kg), 150 mg/L (750 mg/kg), 200 mg/L (1000 mg/kg) y 3 niveles altos: 300 mg/L (1500 mg/kg), 600 mg/L (3000 mg/kg), 1000 mg/L (5000 mg/kg); se fortificaron 7 muestras en total más 1 blanco aparte; se pesó aproximadamente 2 g de suelo, utilizando 10 mL de S-316, a una temperatura de 40 °C. Se realizaron las pruebas de condicionamiento del tiempo de extracción en el equipo microondas; los análisis se realizaron en tiempos de 5, 10, 15 y 20 minutos. El extracto final se recogió en celdas de cuarzo a través de 1,0 g de sílica gel.

Prueba a un tiempo de extracción de 5 minutos en el equipo microondas:

La Tabla 3.17 muestra los resultados de análisis obtenidos para un tiempo de extracción de 5 minutos; en el número de vial se especifica con la letra “B” el nivel bajo y con la letra “A” el nivel alto.

Tabla 3.17. Resultados de análisis a un tiempo de extracción de 5 minutos

Vial	Peso de la muestra (g)	Volumen S-316 (mL)	Lectura Muestra (mg/L)	Resultado (mg/kg)	Valor teórico corregido (mg/kg)	Recuperación (%)	Promedio de recuperación (%)
1-B	2,01	10	53,8958	268,1	256,8	104,4	97,8
2-B	2,00	10	112,0524	560,3	559,3	100,2	
3-B	2,00	10	157,8109	789,1	811,3	97,3	
4-B	2,01	10	197,214	981,2	1063,4	92,3	
5-A	2,03	10	308,4392	1519,4	1602,2	94,8	
6-A	2,01	10	622,1885	3095,5	3114,5	99,4	
7-A	2,07	10	1025,0601	4952,0	5130,9	96,5	

Prueba a un tiempo de extracción de 10 minutos en el equipo microondas:

La Tabla 3.18 muestra los resultados de análisis obtenidos para un tiempo de extracción de 10 minutos; en el número de vial se especifica con la letra “B” el nivel bajo y con la letra “A” el nivel alto.

Tabla 3.18. Resultados de análisis a un tiempo de extracción de 10 minutos

Vial	Peso de la muestra (g)	Volumen S-316 (mL)	Lectura Muestra (mg/L)	Resultado (mg/kg)	Valor teórico corregido (mg/kg)	Recuperación (%)	Promedio de recuperación (%)
1-B	2,02	10	45,5175	225,3	204,2	110,3	98,4
2-B	2,13	10	98,6974	463,4	503,9	92,0	
3-B	2,07	10	146,0869	705,7	753,6	93,7	
4-B	2,06	10	202,0806	981,0	1003,3	97,8	
5-A	2,01	10	311,3405	1549,0	1537,9	100,7	
6-A	2,00	10	619,3768	3096,9	3036,1	102,0	
7-A	2,17	10	1011,2623	4660,2	5033,7	92,6	

Prueba a un tiempo de extracción de 15 minutos en el equipo microondas:

La Tabla 3.19 muestra los resultados de análisis obtenidos para un tiempo de extracción de 15 minutos; en el número de vial se especifica con la letra “B” el nivel bajo y con la letra “A” el nivel alto.

Tabla 3.19. Resultados de análisis a un tiempo de extracción de 15 minutos

Vial	Peso de la muestra (g)	Volumen S-316 (mL)	Lectura Muestra (mg/L)	Resultado (mg/kg)	Valor teórico corregido (mg/kg)	Recuperación (%)	Promedio de recuperación (%)
1-B	1,97	10	47,9000	243,1	287,4	84,6	89,9
2-B	1,91	10	93,3610	488,8	586,6	83,3	
3-B	2,00	10	158,1651	790,8	835,9	94,6	
4-B	1,97	10	193,9263	984,4	1085,2	90,7	
5-A	1,99	10	290,7055	1460,8	1617,3	90,3	
6-A	2,00	10	586,9319	2934,7	3113,1	94,3	
7-A	2,00	10	936,3626	4681,8	5107,5	91,7	

Prueba a un tiempo de extracción de 20 minutos en el equipo microondas:

La Tabla 3.20 muestra los resultados de análisis obtenidos para un tiempo de extracción de 20 minutos; en el número de vial se especifica con la letra “B” el nivel bajo y con la letra “A” el nivel alto.

Tabla 3.20. Resultados de análisis a un tiempo de extracción de 20 minutos

Vial	Peso de la muestra (g)	Volumen S-316 (mL)	Lectura Muestra (mg/L)	Resultado (mg/kg)	Valor teórico corregido (mg/kg)	Recuperación (%)	Promedio de recuperación (%)
1-B	2,00	10	31,9483	159,7	221,2	72,2	89,6
2-B	2,04	10	89,3807	438,1	523,7	83,7	
3-B	2,05	10	140,3282	684,5	775,7	88,2	
4-B	2,01	10	197,0823	980,5	1027,8	95,4	
5-A	2,02	10	302,7043	1498,5	1567,3	95,6	
6-A	2,03	10	611,0082	3009,9	3079,6	97,7	
7-A	2,00	10	964,7406	4823,7	5096,0	94,7	

En la tabla 3.21 se presenta el promedio del porcentaje de recuperación obtenido para cada tiempo de extracción probado.

Tabla 3.21. Resumen de la optimización del tiempo de extracción

Tiempo (min)	Promedio de recuperación (%)
5	97,8
10	98,4
15	89,9
20	89,6

La Tabla 3.21 resume el promedio de recuperación obtenido para cada tiempo analizado, sin valores atípicos; se observa que no existe variaciones considerables para 5 y 10 minutos, sin embargo se observa menores recuperaciones para 15 y 20 minutos de extracción. Según estudios publicados por varios autores, el tiempo de extracción para hidrocarburos totales de

petróleo en suelos no es un factor significativo en rangos de tiempo de entre 5 y 30 minutos. [16][18] En esta etapa del estudio, se observó experimentalmente que un tiempo de extracción de 5 a 10 minutos es suficiente para alcanzar buenos porcentajes de recuperación de las muestras fortificadas. Para el propósito de investigación y optimización del presente método propuesto, se seleccionó un tiempo de 10 minutos de extracción como valor óptimo.

3.2. RESULTADOS DE LA VALIDACIÓN DEL MÉTODO MAE

3.2.1. LINEALIDAD

Para evaluar el parámetro de linealidad se elaboraron 4 curvas de calibración durante los 4 días de validación, una para cada día; cada curva está compuesta de 7 niveles de concentración (5, 50, 150, 300, 500, 1000 y 1500 mg/L) (Anexo 5-8); estos niveles al ser relacionados con la cantidad de muestra y volumen de solvente optimizados en la primera etapa del estudio, resulta en un rango de concentraciones entre 25 y 7500 mg/kg. La Tabla 3.22 muestra los valores de pendiente y coeficiente de correlación obtenidos de las curvas de calibración realizadas.

Tabla 3.22. Resumen de los datos de las curvas de calibración en los 4 días de validación

	Día 1	Día 2	Día 3	Día 4
Pendiente (m)	6,9566	6,7693	6,8906	6,5795
R ²	0,9998	0,9999	0,9994	0,9998

La tabla anterior comprueba que se alcanzó el objetivo de validación propuesto para linealidad al obtener un coeficiente de correlación R^2 mayor a 0,99 para todos los días de validación; esto permite demostrar que, dentro del intervalo de concentraciones de estudio, la función es lineal y por lo tanto la estimación de la concentración del analito en relación a la señal del equipo es más confiable.

3.2.2. LÍMITE DE DETECCIÓN, LÍMITE DE CUANTIFICACIÓN E INTERVALO DE TRABAJO

Para estimar el límite de detección y cuantificación de todo el proceso de extracción, se fortificaron muestras de blanco de suelo en 5 niveles bajos de concentración dentro del rango de la curva de calibración; también se corrió un blanco para establecer la relación de ruido del equipo; aquel resultado en el cual el equipo presentó una lectura positiva, se consideró como el límite de detección y el resultado en el cual se obtuvo una recuperación de $100 \pm 10 \%$ se consideró como el límite de cuantificación; la Tabla 3.23 muestra los resultados del ensayo.

Tabla 3.23. Resumen de la determinación del límite de detección y cuantificación

Punto en el rango (mg/kg)	Estándar de fortificación (mg/L)	Lectura (mg/L)	Resultado (mg/kg)	Valor teórico corregido (mg/kg)	Recuperación (%)
Blanco	0	-0,5665	0	-	-
25	5	7,4884	37,4	22,4	167,0
50	10	15,3475	76,4	47,7	160,2
100	20	19,1134	95,1	98,2	96,9
250	50	52,8929	258,0	249,7	103,3
500	100	102,8732	499,4	502,3	99,4

La Tabla 3.23. muestra que a cada nivel de concentración se obtuvieron lecturas en el equipo y que a 100 mg/kg se obtuvo una recuperación dentro del límite establecido de $100 \pm 10 \%$; por lo tanto se consideró 25 mg/kg como límite de detección y 100 mg/kg como límite de cuantificación del método, tomando en cuenta que para cada caso la relación señal-ruido es superior a la recomendada (2:1 para el límite de detección y entre 3:1 y 10:1 para el límite de cuantificación). Con esto además se establece un intervalo de trabajo confiable de 100 - 7500 mg/kg.

3.2.3. REPETIBILIDAD Y REPRODUCIBILIDAD

Para estimar la variabilidad entre los datos obtenidos en condiciones de repetibilidad y reproducibilidad, se fortificaron blancos de suelo en 4 niveles de concentración (250, 1000, 2500 y 5000 mg/kg), cada nivel por triplicado y durante 3 días.

Las Tablas 3.24, 3.25, 3.26 y 3.27 presentan los resultados de análisis para cada nivel de concentración por triplicado y para cada día de validación; también se encuentran calculadas y tabuladas las medias, las desviaciones estándar y los coeficientes de variación para la precisión de repetibilidad (“r”) y para la precisión de reproducibilidad (“R”):

Tabla 3.24. Resumen de precisión de repetibilidad y reproducibilidad, estándar de 250 mg/kg

Resultados por triplicado (mg/kg)				Precisión de repetibilidad			
Día	1	2	3	Media "r"	s "r"	C.V. (%)	Recuperación (%)
1	281,65	238,01	272,68	264,11	23,04	8,73	105,65
2	300,30	278,63	248,00	275,64	26,28	9,53	110,26
3	272,66	276,58	236,47	261,91	22,11	22,93	104,76
Precisión de reproducibilidad			Media "R"	267,22	23,81	8,90	106,89
			s "R"	2164			
			C.V. (%)	8,10			

Tabla 3.25. Resumen de precisión de repetibilidad y reproducibilidad, estándar de 1000 mg/kg

Resultados por triplicado (mg/kg)				Precisión de repetibilidad			
Día	1	2	3	Media "r"	s "r"	C.V. (%)	Recuperación (%)
1	888,54	955,73	957,70	933,99	39,37	4,22	93,40
2	1022,85	1004,10	935,01	987,32	46,26	4,69	98,73
3	920,31	975,50	997,82	964,55	39,90	4,14	96,45
Precisión de reproducibilidad			Media "R"	961,95	41,84	4,35	96,20
			s "R"	43,10			
			C.V. (%)	4,48			

Tabla 3.26. Resumen de precisión de repetibilidad y reproducibilidad, estándar de 2500 mg/kg

Resultados por triplicado (mg/kg)				Precisión de repetibilidad			
Día	1	2	3	Media "r"	s "r"	C.V. (%)	Recuperación (%)
1	2573,15	2560,49	2521,60	2551,75	26,87	1,05	102,07
2	2594,78	2474,23	2626,84	2565,28	80,46	3,14	102,61
3	2402,30	2390,49	2448,83	2413,87	30,84	1,28	96,55
Precisión de reproducibilidad			Media "R"	2510,30	46,06	1,82	100,41
			s "R"	85,45			
			C.V. (%)	3,40			

Tabla 3.27. Resumen de precisión de repetibilidad y reproducibilidad, estándar de 5000 mg/kg

Día	Resultados por triplicado (mg/kg)			Precisión de repetibilidad			
	1	2	3	Media "r"	s "r"	C.V. (%)	Recuperación (%)
1	5045,91	4952,47	5110,18	5036,19	79,31	1,57	100,72
2	4979,30	5221,51	5118,45	5106,42	121,55	2,38	102,13
3	4862,77	4755,38	4576,00	4731,38	144,88	3,06	94,63
Precisión de reproducibilidad			Media "R"	4958,00	115,25	2,34	99,16
			s "R"	200,81			
			C.V. (%)	4,05			

Tabla 3.28. Resumen de variabilidad, repetibilidad y reproducibilidad

Estándar (mg/kg)	Repetibilidad (%)	Reproducibilidad (%)	Recuperación (%)
250	8,90	8,10	106,89
1000	4,35	4,48	96,20
2500	1,82	3,40	100,41
5000	2,34	4,05	99,16
Promedio	4,35	5,01	100,66

La Tabla 3.28 muestra la variabilidad en términos de coeficiente de variación de los resultados de los triplicados (repetibilidad, menor variación esperada) en los 3 días de análisis (reproducibilidad, mayor variación esperada); para cada concentración se obtuvieron variaciones menores al 10% y porcentajes de recuperación de $100 \pm 10\%$, lo que demuestra la alta confiabilidad del método en términos de precisión al proveer resultados reproducibles; además estos valores expresan de manera cualitativa la robustez del método al considerar variaciones pequeñas de condiciones operativas.

3.2.4. EXACTITUD

La exactitud fue determinada mediante el análisis de material de referencia certificado. Se usó dos materiales de referencia cuyas características se especifican en la Tabla 3.29; al primero (MRC-1) se lo analizó por triplicado en condiciones de repetibilidad, mientras que al segundo (MRC-2) se lo trató en condiciones de reproducibilidad. Las Tablas 3.30 y 3.31 presentan los resultados de análisis y el porcentaje de recuperación de los materiales de referencia certificados.

Tabla 3.29. Especificaciones del MRC utilizado

Nombre	Catálogo N°	Lote N°	Valor certificado (mg/kg)	Límites de aceptación (mg/kg)
MRC-1	570	D071-632	1570	725-2120
MRC-2	570	D069-632	1220	518-1660

Tabla 3.30. Resultados de análisis de MRC-1 en condiciones de repetibilidad

Lectura	Peso de la muestra (g)	Volumen S-316 (mL)	Lectura Muestra (mg/L)	Resultado (mg/kg)	Valor teórico (mg/kg)	Recuperación (%)
1	1,99	10	290,2928	1458,8	1570	92,91
2	2,00	10	283,8226	1419,1	1570	90,39
3	2,09	10	360,0545	1722,7	1570	109,73

Tabla 3.31. Resultados de análisis de MRC-2 en condiciones de reproducibilidad

Día	Peso de la muestra (g)	Volumen S-316 (mL)	Lectura Muestra (mg/L)	Resultado (mg/kg)	Valor teórico (mg/kg)	Recuperación (%)
1	2,01	10	251,5237	1251,4	1220	102,57
2	2,01	10	250,9612	1248,6	1220	102,34
3	2,02	10	227,2284	1124,9	1220	92,20

Según los resultados de los porcentajes de recuperación obtenidos para cada material de referencia analizado, la exactitud cumple con el objetivo de validación planteado; para cada análisis individual se obtuvo una recuperación de $100 \pm 10\%$ con respecto al valor certificado y todos los valores se encuentran dentro de los límites aceptables, lo que sugiere una buena eficiencia de extracción.

3.2.5. APLICABILIDAD DEL MÉTODO

Se aplicó el método propuesto de Extracción Asistida por Microondas analizando una muestra contaminada con hidrocarburos y una muestra de material de referencia certificado, en paralelo con el método de extracción por Ultrasonido; las muestras se analizaron por triplicado en condiciones de repetibilidad. Para la Extracción Asistida por Microondas se siguió las condiciones de ensayo establecidas en la etapa de optimización del proceso de extracción, es decir: 2 g de muestra de suelo, 10 mL de solvente, 40 °C de temperatura programada en el equipo microondas durante un tiempo de 10 minutos y realizando la limpieza de impurezas con 1 g de sílica gel. Las condiciones de ensayo empleando la técnica de extracción por Ultrasonido fueron las siguientes: 3 g de muestra de suelo, 10 mL de solvente, 3 periodos de 20 minutos en el baño Ultrasonido con etapas de enfriamiento de 5 minutos luego de cada periodo y una etapa final de clean-up con 1 g de sílica gel. Las Tablas 3.32, 3.33, 3.34 y 3.35 muestran los resultados de análisis:

Tabla 3.32. Resultado de análisis de muestra contaminada extraída por Microondas

Vial	Peso (g)	Lectura (mg/L)	Resultado (mg/kg)	Media (mg/kg)
1	1,99	765,4016	3846,2	4528,4
2	2,00	833,9707	4169,9	
3	2,01	1119,4107	5569,2	

Tabla 3.33. Resultado de análisis de muestra contaminada extraída por Ultrasonido

Vial	Peso (g)	Lectura (mg/L)	Resultado (mg/kg)	Media (mg/kg)
1	3,07	1569,5898	5112,7	4927,9
2	3,03	1392,6769	4596,3	
3	3,00	1522,3717	5074,6	

Como se observa en las Tablas 3.32 y 3.33, las 2 técnicas de extracción proporcionaron resultados semejantes, con un error entre sí calculado con respecto a la media de 4,2%; esto sugiere que la técnica de Extracción Asistida por Microondas es capaz de aportar resultados equivalentes a técnicas válidas como la extracción por Ultrasonido, con la ventaja de aminorar en gran medida el tiempo de análisis.

Tabla 3.34. Resultado de análisis de MRC-1 extraído por Microondas

Vial	Peso (g)	Lectura (mg/L)	Resultado (mg/kg)	Recuperación (%)	Valor teórico (mg/kg)	Promedio de recuperación (%)
1	1,99	291,6453	1465,6	93,3	1570	98,0
2	2,00	285,1246	1425,6	90,8	1570	
3	2,04	351,9521	1725,3	109,9	1570	

Tabla 3.35. Resultado de análisis de MRC-1 extraído por Ultrasonido

Via	Peso (g)	Lectura (mg/L)	Resultado (mg/kg)	Recuperación (%)	Valor teórico (mg/kg)	Promedio de recuperación (%)
1	3,00	439,3086	1464,4	93,3	1570	93,4
2	3,00	425,6774	1418,9	90,4	1570	
3	3,01	456,5026	1516,6	96,6	1570	

Según lo indican las tablas 3.34 y 3.35, las 2 técnicas ofrecen recuperaciones por sobre el 90% demostrando la eficacia de extracción para cada una de ellas; sin embargo es notable destacar la superior recuperación obtenida empleando la técnica de Extracción Asistida por Microondas.

CAPÍTULO IV

4. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

4.1. CONCLUSIONES

El estudio realizado de la determinación de Hidrocarburos Totales de Petróleo empleando la técnica de Extracción Asistida por Microondas y cuantificación por Espectrofotometría de Infrarrojos permitió establecer una técnica eficiente tanto en la etapa de preparación de la muestra y extracción de los analitos, como también en la cuantificación de los mismos; esta técnica logró adecuarse a la necesidad de recurrir a menores tiempos de análisis y mayor productividad en cuanto a análisis realizados.

Experimentalmente se establecieron con éxito las condiciones óptimas de extracción en el equipo microondas. Los resultados finales fueron los siguientes: volumen de solvente adecuado para la extracción de analitos = 10 mL de S-316, peso de la muestra = 2 g, tiempo de extracción = 10 minutos, temperatura de extracción = 40 °C y cantidad de sílica para eliminación de interferencias = 1 g; estos resultados lograron satisfacer los objetivos de conseguir la aplicación de una técnica de bajo consumo de solvente, bajo tiempo de análisis y mayor cantidad de análisis realizados (hasta 40 muestras analizadas simultáneamente), con lo

cual se logró un mejor entendimiento de la relación e influencia de cada una de las condiciones durante todo el proceso analítico; la interpretación de la influencia de estas variables en la extracción mediante microondas puede dar paso a estudios posteriores de mejoramiento del método o de métodos similares, o para el estudio de fracciones puntuales de hidrocarburos analizados con distintos métodos de cuantificación.

Gracias a los resultados obtenidos en la validación, el método propuesto satisface la necesidad analítica de regirse a los parámetros adecuados para el desarrollo experimental de la técnica; fue capaz de obtener resultados eficientes y confiables de acuerdo a los objetivos de validación propuestos: se obtuvo coeficientes de correlación superiores a 0,99, garantizando la linealidad y proporcionalidad de los resultados; se logró un límite de detección de 25 mg/kg y un límite de cuantificación de 100 mg/kg por sobre el cual se garantiza la precisión, exactitud y robustez del método propuesto; además, este resultado permite garantizar el alcance del método en cuanto a los límites permisibles de TPH's en suelos contemplados en la legislación ecuatoriana (< 2500 mg/kg para suelo agrícola, < 4000 mg/kg para suelo industrial y < 1000 mg/kg para ecosistemas sensibles); el intervalo de trabajo adecuado para la extracción por microondas se estableció entre 100 mg/kg a 7500 mg/kg; se obtuvieron coeficientes de variación menores al 10% para la menor y mayor precisión esperada en el desarrollo de la extracción; finalmente los resultados de exactitud en cuanto a los porcentajes de recuperación en materiales de referencia fue satisfactorio ($100 \pm 10\%$).

Fue posible la aplicación del procedimiento propuesto frente a otro método convencional, validado, reconocido y confiable como es la técnica de extracción por Ultrasonido; en el análisis muestras contaminadas, se obtuvieron resultados analíticos equivalentes, con un error entre sí con respecto a la media de 4,2%, lo que sugiere una alta eficiencia del método de extracción asistida por microondas; la comparación de los métodos en la recuperación de material de referencia certificado también produjo resultados óptimos (98% de recuperación por MAE vs. 93,4% de recuperación por Ultrasonido); a todo esto se suma la clara ventaja de la extracción por microondas de proporcionar resultados altamente confiables en un tiempo mucho menor y con mayor productividad en análisis realizados.

4.2. RECOMENDACIONES

El desarrollo de este método analítico provee una alternativa para la determinación de hidrocarburos totales de petróleo en muestra de suelo, por lo que se recomienda su uso en los análisis de rutina en laboratorios ambientales, satisfaciendo altas demandas de análisis en un periodo de tiempo menor.

Para el propósito y alcance del presente trabajo se eligió un solvente preestablecido en estudios previos, por su efectividad de extracción, por no interferir en la cuantificación por espectrofotometría de infrarrojos, por no representar un riesgo para el uso con energía microondas (inflamabilidad de ciertos solventes) y por ser un solvente relativamente no

tóxico; la limitación del uso de ciertos solventes debido a la toxicidad, inflamabilidad de los mismos o por su incapacidad de absorber energía microondas podría ser una desventaja notoria para esta técnica. Por esta razón se recomienda estudios a profundidad para evaluar la efectividad de diferentes solventes o combinación de solventes empleando la Extracción Asistida por Microondas junto con otros métodos analíticos de detección y cuantificación que permitan extender el conocimiento y aplicabilidad de la técnica.

La combinación de la técnica de Extracción Asistida por Microondas y la cuantificación por Espectrofotometría de Infrarrojos otorga una alternativa fácil y rápida para la determinación de hidrocarburos totales de petróleo como un indicador primario de contaminación; así, de requerirse analizar componentes puntuales de los hidrocarburos con el fin de realizar estudios más específicos, lo recomendable es inclinarse por técnicas de separación y cuantificación como la Cromatografía de Gases con detector FID o MS.

BIBLIOGRAFÍA

- [1] Castro, G. (2007). *Monitoreo frente derrames de hidrocarburos*. Informe Final, Proyectos y Asesorías Ambientales, Chile.
- http://www.sag.gob.cl/sites/default/files/INFORME_FINAL_ASESORIA_SAG_HCS2.pdf, 17 de febrero de 2013.
- [2] U.S. Department of Health and Human Services, (1999), *Toxicological Profile for Total Petroleum Hydrocarbons*. Agency for Toxic Substances and Disease Registry, Atlanta, United States. <http://www.atsdr.cdc.gov/toxprofiles/tp123-p.pdf>, 10 de octubre de 2012.
- [3] Alemán, A. (2009). *Determinación de hidrocarburos totales del petróleo en suelos y sedimentos de la cuenca del río Coatzacoalcos*. Tesis de Ingeniería Química, Universidad Veracruzana, México.
- [4] Allinger, N., Cava, M., de Jongh, D., Johnson, C., Lebel, N. and Stevens, C. (1971). *Organic Chemistry*. Second Edition, Worth Publishers, New York.
- [5] Astle, M. and Shelton, R. (1959). *Organic Chemistry*. Second Edition, Harper & Brothers, New York.
- [6] Arce, J., Fernández, L., Hernández, D., Hernández, R., Ramírez, M., Rojas, N., Roldán, T., Uribe, R. y Zegarra H., (2006). *Manual de técnicas de análisis de suelos*

aplicadas a la remediación de sitios contaminados. Primera edición, Editorial del Deporte Mexicano, México D.F.

- [7] Department of Environmental Protection, (2004). *Method for the determination of extractable petroleum hydrocarbons (EPH)*. Massachusetts Department of Environmental Protection, United States.
- [8] Pons, M., (2010). *Extracción de hidrocarburos y compuestos derivados del petróleo en suelos agrícolas de la cuenca baja del río Tonalá*. Tesis de grado de Maestra en Ciencias, Programa de maestría en producción agroalimentaria en el trópico, Colegio de Postgraduados, México.
- http://www.biblio.colpos.mx:8080/jspui/bitstream/10521/78/1/Pons_Jimenez_M_MC_Gerencia%20Ambiental_2010.pdf, 10 de octubre de 2012.
- [9] Padilla, R. (1989). *Determinación de los Niveles de Hidrocarburos en Sedimentos Recientes del Río Calzadas en la Región del Bajo Río Coatzacoalcos*, Tesis de Licenciatura, Universidad Nacional Autónoma de México, México.
- [10] Heath, J., Koblis, K. y Sager, S. (1993). Review of Chemical, Physical, and Toxicologic Properties of Components of Total Petroleum Hydrocarbons, *Journal of Soil Contamination*, 2, 1, pp 14-21.
- [11] Romero, D. (2010). *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 de Licenciatura en Ciencias Químicas, Pontificia Universidad Católica del Ecuador, Ecuador.

- [12] *Decreto 1215* (2001), Registro Oficial N° 265, 13 de febrero de 2001.
- [13] Roy J., I., (1997), *Environmental Contaminants Encyclopedia*, <http://www.nature.nps.gov/hazardssafety/toxic/tph.pdf>, 3 de mayo de 2012.
- [14] Brian W., R., (1994), *Microwave assisted extraction*, American Laboratory, pp. 34. <http://www.cem.de/documents/pdf/RE/RE014.PDF>, 7 de mayo de 2012.
- [15] Total Petroleum Hydrocarbon Criteria Working Group Series, (1998), *Analysis of Petroleum Hydrocarbons in Environmental Media*, Volume 1, Amherst Scientific Publishers, Massachusetts.
- [16] Letellier, M. and Budzinski, H., (1999), *Microwave assisted extraction of organic compounds*, Université Bordeaux, pp. 259 <http://analisis.edpsciences.org>, 3 de Enero de 2012.
- [17] LeBlanc, G. (1999). Microwave-accelerated techniques for solid sample extraction. *LC GC*, 17(6), 6-S30. <http://search.proquest.com/docview/209761219?accountid=13357>, 27 de marzo de 2013.
- [18] Lopez-Avila, V., Young, R. and Beckert, W. (1994). Microwave-assisted extraction of organic compounds from standard reference soils and sediments. *Analytical Chemistry*, 66(7), pp 1097-1 106.
- [19] California Environmental Protection Agency, (2000), *Microwave-Accelerated Reaction System, Model MARS-X, for the Extraction of Organic Pollutants from Solid Matrices*, CEM Corporation, United States. <http://www.p2pays.org/ref/14/13364.pdf>, 10 de septiembre de 2011.

- [20] Microondas, <http://campus.usal.es/~Inorganica/zona-alumnos/erf-tecnospec/Microondas.pdf>, 24 de abril de 2012.
- [21] CEM Corporation, (s.f.), CEM MARS 5 Microwave Accelerated Reaction System, http://www.ietltd.com/pdf_datasheets/Mars%205%20Data%20Sheet.pdf, 15 de junio de 2012.
- [22] American Society for Testing Materials. (1995). *Standard Test Method for dimer/trimer of chlorotrifluoroethylene (S-316) Recoverable Oil and Grease and Nonpolar Material by Infrared Determination*, Standard Test Method, ASTM International, United States.
- [23] Hoja de seguridad, Material Safety Data Sheet S-316.
- [24] Gleason, J., (s.f.), *Environmental analyses via microwave-assisted extraction*, CEM corp. <http://www.cem.de/documents/pdf/RE/RE018.PDF>, 5 de mayo de 2012.
- [25] Falero, A. y Pérez, C. (2005). *Algunas consideraciones acerca de la validación de métodos analíticos*. Tercer Congreso Virtual Iberoamericano sobre Gestión de Calidad en Laboratorios, Departamento de Procesos Biotecnológicos, Centro Nacional de Investigaciones Científicas, Cuba.
- [26] Maroto, A. (2002). *Incertidumbre en métodos analíticos de rutina*. Tesis Doctoral, Universidad Rovira I Virgili, España.
- [27] Instituto de Salud Pública, (2010). *Validación de métodos y determinación de la incertidumbre de la medición: "Aspectos generales sobre la validación de métodos"*. Santiago, Chile.

http://www.ispch.cl/sites/default/files/documento_tecnico/2010/12/Guia%20T%C3%A9cnica%201%20validaci%C3%B3n%20de%20M%C3%A9todos%20y%20determinaci%C3%B3n%20de%20la%20incertidumbre%20de%20la%20medici%C3%B3n_1.pdf,

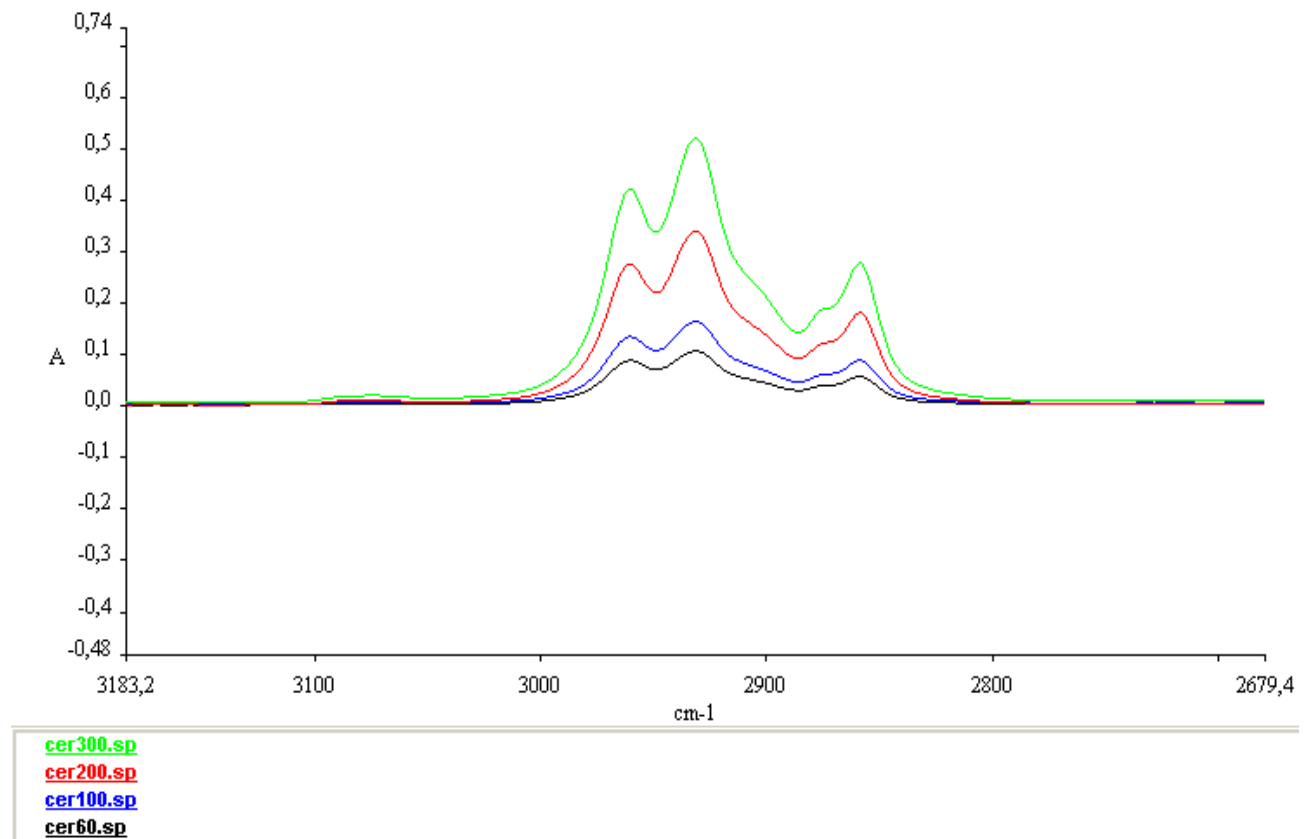
20 de febrero de 2013.

- [28] Asecal Internacional, (s.f.). *Validación de Métodos de Ensayo*. Madrid, España.

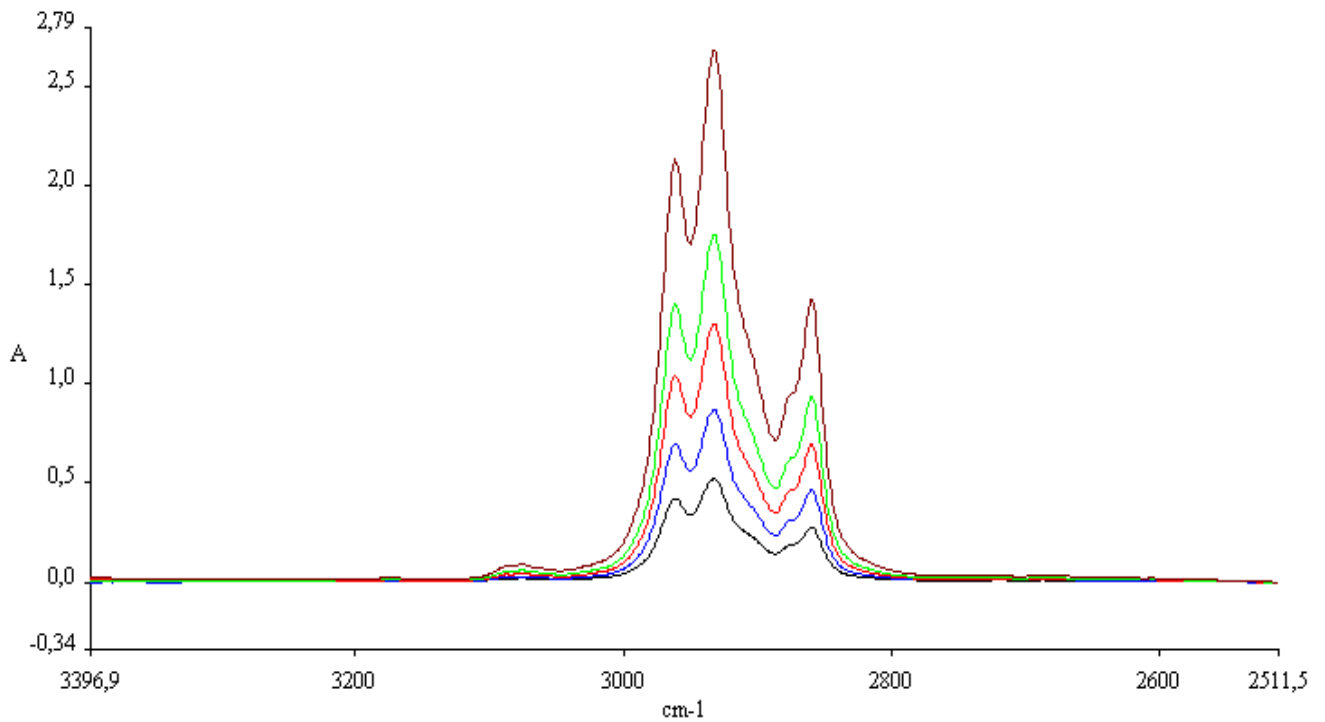
Anexos

Optimización del método

Anexo 1: Espectros infrarrojos de los estándares de calibración en rango bajo (60mg/L-300mg/L) (2750cm^{-1} - 3150cm^{-1})

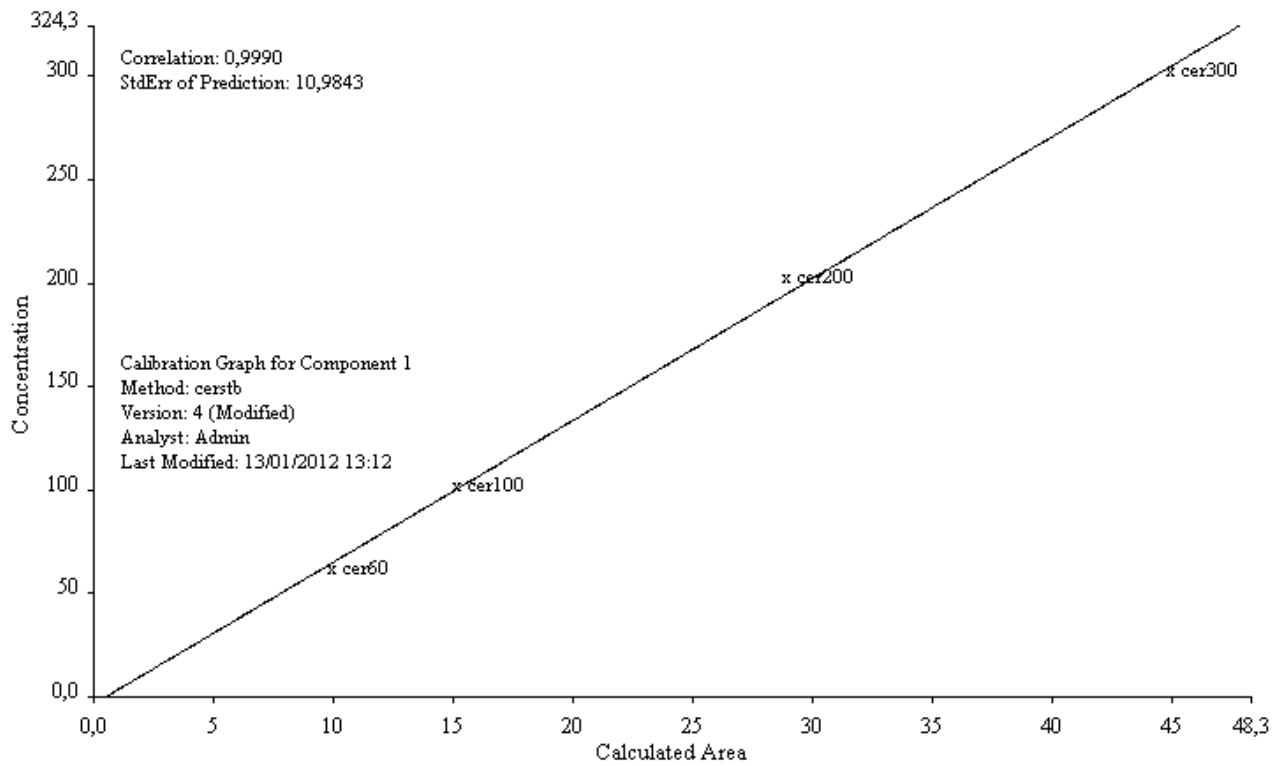


Anexo 2: Espectros infrarrojos de los estándares de calibración en rango alto (300mg/L-1500mg/L) (2750cm^{-1} - 3150cm^{-1})

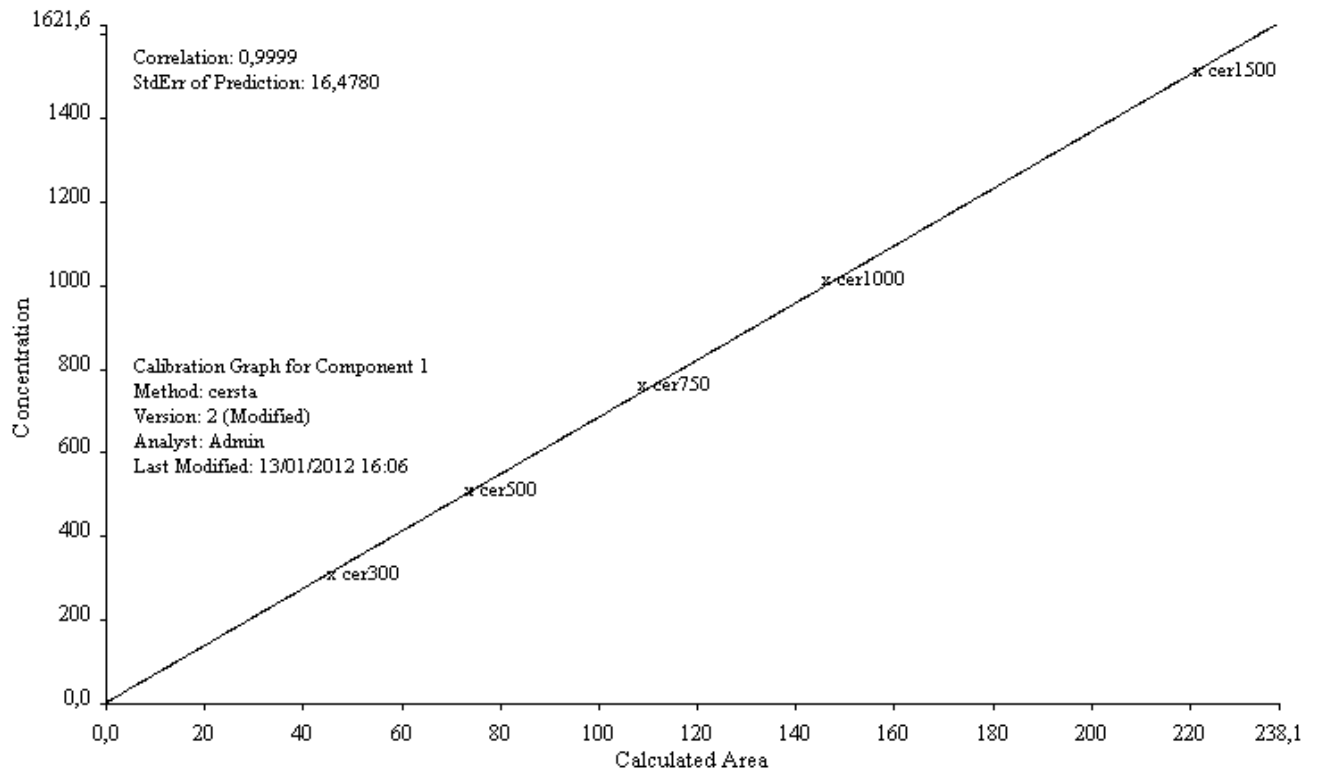


[cer1500.sp](#)
[cer1000.sp](#)
[cer750.sp](#)
[cer500.sp](#)
[cer300.sp](#)

Anexo 3: Curva de calibración en rango bajo (60 mg/L-300mg/L)

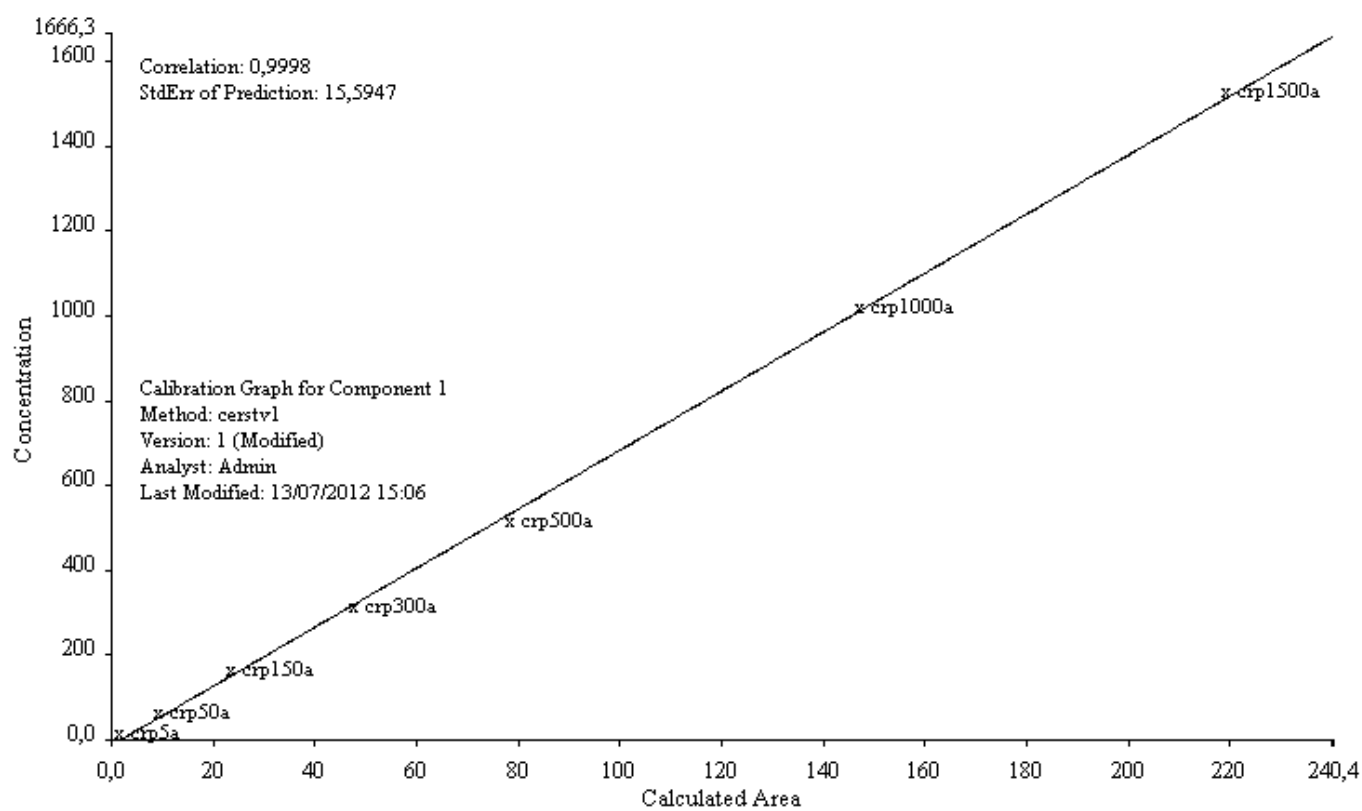


Anexo 4: Curva de calibración rango alto (300 mg/L-1500mg/L)

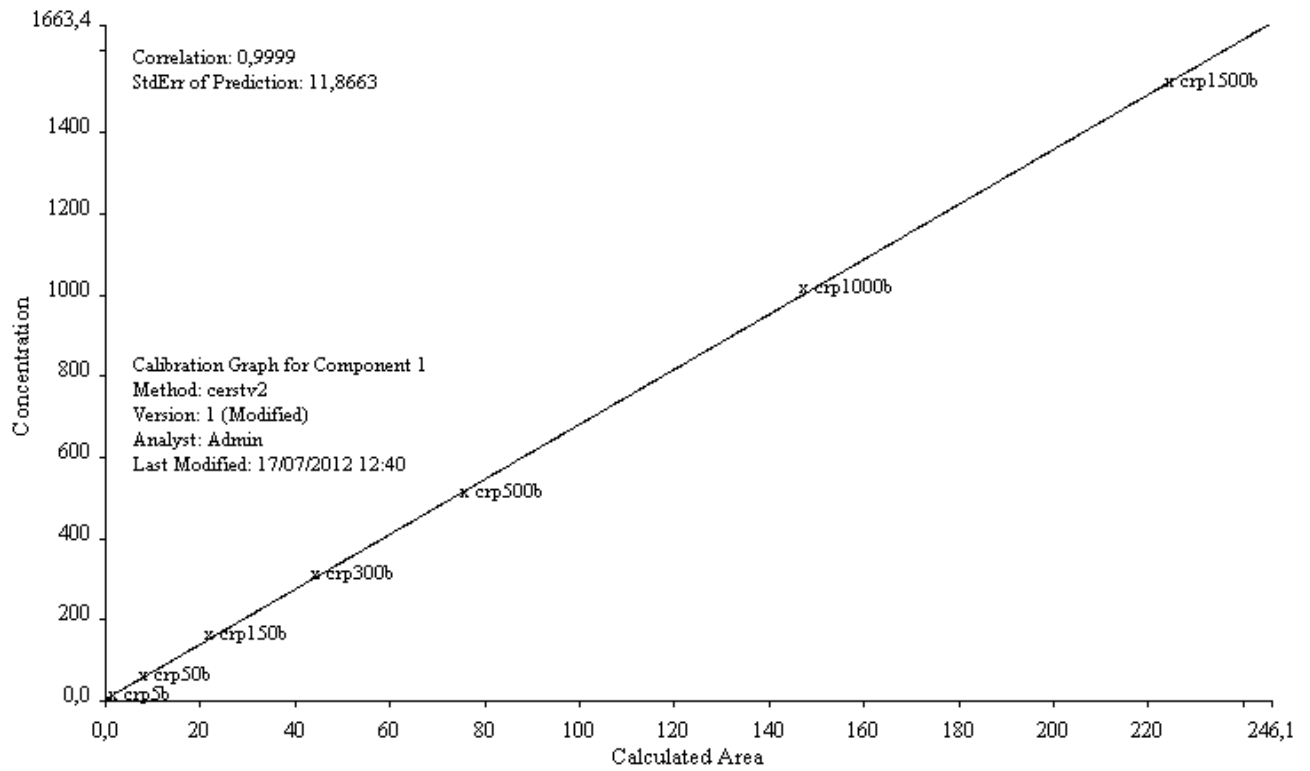


Validación del método

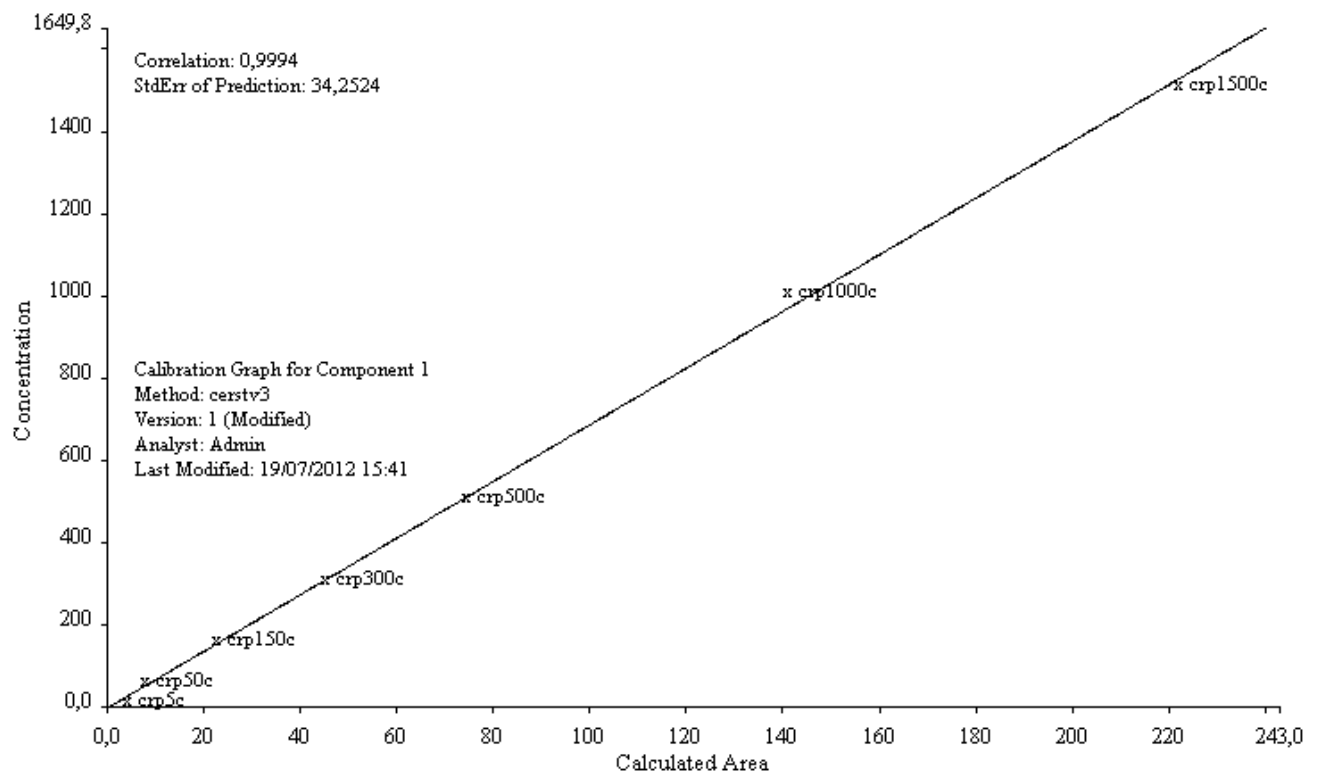
Anexo 5: Linealidad, curva de calibración del primer día de validación (5 mg/L-1500 mg/L)



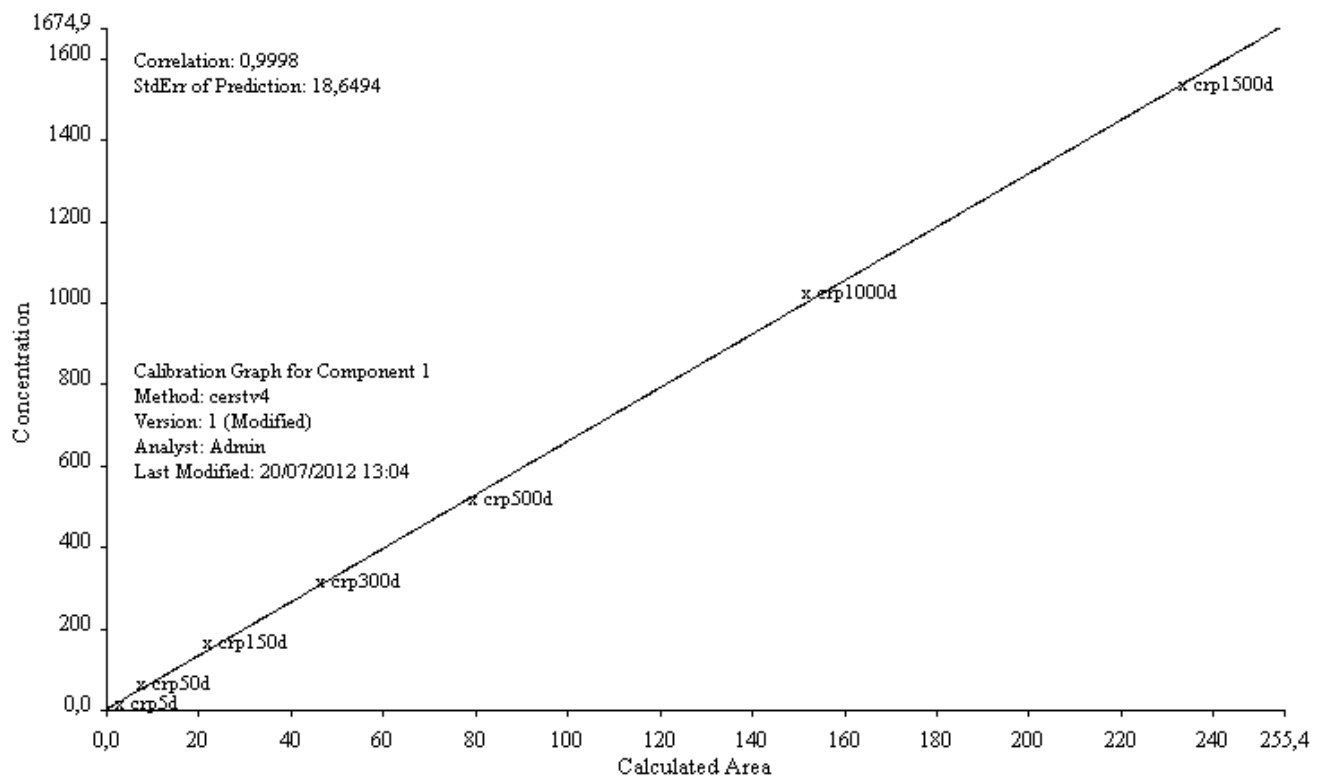
Anexo 6: Linealidad, curva de calibración del segundo día de validación (5 mg/L-1500 mg/L)



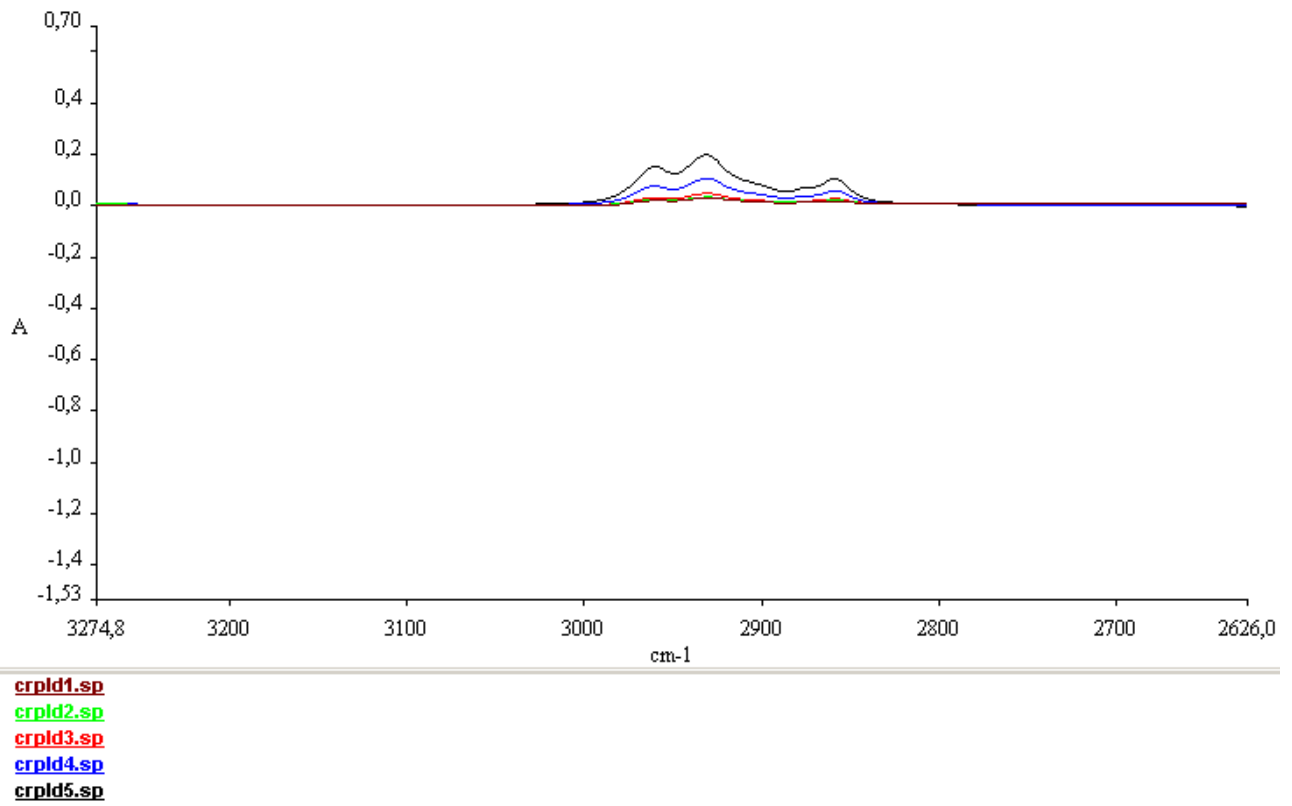
Anexo 7: Linealidad, curva de calibración del tercer día de validación (5 mg/L-1500 mg/L)



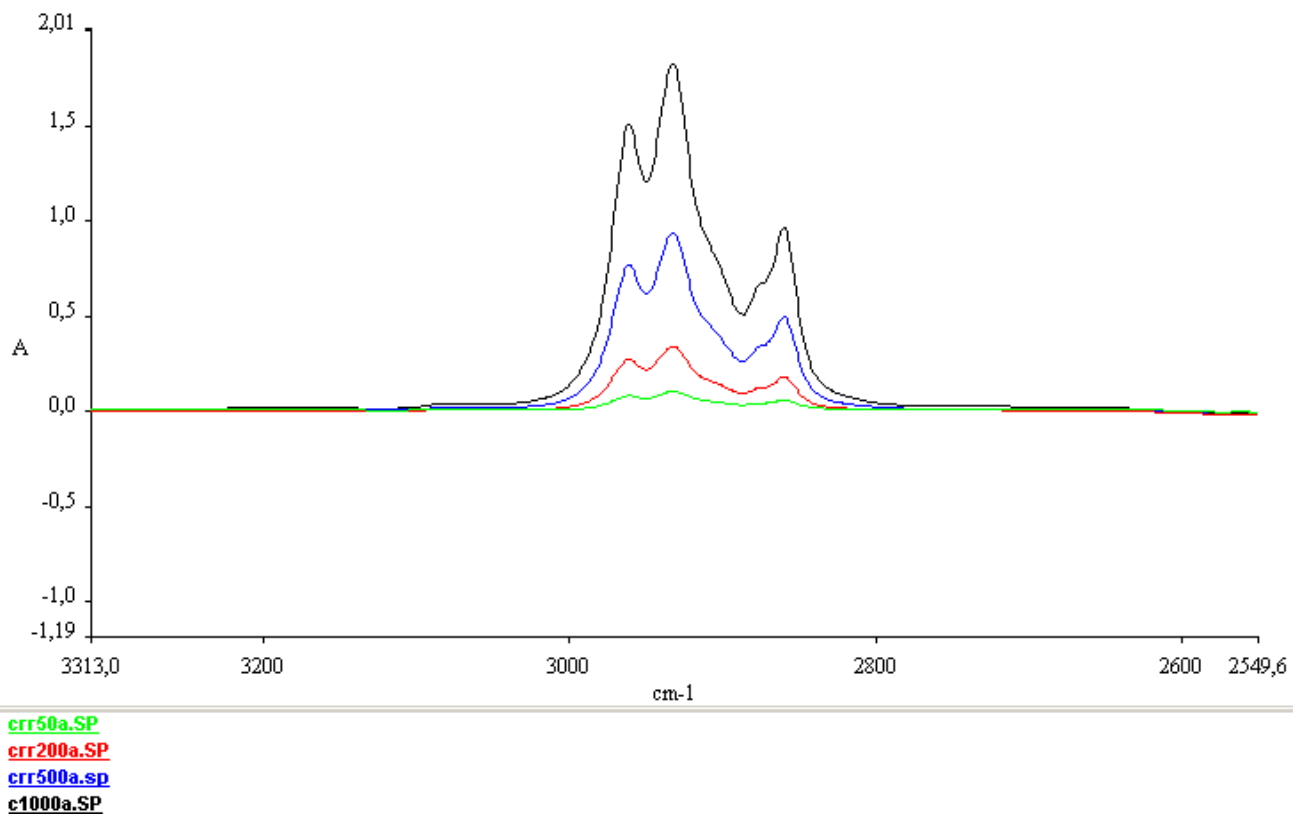
Anexo 8: Linealidad, curva de calibración del cuarto día de validación (5 mg/L-1500 mg/L)



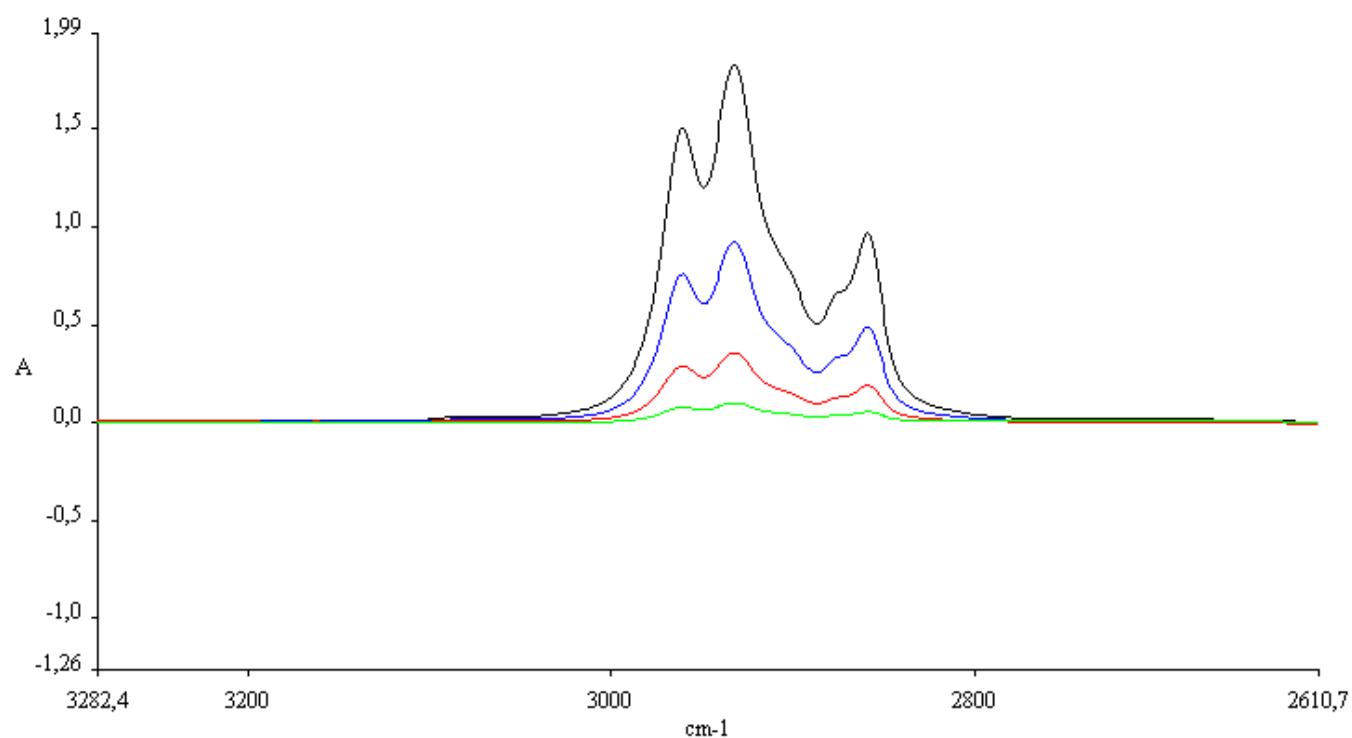
Anexo 9: Límite de detección y cuantificación, espectros infrarrojos de las fortificaciones en los 5 niveles de concentración (2750 cm^{-1} – 3150 cm^{-1})



Anexo 10: Repetibilidad y reproducibilidad, espectros infrarrojos del primer grupo del triplicado del primer día de reproducibilidad ($2750\text{ cm}^{-1} - 3150\text{ cm}^{-1}$)

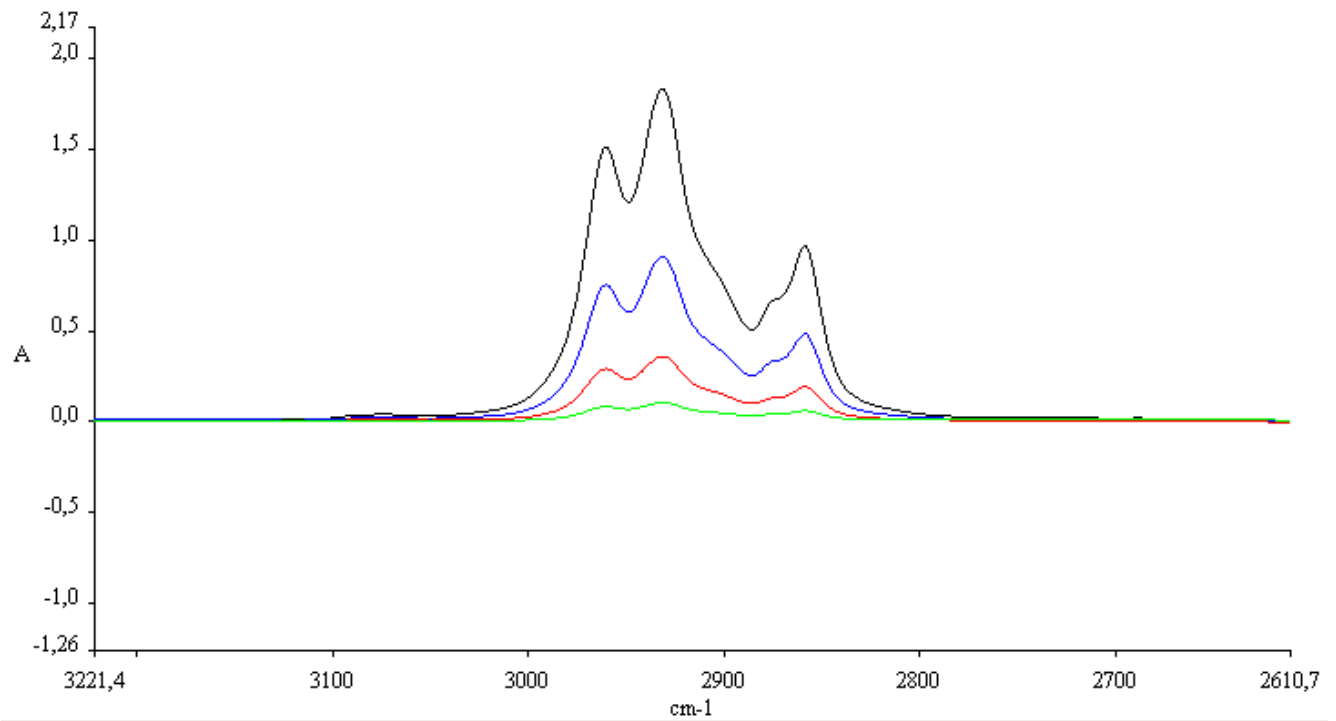


Anexo 11: Repetibilidad y reproducibilidad, espectros infrarrojos del segundo grupo del triplicado del primer día de reproducibilidad ($2750\text{ cm}^{-1} - 3150\text{ cm}^{-1}$)



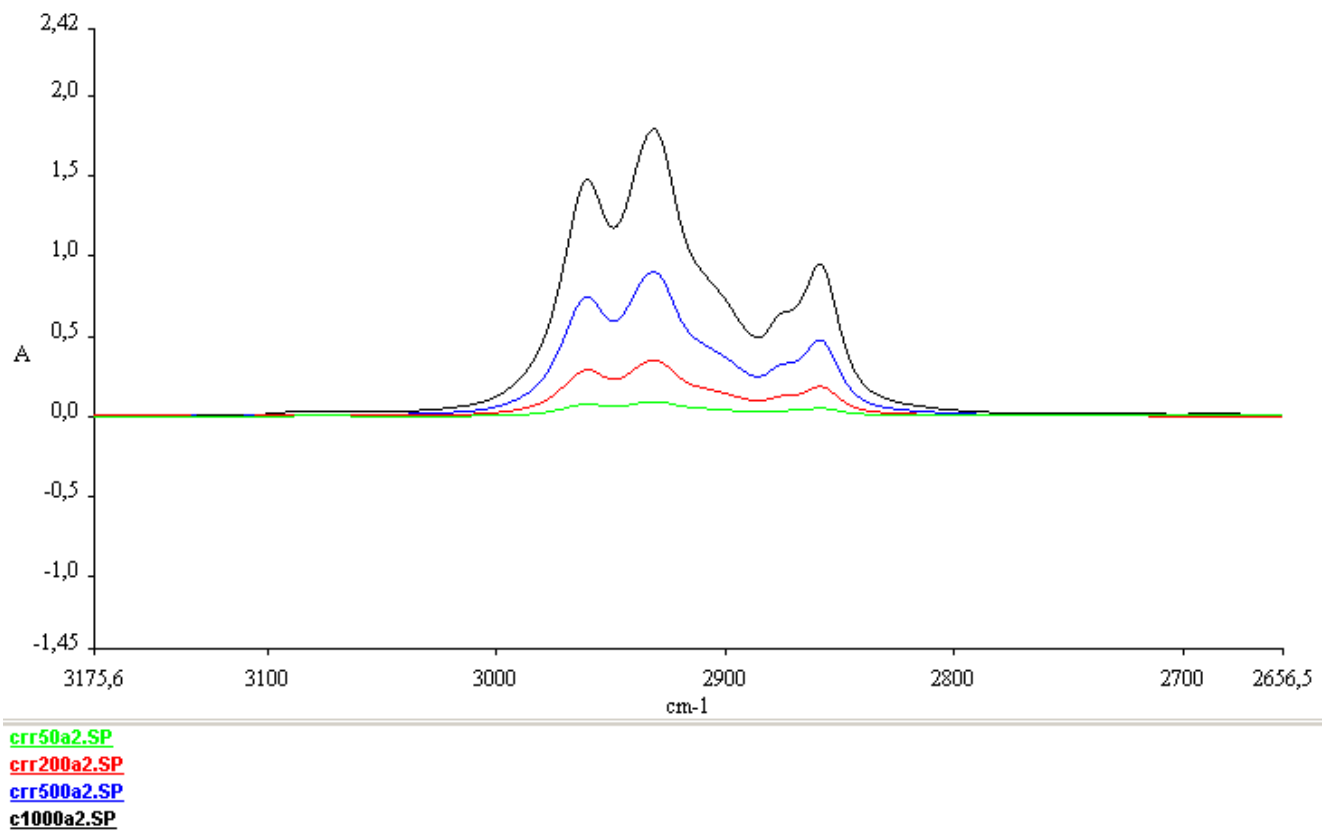
crr50b.SP
crr200b.SP
crr500b.SP
c1000b.SP

Anexo 12: Repetibilidad y reproducibilidad, espectros infrarrojos del tercer grupo del triplicado del primer día de reproducibilidad ($2750\text{ cm}^{-1} - 3150\text{ cm}^{-1}$)

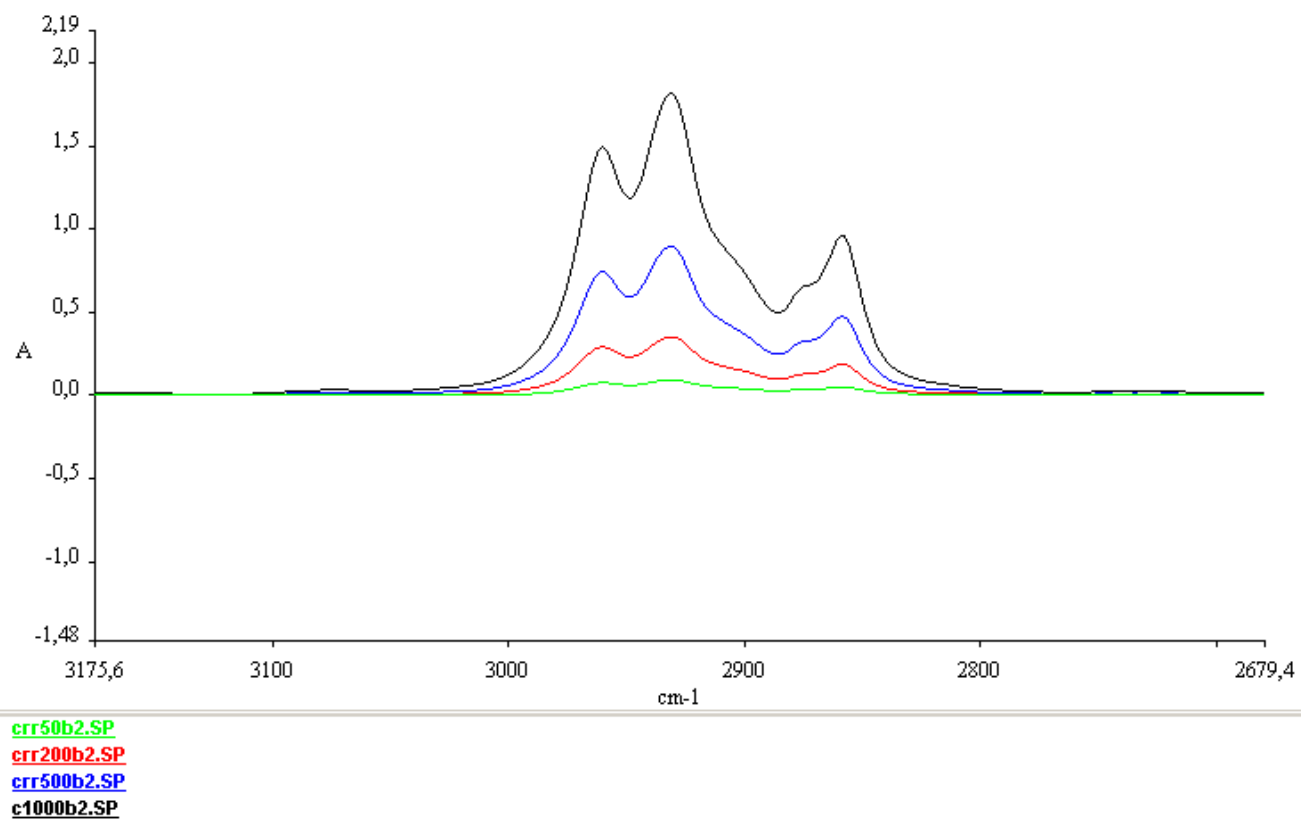


crr50c.SP
crr200c.SP
crr500c.SP
c1000c.SP

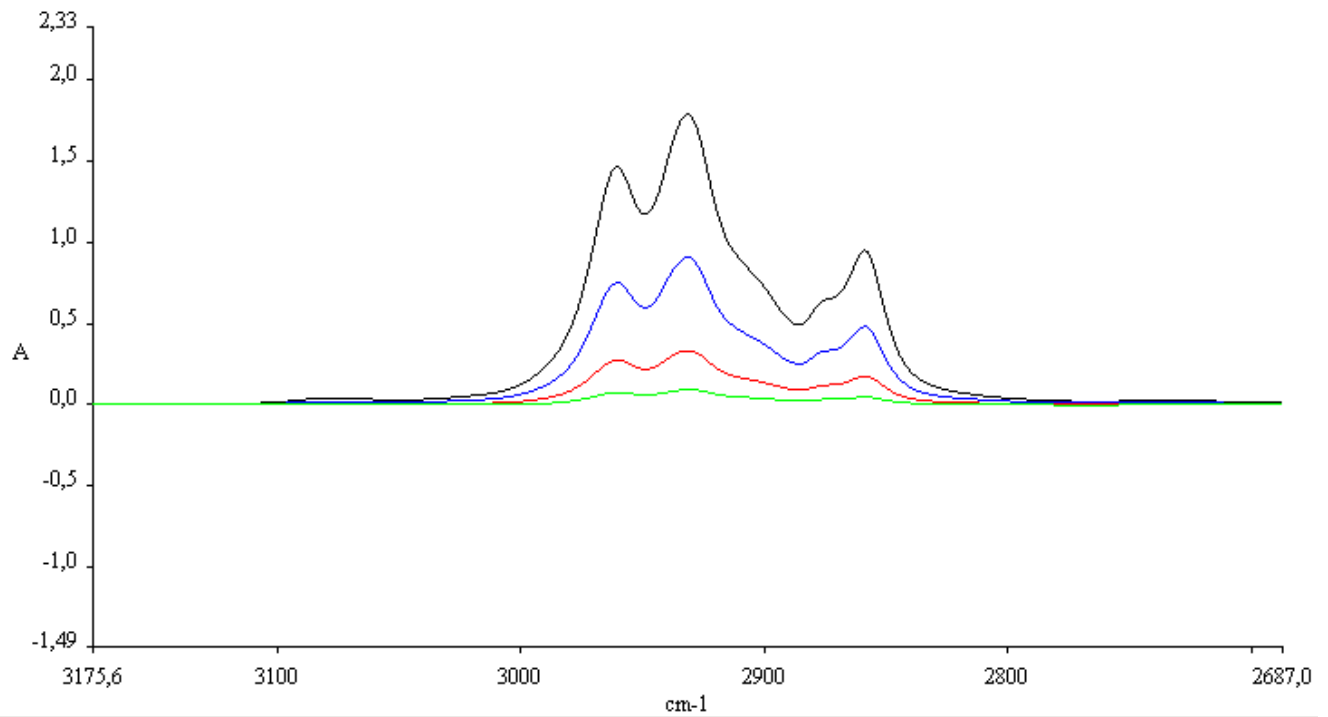
Anexo 13: Repetibilidad y reproducibilidad, espectros infrarrojos del primer grupo del triplicado del segundo día de reproducibilidad (2750 cm^{-1} – 3150 cm^{-1})



Anexo 14: Repetibilidad y reproducibilidad, espectros infrarrojos del segundo grupo del triplicado del segundo día de reproducibilidad ($2750\text{ cm}^{-1} - 3150\text{ cm}^{-1}$)

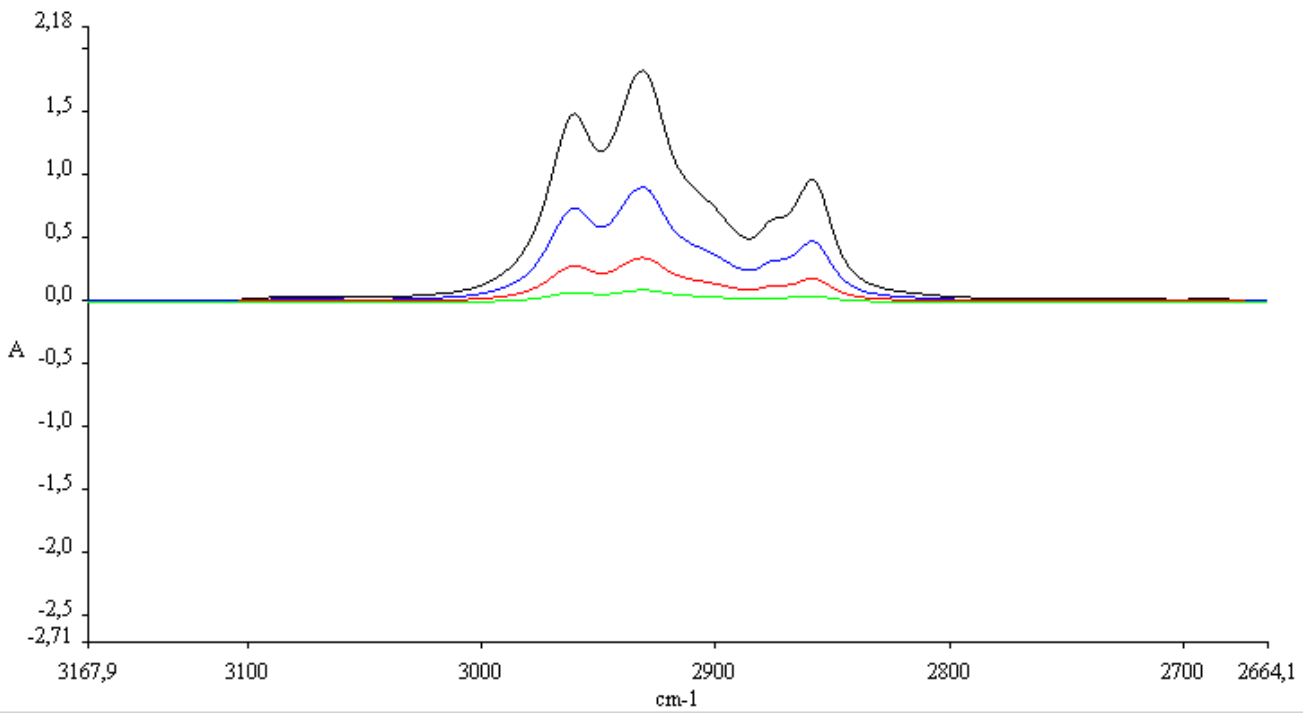


Anexo 15: Repetibilidad y reproducibilidad, espectros infrarrojos del tercer grupo del triplicado del segundo día de reproducibilidad ($2750\text{ cm}^{-1} - 3150\text{ cm}^{-1}$)



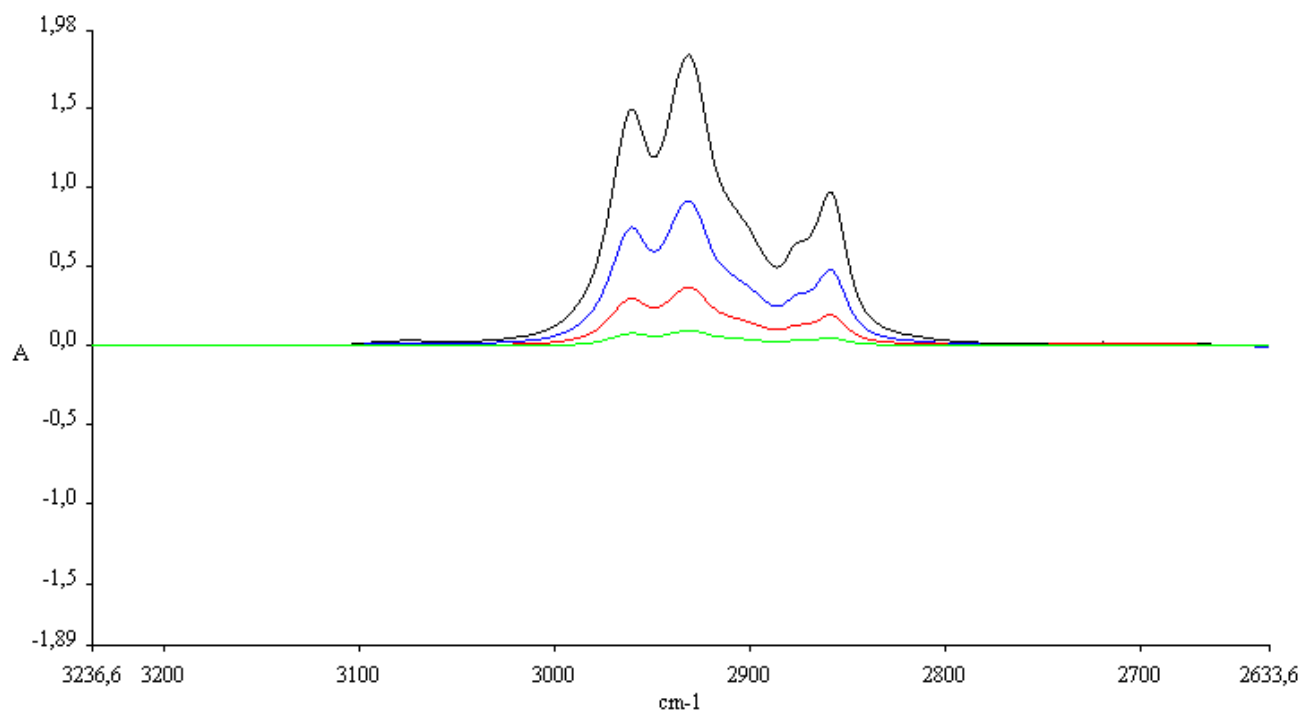
crr50c2.SP
crr200c2.SP
crr500c2.SP
c1000c2.SP

Anexo 16: Repetibilidad y reproducibilidad, espectros infrarrojos del primer grupo del triplicado del tercer día de reproducibilidad ($2750\text{ cm}^{-1} - 3150\text{ cm}^{-1}$)



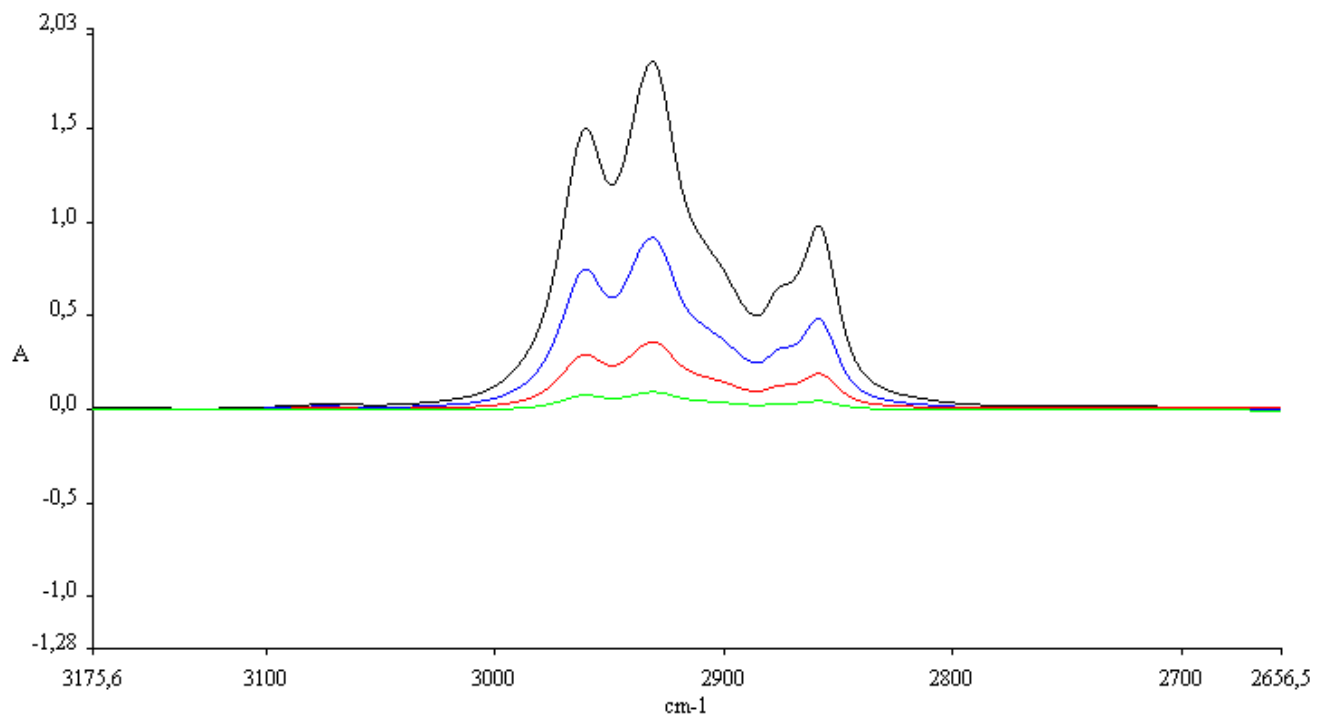
crr50a3.SP
crr200a3.SP
crr500a3.SP
c1000a3.SP

Anexo 17: Repetibilidad y reproducibilidad, espectros infrarrojos del segundo grupo del triplicado del tercer día de reproducibilidad ($2750\text{ cm}^{-1} - 3150\text{ cm}^{-1}$)



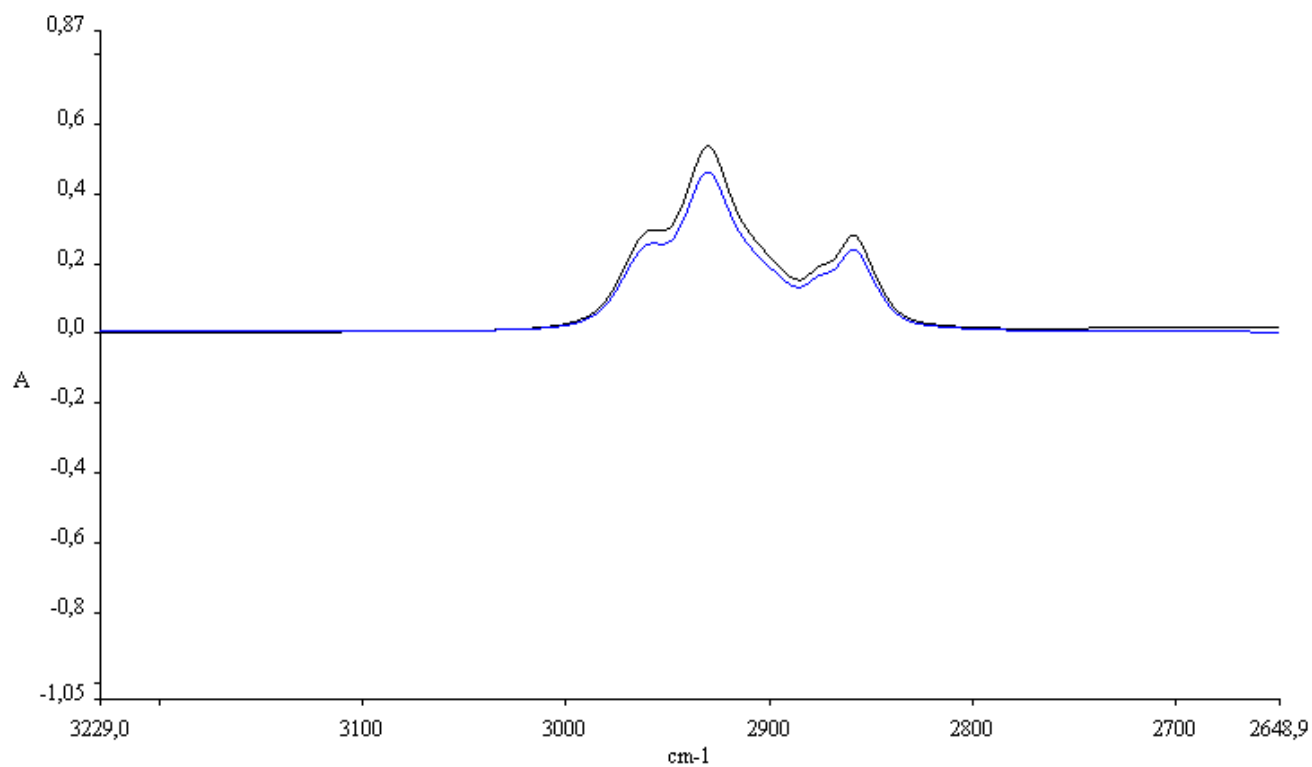
crr50b3.SP
crr200b3.SP
crr500b3.SP
c1000b3.SP

Anexo 18: Repetibilidad y reproducibilidad, espectros infrarrojos del tercer grupo del triplicado del tercer día de reproducibilidad ($2750\text{ cm}^{-1} - 3150\text{ cm}^{-1}$)



crr50c3.SP
crr200c3.SP
crr500c3.SP
c1000c3.SP

Anexo 19: Exactitud, espectros infrarrojos de los Materiales de Referencia Certificados (2750 cm^{-1} – 3150 cm^{-1})



cirmrc.sp
[cmrcm1.SP](#)

Anexo 20: Estándar de Hidrocarburos Totales de Petróleo, Marca: Chemservice, Catálogo: M-TPH4181-10ML, Mezcla GRO-DRO-418, Lote: 410000.



66C Tower Lane • P.O. Box 599 • West Chester, PA 19381-0599
 1-800-452-9294 • 1-610-692-3026 • Fax 1-610-692-3729
info@chemservice.com • www.chemservice.com

CERTIFICATE OF ANALYSIS

Petroleum Hydrocarbons Reference Oil Mixture - GRO/DRO - 418

CONCENTRATION Varied Concentration (v/v%)
 CATALOG NUMBER M-TPH4181-10ML
 LOT NUMBER 410000
 DATE CERTIFIED 06/14/12
 EXPIRATION DATE 12/31/13
 STORAGE Room Temperature
 HANDLING See MSDS.
 INTENDED USE For laboratory use only.

ID	Analyte	CAS	Weight Analyte (mg)	Lo:	Purity	Certified Concentration (ug/mL)
N-11440	Chlorobenzene	108-90-7	69400.0	00002374	99.50	276212.0
N-12549	n-Hexadecane	544-76-3	72500.0	00002369	99.40	288260.0
N-10550	2,2,4-Trimethylpentane	540-84-1	64900.0	00001949	99.50	258302.0

Analytical Test	Value
CONCENTRATION (GC/TCD)	VERIFIED

Chem Service, Inc. guarantees the expanded uncertainty of the above analytes to be as stated +/- 2.0% based on gravimetric preparation. The balances were calibrated with weights that are certified traceable to the National Institute of Standards and Technology using NIST Handbook 44, SOP Sec 2.20 procedures and tolerances.

Uncertainty of the concentration is expressed as an expanded uncertainty in accordance with ISO 17025 at the 95% confidence level (k=2).

Certified By:

John Conrad
 CSM/TC

COA Form
 Revision 7/2011



ISO 9001
 Certificate Number: 01610



ISO/IEC 17025
 Accreditation Number: 65790

Anexo 21: Blanco de suelo, DataPack™, Catálogo N° 056, Lote N° 56013.

Anexo 22: Material de Referencia Certificado marca ERA, Catálogo 570, Lote D069-632.



Certificate of Analysis

Lot No. D069-632
 Expiration Date: 01/2013

Total Petroleum Hydrocarbons (TPH) in Soil

Catalog No. 570
 Issue Date: August 24, 2010
 Revision: Original

Certification

Parameter	Certified Value ²	Uncertainty ³	QC Performance Acceptance Limits ⁴	PT Performance Acceptance Limits ⁵
	mg/kg	%	mg/kg	mg/kg
TPH Std. # 1 (fatty acids not present)				
non-Polar Extractable Material (TPH) (Gravimetric)	992	25	293 - 1380	192 - 1530
non-Polar Extractable Material (TPH) (IR)	1220	24	518 - 1660	382 - 2060

Analytical Verification

Parameter	Certified Value	Proficiency Testing Study ⁶		
		Mean Recovery	n	
	mg/kg	mg/kg	%	
TPH Std. # 1 (fatty acids not present)				
non-Polar Extractable Material (TPH) (Gravimetric)	992	860	86.7	15
non-Polar Extractable Material (TPH) (IR)	1220	1220	100	4

- The certified values are monitored and purchasers will be notified of any significant changes resulting in recertification or withdrawal of this certified reference material during the period of validity of this certificate.
- The Certified Values are the actual 'made to' concentrations confirmed by ERA analytical verification.
- The stated uncertainty is the total propagated uncertainty at the 95% confidence interval. The uncertainty is based on the preparation and internal verification of the product by ERA, multiplied by a coverage factor which is equal to the Student t factor at a 95% confidence interval at n-1 degrees of freedom. The uncertainty applies to the product as supplied and does not take into account any required or optional dilutions and/or preparations the laboratory may perform while using this product.
- 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 or email to info@eraqc.com if you have questions or need technical assistance.

Certifying Officer: Michael Blades

Handwritten signature and date:
 [Signature]
 11/16/10

Anexo 23: Material de Referencia Certificado marca ERA, Catálogo 570, Lote D071-632.



A Waters Company Certificate of Analysis

Lot No. D071-632
Expiration Date: 06/2013

Total Petroleum Hydrocarbons (TPH) in Soil

Catalog No. 570
Issue Date: August 30, 2011
Revision: Original

Certification

Parameter	Certified Value ²	Uncertainty ³	QC Performance Acceptance Limits ⁴	PT Performance Acceptance Limits ⁵
	mg/kg	%	mg/kg	mg/kg
non-Polar Extractable Material (TPH) (Gravimetric)	1280	14	378 - 1780	280 - 1770
non-Polar Extractable Material (TPH) (IR)	1570	14	725 - 2120	519 - 2440

Analytical Verification

Parameter	Certified Value	Proficiency Testing Study ⁶		
	mg/kg	Mean	Recovery	n
	mg/kg	mg/kg	%	
non-Polar Extractable Material (TPH) (Gravimetric)	1280	1030	80.5	12
non-Polar Extractable Material (TPH) (IR)	1570	1480	94.3	4

- The certified values are monitored and purchasers will be notified of any significant changes resulting in recertification or withdrawal of this certified reference material during the period of validity of this certificate.
- The Certified Values are the actual 'made-to' concentrations confirmed by ERA analytical verification.
- The stated uncertainty is the total propagated uncertainty at the 95% confidence interval. The uncertainty is based on the preparation and internal verification of the product by ERA, multiplied by a coverage factor which is equal to the Student t factor at a 95% confidence interval at n-1 degrees of freedom. The uncertainty applies to the product as supplied and does not take into account any required or optional dilutions and/or preparations the laboratory may perform while using this product.
- The QC Performance Acceptance Limits (QC PALSTM) are based on the actual historical data collected in ERA's Proficiency Testing program. The QC PALSTM 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 PALSTM to realistically evaluate your performance against your peers.
- The PT Performance Acceptance Limits (PT PALSTM) 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 PALSTM 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 or email to info@eraqc.com if you have questions or need technical assistance.

Certifying Officer: Michael Blades



6000 West 54th Ave., Arvada, CO 80002

800-372-0122

fax 303-421-0159

Page 1 of 1

David Hawkins
11-11-11

www.eraqc.com

Anexo 24: Material Safety Data Sheet S-316 (MSDS)



HORIBA INSTRUMENTS INC.

All non-emergency questions

17671 Armstrong Ave. Irvine, CA 92614

should be directed to:

Phone: (1-800-446-7422)

Horiba Customer Service

Fax: (1-949-250-0924)

(1-800-446-7422)

In California phone (1-949-250-4811)

CHEMTREC 24 Hour Emergency (1-800-424-9300)

MATERIAL SAFETY DATA SHEET

Effective Date: 09/17/04 ***** Supersedes: 8/01/2004

S-316 SOLVENT

1. Product Identification

Synonyms: C4Cl4F6 2,2,3,3 Tetrachlorohexafluorobutane, Trifluorchloroethylene polymer, Chlorotrifluoroethylene homopolymer

CAS No.: 9002-83-9

Chemical Formula: CCIF2CCIFCCIFCCIF2

Horiba Product Number: 100690, 100691

2. Composition/Information on Ingredients

<u>Ingredient</u>	<u>CAS No</u>	<u>Percent</u>	<u>Hazardous</u>
Poly (chlorotrifluoroethylene)	9002-83-9	65-75	Slight
Other components: Cl(CF ₂ CFCl)3Cl, Cl(CF ₂ CFCl)4Cl	9002-83-9	25-35	Slight

This product contains the following toxic chemical(s) subject to Section 313 Title 111 reporting requirements (40CFR Part 72): None

3. Health Hazard Data

A 1999 study produced no deaths among 10 rats upon an 8 hour exposure to (34.3 mg/L), and is considered by OSHA definition to be nontoxic. The animals showed no signs of treatment during exposure or 14 days afterward. All animals gained weight during the 14 day observation period. Autopsy showed no macroscopic abnormalities.

In a 4 hour exposure among rats conducted in 1989, S-316 was found to have a LC50 of 4.6mg/L. This result placed it into the EPA Toxicity Category III (Slightly Toxic).

The animals generally showed no response during exposure or for at least one day after exposure. Signs of toxicity including tremors, nasal discharge, and labored breathing began appearing two or three days after exposure. The responses generally abated in surviving animals during the second week after exposure.

More extensive toxicity studies have been conducted on slightly heavier oil (3.1). Based on all the available data in the three species of animals, limited exposure to S-316 should not be harmful to any portion of the human anatomy. Studies conducted by the Air Force have demonstrated liver toxicity in rodents, but not in primates. The observed liver toxicity is believed to be specific for rodents and relevant to humans. S-316 is not irritating to the skin, but protection should be used to prevent repeated exposure and the possibility of sensitization. All mutagenicity studies were negative. Since the potential for human toxicity cannot be ruled out, proper ventilation and work practices should be employed.

Primary Routes of Entry: Inhalation, Skin, Ingestion

Acute Effects of Overexposure: From animal studies, signs of fluoride poisoning may be expected. These include nausea, shortness of breath, and loss of appetite.

Chronic Effects of Overexposure: Unknown

Health Rating: 1

Flammability Rating: 0

Reactivity Rating: 0

Contact Rating: 0

Lab Protective Equip: Safety Glasses, Chemical Resistant Gloves

Emergency Overview

Harmful, if thermal decomposition gases are inhaled. This material produces toxic gases including HF by thermal decomposition.

4. First Aid Measures

Inhalation: Remove to fresh air. Apply artificial respiration if needed.

Ingestion: Induce vomiting. Seek medical help.

Skin Contact: Wash with soap and water.

Eye Contact: Flush eyes immediately with water for at least 15 minutes. Seek medical help.

5. Fire Fighting Measures

Fire: Non-flammable

Fire Extinguishing Media: Use agent appropriate for surrounding fire. **Special Information:** None

6. Accidental Release Measures

Ventilate area, and absorb spill with absorbent such as vermiculite.

7. Handling and Storage

Wash thoroughly after handling.

Store product in a cool, dry place.

8. Exposure Controls/Personal Protection

Airborne Exposure Limits: Not established

Ventilation System: Yes

Personal Respirators (NIOSH Approved): Yes

Skin Protection: Yes

Eye Protection: Yes

9. Physical and Chemical Properties

Appearance: Clear liquid

Odor: Slight ethereal odor

Solubility in Water: Negligible

Specific Gravity: 1.7 g/ml @38 °C

pH: N/A

Boiling Point: 134° C

Melting Point: -143°C

Vapor Density (Air=1): Not Available

Vapor Pressure (mm Hg): 10 mm Hg @ 21°C

Evaporation Rate (BuAc=1): Not Available

10. Stability and Reactivity

Stability: Stable

Hazardous Decomposition Products: The decomposition to toxic, non-sludge forming volatiles occurs rapidly at 325°C, noticeably at 300°C and in lesser amounts at lower temperatures. The maximum safe operating temperature recommended is 200°C, and a short-term temperature recommended is 260°C in scrupulously clean systems.

Hazardous Polymerization: Will not occur

Incompatibilities: Reacts with active metals like sodium, potassium, amines, liquid fluorine and liquid chlorine trifluoride

Conditions to Avoid: Incompatible Materials

11. Toxicological Information

-----\Cancer Lists\-----

Ingredient	---NTP Carcinogen---		IARC Category
	Known	Anticipated	
Poly(Chlorotrifluoroethylene)	None	None	None

12. Ecological Information

Environmental Fate: No Data

Environmental Toxicity: No Data

13. Disposal Considerations

Product may be incinerated by licensed waste disposal company. Observe all federal, state and local regulations.

14. Transport Information

U.S. (49CFR): Not Regulated

IATA: Not Regulated

IMDG: Not Regulated

15. Regulatory Information

-----\Chemical Inventory Status -

Ingredient	<u>TSCA</u>	<u>-----Canada-----</u>
		DSL NDSL
Poly (Chlorotrifluoroethylene)	Not Regulated	Not Regulated

16. Other Information

Disclaimer:

The above information is believed to be correct but not purport to be all inclusive and shall be used only as a guide. Horiba Instruments shall not be held liable for any damage resulting from handling or from contact with the above product. See reverse side of invoice or packing slip for additional terms and conditions of sale.

Prepared by: Rod Ethridge

Horiba Health & Safety Administrator

DECLARACIÓN Y AUTORIZACIÓN

Yo, Carlos Eduardo Rodríguez Palma, C.I. 171963782-7, autor del trabajo de graduación intitulado: “Estudio de la técnica de Extracción Asistida por Microondas (MAE) para su aplicación en la determinación de Hidrocarburos Totales de Petróleo (TPH’s) en suelos”, previa a la obtención del grado académico de **LICENCIADO EN CIENCIAS QUÍMICAS CON MENCIÓN EN QUÍMICA ANALÍTICA** en la Facultad de **Ciencias Exactas y Naturales**:

1.- Declaro tener pleno conocimiento de la obligación que tiene la Pontificia Universidad Católica del Ecuador, de conformidad con el artículo 144 de la Ley Orgánica de Educación Superior, de entregar a la SENESCYT en formato digital una copia del referido trabajo de graduación para que sea integrado al Sistema Nacional de Información de la Educación Superior del Ecuador para su difusión pública respetando los derechos de autor.

2.- Autorizo a la Pontificia Universidad Católica del Ecuador a difundir a través de sitio web de la Biblioteca de la PUCE el referido trabajo de graduación, respetando las políticas de propiedad intelectual de Universidad.

Quito, 23 de abril de 2013

Sr. Carlos Rodríguez Palma

C.I. 171963782-7