

PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DEL ECUADOR

FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES

ESCUELA DE CIENCIAS QUÍMICAS

**Determinación de residuos de hidrocarburos totales de petróleo (fracción diesel) en
aguas de la Reserva de Producción Faunística Cuyabeno, mediante la técnica de
cromatografía de gases con detector de ionización de llama**

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

KAREN JANINA RON LLORI

Quito, 2012

CERTIFICACIÓN

Certifico que la disertación de Licenciatura en Ciencias Químicas, mención Química Analítica, de la candidata Karen Janina Ron Llori, ha sido concluida de conformidad con las normas establecidas; por lo tanto puede ser presentada para la calificación correspondiente.

M.Sc. Wendy Heredia

DIRECTORA DE LA DISERTACIÓN

DEDICATORIA

“A Dios, por ser mi paraguas...

*A mis padres: Homero y Josefina y
a mi abuelita Carlota, ellos que han
sido mi inspiración” ♥*

AGRADECIMIENTOS

A Dios, por darme la fuerza y mantener la esperanza siempre latente en mí. Gracias porque nunca me desamparas.

A mis padres: Homero y Josefina, por ser las estrellas que guían mi camino día tras día y por ser mi ejemplo. Gracias por su amor, apoyo y confianza incondicional.

A mi hermano Vinicio y primo Willian por ser mi compañía.

A la M.Sc. Wendy Heredia por guiarme a lo largo de este estudio. Gracias por la oportunidad y paciencia.

A la Dra. Tanya Cáceres por su gran apoyo.

Al Ing. Marcelo Parreño y Lic. Ramiro Merino, por todas sus enseñanzas y sus acertadas recomendaciones a esta investigación.

Al CESAQ-PUCE por financiar este trabajo y abrirme las puertas de sus laboratorios.

A mis amigos: Danilo, Danny, Pavip, Geno y Ruth por estar siempre cerca de mí, pendientes de mis avances. Gracias por su amistad y ayuda.

A Manuelito porque me brindó su ayuda cuando lo necesitaba. Gracias por su nobleza.

TABLA DE CONTENIDOS

RESUMEN	1
ABSTRACT	2
INTRODUCCIÓN	3

CAPÍTULO 1

1. EL PETRÓLEO	6
1.1. HISTORIA Y ORIGEN DEL PETRÓLEO	6
1.2. COMPOSICIÓN QUÍMICA DEL PETRÓLEO	7
1.2.1. Hidrocarburos	8
1.2.2. Hidrocarburos con heteroátomos	11
1.3. CARACTERIZACIÓN DEL PETRÓLEO Y SUS PRODUCTOS DERIVADOS	12
1.3.1. Gasolinas	13
1.3.2. Naftas y solventes	14
1.3.3. Jet fuel	14
1.3.4. Kerosene	14
1.3.5. Diesel	15
1.3.6. Fuel Oil	17
1.3.7. Lubricantes/ Aceites minerales	17
2. HIDROCARBUROS TOTALES DE PETRÓLEO (TPH's)	18
2.1. GENERALIDADES DE LOS TPH's	18
2.2. DESTINO AMBIENTAL Y TOXIDAD DE TPH's EN AGUA	20
2.3. MÉTODOS DE ANÁLISIS DE TPH's	24
2.3.1. Análisis de TPH's por cromatografía de gases	24
2.3.2. Columnas para análisis de TPH's por cromatografía de gases	25

2.3.3. Detector de Ionización de Flama (FID) para análisis de TPH's.....	26
2.4. LEGISLACIÓN AMBIENTAL APLICADA A TPH's.....	27
3. ACTIVIDAD HIDROCARBURÍFERA EN LA AMAZONÍA	29
3.1. IMPACTOS SOCIOAMBIENTALES.....	29
3.2. RESERVA DE PRODUCCIÓN FAUNÍSTICA CUYABENO (RPFC)	33
3.3. BIODIVERSIDAD DE LA RESERVA DE PRODUCCIÓN FAUNÍSTICA CUYABENO	35
3.4. CONTAMINACIÓN PETROLERA EN LA RESERVA DE PRODUCCIÓN FAUNÍSTICA CUYABENO	36

CAPÍTULO 2

PARTE EXPERIMENTAL

2.1. ZONA DE ESTUDIO.....	39
2.2. MUESTREO.....	40
2.3. DESARROLLO DEL MÉTODO CROMATOGRÁFICO PARA DETERMINACIÓN DE HIDROCARBUROS DE PETRÓLEO	42
2.4. ANÁLISIS DE MUESTRAS	46
2.4.1. Extracción de muestras	46
2.4.2. Materiales	47
2.4.3. Equipos	47
2.4.4. Reactivos	47
2.4.5. Estándar	47
2.4.6. Procedimiento.....	48
2.4.7. Análisis cuantitativo de TPH's por cromatografía de gases.....	48

CAPÍTULO 3

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1. MUESTREO Y MEDICIONES IN SITU DE pH Y TEMPERATURA	51
3.2. ANALISIS DE BLANCOS DE MUESTRA FORTIFICADOS	56
3.3. RESULTADOS DE LA CUANTIFICACIÓN DE TPH's POR CROMATOGRAFÍA DE GASES	58
3.4. ANÁLISIS DE RESULTADOS DE LA DETERMINACIÓN DE TPH's.....	61

CAPÍTULO 4

4.1. CONCLUSIONES.....	67
4.2. RECOMENDACIONES	69

BIBLIOGRAFÍA	70
--------------------	----

ANEXOS	77
--------------	----

ANEXO 1: Variaciones territoriales de la RPFC	78
---	----

ANEXO 2: Derrames trascendentales ocurridos dentro de la RPFC.	80
---	----

ANEXO 3: Resultados de la validación del método para análisis de TPH's fracción diesel por cromatografía de gases con detector FID.....	81
---	----

ANEXO 4: Certificado de análisis Diesel Range Organics Mixture #2- GRO/DRO	83
--	----

ANEXO 5: Reportes cromatográficos de los estándares que se utilizaron para la elaboración de la curva de calibración.	84
--	----

ANEXO 6: Análisis de varianza de las muestras analizadas por cromatografía de gases ..	89
--	----

ANEXO 7: Cromatogramas de las muestras de agua analizadas. Primera corrida	90
--	----

ANEXO 8: Fotografías tomadas durante la realización del estudio.....	100
--	-----

LISTA DE TABLAS

CAPÍTULO 1

1.1	Composición elemental de petróleo crudo.....	9
1.2	Clasificación petróleo crudo según su densidad API.....	12
1.3	Rangos de las fracciones de TPH's.....	18
1.4	Clasificación del petróleo según su comportamiento en el medio ambiente	22
1.5	Características de columnas empacadas y capilares.....	26
1.6	Límites para el monitoreo ambiental permanente de aguas y descargas líquidas en la exploración, producción, industrialización, transporte, almacenamiento y comercialización de hidrocarburos y sus derivados, inclusive lavado y mantenimientos de tanques y vehículos.....	28
1.7	Criterios de calidad admisible para la preservación de la flora y fauna en aguas dulces, frías o cálidas, y en aguas marinas y de estuario.....	28

CAPÍTULO 2

2.1.	Especificaciones de la columna y precolumna que se utilizaron para el análisis cromatográfico.....	42
2.2.	Condiciones cromatográficas óptimas de trabajo desarrolladas en el laboratorio.....	43
2.3.	Tiempos de retención para los 16 hidrocarburos bajo las condiciones cromatográficas desarrolladas en el laboratorio.....	44
2.4.	Resultados de la validación del método para la determinación de TPH de la fracción de diesel en agua.....	46

CAPÍTULO 3

3.1	Cordenadas geográficas de los puntos de muestreo. Mediciones is situ de pH y temperatura.....	53
3.2	Análisis de blancos de muestra fortificados. Porcentajes de recuperación a nivel medio.....	57
3.3	Correspondencia lineal entre el área de los picos y la concentración de TPH's.....	59
3.4	Áreas totales y concentraciones equivalentes en 25mL de muestra.....	61
3.5	Resultados de los análisis de muestras por cromatografía de gases y su comparación con la legislación ecuatoriana.....	63

TABLA DE FIGURAS

CAPÍTULO 1

1.1.	Proceso de desgaste del petróleo en el medio ambiente.....	21
1.2.	Diagrama de un cromatógrafo de gases.....	25
1.3.	Respuesta del detector FID.....	27
1.4.	Distribución de la producción petrolera en el Ecuador.....	30
1.5.	Siniestros importantes ocurridos en la Amazonía durante la últimos años (2003-2006).....	31
1.6.	Reserva de Producción Faunística Cuyabeno. Territorio actual.....	33
1.7.	Bloques petroleros y áreas protegidas dentro de la provincia de Sucumbíos....	36

CAPITULO 2

2.1. Sistema lacustre de la RPFC. Lagunas que han sufrido mayor impacto ambiental a causa de la industria del petróleo.....	39
---	----

CAPÍTULO 3

3.1. Distribución de bloques y puntos de muestreo en la Laguna Aucacocha.....	52
3.2. Cromatograma de Matriz Fortificada Río Cuyabeno 2.....	58
3.3. Curva de calibración para la cuantificación de muestras.....	60

LISTA DE ANEXOS

1. Variaciones territoriales de la Reserva de Producción Faunística Cuyabeno....	78
2. Derrames de trascendentales ocurridos dentro de la Reserva de Producción Faunística Cuyabeno.....	80
3. Resultados de la validación de método para el análisis de TPH's fracción diesel por cromatografía de gases con detector FID.....	81
4. Certificado de análisis Diesel Range Organics Mixture #2- GRO/DRO.....	83
5. Reportes cromatográficos de los estándares que se utilizaron para la elaboración de la curva de calibración.....	84
6. Análisis de varianzas de muestras.....	89
7. Cromatogramas de las muestras de agua analizadas. Primera corrida.....	90
8. Fotografías tomadas durante la realización del estudio.....	100

RESUMEN

El objetivo principal de este trabajo es la determinación de residuos de hidrocarburos totales de petróleo (TPH's) de la fracción de diesel (C₁₀-C₂₅) empleando la técnica de cromatografía de gases con detector de ionización de flama. Esta técnica permite el análisis de fracciones provenientes del petróleo e indica el tipo de hidrocarburo presente facilitando su tratamiento dentro de un área afectada. Para el estudio se analizarán muestras de agua de la laguna Aucacocha ubicada en la Reserva de Producción Faunística Cuyabeno, ya que se ha visto afectada por los derrames de crudo sucedidos en el sector.

El método para el análisis de los TPH's se desarrolló a base del método EPA 8015M: "*Caracterización de hidrocarburos de petróleo de C₆ a C₃₅*". El mismo que ofrece una metodología de extracción, limpieza y análisis cuantitativo de muestras acuosas mediante cromatografía de gases con detector de ionización de flama.

Para el análisis se recolectaron 20 muestras superficiales y 20 muestras a 2m de profundidad. Se midieron in situ el pH y la temperatura, los cuales son parámetros importantes dentro del análisis de muestras de agua, especialmente TPH's, ya que son responsables de fenómenos químicos y biológicos que ocurren en el agua.

Los resultados reportan la presencia de TPH's en la Laguna Aucacocha. Sin embargo los resultados de concentración que se obtuvieron cumplen con el Reglamento Ambiental para Operaciones Hidrocarburíferas en el Ecuador y con el Texto Unificado de la Legislación Ambiental Secundaria para zonas sensibles, los cuales establecen límites máximos permisibles de 0,5mg/L.

Palabras clave: TPH's, TPH's fracción diesel, Cromatografía de Gases, Reserva de Producción Faunística Cuyabeno, Laguna Aucacocha,

ABSTRACT

The main object of this study is to determine the presence of diesel fraction TPH's residues in Aucacocha Lagoon, located in Cuyabeno Wildlife Reserve, Province of Sucumbíos, using gas chromatography with flame ionization detector as an analytical technique. This technique allows getting specific information about the hydrocarbons selected in order to facility bioremediation treatments.

For the analysis of the samples a method for the determination of TPH's was implemented using the *EPA 8015M: Characterization of C₆ to C₃₅ petroleum hydrocarbons in environmental samples*. This method includes an extraction, clean up and quantification procedures.

Twenty surface and twenty deep (2m) water samples were analyzed. In addition, both pH and temperature which are important parameters in water analysis due to biological and chemical phenomena were measured for all samples.

The results obtained from the TPH's analysis in both surface and deep water samples comply with the Reglamento Ambiental para Operaciones Hidrocarburíferas and Texto Unificado de la Legislación Ambiental Secundaria for sensitive areas which both establish that the permissible limits cannot be over 0,5mg/L.

Key words: TPH's, TPH's diesel range of organics, Gas Chromatography, Cuyabeno Wildlife Reserve, Aucacocha Lagoon.

INTRODUCCIÓN

La industria petrolera juega un rol determinante en la economía mundial, a tal punto que se ha convertido en la principal fuente de ingresos de algunos países, entre ellos Venezuela, México, Brasil, Argentina y Ecuador, que a su vez son los cinco países con mayor producción de petróleo en América Latina. En el Ecuador, la dependencia del presupuesto estatal a los ingresos petroleros se ha incrementado de 30% a 60% [1]. Lo que convierte a este recurso en la principal fuente de financiamiento del estado ecuatoriano.

La mayor parte del crudo extraído es empleado para la elaboración combustibles mediante procesos de destilación. Así mismo, fracciones volátiles, parte de esta destilación son materia prima para la elaboración de productos petroquímicos como plásticos, detergentes, pesticidas, fibras sintéticas, entre otros; mientras que fracciones más pesadas se utilizan para la elaboración de asfaltos.

En el Ecuador, las primeras actividades hidrocarburíferas se desarrollaron en el año 1878 en la Península de Santa Elena, Provincia de Santa, cuando se otorga la primera concesión a Mier para la extracción de petróleo y brea, reportándose exportaciones de tan sólo 42 millones de barriles entre los años 1928 y 1957 [2].

Los intereses se centraron en la Amazonía ecuatoriana luego de la extracción de 2.610 barriles diarios en el pozo Lago Agrio, concesión de Texaco Gulf, en el año de 1967. Para el año 1972, se creó la Corporación Estatal Petrolera Ecuatoriana (CEPE), actualmente Petroecuador [2], y con ella surge un nuevo periodo de actividades hidrocarburíferas en el país.

Parte de los campos petroleros se encuentran ubicados dentro de áreas protegidas de la Amazonía, tal es el caso de la Reserva de Producción Faunística Cuyabeno, Reserva Biológica Limoncocha y Parque Nacional Yasuní, los cuales constituyen ecosistemas de gran biodiversidad.

Por una parte, la actividad petrolera ha fomentado procesos de colonización, promovido obras de infraestructura, creación de ciudades y plazas de trabajo. Sin embargo, por otra parte, se presenta como una fuente de problemas y daños para la naturaleza, una agresión contra ella que ha conducido a un significativo deterioro ambiental dentro de lugares donde se lleva a cabo.

Como medida que favorezca la conservación ambiental, en el año de 1999 se firma el decreto ejecutivo N° 551 por el cual más de un millón de hectáreas de territorio entre el Parque Nacional Yasuní y Reserva de Producción Faunística Cuyabeno quedaron protegidas de cualquier actividad petrolera, minera, maderera y de colonización; sin embargo una parte de ellas quedó libre de protección. Estos territorios, en su mayoría, han sido explotados, y las consecuencias a nivel ambiental, ecológico y social han sido notorias. La deforestación causada por estas actividades que afecta a 198.000 hectáreas por año [3] y la contaminación del aire, aguas, y suelos ha puesto en riesgo los territorios de las comunidades indígenas y sus costumbres ancestrales. Además que representan una amenaza para especies vegetales y animales.

Con el objeto de mejorar los estándares ambientales bajo los cuales se realizan las actividades petroleras y facilitar el monitoreo, control, fiscalización y auditoría ambiental se elaboró el Reglamento Ambiental para la Operaciones Hidrocarburíferas en el Ecuador

(RAOHE), el cual rige desde el mes de agosto del año 1995 y cuya última modificación se realizó en el mes de febrero del año 2001. En este documento se establece la normativa para todas las etapas de las actividades hidrocarburíferas de explotación, desarrollo y producción, almacenamiento, transporte, industrialización y comercialización del petróleo crudo, sus derivados y gas natural, susceptibles a producir impactos ambientales en el área de influencia.

Para determinar si se cumple con las regulaciones, que establecen límites máximos permisibles de hidrocarburos de petróleo en aguas y suelos, es necesaria la utilización de técnicas analíticas e instrumentales que arrojen resultados confiables. En el Ecuador se ha aplicado la técnica de espectrofotometría de infrarrojos para la medición de hidrocarburos de petróleo, sin embargo, se ha impulsado también la técnica de cromatografía de gases como una alternativa para su detección y cuantificación, la cual a diferencia de la espectrofotometría de infrarrojos proporciona información sobre las cadenas de hidrocarburos presentes.

Es decir, por medio del análisis por cromatografía de gases se obtiene información específica del tipo de hidrocarburo dentro de una fracción: TPH-GRO (Total Petroleum Hydrocarbons in gasoline range of organics, TPH's en el rango de gasolina), TPH-DRO (Total Petroleum Hydrocarbons in diesel range of organics, TPH's en el rango de diesel) y TPH-ORO (Total Petroleum Hydrocarbons in oil range of organics, TPH's en el rango de aceites lubricantes). Esta información representa la principal ventaja del análisis de TPH's empleando esta técnica ya que es útil y aplicable para el posible tratamiento de un área afectada.

CAPÍTULO 1

1. EL PETRÓLEO

1.1. HISTORIA Y ORIGEN DEL PETRÓLEO

La historia del petróleo comienza desde que el hombre apareció en la tierra. Antecedentes indican que los primeros usos se dieron a los productos pesados o bituminosos que afloraban a la superficie de la tierra para combustible de lámparas. Estos afloramientos ocurrían principalmente en las actuales regiones de Rusia, Rumanía, Medio Oriente y América del Norte [4] [5].

Más tarde se descubriría su utilidad medicinal contra el reumatismo, bajo el nombre de *Rock Oil* o *Aceite de Roca* dado por el boticario americano Samuel Kier, en el año 1847. Para el año 1850 se despierta su actividad comercial y se crea la compañía Pennsylvania Rock Oil, la cual perforó el primer pozo. Nueve años más tarde, Edwin Drake encontró un pozo cuyo rendimiento era 1700 litros por día; lo que originó su transportación empleando barriles de madera, actual forma de medición, que es equivalente a 42 galones [5] [6].

El origen del petróleo en la tierra ha sido un tópico de interés para muchos investigadores y como consecuencia ha llevado a la formulación de dos teorías: la una sugiere un origen orgánico, mientras la otra un origen inorgánico.

La teoría inorgánica, propuesta por Mendeléyev, sostiene que el petróleo se originó por la reacción del agua sobre alquinos metálicos, como el carburo de hierro, bajo condiciones de presión y temperatura que ocasionaron otras reacciones y polimerizaciones que forman

hidrocarburos de cadenas mucho más largas que pueden migrar hacia la corteza terrestre hasta aflorar a la superficie o permanecer atrapados por estratos impermeables, formando yacimientos de petróleo [7].

En contraparte, la teoría orgánica supone que el petróleo se originó por la descomposición de la microflora (hipótesis formulada por Kramer) y microfauna (hipótesis presentada por Engler) que se desarrolla en el fondo de océanos y mares, a las cuales se añaden restos de animales y vegetales por transporte, hasta formar capas cada vez más gruesas de sedimentos que bajo determinadas condiciones de presión, temperatura y tiempo se transformaron en hidrocarburos con pequeñas cantidades de azufre, oxígeno, nitrógeno y trazas de metales como hierro, cromo, níquel o vanadio [6]. Esta teoría es la más aceptada ya que todos estos elementos son característicos de organismos vivientes y se los puede encontrar en la composición del petróleo.

1.2. COMPOSICIÓN QUÍMICA DEL PETRÓLEO

El petróleo es un líquido oleoso, inflamable cuyo color varía entre pardo oscuro y negro con reflejos verdosos. Su nombre se deriva del latín *Petra* que se significa Roca y *Oleum* que se significa Aceite, es decir, *Aceite de Piedra* [8] [9].

Su composición varía de acuerdo al tipo de yacimiento de origen, por lo que resulta casi imposible encontrar dos tipos idénticos de petróleo. Está formado por una mezcla compleja de hidrocarburos (compuestos de carbono e hidrógeno), hidrocarburos heteroatómicos (compuestos con átomos de azufre, nitrógeno u oxígeno) y cantidades relativamente pequeñas de metales como vanadio, níquel, cromo y plomo [8] [9] [10]. La bibliografía

sugiere la composición elemental que se indica a continuación en la tabla 1.1, donde se observan los intervalos porcentuales de los componentes del petróleo crudo.

Tabla 1.1 Composición elemental de petróleo crudo [8] [9] [10].

Elemento	Porcentaje
Carbono	83-87
Hidrógeno	11-16
Azufre	0-4
Oxígeno	0-3,5
Nitrógeno	0-0,5
Níquel	<0,01
Vanadio	<0,01

Así los compuestos que constituyen el petróleo se pueden dividir en dos categorías: hidrocarburos e hidrocarburos con heteroátomos.

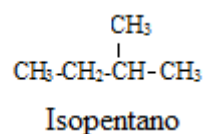
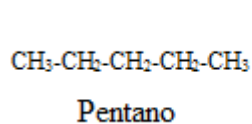
1.2.1. Hidrocarburos

Los hidrocarburos se pueden agrupar en compuestos saturados, insaturados y aromáticos; considerando estas últimas como un tipo de hidrocarburos insaturados.

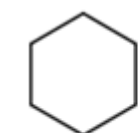
1.2.1.1. Hidrocarburos saturados

Constituyen los componentes principales del petróleo y de sus productos. Están formados por enlaces simples entre C - C, todos saturados con átomos de hidrógeno. Este tipo de compuestos pueden ser arreglados en algunas configuraciones:

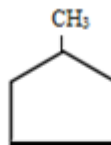
- Alifáticos: hidrocarburos de cadena lineal o ramificada con la fórmula general: C_nH_{2n+2} . Se denominan alcanos o isoalcanos, mientras que en la industria petrolera se los conoce como parafinas o isoparafinas respectivamente.



- Alicíclicos: hidrocarburos cíclicos con la fórmula general: C_nH_{2n} . Contienen en su estructura uno o más anillos, e incluso con ramificaciones. Se denominan cicloalcanos, cicloparafinas o naftenos dentro de la industria petrolera.



Ciclohexano

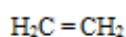


Metilciclopentano

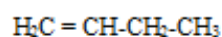
1.2.1.2. Hidrocarburos insaturados

Esta clase de compuestos tiene al menos dos átomos de carbono unidos por un doble o triple enlace: $C = C$, $C \equiv C$. Generalmente no se encuentran en el petróleo, sino que se forman mediante procesos de cracking¹ del mismo. De acuerdo al tipo de enlaces que presenta la molécula, se tienen:

- Alquenos u olefinas: hidrocarburos de cadena lineal, ramificada o cíclica que contienen en su estructura al menos un doble enlace $C = C$. Su fórmula general es: C_nH_{2n} .

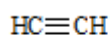


Etileno

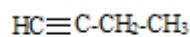


1-Buteno

- Alquinos o acetilenos: hidrocarburos de cadena lineal o ramificada que contienen en su estructura al menos un triple enlace $C \equiv C$. Su fórmula general es: C_nH_{2n-2} .



Acetileno



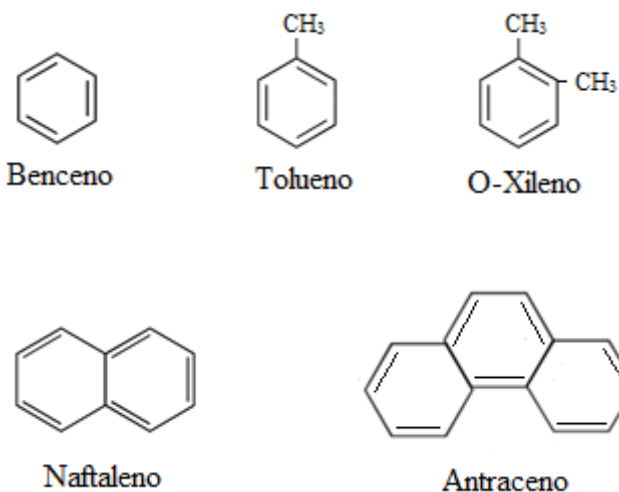
1-Butino

1.2.1.3. Hidrocarburos aromáticos

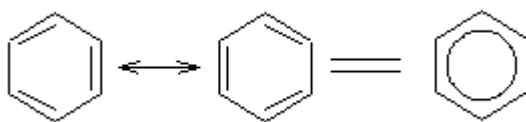
Hidrocarburos cuya estructura se basa en la molécula de benceno. Este está compuesto por seis átomos de carbono formando un anillo, y cada átomo de carbono está unido por un

¹ Ruptura de hidrocarburos de elevado peso molecular en compuestos de menor peso molecular.

átomo de hidrógeno. Los átomos de hidrógeno pueden ser sustituidos por hidrocarburos lineales, ramificados o cíclicos (alquilbencenos). También se pueden fusionar uno o más anillos aromáticos (hidrocarburos aromáticos policíclicos, HAP's).



La estructura del benceno normalmente se representa como un hexágono con un círculo circunscrito en su interior para hacer referencia que los tres dobles enlaces del benceno están deslocalizados, disociados y estabilizados por resonancia. Es decir, no funcionan como un doble enlace normal sino que al estar alternados proporcionan a la molécula características especiales. Cada carbono presenta en el benceno hibridación sp^2 . Estos híbridos se usarán para formar los enlaces entre C - C y los enlaces entre C - H. Cada carbono presenta además un orbital p_z perpendicular al plano molecular y con un electrón alojado en su interior, que se usará para formar enlaces π con el carbono vecino. Pero como son dos los átomos vecinos, existen dos alternativas de enlace que puede considerarse como correspondientes a las dos estructuras resonantes del benceno. La resonancia del benceno es lo que le confiere su especial reactividad y su increíble estabilidad.



1.2.2. Hidrocarburos con heteroátomos

Dentro de este grupo se encuentran constituyentes de petróleo que a más de carbono e hidrógeno poseen en su estructura átomos de azufre, oxígeno, nitrógeno, y pequeñas cantidades de metales.

El petróleo según su composición química se puede clasificar de acuerdo a:

- Parámetros estructurales que representan los porcentajes de átomos de carbono que forman parte de estructuras parafínicas (%CP), núcleos nafténicos (%CN) y núcleos aromáticos (%CA). Así se tienen crudos de base parafínica, nafténica, aromática y mixtos [10].
- Densidad, siendo menor cuando mayor sea su relación C/H, pudiendo oscilar entre 0,7 y 1. Generalmente se expresa en grados API (American Petroleum Institute) y su valor varía entre 70 y 5 [11].

La densidad de un crudo depende de las características de los yacimientos de donde proviene. Mientras los yacimientos de crudo son más antiguos o provienen de formaciones jóvenes someras su relación C/H es menor debido a la disolución que ocurren por aguas de formación y procesos de degradación de hidrocarburos nafténicos y aromáticos durante la migración y entrapamiento. Como consecuencia se tiene un crudo con alto contenido de hidrocarburos pesados y bajo contenido de hidrocarburos livianos.

Tabla 1.2. Clasificación petróleo crudo según su densidad API [8]

Clasificación de Petróleo crudo	Grados °API
Petróleo ligero	>30
Petróleo intermedio	20-30
Petróleo pesado	10-20

La densidad del crudo y el contenido de azufre determinan su valor en el mercado mundial. Así se establece que a mayor número de grados API y menor contenido de azufre su precio es más alto.

1.3. CARACTERIZACIÓN DEL PETROLEO Y SUS PRODUCTOS DERIVADOS

El petróleo crudo como se extrae de la tierra carece de aplicaciones, sin embargo se han desarrollado tecnologías que con el tiempo han evolucionado para obtener la mayor cantidad de productos a partir de él. La industria dedicada al tratamiento del petróleo para la obtención de sus derivados se denomina “*refinería*”, las cuales son diseñadas en base al tipo de crudo que van a tratar.

Los productos de petróleo se caracterizan por ser mezclas complejas de cientos de hidrocarburos, que van desde compuestos orgánicos ligeros, volátiles, de cadenas cortas hasta compuestos orgánicos pesados, de cadenas largas y ramificadas.

Durante los procesos de refinación, el petróleo se separa en fracciones con puntos de ebullición similares para obtener productos de uso comercial como gasolina, nafta, diesel, jet fuel, aceites y lubricantes.

Todos los productos derivados del petróleo se agrupan bajo denominaciones comunes y cumplen una serie de normas analíticas que vienen dadas por los siguientes organismos: American Society of Mechanical Engineers (ASME), American Society for Testing and Materials (ASTM) y American Petroleum Institute (API). Las especificaciones requeridas para los productos comerciales del petróleo son variadas y particulares de cada producto según su uso específico o aplicación [12] [13].

1.2.2. Gasolinas

La gasolina automotriz es una mezcla de hidrocarburos que se obtiene por destilación atmosférica durante en proceso refinación del crudo. Su rango de puntos de ebullición comprende desde 30°C hasta 220°C (C₄ hasta C₁₂), con más de 200 compuestos individuales: 40%-70% son parafinas, isoparafinas y naftenos; menos del 10% son olefinas; y entre 20% y 50% son aromáticos. Entre los compuestos aromáticos están el benceno, tolueno, etilbenceno y xilenos (conocidos como BTEX). A excepción del naftaleno, los HAP's casi no están presentes, debido a su elevado peso molecular y punto de ebullición [8] [12].

Dependiendo del tipo de crudo y el proceso de refinación un barril puede rendir entre 10% y 40% de gasolina. La eficiencia de una gasolina se mide por su número de octano u octanaje, el cual es una escala que indica la capacidad antidetonante del carburante cuando se comprime dentro del cilindro de un motor. El número de octano de una gasolina determina el buen funcionamiento del vehículo en movimiento y su rendimiento [8]. En la actualidad, para alcanzar los niveles deseados de octanaje se añaden aditivos oxigenados como el metil terbutil éter (MTBE), metanol o etanol, etc.

1.3.2. Naftas y solventes

Nafta es un nombre genérico que se da a una variedad de productos del petróleo que contienen hidrocarburos desde C_6 hasta C_{12} . Las naftas pueden ser de base aromática, parafínica o mixta. El solvente Stoddart, es un tipo de nafta con un rango de puntos de ebullición entre 150°C y 200°C (C_8 a C_{12}), ampliamente utilizado como disolventes de pinturas, solventes para lavados en seco y procesos de extracción. Este solvente está formado por un 30%-50% de alcanos lineales o ramificados, 30%-40% de cicloalcanos y hasta un 20% de hidrocarburos aromáticos [8] [12].

1.3.3. Jet fuel

Son combustibles ligeros disponibles en varios tipos de acuerdo a los requerimientos del motor de un avión. Se distinguen dos grados generales de este tipo de combustible:

- 1) nafta-keroseno, que es una mezcla entre los hidrocarburos que forman las fracciones de estos combustibles, conocida también como JP-4. Su rango de hidrocarburos va desde C_6 hasta C_{12-14} ; y
- 2) keroseno, usado por la aerolíneas a nivel mundial bajo el nombre de Jet A, que contiene hidrocarburos desde C_8 hasta C_{17} (la mayoría entre C_{10} y C_{14}) distribuidos entre hidrocarburos saturados (80% a 90%) y aromáticos (10%-20%), generalmente libres de olefinas [12].

1.3.4. Kerosene

Esta fracción es esencialmente de igual composición que el combustible Jet A, con el mismo rango de hidrocarburos (C_8-C_{14}). Sin embargo se lo comercializa en dos clases:

- 1) N° 1-K, un keroseno con un contenido muy bajo de azufre, y
- 2) N° 2-K, un keroseno sin tratamiento previo de eliminación de azufre.

1.3.5. Diesel

El combustible diesel es una fracción del petróleo crudo que destila entre 200°C y 370°C, aproximadamente, compuesta por una mezcla de hidrocarburos saturados (60%-70%) y aromáticos (30%-40%). Son productos de 4 a 5 veces más densos que la gasolina, y de menor volatilidad y solubilidad [13].

De acuerdo a la aplicación se produce Diesel de diferentes grados, los cuales tienen que satisfacer las diferentes condiciones de uso y requerimientos de cada tipo de motor. Sin embargo, los grados más comercializados son dos: Diesel #1 y Diesel #2; cuya diferencia radica en su densidad y rangos de punto de ebullición, siendo el Diesel #2 con un rango de ebullición de 200°C-370°C más denso que el Diesel #1 con rango de ebullición de 200°C-320°C.

El rango de carbonos para el Diesel #1 va desde C₈ hasta C₁₇, con la mayoría dentro de un rango de C₁₀ a C₁₄ y el rango de carbonos para Diesel #2 va desde C₁₀ hasta C₂₆, con la mayoría de carbonos dentro de un rango de C₁₀ a C₂₀ [12].

El diesel es un combustible, que al igual que la gasolina, es ampliamente utilizado como combustible para motores. Los motores que utilizan diesel como combustible son más eficientes que los motores que utilizan gasolina como carburante ya que aprovechan alrededor de 35% de energía liberada por combustión mientras que motores a gasolina no superan un aprovechamiento de 25%. Por esta razón los motores a diesel encontraron su aplicación en camiones pesados, tractores agrícolas, locomotoras de ferrocarriles, barcos y demás maquinaria pesada.

Este tipo de combustible debe cumplir especificaciones que determinan su calidad, entre ellas se tiene el índice de cetano. El índice de cetano es una medida de la tendencia del diesel a inflamarse instantáneamente, y por lo tanto del grado de eficiencia de combustión [12]. Por lo general esta índice varía entre 45 y 55, lo que indica una buena combustión y bajo nivel de contaminación. Hace referencia a una mezcla de n-hexadecano (cetano referencial de valor = 100) y a α -metil naftaleno (valor = 0).

El contenido de azufre es otro aspecto importante para evitar el desgaste de los motores y la contaminación. En el Ecuador se producen tres tipos de diesel: el Diesel Premium con un contenido máximo de azufre de 0,05%, el Diesel 2 con un máximo de azufre 0,70% y el Diesel 1 con un máximo de azufre 0,30%. El primero está destinado solo para el Distrito Metropolitano de Quito y Cuenca, por requerimiento de sus Municipios conseguidos a través de Ordenanzas Municipales; el segundo es el más comercializado distribuyéndose a nivel nacional; mientras que el tercero es prácticamente de uso restringido para las industrias que lo requieren [4].

La normativa para el contenido de azufre en el Ecuador no es exigente si se compara con la normativa que rige en países como Chile, donde se establece que el contenido máximo de azufre en diesel no debe superar el 0,05%. Mayores diferencias se encuentran si se comparan con la norma europea que no permite contenidos de azufre superiores al 0,035% y con la norma de estados como California o países como Suecia que exigen contenidos de azufre inferiores al 0,015%.

1.3.6. Fuel Oil

Esta fracción es considerada como el residuo luego de la destilación del petróleo crudo en la obtención de gasolinas, naftas y diesel, por lo tanto es más compleja en cuanto a su composición e impurezas. También se conoce bajo el nombre de Bunker. El rango de carbonos dentro de esta fracción varía desde C_{20} hasta C_{40} , distribuido aproximadamente en un 25% de hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAP's), 15% de parafínicos, 45% de nafténicos y 15% de compuestos que contienen metales, oxígeno o azufre [12]. Su uso comercial e industrial se limita a condiciones donde la fuente de calor sea lo suficiente fuerte para producir la combustión.

1.3.7. Lubricantes /Aceites minerales

Los aceites lubricantes son fracciones mucho más pesadas; su punto de ebullición supera los 350°C y su rango de carbonos varía desde C_{20} a C_{50+} . Su composición comprende hidrocarburos parafínicos entre un 70% y 90% y aromáticos entre 10% hasta 30%. Pero según tipo de petróleo crudo del cual se deriven pueden ser de base parafínica, aromática o mixta [12]. Comercialmente existe una amplia variedad de lubricantes, cuyos hidrocarburos varían su número de carbonos según el tipo de aplicación; así los lubricantes abarcan aceites de uso automotriz y aviación, lubricantes marinos, de ferrocarriles y aceites industriales que incluyen los hidráulicos, de turbinas, compresores, cilindros, y más.

2. HIDROCARBUROS TOTALES DE PETRÓLEO (TPH's)

2.1. GENERALIDADES DE LOS TPH's

Como se ha descrito, la composición del petróleo y sus productos derivados es compleja. La cantidad de hidrocarburos que se encuentran en él y en sus derivados dificultan su medición individual, sin embargo, resulta mucho más práctica la medición total de hidrocarburos presentes en una muestra particular, como *hidrocarburos totales de petróleo* (TPH's).

Los hidrocarburos que forman parte de los TPH's son compuestos inflamables, con densidades variables y diferentes puntos de ebullición, propiedades que influyen en su comportamiento sobre el agua, suelo o aire.

El grupo de los TPH's lo conforman compuestos de carbono e hidrógeno en un rango C₅ a C₃₆, abarcando productos derivados como gasolina, nafta, jet fuel, keroseno, diesel, etc. Para un mejor entendimiento de su comportamiento en aguas o suelos, se los divide en las fracciones que se observan en la tabla 1.3.

Tabla 1.3. Rangos de fracciones de TPH's [12]

Fracción TPH	Constituyente
TPH-GRO (TPH en rango de gasolina)	C ₅ -C ₁₀
TPH-DRO (TPH en rango de diesel)	C ₁₀ -C ₂₅
TPH-ORO (TPH en rango de aceites lubricantes)	C ₂₅ -C ₃₆

Así se define a estas fracciones como la suma de los hidrocarburos que están dentro de los tiempos de retención de C₅ a C₁₀ (n-Pentano a n-Decano), C₁₀ a C₂₅ (n-Decano a n-Pentacosano) y C₂₅ a C₃₆ (n-Pentacosano a n-Hexatriacontano) para GRO, DRO y ORO respectivamente.

Estas fracciones agrupan compuestos con propiedades químicas similares entre sí. Estas varían de acuerdo a la estructura carbonada formadora de los compuestos presentes cada fracción. Las principales propiedades que agrupan a estos compuestos son la densidad, punto de ebullición, presión de vapor, solubilidad y polaridad.

El punto de ebullición de los hidrocarburos es la clave para su agrupación. Cada una de las fracciones obtenidas a partir de petróleo agrupa una serie de compuestos dentro un rango de puntos de ebullición. Esta propiedad se incrementa a medida que los hacen los átomos de carbono dentro de la molécula.

Las fracciones de hidrocarburos con densidades menores a la del agua forman una película superficial sobre ella y se mueven en dirección a su flujo, tal es el caso de la gasolina, diesel, aceite. Estas fracciones son particularmente dañinas para el fitoplancton ya que impiden el paso de luz solar necesaria para la fotosíntesis. Sin embargo, fracciones más pesadas como el asfalto por ser de mayor densidad que el agua, pueden migrar hacia el fondo pudiendo quedar retenidos en los sedimentos o percolarse hasta aguas subterráneas [10].

La permanencia de hidrocarburos en un medio está relacionada a su presión de vapor y está determinada por el tamaño de las moléculas. De esta depende la tendencia de los hidrocarburos a volatilizarse [10]. Fracciones de hidrocarburos con cadenas de carbono corta tienden a volatilizarse fácilmente desprendiendo olores fuertes. Mientras que fracciones más pesadas, con presiones de vapor más bajas, permanecen retenidas. Esta propiedad indica el contenido en productos livianos que determinan la seguridad y las pérdidas durante el transporte y almacenamiento.

Los hidrocarburos de petróleo se caracterizan por ser compuestos no polares debido a su estructura, cuya diferencia de electronegatividad entre los enlaces C-H es mínima. Esta característica es mayor a medida que crecen las cadenas de hidrocarburos. Debido a su condición apolar, la mayoría de los hidrocarburos de petróleo son insolubles o poco solubles en el agua. Esta particularidad les permite dispersarse o emulsionarse en ella [10] [11].

La variabilidad de compuestos que se encuentran dentro del grupo de los TPH's dificultan determinar su nivel de toxicidad para la salud humana y para el medio ambiente. En un análisis de suelo o agua, su fraccionamiento en diferentes rangos de carbono no proporciona información directa sobre ello, sin embargo facilita su análisis y permite estimar su riesgo.

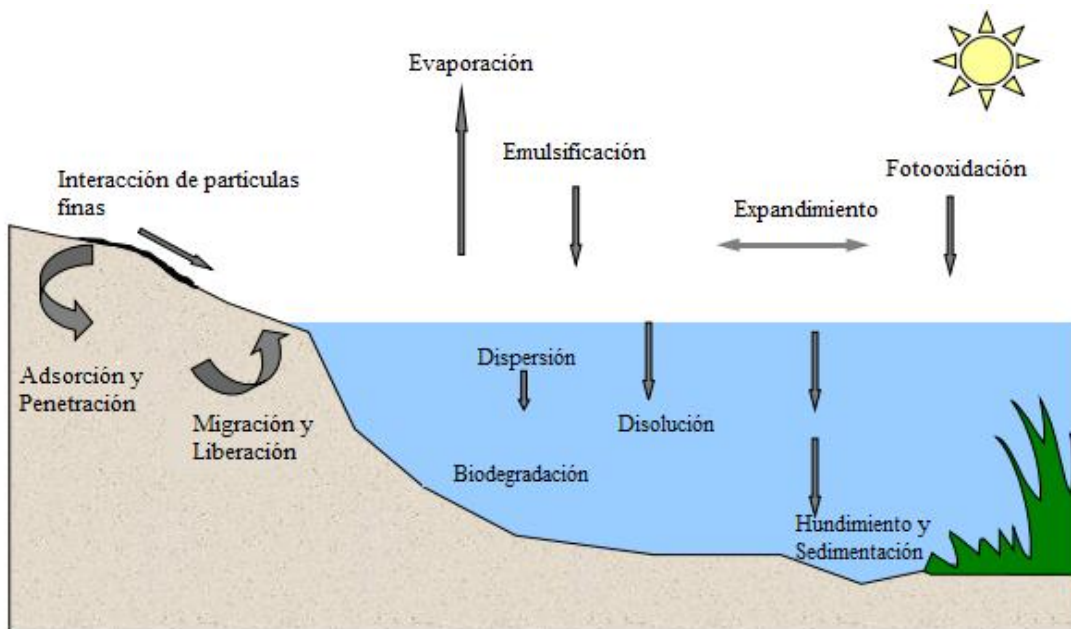
2.2. DESTINO AMBIENTAL Y TOXIDAD DE TPH's EN AGUA

Los hidrocarburos de petróleo llegan al medio ambiente principalmente mediante derrames de petróleo crudo o derivados, generados por el hombre desde diferentes fuentes: accidentes durante su transporte, fugas en los equipos de perforación o refinación, etc. Cuando el medio afectado es el agua, los efectos son altamente dañinos para el fitoplacton y los animales acuáticos.

Cuando se derrama petróleo en un medio acuático, la mancha de aceite se extiende en una superficie cada vez mayor hasta llegar a formar una capa muy extensa, de un espesor muy delgado. Se estima que en el transcurso de 1½ horas, 1m³ de petróleo puede llegar a formar una mancha de 100m de diámetro y 0,1mm de espesor [14].

Los efectos del petróleo sobre los ecosistemas acuáticos dependen de varios factores, entre los que se encuentran: tipo de petróleo (crudo o refinado), cantidad, época del año, condiciones atmosféricas y temperatura del agua. Cuando el petróleo es liberado al medio ambiente inmediatamente sufre una variedad de cambios físicos, químicos y biológicos. De acuerdo a esto el petróleo derramado experimenta lo que se conoce como *proceso de desgaste*, pudiendo tomar varios caminos dentro de un medio acuático, como se observa en la figura 1.1 [15].

Figura 1.1. Proceso de desgaste del petróleo en el medio ambiente [15]



Estos fenómenos se ven afectados por propiedades físicas del petróleo que incluyen la densidad, viscosidad y solubilidad. Es así que hidrocarburos de bajo peso molecular se volatilizan en un periodo de dos hasta siete días, dependiendo de la temperatura del agua. Mientras que hidrocarburos de mayor densidad no logran volatilizarse y tienden a formar una capa impermeable sobre el agua. Además los componentes pesados del petróleo como los de asfalto o alquitrán se hunden y sedimentan en el fondo, ocasionando la muerte animales o plantas que habitan en las profundidades [15].

Los hidrocarburos aromáticos, pueden disolverse en agua y quedar biodisponibles para los seres vivos con mayor facilidad. Por otra parte, la fracción no soluble puede formar emulsiones bastante estables, que mediante foto-oxidación pueden generar metabolitos mucho tóxicos para la biota [12]. Compuestos oxidados por esta vía, como cetonas alifáticas o aromáticas, aldehídos, ácidos carboxílicos o ésteres, contribuyen a la toxicidad sobre la biota acuática.

La Agencia de Protección Ambiental en el año 2004 estableció cuatro categorías de petróleo de acuerdo a su comportamiento en el medio ambiente, como se muestra en la siguiente tabla:

Tabla 1.4. Clasificación del petróleo según su comportamiento en el medio ambiente [15]

Categoría	Característica
<p>Categoría A: Petróleos ligeros volátiles</p>	<p>Fluyen y se expanden rápidamente sobre una superficie sólida o líquida. Son inflamables y se evaporan con facilidad deprendiendo fuertes olores. Penetran con facilidad superficies porosas, pudiendo ser persistentes en ellas. Sin embargo, no tienden a adherirse y pueden ser fácilmente lavados con agua. Por otro lado, son altamente tóxicos para los humanos y biota debido a su elevado potencial de fluidez que les permite moverse rápidamente desde el suelo hasta aguas subterráneas.</p>
<p>Categoría B: Petróleos no pegajosos</p>	<p>Poseen un aspecto más ceroso o aceitoso. Son menos tóxicos que los petróleos de Categoría A, pero se adhieren con mayor facilidad a las superficies. Sin embargo, pueden ser removidos por lavados más rigurosos. Al calentarse su viscosidad disminuye facilitando su penetración en superficies porosas. Una evaporación de sus componentes volátiles puede conducir a residuos de petróleo de Categoría C o D, siendo persistentes en el medio ambiente.</p>
<p>Categoría C: Petróleos pesados pegajosos</p>	<p>Son petróleos más viscosos y pegajosos que los anteriores. Su remoción con agua no resulta factible, pero debido a su densidad y viscosidad no penetran con facilidad superficies porosas. Su densidad es similar a la del agua, por lo que parte flota en la superficie y parte se hunde. Su desgaste o evaporación puede producir residuos de petróleo sólidos o de categoría D. Son menos tóxicos que los anteriores pero la fauna y flora puede quedar atrapada o enterrada.</p>
<p>Categoría D: Petróleos pesados no fluidos.</p>	<p>Son relativamente no tóxicos y sólidos. Pero por calentamiento se funden dificultando su limpieza.</p>

Si la contaminación con petróleo se da en un sistema acuático, la facilidad y tiempo de autorecuperación depende principalmente del tipo de petróleo (refinado o crudo), la cantidad y la capacidad de biodegradación de los microorganismos presentes. Hidrocarburos con pesos moleculares bajos son más susceptibles a la degradación microbiana al igual que hidrocarburos aromáticos de uno, dos o tres anillos aromáticos; mientras que hidrocarburos de elevados pesos moleculares o con más de tres anillos aromáticos son menos susceptibles a ella [16].

Así, gran parte de los ecosistemas acuáticos expuestos a grandes cantidades de petróleo crudo requieren un mínimo de 3 años para su recuperación. Sin embargo, los ecosistemas contaminados por petróleo refinado, requieren de 10 años o más años para su recuperación debido a que no son naturales y existen pocos organismos naturales capaces de degradarlos; además, se lleva a cabo en un proceso lento [16].

La forma en que el petróleo derramado afecta a la fauna y flora es variada y compleja; afecta a todo el ecosistema, e incluso puede llegar al hombre a través de la cadena alimenticia (plantas - animales herbívoros - animales carnívoros - hombre). A pesar de que los organismos consumidos no presenten evidencia de contaminación ya que es de baja concentración y de efectos de largo plazo, el hombre se ve fuertemente afectado. Estos hidrocarburos se ligan a lípidos, los cuales se movilizan en el cuerpo, ligándose a su vez, a las proteínas, las cuales pueden llegar a afectar a los ácidos nucleicos (ADN y ARN), con un posible deterioro del código genético y memoria de la especie. Si se considera a los organismos acuáticos bajo este punto de vista, se destruirá el mayor recurso alimenticio existente.

2.3. MÉTODOS DE ANÁLISIS DE TPH's

Como se ha mencionado, la forma de analizar los hidrocarburos de petróleo, es mediante su detección y cuantificación total, TPH's. El análisis de los TPH's determina cuantitativamente todos los hidrocarburos de petróleo extraídos de una muestra que puede ser agua o sedimento.

Los métodos de análisis de TPH's varían ampliamente. Se han desarrollado métodos no específicos, así como otros que proveen resultados para hidrocarburos en un rango de puntos de ebullición o para compuestos individuales como HAP's o BTEX, por lo tanto la interpretación de los resultados analíticos depende de cómo se realizó la determinación. Actualmente como una de las técnicas de análisis de TPH's se utiliza la cromatografía de gases. Esta técnica provee gran sensibilidad y selectividad, y además, sirve tanto para identificación como para cuantificación de hidrocarburos en un rango determinado.

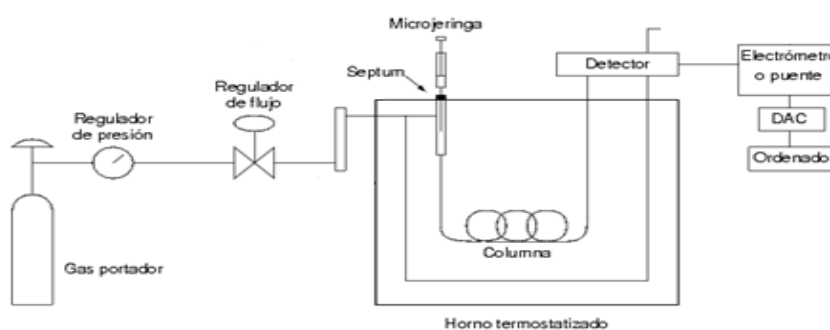
Los métodos de análisis basados en la utilización de espectrofotometría de infrarrojos han sido utilizados ampliamente para este fin, ya que son sencillos, económicos y rápidos. Sin embargo, su incapacidad de proveer información acerca de la identificación de los hidrocarburos presentes ha limitado su aplicación.

2.3.1. Análisis de TPH's por cromatografía de gases

Estas determinaciones se basan en la suma de los componentes detectados dentro de un rango establecido: volátiles o semivolátiles. El análisis de hidrocarburos de petróleo en el rango de los volátiles se denomina "TPH-GRO", mientras que el análisis en el rango de los semivolátiles se denomina "TPH-DRO".

La cromatografía de gases es una técnica separativa de mezclas que utiliza una fase móvil (gas inerte: He o N₂) y una fase estacionaria (columna empacada o capilar). En esta cromatografía una muestra compleja puede ser separada en sus componentes individuales cuando es arrastrada por la fase móvil a través de la fase estacionaria. La separación se lleva a cabo por una combinación de factores que incluyen el punto de ebullición, polaridad y diferencias de afinidad entre los componentes de la mezcla y la columna. Para lograr la separación de hidrocarburos no volátiles los compuestos por analizar deben estar en fase de vapor, lo cual se logra al introducir la muestra en el inyector, alcanzando la temperatura de ebullición de estos compuestos [17] [18].

Figura 1.2. Diagrama de un cromatógrafo de gases [17]



2.3.2. Columnas para análisis de TPH's por cromatografía de gases

Para el análisis de TPH's se emplean generalmente dos tipos de columnas: empacadas o capilares, siempre que su fase estacionaria sea de polaridad baja. A pesar de que las columnas empacadas han sido ampliamente utilizadas, se ven reemplazadas por el uso de las capilares. Estas son columnas más largas y estrechas, hechas de sílice fundida (SiO₂) y recubiertas por una poliimida² capaz de resistir hasta 350°C, otorgando flexibilidad y permitiendo la programación de su temperatura. En este tipo de columnas la fase estacionaria es una película líquida y delgada inmovilizada en un soporte inerte. Las propiedades que debe cumplir la fase estacionaria son: baja volatilidad, estabilidad térmica

² Polímero cuyo monómero es una imida, esta es un compuesto cuyo grupo funcional consiste en dos grupos carbonilo enlazados a un átomo de nitrógeno.

(elevado punto de ebullición, al menos 100°C por encima de la temperatura de trabajo) e inercia. Estas características ofrecen mayor resolución, mayor rapidez de análisis y mayor sensibilidad que las columnas empacadas [18] [19].

Tabla 1.5. Características de columnas empacadas y capilares [18] [19]

Características	Columnas empacadas	Columnas capilares
Longitud	1-10m	15-100m
Diámetro	1-4mm	0,1-0,53mm
Tamaño de partículas de F.E	Diez veces menor que diámetro de tubo	3-5 veces menor que diámetro de tubo
Permeabilidad	Baja	Alta
Flujo de gas portador	30-100mL/min	0,5-3mL/min

El tiempo que tarda un compuesto en pasar sobre una columna específica es llamado tiempo de retención, y es reproducible y característico de un compuesto específico bajo parámetros experimentales establecidos. A medida que los componentes separados fluyen a través de la columna pueden ser detectados. La señal del detector es proporcional a la cantidad del compuesto presente [19].

2.3.3. Detector de Ionización de Flama (FID) para análisis de TPH's

Para la determinación de hidrocarburos de petróleo en el rango de los semivolátiles se emplea GC-FID o GC-MS, por otro lado, los hidrocarburos en el rango de los volátiles requieren de un sistema de purga y trampa acoplado a GC.

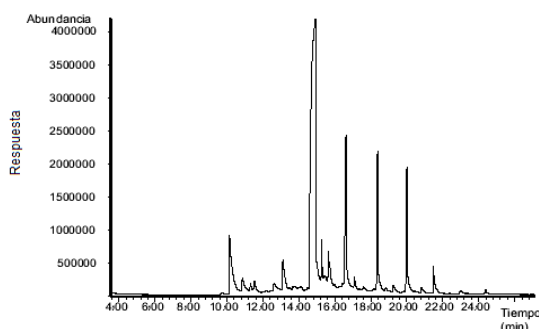
En la GC-FID, los compuestos son detectados con un detector de ionización de flama, el cual responde virtualmente a todos los compuestos que pueden pirrolizarse de manera proporcional a la concentración de los mismos, convirtiendo la señal en un cromatograma³ La señal proveniente del detector es procesada por un sistema integrador de adquisición de datos, que permite la visualización de los datos mediante una computadora, y es

³ Gráfico que representa la respuesta del detector en función del tiempo.

proporcional a la cantidad del compuesto presente. Cada pico o grupo de picos provenientes de la elusión es identificado por comparación con sus respectivos índices de retención y por correspondencia visual con un cromatograma estándar. .

En la figura 1.3 se muestra la respuesta del detector FID ante compuestos orgánicos. Para TPH's, su concentración será el equivalente a la suma de las respuestas de cada hidrocarburo detectado. En el caso de TPH's fracción Diesel, será igual a la sumatoria de las respuestas de los 16 compuestos que forman fracción DRO.

Figura 1.3. Respuesta del detector FID [18]



Por otra parte, el detector FID es no selectivo, por lo tanto es sensible a interferencias que esconden la señal de los analitos. Sin embargo, no es una limitante siempre que se realice un proceso de limpieza previo al análisis instrumental.

La principal ventaja del uso de GC-FID es que provee información que permite conocer si la contaminación proviene directamente del petróleo o de alguno de sus derivados, lo que es importante para el tratamiento de área afectada.

2.4. LEGISLACIÓN AMBIENTAL APLICADA A TPH's

El Estado ecuatoriano conector del daño en el medio ambiente y alteraciones en la salud, producidos por la contaminación con hidrocarburos, establece reglas para todas las fases de

las operaciones hidrocarburíferas, con la finalidad de mejorar la calidad ambiental mediante sistemas eficientes y modernos de gestión. El Reglamento Ambiental para Operaciones Hidrocarburíferas en el Ecuador (RAOHE) se respalda mediante el decreto ejecutivo N° 1215 publicado en el registro oficial N° 265 del día 13 de febrero de 2001.

Dentro de este reglamento se establecen reglas que ayudarán a cumplir eficientemente responsabilidades de monitoreo, control, fiscalización y auditoría ambiental. Para ello se establecen límites máximos permisibles para determinados parámetros analíticos, que se consideran relevantes para el monitoreo ambiental y calidad de las aguas, entre ellos límites para hidrocarburos de petróleo, como se observa en la tabla 1.6.

Tabla 1.6. Límites para el monitoreo ambiental permanente de aguas y descargas líquidas en la exploración, producción, industrialización, transporte, almacenamiento y comercialización de hidrocarburos y sus derivados, inclusive lavado y mantenimientos de tanques y vehículos [20].

Inmisión (punto de control en el cuerpo receptor)					
Parámetro	Expresado en	Unidad	Valor límite permisible	Promedio anual	Aplicación
Hidrocarburos totales de petróleo	TPH	mg/L	<0,5	<0,3	General

El Texto Unificado de la Legislación Ambiental Secundaria (TULAS) también establece límites permisibles de hidrocarburos de petróleo en aguas. Estos límites son definidos de acuerdo a la aplicación y uso del agua, como se observa en la tabla 1.7.

Tabla. 1.7. Criterios de calidad admisible para la preservación de la flora y fauna en aguas dulces, frías o cálidas, y en aguas marinas y de estuario [21].

Parámetro	Expresado como	Unidad	Límite Máximo Permisible		
			Agua fría dulce	Agua cálida dulce	Agua marina y de estuario
Hidrocarburos totales de petróleo	TPH	mg/L	0,5	0,5	0,5

3. ACTIVIDAD HIDROCARBURÍFERA EN LA AMAZONÍA

3.1. IMPACTOS SOCIOAMBIENTALES

El Ecuador posee un área aproximada de 248.406,5 Km² del cual 116.604,06 Km² representa la región Amazónica, esto significa que alrededor del 47% es territorio amazónico [22]. Posee gran cantidad de recursos naturales y dispone de una riqueza cultural representada por ocho etnias: Cofán, Siona-Secoya, Huaorani, Shuar, Achuar, Shiwiar, Quichua y Zapara que agrupan 140.000 personas aproximadamente [23] distribuidas en seis provincias: Sucumbíos, Francisco de Orellana, Napo, Pastaza, Morona Santiago y Zamora Chinchipe.

Se encuentra a una altura de 0 a 1200 msnm, su clima es megatérmico húmedo y megatérmico lluvioso con una precipitación anual de 2000 a 4000 milímetros y una temperatura que fluctúa alrededor de 25°C [22].

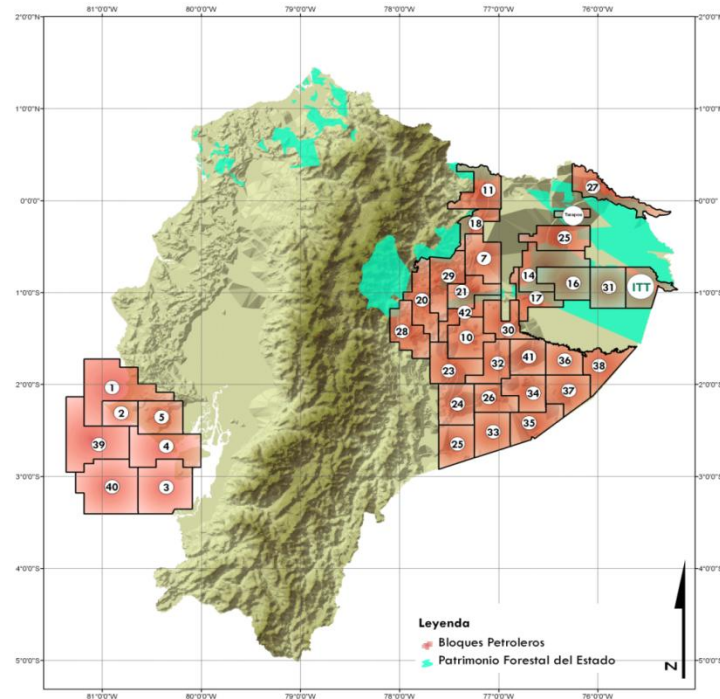
En el interior de la Amazonía se encuentra una reserva potencial de crudos, por lo que ha sido sectorizada en bloques de 200.000 hectáreas (2000Km²) para su explotación. El crudo proveniente de este sector es en promedio de 27°API. Sin embargo, descubrimientos realizados señalan una reserva potencial de crudos pesados, entre 15°API y 20°API [4].

En el Ecuador la asignación de los campos petroleros se realiza mediante concesiones en rondas petroleras. Hasta la actualidad se han ejecutado 9 rondas, de las cuales 8 han servido para adjudicar campos ubicados en la Amazonía, esto equivale alrededor de 3,6 millones de hectáreas (36.000 Km²). La novena ronda se produjo en el 2002 donde se licitó únicamente los campos de la costa. Una décima ronda se ha anunciado para la

concesión de áreas en los territorios de Napo, Pastaza y Zamora Chinchipe, además de la continuación del proyecto ITT (Ishpingo, Tambococha, Tiputini) que está situado en el Parque Nacional Yasuní y la Reserva Faunística Cuyabeno.

Las concesiones para la explotación de petróleo se reflejan en la existencia actual de 15 bloques en un territorio de más de 2'836.000 hectáreas (28.360Km²). Si a esta extensión de territorio se le suman los campos marginales y compartidos y los campos de Petroecuador, se puede hablar de que el territorio consignado a las petroleras asciende a 5'000.000 de hectáreas aproximadamente (50.000Km²) [23]. Esto significa, que se ha entregado prácticamente el 43% de la región Amazónica para las actividades hidrocarburíferas.

Figura 1.4. Distribución de la producción petrolera en el Ecuador [24].



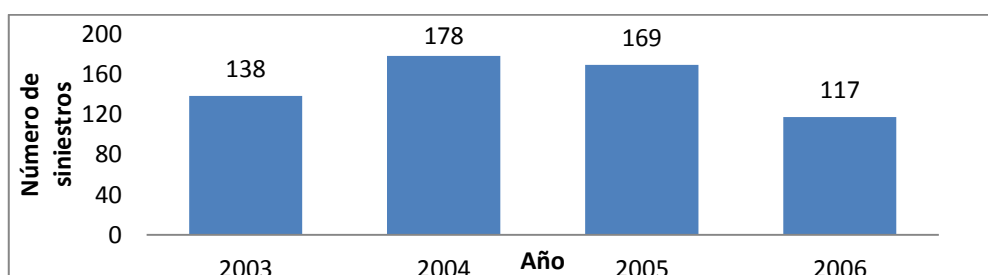
Todas las etapas que involucra la industria petrolera causan efectos que acaban por deteriorar el medio ambiente, ya que se asienta en regiones tropicales de gran

biodiversidad importantes para la estabilidad del clima mundial; y además, es el hogar de pueblos indígenas y comunidades ancestrales. Lugares de gran biodiversidad, y que además constituyen patrimonio forestal del Estado ecuatoriano, como es el caso de la Reserva de Producción Faunística Cuyabeno, Parque Nacional Yasuní y Reserva Biológica Limoncocha han sido altamente afectadas por esta industria.

Las disposiciones, manejo, transporte y almacenamiento del petróleo en estado natural y sus productos derivados, especialmente aquellos utilizados como combustibles (gasolina, diesel, jet fuel, keroseno) han hecho que los niveles y las posibilidades de contaminación ambiental sean aún mucho más elevados, generando contaminación de suelos y aguas superficiales y subterráneas ya sea por fugas o derrames en piscinas, tanques u oleoductos.

Los derrames de petróleo en el Ecuador han sido numerosos y con pérdidas incalculables no únicamente para la industria petrolera sino también para el medio ambiente. En el 2003 y 2004 se registraron 138 y 178 derrames respectivamente, cuyas causas se atribuyen a la utilización de tecnologías antiguas y hábitos contaminantes irresponsables [22] [25] y en el 2005 el índice de siniestralidad llegó a un promedio mensual de 20 derrames, cuyas causas principales fueron rotura de la tubería, corrosión y atentados. La siguiente figura resume el número de siniestros durante los años 2003, 2004, 2005 y 2006:

Figura 1.5. Siniestros importantes ocurridos en la Amazonía durante la últimos años (2003-2006)



Durante estos años de actividad petrolera, se han realizado pocos estudios que reconozcan su impacto sobre la población que circunda las instalaciones.

En 1993, la Unión de Promotores Populares de Salud de la Amazonía Ecuatoriana realiza un estudio sobre las familias que viven cerca de las instalaciones petroleras. En dicho estudio se demuestra que el 49% de las familias han sufrido algún tipo de accidente que ha comprometido su salud por uso de aguas contaminadas, intoxicaciones por gas, contacto con químicos, explosiones de pozos, ruptura de oleoductos y consumo de alimentos intoxicados [25].

Jocknick (1994) determina las concentraciones de HAP's en agua potable, agua de lluvia y agua de tanques, demostrando que tenían concentraciones que oscilaban entre 32,8 ng/L y 2792 ng/L. Cabe destacar que estos compuestos son potencialmente cancerígenos [26].

Maldonado y Narváez (2003) demuestran en su estudio que el 75% de la población cercana a pozos de producción usa agua contaminada (un agua fétida, salada, de color y/o con petróleo) para beber, cocinar y aseo, no por el desconocimiento de peligros, sino porque la población ha quedado sin ninguna otra opción para el consumo. Además aseguran que el 82.4% de la población se ha enfermado en alguna ocasión por la contaminación: el 96% de los enfermos reportan problemas de la piel, 75% problemas respiratorios, 64% problemas digestivos, 42% problemas en los ojos [27].

San Sebastián y Karin (2004) en su estudio comparativo entre las provincias de la Amazonía reportaron niveles de leucemia tres veces más altos niños de hasta 4 años que viven en zonas de explotación petrolera [28].

La RPFC, que cubre con un rango longitudinal de 200 a 280msnm, goza de las bondades de un bosque húmedo tropical. Su variación estacional es bastante marcada. La época seca, definida como los meses que reciben menos de 250mm de lluvia por mes, comprende desde fines de diciembre hasta marzo. La época lluviosa, definida como los meses que reciben más de 250mm de lluvia por mes, comprende desde abril hasta julio; y la época de fluctuación comprende desde agosto hasta mediados de diciembre. La media de temperatura diaria varía típicamente entre 21.3°C y 27.8°C, alcanzando un máximo de 38°C y porcentaje de humedad relativa es de aproximadamente 72% (61.8 – 76.7%) [31] [32].

La RPFC incluye también la parte baja de la cuenca del río Aguarico y el río Güeppi. Otros ríos que se encuentran dentro de la Reserva son el río Sábalo, Pacayacu y Yanayacu. Los ríos que brindan mayores facilidades de navegación durante todo el año son el Aguarico, que recorre por el límite sur del área, y el San Miguel, que recorre al norte fuera de los límites de la zona [32] [33].

La RPFC contiene el mayor sistema lacustre tropical del Ecuador. En el curso medio del río Cuyabeno se forma un sistema lacustre de 14 lagunas comunicadas entre sí por pequeños canales pantanosos. Las que se destacan son: Laguna Grande, Laguna Caimancocha, Laguna Patococha, Laguna Marucocha, Laguna Aucacocha y la Quebrada de la Hormiga. Las lagunas pueden medir hasta 2 Km de largo en épocas de lluvia y en épocas secas disminuyen en promedio 5m [31]. Los cuerpos de agua que nacen en la tierra baja de la Reserva pueden ser de agua clara como el Río Aguarico o de agua negra como el Río Cuyabeno, dependiendo del grado de contacto entre el material vegetal (hojarasca, ramas) en descomposición y el agua. Las lagunas, por ejemplo, son de aguas negras debido a su origen.

3.3. BIODIVERSIDAD DE LA RESERVA DE PRODUCCIÓN FAUNÍSTICA CUYABENO

Nuestro país se encuentra entre los primeros 17 países megadiversos⁴ del planeta y el tercero a nivel del continente americano, según la lista del Centro de Monitoreo de Conservación Ambiental, siendo entre todos el más pequeño en cuanto a extensión territorial. En este contexto, la biodiversidad de la RPFC es excepcional y alcanza dimensiones realmente sorprendentes.

En cuanto a la flora se conoce que por cada hectárea en un área de estudio existen: 1561 árboles de 473 especies, 187 géneros y 54 familias. Las especies más comunes que se desarrollan son el guarango de tierra, guabo, cedro, canelo, amarillo, maní de árbol, bola de cañón, guarumo, entre otras [35].

Y en lo referente a la diversidad faunística se ha registrado 493 especies de aves, 165 especies de mamíferos, 96 especies de anfibios, 91 especies de reptiles, y es considerada una de las zonas más ricas en ictiofauna con más de 470 especies de peces; esto es debido a la complejidad hidrográfica del área (ríos de aguas negras y claras, y patrones variables de inundación). Los animales más representativos de la zona son el águila arpía, guatusa, armadillo gigante, anguila eléctrica, boas de agua y de tierra, caimán de anteojos, delfín rosado, guanta, guacamayos, hormigas militares, manatíes, monos lanudo, nutria gigante, paiche, pirañas, tortugas terrestres y de agua, entre otros [32].

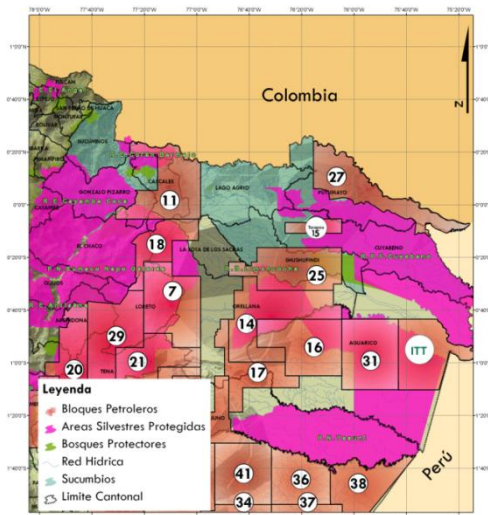
⁴ Grupo de países que albergan el mayor índice de biodiversidad del planeta, según el Centro de Monitoreo de Conservación Ambiental. Otros países son Madagascar, República Dominicana del Congo, Sudáfrica, Brasil, Colombia, Ecuador, Estados Unidos, México, Perú, Venezuela, China, Filipinas, India, Indonesia, Malasia, Australia, Papúa Nueva Guinea.

3.4. CONTAMINACIÓN PETROLERA EN LA RESERVA DE PRODUCCIÓN FAUNÍSTICA CUYABENO

La Reserva de Protección Faunística Cuyabeno es una de las tres áreas protegidas que se ha visto afectada por la exploración, explotación y demás acciones que involucran la actividad hidrocarburífera. Con fines de conservación se declaró zona intangible a 435.500 hectáreas mediante el decreto presidencial N°551 del 29 de enero de 1999, dejando libre de protección aproximadamente 170.000 hectáreas.

Dentro de este territorio sin protección se encuentran: el campo de producción Cuyabeno, localizado en el afluente del río Cuyabeno a no más de 8 Km de las lagunas; y el campo Tarapoa, operado por la empresa canadiense Alberta Energy Co. Estos dos son los que producen mayor impacto sobre los territorios de la Reserva; sin embargo, los bloques 15 y 27, a pesar de estar fuera de ese territorio se ubican cercanamente, influenciando también sobre los mismos. La deforestación, contaminación de suelos, aguas y aire, pérdida de biodiversidad y los procesos acelerados de colonización son sólo algunos de los impactos que la explotación en esta área ha generado [27].

Figura 1.7. Bloques petroleros y áreas protegidas dentro de la provincia de Sucumbíos [23]



Entre los años 1984 y 1989 han ocurrido seis grandes derrames de crudo procedentes del campo Cuyabeno. El derrame ocurrido en octubre de 1989 fue de tal magnitud que alcanzó el río Cuyabeno y el sistema lacustre de la RPF, reportándose la muerte de toda clase de vida acuática y obligando a los moradores a la perforación de pozos para poder obtener agua. Esta catástrofe dio lugar al primer programa de limpieza en la historia del Ecuador.

Durante la última década se han producido 16 derrames de gran trascendencia (*Ver anexo 2*) con un equivalente de 588,75 barriles que han contaminado un área aproximada de 332.425m² [36], de los cuales alrededor de 490 barriles corresponde a una catástrofe ocurrida el 18 de agosto de 2006, provenientes del pozo 8 del campo Cuyabeno. Según informes de la comunidad el crudo derramado tardó 3 días en trasladarse desde el río Cuyabeno Chico hacia el sistema de lagunas de la Reserva, una vez ahí dejó de moverse unidireccionalmente y se esparció por el sistema lacustre. El crudo alcanzó las lagunas Aucacocha, Marucocha y Patococha, esto implica riberas, espejos de agua, sedimentos lacustres, suelos y vegetación, situados en zonas bajas y llanuras pantanosas influenciadas por la crecida del nivel de las aguas. Como medida de contingencia a lo ocurrido se elaboró un programa de limpieza y remediación.

Todos los hechos ocurridos durante el tiempo de actividad petrolera dentro de la Reserva de Protección Faunística Cuyabeno han generado pérdidas invaluable para esta zona. Sin duda el agua de ríos y lagunas ha sido el más afectado por los numerosos derrames. Este recurso es hábitat de una gran variedad de ictiofauna, además de ser un recurso vital para todas las demás especies y la principal fuente de agua para los colonos y comunidades indígenas Siona, Secoya, Quichua, Cofán y Shuara. Quizás, el caso más notorio de pérdida en esa zona es el de los mamíferos acuáticos. Las especies que se ven fuertemente

amenazadas son el *delfín rosado* (*Innia geoffrensis*), *nutria gigante* (*Pteronura brasiliensis*) y *manatí* (*Trichechus inunguis*) [32] [35].

En conclusión, todos los procesos que involucra la actividad petrolera, más la series de siniestros que se han producido a lo largo de su historia en el Ecuador, han dejado y continúan dejando su huella sobre áreas de gran importancia a nivel mundial. Por esta razón, por medio de este trabajo se pretende realizar un análisis de las aguas de la laguna Aucacocha de la Reserva de Protección Faunística Cuyabeno, la misma que ha sido una de la más afectada a lo largo de las catástrofes sucedidas.

El análisis de agua consiste en la determinación de residuos TPH's en el rango de la fracción de diesel (C₁₀-C₂₅) mediante cromatografía de gases con detector de ionización de flama, debido a que es una fracción de alta persistencia en el medio ambiente. Además, el análisis de fracciones derivadas del petróleo utilizando esta técnica proporciona información específica sobre el tipo de contaminación. Esta representa la principal ventaja ya que ofrece información específica del tipo de hidrocarburo presente, lo que es útil para los posibles tratamientos de remediación.

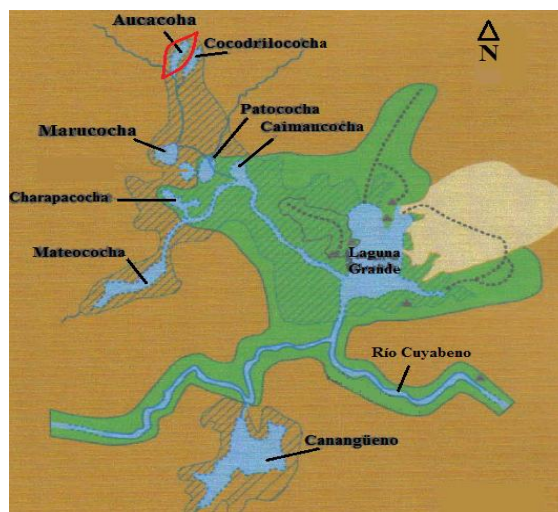
CAPÍTULO 2

PARTE EXPERIMENTAL

2.1. ZONA DE ESTUDIO

Este trabajo se enfoca en el análisis de TPH's en las aguas de la laguna Aucacocha, dentro de la Reserva de Producción Faunística Cuyabeno, ubicada en las provincias de Sucumbíos y Orellana. Esta laguna forma parte del complejo lacustre formado por el río Lagarto o río Cuyabeno Chico como se lo conoce en el sector; el cual, influenciado principalmente por agua de lluvia, forma corrientes de aguas negras a lo largo de su cauce permitiendo la formación de lagunas pantanosas de aguas oscuras. Las aguas oscuras de Aucacocha se deben a la descomposición lenta de la turba pantanosa (hojas, madera, etc.) en el fondo de la laguna. Durante la época lluviosa (abril a julio) esta laguna llega a medir hasta 1100m de largo, 300m de ancho y hasta 8m de profundidad. Por ser una laguna de aguas negras, sus aguas se reflejan como espejos, convirtiéndola en un atractivo turístico.

Figura 2.1. Sistema lacustre de la RPF. Lagunas que han sufrido mayor impacto ambiental a causa de la industria del petróleo [36].



2.2. MUESTREO

El muestreo se llevo a cabo en el mes de mayo de 2011, es decir, durante la temporada de lluvia, ya que es la época que permite su acceso. La temperatura del ambiente alcanzaba los 32°C y el porcentaje de humedad el 74%.

En la laguna se observó gran cantidad de vegetación, principalmente carrizos. Los carrizos son plantas que crecen cerca del agua, poseen una raíz larga y hojas planas de aspecto frágil. Pueden alcanzar hasta 2m de altura y 2cm de diámetro.

La toma de muestras se realizó a base de lo establecido en el método 1060B “*Collection of Samples*” (Colección de muestras) del “*Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*” (Métodos Estándar para la Examinación de Agua y Aguas Residuales), el cual dispone criterios para toma muestras simples en varios puntos, bajo la superficie de la laguna en áreas tranquilas y en la superficie. Así mismo establece que la recolección debe ser de al menos 1L de muestra, en botellas de vidrio ámbar con tapa de teflón. Puesto que las muestras fueron tomadas en el Oriente ecuatoriano, donde la presión atmosférica es mayor que en la ciudad de Quito (donde se efectúan los análisis), se dejó libre aproximadamente el 1% del recipiente para permitir que se produzca la expansión térmica.

Considerando el tamaño de la laguna se dividió el curso del agua en 5 bloques, con la finalidad de obtener muestras más representativas y homogéneas (*ver página 52*). De cada uno se tomaron de forma aleatoria 4 muestras superficiales y 4 muestras a 2m de profundidad, dando un total de 40 muestras. Tanto las muestras superficiales como las profundas se tomaron en un mismo punto. Las muestras a profundidad se tomaron en el

mismo punto que las superficiales, empleando un instrumento específico para toma de muestras de agua a profundidad, llamado *Kemmerer*⁵.

La ubicación exacta de cada punto de muestra se estableció mediante un Sistema de Posicionamiento Global (GPS, Global Positioning System) siguiendo la trayectoria definida por la laguna, con la intención de cubrir la zona del medio y extremos de la misma. Cada punto de muestra y su respectiva coordenada geográfica se indica en la tabla 3.1 (*ver página 53*).

Todas las muestras fueron herméticamente cerradas, evitando la mínima aeración, y etiquetadas según el lugar de su procedencia, de la siguiente manera:

- Aucacocha 1, 2, 3, 4 o 5, según su bloque de procedencia.
- M 01, 02, 03 o 04, según el número de muestra correspondiente.
- Superficial o Profunda
- Fecha de toma de muestra

Como parámetro adicional se midieron el pH y la temperatura de cada muestra in situ, considerando previamente la calibración del pHmetro. Todas las muestras se preservaron in situ a pH <2 utilizando ácido sulfúrico 20% y se mantuvieron dentro de neveras plásticas provistas de hielo para mantener la temperatura de 4 ± 2 °C.

⁵ Instrumento mecánico manual para recolecta de muestras acuosas a profundidad. Es capaz de ser sumergido hasta la profundidad deseada (hasta 50m), abrirse y cerrar herméticamente para impedir alteraciones con aguas de otras profundidades.

2.3. DESARROLLO DEL MÉTODO CROMATOGRÁFICO PARA DETERMINACIÓN DE HIDROCARBUROS DE PETRÓLEO

Para el desarrollo del método de análisis de TPH's se tomó como guía de referencia el método EPA 8015M: *Caracterización de hidrocarburos de petróleo de C₆ a C₃₅*; el cual es destinado a la determinación de hidrocarburos de petróleo desde n-hexano hasta n-pentatriacontano en suelos y aguas. El EPA 8015M ofrece una metodología de extracción, limpieza y análisis cuantitativo de muestras de agua mediante cromatografía de gases con detector FID. Su alcance incluye hidrocarburos de la fracción de gasolina, diesel, algunas fracciones de combustibles pesados y aceites lubricantes.

El equipo utilizado para el desarrollo de este trabajo es un cromatógrafo de gases PERKIN ELMER modelo Clarus 500 equipado con un detector de ionización de llama (FID), provisto de una precolumna y columna capilar no polar específica para la separación de TPH's. Las especificaciones de la columna y precolumna se detallan en la tabla a continuación:

Tabla 2.1. Especificaciones de la columna y precolumna que se utilizaron para el análisis cromatográfico.

Especificaciones	Columna	Precolumna
Fase estacionaria	DB-TPH (Durabond)	DB-TPH (Durabond)
Espesor de la película	0,25µm	0,25µm
Largo	30m	5m
Diámetro interno	0,32mm	0,32mm
Temperatura máxima	310°C	310°C

Las condiciones de trabajo bajo las cuales se desarrolló el método fueron establecidas luego de repetidos ensayos que incluyeron variaciones en flujo del gas portador, en la

programación de la temperatura y volumen de muestra a inyectar. Las condiciones óptimas de trabajo se detallan en la siguiente tabla:

Tabla 2.2. Condiciones cromatográficas de trabajo óptimas desarrolladas en el laboratorio

Temperatura de inyector	300		
Temperatura de detector	310		
	Gases	Aire	Hidrógeno
	Flujo (mL/min)	450	50
Gas portador	Helio		
	Flujo (mL/min)	1,73	
Volumen de inyección	1 μ L		
	Tipo	Splitless	
Tiempo de corrida	25min		
Temperatura programada de la columna			
	Temperatura (°C)	Tiempo (min)	Razón de programación (°C/min)
1	35	1,50	5
2	60	0,5	15
3	300	2.00	Fin

Bajo estas condiciones cromatográficas se obtuvo la mayor resolución de los 16 picos de interés dentro de fracción DRO. Todos los ensayos realizados hasta lograr la optimización de las condiciones cromatográficas se realizaron utilizando un estándar certificado de Diesel 2 que contiene un coctel hidrocarburos, que van desde C₁₀ a C₂₅ en una concentración total 1000mg/L. A partir de este coctel se preparó una solución de menor concentración (25mg/L), la cual sirvió para la determinación de los tiempos de retención.

Tabla 2.3. Tiempos de retención para los 16 hidrocarburos bajo las condiciones cromatográficas del método desarrollado en el laboratorio

Compuesto	Tiempo de retención (min)	Áreas (μ V*s)	Compuesto	Tiempo de retención (min)	Áreas (μ V*s)
C ₁₀	9,940	499105,23	C ₁₈	17,500	499298,90
C ₁₁	11,320	466630,73	C ₁₉	18,180	506846,05
C ₁₂	12,460	481193,10	C ₂₀	18,850	513606,06
C ₁₃	13,460	487689,16	C ₂₁	19,480	514520,91
C ₁₄	14,370	490807,81	C ₂₂	20,080	519438,96
C ₁₅	15,220	492049,48	C ₂₃	20,670	508072,29
C ₁₆	16,020	496589,24	C ₂₄	21,240	494727,01
C ₁₇	16,780	492373,85	C ₂₅	21,880	484405,73

El método utilizado para la determinación de TPH's en aguas fue validado para el rango de la fracción Diesel con el fin de demostrar confiabilidad de resultados (*ver Anexo 3*). La validación del método se realizó según el modelo propuesto por Centro de Servicios Ambientales y Químicos de la Pontificia Universidad Católica del Ecuador, CESAQ-PUCE, el cual hace referencia a la Norma INEN ISO/IEC 17025: “*Requisitos generales para la competencia de laboratorios de ensayo y calibración*”.

Los parámetros considerados para la validación del método incluyeron: linealidad, rango de trabajo, límite de detección y cuantificación, precisión y exactitud. Para establecer estos parámetros se inyectaron tres repeticiones en diferentes días de cinco niveles de concentración de soluciones estándar: 4mg/L, 10mg/L, 25mg/L, 40mg/L hasta 50mg/L. Cada estándar fue preparado a partir de una mezcla certificada de Diesel # 2 de 1000µg/L de concentración.

La *linealidad* del sistema en el intervalo de concentración estudiado se determinó por la elaboración de una curva de calibración. La curva se obtuvo al graficar los promedios de las áreas obtenidas de los tres bloques de datos en función de la concentración. A partir de la curva de calibración también se obtiene un coeficiente de correlación, R^2 , el cual es un indicativo de la linealidad. Mientras su valor sea más próximo a la unidad hay mayor linealidad entre los intervalos de concentraciones estudiados, 4mg/L – 50mg/L. Este valor no puede ser menor a 0,99.

El *límite de detección* y *límite de cuantificación* del método se determinó mediante el análisis repetido de un blanco. Para este caso se tomó como blanco agua destilada y se le trató según la metodología a validar. Es decir, el blanco fue sometido a un proceso de

extracción con diclorometano y purificación con sílica gel previo a su análisis cromatográfico.

La *repetibilidad* del método se estableció mediante inyecciones por duplicado de cada estándar durante un mismo día y bajo las mismas condiciones. Mientras que para establecer la *reproducibilidad* del método en el tiempo, se realizaron inyecciones de cada estándar por duplicado durante tres días. La repetibilidad y reproducibilidad fueron evaluadas a partir de las desviaciones estándar (S) y coeficientes de variación ($\%CV$) de repetibilidad y reproducibilidad. Para el análisis de precisión: repetibilidad y reproducibilidad, el método establece que los valores del coeficiente de variación sean menores al 10%.

La *exactitud* del método se evaluó a través de porcentajes de recuperación que según el método modelo EPA 8015M debe estar entre 60% - 140%. Para ello se prepararon soluciones fortificadas a tres niveles de concentración: bajo (8,3mg/L), medio (16,7mg/L), alto (33,3mg/L), de modo que cubran el intervalo de trabajo. Las muestras fortificadas fueron extraídas y analizadas de acuerdo a la metodología tratada e inyectadas por duplicado.

La incertidumbre de la medición se calculó como la *incertidumbre combinada*, es decir, estimando las incertidumbres provenientes de las diferentes fuentes de error. Se tomó en cuenta la preparación de las soluciones estándar, la respuesta instrumental y la variabilidad del método cromatográfico.

En resumen los resultados de la validación son los que se observan a continuación en la tabla 2.4.

Tabla 2.4. Resultados de la validación del método para la determinación de TPH de la fracción de diesel en agua.

R²	>0,99	
Límite de detección	0,8 mg/L	
Límite de cuantificación	1,1 mg/L	
Intervalo de trabajo validado:	4mg/L a 50mg/L	
Exactitud	Recuperación Nivel Bajo (8,3mg/L)	97%
	Recuperación Nivel Medio (16,7mg/L)	98%
	Recuperación Nivel alto (33,3mg/L)	96%

2.4. ANÁLISIS DE MUESTRAS

Luego de la recolección de las muestras en la laguna Aucacocha se procedió con su análisis. El análisis comprende la etapa de extracción y cuantificación de TPH's comprendidos en la fracción diesel mediante cromatografía de gases con detector de ionización de flama.

2.4.1. Extracción de muestras

La extracción de las muestras se realizó en base a método EPA 8015M, el mismo que propone una metodología específica para la extracción de hidrocarburos de petróleo. El método hace referencia una extracción líquido-líquido, donde se emplea como solvente de extracción diclorometano y posterior limpieza con sílica gel y/o sulfato de sodio anhidro [38].

El diclorometano resulta efectivo para la extracción ya que es un solvente no polar al igual que los hidrocarburos de petróleo. Es inmiscible con el agua, y por ser más denso se distribuye en el fondo del balón de separación, facilitando su recolección.

2.4.2. Materiales

- ~ Balones de separación de vidrio de 50mL
- ~ Dispensadores Ependorff de 5mL
- ~ Probeta de vidrio de 50mL
- ~ Probeta de vidrio de 25mL
- ~ Viales ámbar con tapa inerte de 4mL
- ~ Lana de vidrio

2.4.3. Equipos

- ~ Estufa Memmert
- ~ Balanza analítica Mettler Toledo, 0,1g de precisión

2.4.4. Reactivos

- ~ Diclorometano grado HPLC marca Merck
- ~ Metanol o acetona grado HPLC marca Merck
- ~ Agua destilada de conductividad menor a 0,5 μ S/s
- ~ Sílica gel de 100 a 200 mesh Merck
- ~ Sulfato de sodio anhidro marca Merck

2.4.5. Estándar

- ~ Mezcla orgánica en el rango de Diesel # 2 (GRO/DRO) en diclorometano.
(Ver Anexo 4)

2.4.6. Procedimiento

1. De la muestra homogeneizada y a temperatura ambiente, tomar 25mL y colocarlos en un embudo de separación de 50mL, limpio y seco. Los embudos de separación deben ser lavados con solventes como metanol o acetona antes de su uso.
2. Añadir 3mL de diclorometano grado cromatográfico y agitar vigorosamente. Se debe liberar cuidadosamente la presión del embudo después de cada agitación.
3. Dejar reposar el embudo hasta la separación completa de las fases.
4. Preparar las columnas para el proceso de clean up. Como columnas de soporte se emplearán dispensadores Ependorff de 5mL. Los materiales de limpieza son sílica gel de 100 a 200 mesh y sulfato de sodio anhidro.
 - 4.1. Pesar 0,8 g de sílica gel y 0,2g de sulfato de sodio anhidro.
 - 4.2. Colocar lana de vidrio dentro del dispensador a manera de tapón, para evitar pérdidas de los materiales secantes.
 - 4.3. Colocar la sílica gel y el sulfato de sodio dentro del dispensador Eperdorff.
5. Realizar el proceso de clean up dejando pasar la fase orgánica (fase de interés) a través de la columna preparada.
6. Recoger el extracto en viales de 4mL.
7. Etiquetar cada vial y almacenarlo a 4°C de temperatura.

2.4.7. Análisis cuantitativo de TPH's por cromatografía de gases

Para el análisis cromatográfico de las 40 muestras obtenidas de la Laguna Aucacocha se utilizó el método implementado y validado para la determinación de TPH's de la fracción DRO (C₁₀-C₂₅) del Centro de Servicios Ambientales y Químicos de la Pontificia Universidad Católica de Ecuador (CESAQ-PUCE).

La cuantificación de los TPH's fracción DRO se dio mediante una curva de calibración obtenida a partir de estándares de concentraciones conocidas que se prepararon en el laboratorio. Los estándares se prepararon a cinco niveles de concentración: 4mg/L, 10mg/L, 25mg/L, 40mg/L y 50mg/L, obtenidos a partir de una solución stock de 100mg/L la cual se preparó por dilución del coctel estándar de Diesel #2 de concentración 1000mg/L. La curva de calibración tiene una correspondencia lineal entre el área bajo la curva y la concentración, a través de la ecuación de una recta (*ver página 59*). Esta ecuación permite la estimación de la concentración de los hidrocarburos de la fracción DRO.

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

Dónde:

y → respuesta del detector (área total de los 16 compuestos de interés)

m → pendiente de recta

x → concentración total estimada de TPH's en la muestra

b → intercepto de recta

Las 40 muestras se inyectaron por duplicado y entre cada muestra se inyectó diclorometano para limpiar la columna y asegurar que no exista contaminación de una muestra a otra.

Además, se corrieron 5 blancos de muestra⁶, cada una por duplicado, con la finalidad de disminuir el efecto matriz ya que este puede ser el causante de la disminución o aumento de la respuesta instrumental, ocasionando un error sistemático en la medición de los analitos. La muestra blanco se sometió al mismo tratamiento que las muestras regulares, previo su análisis cromatográfico.

Para asegurar que los procesos de extracción y cuantificación sean eficaces se decidió trabajar con blancos de muestra fortificados. Para ello, se fortificaron a nivel medio (16,7 mg/L) 25mL de cada muestra blanco (*ver página 56*).

⁶ Material que contiene todas las características de la muestra a excepción del analito.

CAPÍTULO 3

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1. MUESTREO Y MEDICIONES IN SITU DE pH Y TEMPERATURA

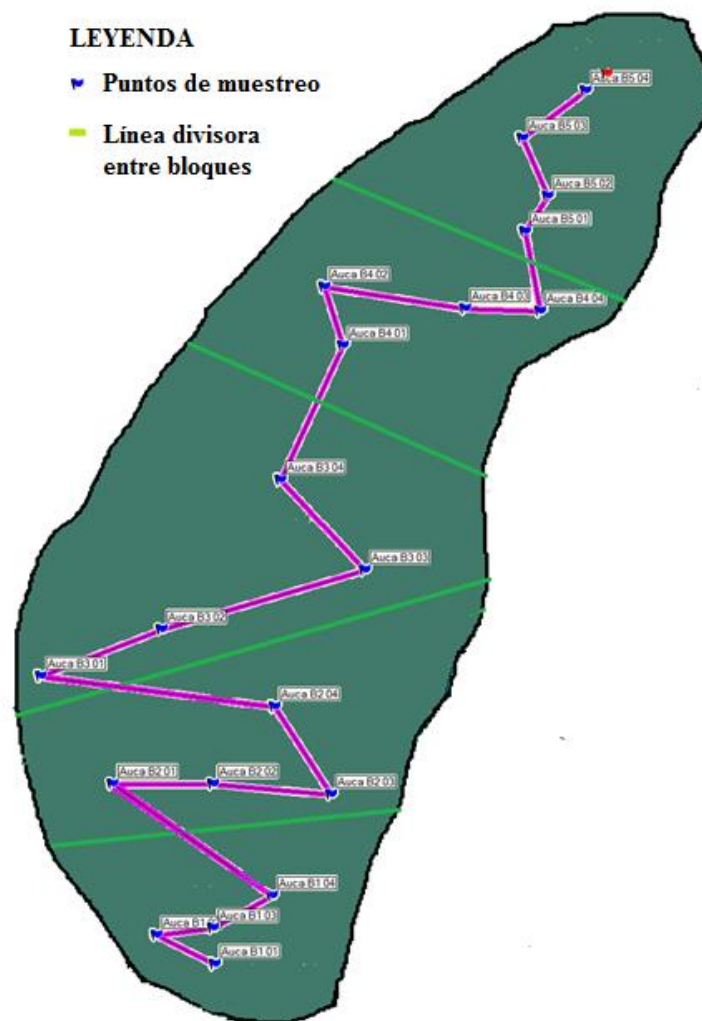
Se tomó como zona de estudio la Laguna Aucacochoa, ubicada en la Reserva de Producción de Faunística Cuyabeno, por la importancia que esta representa ya que conforma una de las 15 lagunas del sistema lacustre de la reserva. La Reserva de Producción Faunística Cuyabeno ha sido afectada seriamente por derrames de petróleo originados en los bloques y campos petroleros que se ubican a sus alrededores, siendo Aucacochoa una de las lagunas a que sufrido mayor impacto.

Aucacochoa es una laguna dependiente de la variación estacional que puede llegar a medir hasta 1.100m de largo y 300m de ancho durante la época de lluvia. Dada su superficie irregular y tamaño indefinido, para el muestreo resulta factible su división en bloques. Con ello se logra un área de trabajo de menor tamaño y por lo tanto más manejable. De ese modo se asegura representatividad y homogeneidad en la toma de muestras.

Para el estudio se dividió a la laguna en cinco bloques, de los cuales se tomaron cuatro puntos de muestreo. De cada punto de muestreo se tomaron cuatro muestras superficiales y cuatro muestras profundas a 2m, según lo recomendado por el *Standard Methods* en su metodología para la recolección de muestras.

La distribución de los bloques y los puntos de muestreo se puede observar en la figura 3.1 que se muestra a continuación. En la figura se indica la división de la laguna en cinco bloques y se indica también la distribución aleatoria de los puntos de muestreo.

Figura 3.1. Distribución de bloques y puntos de muestreo en la Laguna Aucacocha



Cada punto de muestra corresponde a una ubicación definida por un GPS. Las coordenadas para cada punto de muestreo se detallan en la tabla 3.1.

Durante la toma de muestras de agua de la laguna Aucacochoa, se midieron in situ dos parámetros: temperatura y pH. Los parámetros de temperatura y pH están relacionados en sí y representan mediciones importantes dentro de un análisis de aguas y por lo tanto dentro del análisis de hidrocarburos. Los resultados se muestran en la tabla 3.1, según la procedencia de la muestra, superficial o profunda.

Tabla 3.1. Cordenadas geográficas de los puntos de muestreo. Mediciones is situ de pH y temperatura

Bloque 1	Coordenadas Geográficas	Muestras Superficiales		Muestras Profundas	
	Huso: 18N	pH	Temperatura °C	pH	Temperatura °C
Aucacochoa B1M01	Longitud: 79° 28' 15'' Latitud: 3° 17' 55''	5,08	32,2	5,60	30,1
Aucacochoa B1M02	Longitud: 79° 28' 15'' Latitud: 3° 17' 56''	4,81	31,3	4,71	29,6
Aucacochoa B1M03	Longitud: 79° 28' 15'' Latitud: 3° 17' 57''	4,59	32,4	4,40	30,0
Aucacochoa B1M04	Longitud: 79° 28' 14'' Latitud: 3° 17' 58''	4,50	32,1	4,42	30,1
Bloque 2					
Aucacochoa B2M01	Longitud: 79° 28' 12'' Latitud: 3° 17' 55''	4,66	34,3	4,49	30,4
Aucacochoa B2M02	Longitud: 79° 28' 12'' Latitud: 3° 17' 57''	4,66	34,4	4,48	30,7
Aucacochoa B2M03	Longitud: 79° 28' 12'' Latitud: 3° 17' 59''	5,29	33,4	4,65	30,9
Aucacochoa B2M04	Longitud: 79° 28' 10'' Latitud: 3° 17' 58''	4,71	34,1	4,43	30,7
Bloque 3					
Aucacochoa B3M01	Longitud: 79° 28' 10'' Latitud: 3° 17' 54''	4,71	33,8	4,72	30,0
Aucacochoa B3M02	Longitud: 79° 28' 9'' Latitud: 3° 17' 56''	4,69	32,6	4,52	29,5
Aucacochoa B3M03	Longitud: 79° 28' 8'' Latitud: 3° 17' 58''	4,77	33,7	4,57	29,5
Aucacochoa B3M04	Longitud: 79° 28' 6'' Latitud: 3° 17' 58''	4,71	33,1	4,87	29,2
Bloque 4					
Aucacochoa B4M01	Longitud: 79° 28' 3'' Latitud: 3° 17' 59''	4,67	32,8	5,04	28,8
Aucacochoa B4M02	Longitud: 79° 28' 2'' Latitud: 3° 17' 59''	4,87	32,5	4,85	28,4
Aucacochoa B4M03	Longitud: 79° 28' 2'' Latitud: 3° 12' 2''	4,84	32,1	4,72	28,1
Aucacochoa B4M04	Longitud: 79° 28' 2'' Latitud: 3° 18' 3''	4,80	32,3	4,62	28,3
Bloque 5					
Aucacochoa B5M01	Longitud: 79° 28' 1'' Latitud : 3° 18' 3''	5,21	32,3	4,56	30,1
Aucacochoa B5M02	Longitud: 79° 27' 60'' Latitud : 3° 18' 3''	4,69	33,5	4,50	30,7
Aucacochoa B5M03	Longitud: 79° 27' 59'' Latitud : 3° 18' 3''	4,75	32,8	4,70	29,9
Aucacochoa B5M04	Longitud: 79° 27' 58'' Latitud : 3° 18' 4''	4,75	33,4	4,62	30,6
Blancos					
Río Cuyabeno 1	Longitud: 13° 26' 7'' Latitud: 25° 27' 2''	5,31	27,1	NA	NA
Río Cuyabeno 2	Longitud: 13° 25' 57'' Latitud: 25° 26' 53''	4,89	25,9	NA	NA
Río Cuyabeno 3	Longitud: 13° 25' 58'' Latitud: 25° 26' 49''	5,31	28,4	NA	NA
Río Cuyabeno 4	Longitud: 13° 25' 56'' Latitud: 25° 26' 48''	4,52	29,6	NA	NA
Río Cuyabeno 5	Longitud: 13° 25' 53'' Latitud: 25° 26' 46''	4,60	27,9	NA	NA

Como se puede observar en la tabla anterior, la temperatura del agua superficial varía entre 31,1°C de y 34, 4°C, sin embargo la mayoría de las mediciones reflejan una temperatura de entre 32,2°C y 33,4°C. Mientras que los valores de temperatura para aguas a 2m de profundidad varían desde 28,3°C a 30,1°C con una mayoría de valores entre 28,5°C y 30,5°C. En promedio la temperatura del agua superficial es 33°C y del agua a profundidad es 29,8°C, lo que indica aproximadamente 3°C de diferencia.

En cuerpos de agua dulce la temperatura varía de acuerdo a la profundidad debido a que existe mayor incidencia solar sobre aguas superficiales; sin embargo, el enfriamiento nocturno y la agitación de aguas por los vientos producen una estratificación del sistema en tres capas de agua: el epilimnion (capa de agua superficial, de menor densidad y mayor temperatura), el hipolimnion (la zona más profundo, densa y de menor temperatura) y el metalimnion (zona intermedia, de densidad entremedia entre el epilimnion y el hipolimnion). Estas zonas son dinámicas y presentan variaciones en su tamaño, que obedecen a fluctuaciones estacionales o a cambios atmosféricos marcados (lluvias, tormentas, vientos fuertes, calores intensos). En adición a las tres zonas mencionadas, se ha identificado otra zona importante dentro de cuerpos de agua estratificados termalmente. Dicha zona se conoce con el nombre de termóclino y es la zona donde la temperatura presenta cambios rápidos en función de la profundidad.

Aucacocha obedece este fenómeno de estratificación termal del agua a pesar de ser una laguna somera fuertemente incidida por la radiación solar, ya que se ve afectada por fluctuaciones estacionarias y cambios atmosféricos marcados. Sin embargo, dado que la laguna se ubica en una zona tropical, su gradiente térmico puede verse afectado. Es decir,

podría originarse un gradiente estable con menor variación de temperatura independientemente de la profundidad [39]. Es por esta razón las mediciones de temperatura en aguas superficiales y profundas realizadas en la laguna Aucacocha no son fuertemente marcadas, sino que indican una variación de 3°C.

La temperatura es un parámetro que afecta a la solubilidad de las sustancias que se encuentran en un medio acuático. Afecta principalmente a la solubilidad de sales y gases como oxígeno y dióxido de carbono, que son esenciales para el desarrollo de la vida acuática, y por lo tanto tiene relación directa con el pH del agua. Los hidrocarburos son compuestos que dependen del pH, ya que este influye en los procesos químicos y biológicos del agua. Por esta razón, el pH es un parámetro que se debe considerar para el análisis de hidrocarburos.

El pH adecuado para desarrollo de vida acuática varía entre 6,5 y 8 unidades de pH. Valores bajo o sobre este nivel ocasionan efectos negativos sobre el metabolismo y procesos fisiológicos de los organismos acuáticos. Sin embargo el rango de pH para aguas dulces naturales puede oscilar entre 4 y 9 unidades de pH según su naturaleza y origen [40].

Los resultados para las mediciones de pH de las muestras de agua de la laguna reflejan valores entre 4,5 y 5,6 unidades de pH, es decir, valores ácidos. Sin embargo, se debe considerar que Aucacocha es una de las lagunas pantanosas que se origina de las aguas del Río Cuyabeno, el mismo que arrastra gran cantidad de turba y carga orgánica, y por

consecuencia sus lagunas también. Si se considera la acción microbiana sobre la materia orgánica y la acción de organismos acuáticos existirá una disminución en el pH. Esto se debe a los procesos intensos de descomposición y respiración, a través de los cuales hay liberación de dióxido de carbono que por hidrólisis origina ácido carbónico.

Por otro lado, durante la toma de muestras se observó un agua ligeramente turbia, sin ningún olor característico. Tampoco se observó la presencia de películas tornasoles, característica de los residuos de petróleo.

3.2. ANALISIS DE BLANCOS DE MUESTRA FORTIFICADOS

En general, el análisis de muestras ambientales de matrices agua o suelo presentan interferencias que podrían provocar errores en su medición. El análisis de TPH's en muestras acuosas mediante cromatografía de gases no se encuentra libre de afectación por interferencias. Las principales interferencias en este análisis son los aceites vegetales y las grasas animales, los cuales están presentes en todo tipo de aguas naturales.

En la cromatografía de gases, las interferencias producidas por los componentes de la matriz inducen a variaciones que pueden aumentar o disminuir la respuesta instrumental, ocasionando un error sistemático en la medición de los analitos. Este fenómeno se conoce con el nombre de *efecto matriz*.

En este estudio, con el fin de remover estas interferencias se realizó una limpieza luego del proceso de extracción de las muestras utilizando sílica gel por su facilidad para absorber materiales polares.

Por otra parte, con el fin de estudiar el efecto matriz y probar la eficiencia del proceso de extracción empleando diclorometano como solvente, se fortificaron a 2mg/L, es decir, a nivel medio (16,7 mg/L, dado que la muestra se concentra a 3mL de solvente) cinco muestras blanco tomadas en el Río Cuyubeno, las cuales se consideran libres de TPH's. Seguido de su fortificación, las muestras se sometieron al proceso de extracción, limpieza y análisis por cromatografía de gases, como se indica en el capítulo 2 de este documento.

Los porcentajes de recuperación de las muestras fortificadas a 2mg/L se indican en la tabla 3.2 que se muestra a continuación:

Tabla 3.2. Análisis de blancos de muestra fortificados. Porcentajes de recuperación a nivel medio.

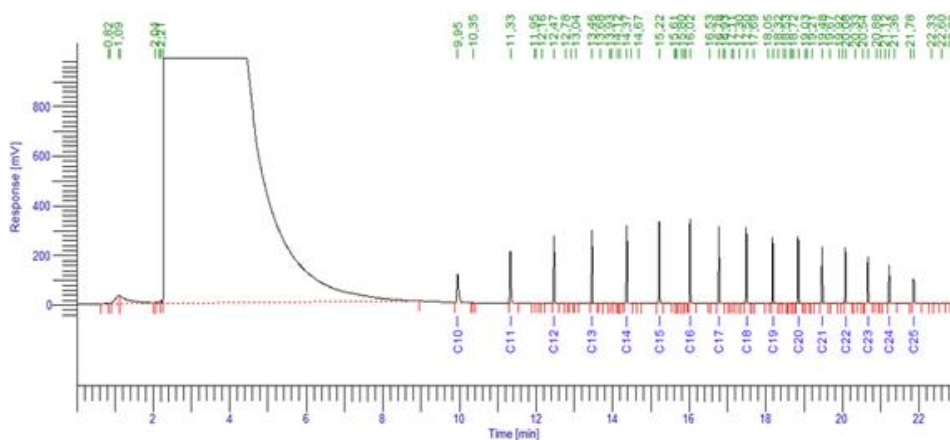
	Repeticiones	Respuesta	Promedio	Concentración mg/L	% Recuperación
Matriz fortificada RC 1	1	4759467,76	4667549,24	15,02	89,96
	2	4575630,72			
Matriz fortificada RC 2	1	4987309,23	4753391,55	15,29	91,53
	2	4519473,87			
Matriz fortificada RC 3	1	4759276,65	4769126,40	15,33	91,82
	2	4778976,15			
Matriz fortificada RC 4	1	4630980,99	4608719,22	14,84	88,88
	2	4586457,45			
Matriz fortificada RC 5	1	4467298,55	4528361,17	14,60	87,40
	2	4589423,78			

Como se aprecia en la tabla 3.2., las recuperaciones obtenidas en un rango entre 87% y 91% son aceptables ya que cumplen con la especificación del método EPA 8015M, en el cual se establece porcentajes de recuperación entre 60% y 140%. Este es un indicativo de

que el efecto matriz no interfiere significativamente y que los procesos de extracción y cuantificación son válidos para el análisis de TPH's en muestras de agua.

La figura 3.2 es el cromatograma de un blanco de muestra que fue fortificado a 2mg/L. Como se puede observar, los 16 picos que constituyen la fracción de diesel aparecen resueltos y definidos.

Figura 3.2. Cromatograma de blanco de muestra fortificado “Río Cuyabeno 2”.



3.3. RESULTADOS DE LA CUANTIFICACIÓN DE TPH's POR CROMATOGRAFÍA DE GASES

La determinación de THP's de la fracción de diesel en muestras acuosas se hizo empleando un método previamente validado. La validación del método tiene un alcance que incluye el proceso de extracción con diclorometano, limpieza con sílica gel y la cuantificación de TPH's por cromatografía de gases con detector de ionización de flama. Los resultados de la validación reportan límites de detección y cuantificación de 0,8mg/L y 1,1mg/L respectivamente.

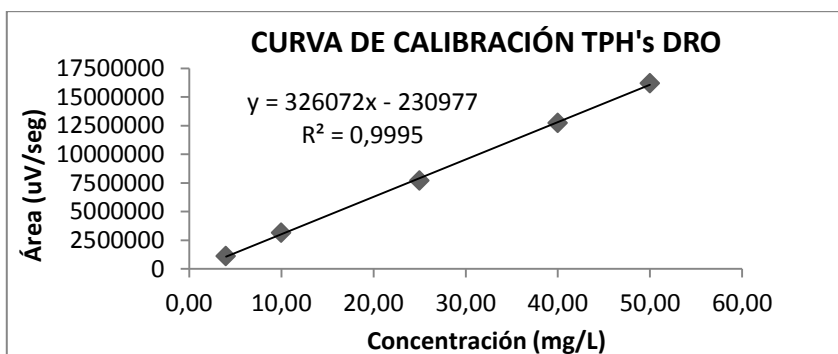
La cuantificación de TPH's se realizó a partir de la elaboración de una curva calibración a cinco niveles de concentración (4mg/L, 10mg/L, 25mg/L, 40mg/L, 50mg/L). Los resultados de la elaboración de la curva reflejan una linealidad aceptable. El valor de coeficiente de relación (R^2) es 0,9995, cumpliendo con los requerimientos del método que exige un valor superior a 0,99.

En la figura 3.3 se muestra la curva de calibración que se utilizó para la cuantificación de los TPH's. La curva se elaboró a partir de los datos de la tabla 3.3, donde se indica el área total de los 16 en función de los niveles de concentración. Los reportes cromatográficos se encuentran en el anexo 5 del documento.

Tabla 3.3. Correspondencia lineal entre el área de los picos y la concentración de TPH's

Curva de Calibración	
x concentración (mg/L)	y respuesta (μ V/seg)
4,00	1099962,22
10,00	3150873,30
25,00	7705532,94
40,00	12742958,59
50,00	16209033,71
R²	0,9995
M	326071,67
B	-230977,01

Figura 3.3. Curva de calibración para la cuantificación de muestras



Como se ha explicado en el apartado 2.3 del capítulo 1 de este trabajo, la cuantificación de los hidrocarburos de petróleo de la fracción diesel se realiza mediante su medición total, más no individual de los hidrocarburos que forman dicha fracción. Esto significa que su concentración será equivalente a la sumatoria de las áreas de los 16 compuestos presentes dentro de la fracción de diesel. La sumatoria de las áreas de los 16 compuestos de la fracción de diesel mantiene una correspondencia lineal con la concentración a través de la ecuación de una recta, la misma que permite la cuantificación de TPH's.

Los resultados de concentración que se obtienen a partir de la curva de calibración corresponden a las concentraciones en los extractos obtenidos luego del tratamiento de las muestras con diclorometano, es decir, es la concentración de TPH's en los 3mL de diclorometano. Por lo tanto se debe calcular las respectivas concentraciones en el volumen de muestra.

Como ejemplo se demuestra el cálculo de la concentración de TPH's en la muestra superficial AUCACOCHA B1 M01. Como se puede ver en la tabla 3.4, la concentración de TPH's en el extracto correspondiente a la muestra es 1.22mg/L, el volumen del extracto es 3mL y el volumen de la muestra que se extrajo es 25mL. Utilizando la siguiente fórmula para el cálculo, se tiene:

$$Concentración_{muestra} = \frac{Concentración_{extracto} \cdot Volumen_{extracto}}{Volumen_{muestra}} = \frac{1,22mg / L \times 0,003L}{0,025L} = 0,147mg / L$$

Es decir, la concentración de TPH's para la muestra AUCACOCHA B1 M01 es 0,15mg/L.

Los resultados de concentración para las demás muestras se reportan en la tabla 3.4 que se indica a continuación.

Tabla 3.4. Áreas totales y concentración equivalente en 25mL de muestra

Bloque 1	Muestra superficial			Muestras profundas		
	Respuesta *	Concentración extrapolada (mg/L)	Concentración en muestra (mg/L)	Respuesta*	Concentración extrapolada (mg/L)	Concentración muestra (mg/L)
Aucacocha B1 M01	167847,10	1,22	0,147	191678,63	1,30	0,156
Aucacocha B1 M02	172531,25	1,24	0,148	162027,42	1,21	0,145
Aucacocha B1 M03	163385,21	1,21	0,145	189074,00	1,29	0,155
Aucacocha B1 M04	181065,49	1,26	0,152	178590,45	1,26	0,151
Bloque 2						
Aucacocha B2 M01	188067,52	1,29	0,154	185096,45	1,28	0,153
Aucacocha B2 M02	186688,07	1,28	0,154	176087,28	1,25	0,150
Aucacocha B2 M03	178296,25	1,26	0,151	175045,18	1,25	0,149
Aucacocha B2 M04	157060,20	1,19	0,143	162583,49	1,21	0,145
Bloque 3						
Aucacocha B3 M01	186981,64	1,28	0,154	180136,14	1,26	0,151
Aucacocha B3 M02	188753,57	1,29	0,154	170699,77	1,23	0,148
Aucacocha B3 M03	164124,29	1,21	0,145	191136,23	1,29	0,155
Aucacocha B3 M04	153567,35	1,18	0,142	187701,56	1,28	0,154
Bloque 4						
Aucacocha B4 M01	185859,03	1,28	0,153	177846,17	1,25	0,150
Aucacocha B4 M02	176565,47	1,25	0,150	191442,63	1,30	0,155
Aucacocha B4 M03	175160,43	1,25	0,149	184280,17	1,27	0,153
Aucacocha B4 M04	172458,31	1,24	0,148	168772,35	1,23	0,147
Bloque 5						
Aucacocha B5 M01	193458,60	1,30	0,156	161098,38	1,20	0,144
Aucacocha B5 M02	145142,28	1,15	0,138	185964,89	1,28	0,153
Aucacocha B5 M03	170801,37	1,23	0,148	172487,54	1,24	0,148
Aucacocha B5 M04	170801,37	1,23	0,148	192698,15	1,30	0,156

*Promedio de dos inyecciones de muestra.

3.4. ANÁLISIS DE RESULTADOS DE LA DETERMINACIÓN DE TPH's

Para analizar los resultados obtenidos es necesario considerar valores de referencia que nos permitan evaluar los niveles de concentración de TPH's encontrados en las muestras. La legislación en nuestro país ha establecido límites máximos permisibles para TPH's en agua

de acuerdo a los requerimientos para su uso. Además, ha desarrollado un reglamento específico para todas las operaciones hidrocarburíferas.

Según el Reglamento Ambiental para Operaciones Hidrocarburíferas en el Ecuador, en la Tabla 4b del Anexo 3 se establece que los límites máximos permisibles para TPH's en el punto de control en el cuerpo receptor (inmisión) no puede exceder los 0,5mg/L. Así mismo en el Texto Unificado de la Legislación Ambiental Secundaria, en su Anexo 1, Tabla 3, se establecen criterios de calidad admisibles para la preservación de flora y fauna en aguas dulces, frías o cálidas y en aguas marinas o de estuario; entre ellos se fija como criterio de calidad admisible que para TPH's las concentraciones no puede ser superiores a 0,5mg/L.

En un estudio realizado por la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad Central del Ecuador en el mes de enero del año 2007 [38] (seis meses después del último derrame ocurrido cerca de la Reserva de Producción Faunística Cuyabeno y que afectó a la laguna Aucacocha) se reportó que 15 de las 27 muestras de agua tomadas a lo largo de sector afectado, incluida la laguna Aucacocha, reflejan valores de concentración de TPH's por encima de los límites máximos permisibles del RAOHE (0,5mg/L) y TULAS (0,5mg/L). Sin embargo en la distribución de los puntos de muestra no se hace referencia a la ubicación exacta de las mismas, por lo que no se puede establecer si la contaminación proviene específicamente de la laguna Aucacocha.

Los resultados del presente estudio realizado de muestras tomadas específicamente en la laguna Aucacocha reflejan el cumplimiento de la normativa tanto del RAOHE como el

TULAS. En la tabla 3.6 se muestra el cumplimiento de la legislación de cada una de las muestras analizadas.

Tabla 3.5. Resultados de los análisis de las muestras por cromatografía de gases y su comparación con la legislación ecuatoriana.

	Concentración real (mg/L)		Límites Máximos Permisibles (LMP)		Cumple
	Superficiales	Profundas	TULAS	RAOHE	
Bloque 1					
Aucacocha B1 M01	0,147	0,156	0,5mg/L	0,5mg/L	✓
Aucacocha B1 M02	0,148	0,145			
Aucacocha B1 M03	0,145	0,155			
Aucacocha B1 M04	0,152	0,151			
Bloque 2					
Aucacocha B2 M01	0,154	0,153	0,5mg/L	0,5mg/L	✓
Aucacocha B2 M02	0,154	0,150			
Aucacocha B2 M03	0,151	0,149			
Aucacocha B2 M04	0,143	0,145			
Bloque 3					
Aucacocha B3 M01	0,154	0,151	0,5mg/L	0,5mg/L	✓
Aucacocha B3 M02	0,154	0,148			
Aucacocha B3 M03	0,145	0,155			
Aucacocha B3 M04	0,142	0,154			
Bloque 4					
Aucacocha B4 M01	0,153	0,150	0,5mg/L	0,5mg/L	✓
Aucacocha B4 M02	0,150	0,155			
Aucacocha B4 M03	0,149	0,153			
Aucacocha B4 M04	0,148	0,147			
Bloque 5					
Aucacocha B5 M01	0,156	0,144	0,5mg/L	0,5mg/L	✓
Aucacocha B5 M02	0,138	0,153			
Aucacocha B5 M03	0,148	0,148			
Aucacocha B5 M04	0,148	0,156			

De los resultados obtenidos entre puntos de muestras superficiales de los bloques 1, 2, 3, 4 se observa que no existe mayor variación entre datos; así mismo de los resultados obtenidos entre bloques. La misma tendencia se observa entre los datos obtenidos de las muestras tomadas a profundidad, ya sea entre puntos de muestra o entre bloques. Dado el caso, es preciso establecer una preferencia de los TPH's hacia aguas superficiales o

profundas ya que los resultados entre los datos de muestras superficiales y profundas tampoco presentan diferencias significativas (*ver Anexo 6*).

Como se ha descrito el apartado 2.2 del capítulo 2, la Agencia de Protección Ambiental (EPA) estableció cuatro categorías de petróleo de acuerdo a su comportamiento en el medio ambiente. Cada tipo de petróleo dentro de estas categorías provoca riesgos toxicológicos de mayor o menor impacto sobre biota. A pesar de ello no se puede definir exactamente el potencial dañino de los compuestos de petróleo hacia la biota y el medio ambiente en general, ya que están involucrados una serie de factores que no dependen únicamente de la clase de petróleo sino también del tipo de medio donde se encuentra (condiciones atmosféricas, lluvias, vientos, caudales).

Estudios realizados por Wang y Fingas (1999) [39] han demostrado que algunos hidrocarburos de petróleo pueden ser muy tóxicos para cierto tipo de biota, pero pueden presentar menor persistencia en el medio ambiente. Mientras que otros pueden ser menos tóxicos, pero más persistentes, lo que ocasiona efectos a largo plazo en el medio.

De los resultados de nuestro estudio se puede apreciar que a pesar de la alta tasa de derrames que han afectado a la RPFC y a la Laguna Aucacocha, esta no reporta una contaminación significativa en relación la legislación ecuatoriana, sin embargo no se puede asegurar que no exista una contaminación importante con TPH's. Todo tipo de organismo, animal o vegetal, como: insectos, aves, mamíferos, reptiles o plantas son susceptible a los

efectos del petróleo sea a corto o largo plazo, debido a que todos forman parte de la cadena alimenticia; hecho que involucra y afecta hasta los seres humanos.

Dentro de la zona que encierra la Reserva de Producción Faunística Cuyabeno existen animales únicos que han hecho de ese sector su hábitat. Es el caso del delfín rosado, la nutria gigante y el manatí, los cuales se encuentran en peligro de extinción dada su sensibilidad ante perturbaciones e intromisión de sustancias extrañas dentro de su hábitat. Para estos animales sensibles concentraciones bajas de hidrocarburos de petróleo pueden ser determinante en su desarrollo. Actualmente en la zona de las lagunas más seriamente afectadas se ha notado una disminución significativa de estos mamíferos acuáticos.

Se entiende que los efectos de los derrames petroleros en los cuerpos de agua dulce pueden variar de acuerdo al flujo de agua y a las características específicas de los hábitats. En aguas con poco movimiento como lagunas o pantanos los impactos de la contaminación petrolera son mucho más severos que en ríos y esteros, porque el petróleo tiende a empozarse y permanece en el ambiente por mucho tiempo [40]. A pesar de ello, como punto a favor, se tiene que Aucacocha es una laguna que por su naturaleza favorece al desarrollo microorganismos, bacterias y hongos. Los cuales, en condiciones adecuadas, son capaces de biodegradar hidrocarburos. Se sabe que los organismos en su acción individual solo son capaces de llegar a metabolizar ciertas fracciones de crudo, así que las poblaciones mixtas y amplias mejoran esta capacidad, pudiendo degradar mezclas más complejas de hidrocarburos, especialmente n-alcanos habientes en el suelo, aguas dulces y marinas [41] [42].

Por otro lado, se debe considerar que el muestreo se realizó durante la temporada lluviosa, puesto que es la época que permite su acceso. Durante esta época los ríos tienden a aumentar su caudal y las lagunas tienden a aumentar su extensión y volumen, hasta 1100m de largo, 300m de ancho y 8m de profundidad en el caso de Aucacocha. Este hecho puede influir en la determinación cuantitativa de los TPH's ya que involucra una dilución de los analitos.

A pesar de que en la Amazonía ecuatoriana se extrae petróleo por más tres décadas, no se han realizado suficientes estudios que demuestren el impacto ambiental que esta industria ocasiona sobre los hábitats. Todas las etapas que involucra la industria petrolera produce impactos sobre la naturaleza, pero sin duda los derrames de petróleo que generan son la principal fuente de contaminación. Con los resultados obtenidos de este trabajo se busca contribuir a la investigación científica en el Ecuador y sobre todo al desarrollo de la investigación en zonas que representan gran valor e interés como son las selvas tropicales.

CAPÍTULO 4

4.1. CONCLUSIONES

Luego de la determinación de TPH's fracción diesel ($C_{10} - C_{25}$) utilizando la técnica de cromatografía de gases con detector de ionización de flama en aguas de la laguna Aucacocha, se concluye:

- El análisis de las 40 muestras tomadas en la laguna Aucacocha reportan concentraciones bajo los límites máximos permisibles establecidos en el Reglamento Ambiental para Operaciones Hidrocarburíferas en el Ecuador que estable un valor no superior a 0,5mg/L.
- Todas las muestras de la laguna están dentro de los límites máximos permisibles que establece el Texto Unificado de la Legislación Ambiental que establece que la concentración de TPH's en agua debe ser menor a 0,5mg/L, por lo tanto en los referente a TPH's estas aguas son de calidad apta para la preservación de flora y fauna.
- La temperatura de las aguas es característica en este sector, variando de 33°C en aguas superficiales y 30 en aguas más profundas, ya que se ve influenciado directamente por la acción solar diaria. Por lo tanto cumple con lo establecido en el Texto Unificado de la Legislación Ambiental Secundaria para territorios sensibles, que establece un valor menor a 35°C.

- Los valores de pH encontrado en el agua de la laguna son ácidos, con una media de 4,7 unidades de pH, por lo tanto no cumple con lo requerido en el Texto Unificado de la Legislación Ambiental Secundaria para territorios sensibles. Sin embargo se resalta que estos valores pueden variar de acuerdo a la naturaleza de las aguas.

- Los TPH's son compuestos orgánicos que por sus características pueden ser analizados por cromatografía de gases, ofreciendo la ventaja de una determinación y cuantificación de estos compuestos en forma seleccionada dentro de un rango de hidrocarburos específicos. Esta cualidad resulta favorable para el caso de una remediación posterior por medio de degradación microbiana ya que facilitaría la selección del tipo de los microorganismos.

4.2. RECOMENDACIONES

- Ya que se han reportado una serie de derrames dentro de la Reserva de Producción Faunística Cuyabeno, afectando especialmente su sistema lacustre, es recomendable la continuación de este estudio enfocándose a diferentes lagunas que hayan sido víctimas de derrames.
- Puesto que los resultados obtenidos de los análisis de aguas de la Laguna Aucacocha cumplen con la legislación, se recomienda realizar un estudio de los sedimentos de la laguna, ya que la bibliografía dice que estos tienden a retener los hidrocarburos por periodos de tiempo más largos.
- Es inevitable la explotación de petróleo dentro de la Amazonía, al igual que es inevitable impedir por completo los efectos sobre ella; sin embargo, estos se podrían ver reducidos con la implementación de nuevas tecnologías que permitan una extracción segura y sobre todo con la elaboración de planes prevención de contaminación aplicados a todas las áreas de la industria del petróleo.
- Es importante elevar el nivel de conciencia sobre la conservación áreas protegidas dentro del país y del mundo, ya que representan el factor vital para mantener el equilibrio medio ambiental.

BIBLIOGRAFÍA

1. Guillaume Fontaine, FLACSO, 2003. *Petróleo y desarrollo sostenible en Ecuador: Reglas del juego*. Quito, Ecuador.
2. Newbery, J., Thierry, J. (2007). *El Petróleo*. 1ª edición, Editorial Colihue, Buenos Aires.
3. Yasuni-ITT: una iniciativa por la vida (2010). El petróleo en la economía ecuatoriana. Disponible en:
<http://yasuni-itt.gob.ec/%c2%bfpor-que-ecuador-propone-la-iniciativa-yasuni-itt/%c2%bfpor-que-no-explotar-el-petroleo-en-el-parque-yasuni/el-petroleo-en-el-ecuador/>. 6 de febrero de 2011.
4. Petroecuador, 2004. *El petróleo en Ecuador, su historia y su importancia en la economía nacional*. Quito, Ecuador.
5. Fundación Polar, Últimas Noticias. Petróleo: Química e Industria, En: *El mundo de la Química*, Capítulo 10, Caracas, Venezuela.
6. (A.O.P.) Asociación Española de Operadores de Productos Petrolíferos. (2002). "Origen y Formación del Petróleo" Capítulo N° 1. Disponible en:
<http://elpetroleo.aop.es/indexelpetroleo.asp>. 10 de mayo de 2010.
7. Richard Heinberg (2004). The "abiotic Oil" controversy, *Energy Bulletin*, Edición 2004.

8. Wuaquier J.P. (2004), *El refino del Petróleo*, Ediciones Días de Santos, Tomo 1, España.
9. Pinedo, J., L. (2005). *El petróleo en oro y negro*. 1ª edición, Libros en red, México.
10. Lluch Urpi, J. (2008), *Tecnología y margen de refino del petróleo*, Ediciones Días de Santos, España.
11. Parra, E. (2003). *Petróleo y Gas Natural: Industria, mercados y precios*. 1ª edición, Ediciones Akal. Madrid.
12. Weisman, W. (1998), *Analysis of Petroleum Hydrocarbons in Enviromental Media*.
En: Total Petroleum Hydrocarbons criteria working group series, Volúmen 1, Amherst Scientific Publishers, Amherst Massachusetts.
13. Bogna A., Di Cosimo, J., Fígoli, N. (2001). *Petróleo y Gas Natural: reservas, procedimientos y usos*. Centro de publicaciones UNL, Santa Fe, Argentina.
14. Celis Araujo, J. (2009). *Efecto de los Derrames de Petróleo sobre Habitats Marinos*, Facultad de Ciencias, Universidad de Concepción, Chile.
15. U.S EPA (2001). *Guidelines for the Bioremediation of Marine Shorelines and Freshwater Wetlands*. National Risk Management Research Laboratory Cincinnati, OH.

16. Universidad de Antofagasta, Centro regional de estudios y educación Ambiental (2005). En informe de mes de abril: *Contaminación por hidrocarburos en la zona costera de la Ciudad de Antofagasta*. Antofagasta, Chile.
17. Baquero Quirós, M. (2006). *Principios y Aplicaciones de la Cromatografía de Gases*. 1ª edición, Editorial Universidad de Costa Rica, Costa Rica.
18. Heftmann, E. (2004). *Chromatography*. 6ª edición, Elsevier, The Netherlands
Holguín L., Rodríguez H. (2004). *Métodos en biotecnología, Cromatografía de Gases*. Universidad Nacional Autónoma de México. Disponible en internet: http://www.ibt.unam.mx/computo/pdfs/met/cromatografia_de_gases.pdf. Consulta realizada el 5 Mayo 2011.
19. Skoog, D., Holler, J., Nieman, T. (2001). *Principios de Análisis Instrumental*. 5ª edición. McGraw-Hill, España.
20. Reglamento Ambiental para las Operaciones Hidrocarburíferas en el Ecuador.
Anexo 3: *Parámetros, valores máximos referenciales y límites máximos permisibles para el monitoreo ambiental interno rutinario y control ambiental*.
Tabla 4b: Límites permisible en el punto de control en el cuerpo receptor (inmisión).
21. Norma de calidad ambiental y descarga de efluentes: recurso agua. Libro VI, Anexo1, Tabla 3 del Texto Unificado de la Legislación Ambiental Secundaria.

22. Cárdenas A., y Beltrán K. (2009). *Amazonía Ecuatoriana*. En: Amazonía 2009 Áreas Protegidas y Territorios Indígenas, Quito.
23. Petroecuador (2005). *Atlas petrolero 2005*, Editorial Unidad de sistemas y relaciones institucionales de Petróleo, Quito, Ecuador.
24. Petroecuador, 2004. *La dimensión política en la problemática socioambiental petrolera: aguas de formación y derrames de petróleo*. Quito, Ecuador.
25. Mendoza M. (2008). Efectos Mortales Explotación Petrolera. Disponible en: http://asamblea.ezone.com.ec/blogs/manueldejesus_mendoza/2008/03/17/efectos-mortales-explotacion-petrolera-2/. Consulta realizada el 28 de febrero de 2011.
26. Jochnick, C. (1994). *Violaciones de derechos en la Amazonía Ecuatoriana. Las consecuencias humanas del Desarrollo Petrolero*. Editorial CERS. Quito, Ecuador.
27. Maldonado, A., Narváez, A. (2001). *Ecuador ni es, ni será ya, país amazónico*. En: Inventario de impactos petroleros. Acción Ecológica. Quito, Ecuador.
28. Hurting A., San Sebastian M. (2004). *Incidence of Childhood Leukemia and Oil Exploitation in the Amazon Basin of Ecuador*. International Journal of Occupational and Environmental Health.
29. Órgano del Gobierno del Ecuador. Registro Oficial N°69, 20 de noviembre de 1979. Gobierno del Ab. Jaime Roldós Aguilera.

30. Borbor, L. (2010). *Consolidación de la Reserva de Producción Faunística Cuyabeno y su zona de amortiguamiento mediante procesos de solución de la tendencia de la tierra*. Ministerio de Medio Ambiente. Quito, Ecuador.
31. Cristina Rivadeneira-Roura (2007). *Reserva de Producción de Fauna Cuyabeno*. En: ECOLAP y MAE 2007. *Guía del Patrimonio de Áreas Protegidas del Ecuador*. Quito, Ecuador.
32. Müllner, A., Pfrommer, A. (2001). *Turismo de bosque húmedo y su impacto en especies seleccionadas de la fauna silvestre de Río Cuyabeno, Ecuador*. En: *Biodiversidad: protección de la especie y del biotopo*. Alemania.
33. Alianza ECOLEX-Fundación Natura (2008). *Proyecto Linderación, Regulación y Manejo de la Tendencia de la tierra en la cabecera y la zona de amortiguamiento de la Reserva de Protección Faunística Cuyabeno: Plan de Manejo Gerencial de la Cabecera de la Reserva de Producción Faunística Cuyabeno*, Quito, Pichincha.
34. Gobierno de la Provincia de Sucumbíos. (2005). *Desarrollo económico ambiental*. En: *Unidos en la diversidad por el futuro de Sucumbíos*, Capítulo N°5, Nueva Loja, Sucumbíos.
35. Corporación SIMBIOE, Ministerio del Ambiente. (2002). *Entre Lagunas, Fauna y Flora de Cuyabeno*. 1ra. Edición. Quito, Ecuador.

36. Acción Ecológica (2006). *La remediación ambiental: un perverso negocio*. Boletín de Acción Ecológica, Quito, Ecuador.
37. U.S. Environmental Protection Agency (2002). Method 8015M: Characterization of C₆ to C₃₅ Petroleum Hydrocarbons, Aliphatic Hydrocarbon, Aromatic Hydrocarbons, Approximate Boiling Point/Carbon number distribution.
38. INREDH, Wilton Guaranda, (2008). *Justicia Ambiental: Acciones Judiciales por Derrames de Petróleo*. Disponible en internet:
<http://www.inredh.org/index.php?option=com_content&view=article&id=151%3Aacciones-judiciales-por-derrames-de-petroleo&Itemid=126> Consulta realizada el 10 de Mayo de 2011.
39. Wang, Z., Fingas, M., and Page, D.S. (1999) Oil spill identification. *Journal of Chromatography A*, 843, 369-411.
40. Environmental Protection Agency (a). Sensitivity of Freshwater Habitats. Oil Program. Disponible en internet:
www.epa.gov/oilspills/pdf/chap1. Consulta realizada el 13 de Mayo de 2011.
41. Wernersson, A.S. (2004) *Aquatic Ecotoxicity due to Oil Pollution in the Ecuadorian Amazon*. *Aquatic Ecosystem Health & Management*.

42. Sutiknowati, L.I. (2007). *Hydrocarbon Degrading Bacteria: Isolation and Identification*. Research Center for Oceanography, Indonesian Institute of Sciences, Indonesia.

ANEXOS

ANEXO 1: Variaciones territoriales de la RPFC

La Reserva de Producción Faunística Cuyabeno fue declarada como tal con una superficie inicial de 254.760 hectáreas. Desde entonces ha sufrido cambios en su extensión y límites. Así, en 1991, se extendió alcanzando las 655.781 hectáreas; sin embargo, en 1993, el Instituto Ecuatoriano Forestal y de Áreas Naturales y Vida Silvestre (INEFAN), excluyó 52.401 hectáreas que ya habían sido intervenidas por colonos. En la actualidad, la RPFC cuenta con 603.380 hectáreas, 488.600 hectáreas en la provincia de Sucumbíos y 114.780 hectáreas en la provincia de Orellana [36] [37].

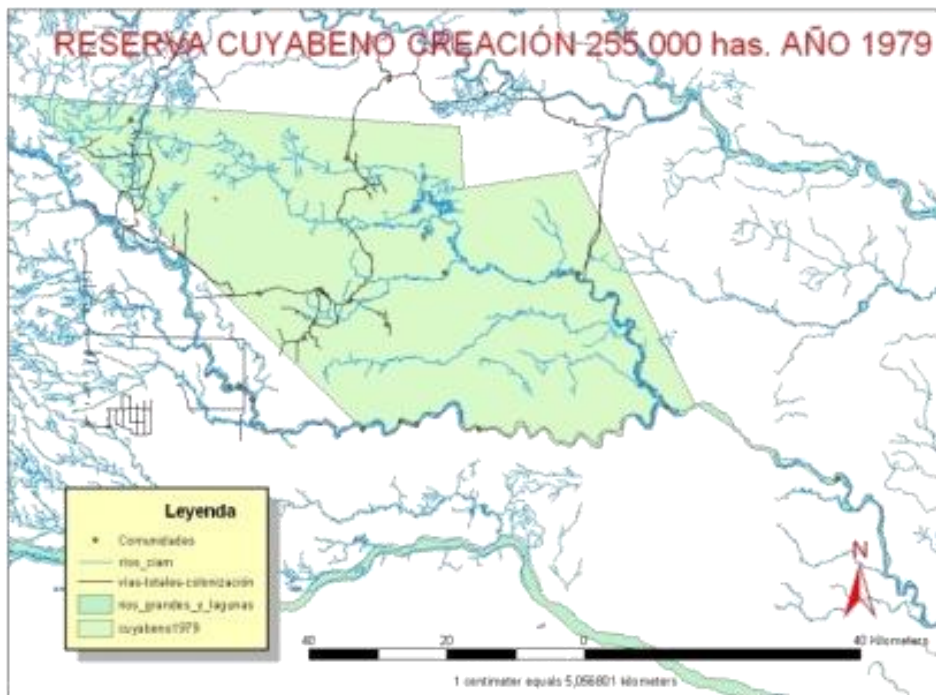


Figura 1. Extensión territorial de la RPFC en 1979, año en que se declaró oficialmente como tal.

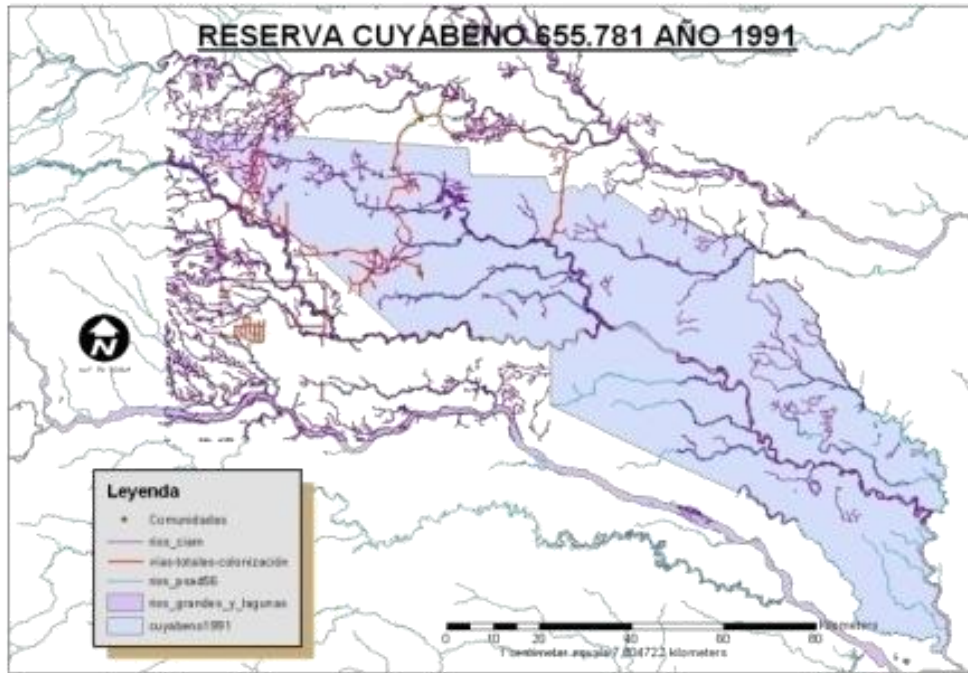


Figura 2. Extensi3n territorial de la RPFC en 1991, luego de la exclusi3n de 52401 Ha.



Figura 3. Extensi3n territorial de la RPFC en la actualidad

ANEXO 2: Derrames transcendentales ocurridos dentro de la RPFC.

En la siguiente tabla se enlistan los derrames de mayor trascendencia dentro de los últimos años en el campo Cuyabeno: [21].

N°	Sector del derrame	Fecha	Barriles derramados	Barriles recuperados	Causa	Área afectada (m ²)
1	Cuyabeno-04	19/12/2004	5	2	Corrosión interna	280
2	Cuyabeno-04	29/03/2005	1	1	Corrosión interna	200
3	Cuyabeno-04	14/04/2005	15	10	Corrosión interna	200
4	Estación cuyabeno	22/05/2005	10	7	Desbordamiento piscina	0
5	Estación Cuyabeno	12/07/2005	6,4	6,4	Rotura de cañería	200
6	Cuyabeno-14	01/08/2005	1	0	Corrosión interna	50
7	Cuyabeno-14	12/09/2005	2	0	Corrosión interna	1000
8	Río Cuyabeno Chico	24/09/2005	30	25	Corrosión interna	800
9	Oleoducto secundario	07/11/2005	0,25	0	Atentado	300
10	Oleoducto secundario	22/11/2005	1	0	Atentado	900
11	Cuyabeno-14	07/12/2005	10	5	Corrosión interna	20
12	Cuyabeno-14	16/01/2006	2	0	Corrosión interna	10
13	Puente sobre río Cuyabeno	18/03/2006	1,1	1,1	Corrosión interna	100
14	Estación Cuyabeno	02/06/2006	10	0	Rebosamiento piscina	150
15	Cuyabeno-08	18/08/2006	490		Sabotaje	325175
16	Cuyabeno-03	12/10/2006	4	3	Rotura empaque	40
		<i>Totales</i>	<i>588,75</i>	<i>60,5</i>		<i>332425</i>

ANEXO 3: Resultados de la validación del método para análisis de TPH's fracción diesel por cromatografía de gases con detector FID

Concentración Teórica	Repetición	Concentración estimada (ppm)			Promedio entre bloques/días	Promedios totales entre bloques	Desviación entre bloques	SR	%CV
		Bloque 1	Bloque 2	Bloque 3					
4,00	1	3,9122	3,8573	3,9837	3,9177	3,9275	0,0634	0,0173	1,5845
	2	3,8941	3,9464	3,9652	3,9352		0,0368		0,9210
	3	3,9325	3,9837	3,8727	3,9296		0,0556		1,3889
Promedio en el bloque		3,9129	3,9291	3,9405					
Sr		0,0192	0,0649	0,0595					
%CV		0,4803	6,4945	1,5201					
10,00	1	10,3194	10,3407	10,2819	10,3140	10,2832	0,0298	0,0614	0,2977
	2	10,3545	10,3011	9,9101	10,1886		0,2426		2,4263
	3	10,1852	10,1852	10,6711	10,3472		0,2805		2,8053
Promedio en el bloque		10,2864	10,2757	10,2877					
Sr		0,0894	0,0808	0,3805					
%CV		0,8935	0,8081	3,8053					
25,00	1	23,3958	23,1617	23,0464	23,2013	23,4224	0,1780	0,1134	0,7121
	2	23,6837	23,3572	23,1395	23,3935		0,2739		1,0956
	3	24,1163	23,8694	23,0313	23,6723		0,5687		2,2748
Promedio en el bloque		23,7319	23,4628	23,0724					
Sr		0,3627	0,3655	0,0586					
%CV		1,4507	1,4619	0,2344					
40,00	1	40,9815	40,9815	38,2052	40,0561	39,5611	1,6029	0,3013	4,0072
	2	38,1669	39,3711	39,5240	39,0207		0,7433		1,8583
	3	39,3704	39,4221	40,0270	39,6065		0,3651		0,9127
Promedio en el bloque		39,5063	39,9249	39,2521					
Sr		1,4122	0,9154	0,9409					
%CV		3,5305	2,2885	2,3521					
50,00	1	51,2585	51,7697	50,6501	51,2261	50,8669	0,5605	0,1503	1,1210
	2	50,7248	50,1256	50,1665	50,3390		0,3348		0,6695
	3	50,7715	50,7715	51,5638	51,0356		0,4574		0,9149
Promedio en el bloque		50,9183	50,8889	50,7935					
Sr		0,2956	0,8283	0,7096					
%CV		0,5911	1,6566	1,4192					

RESUMEN DE VALIDACIÓN						
Método:		Determinación de TPH's en agua por GC-FID				
Analito:		TPH's-DRO (C10-C25)				
Unidades:		mg/L				
Matriz:		Agua				
SELECTIVIDAD/ESPECIFICIDAD						
Interferencias conocidas: Bibliográficamente el método no presenta interferencias para el analito a ser medido						
FUNCIÓN DE RESPUESTA INSTRUMENTAL						
Pendiente, m		326941,34				
Intervalo de confianza de m		329177	A	324706		
Intercepto, b		-179082				
Intervalo de confianza de m		-127234	A	-230929		
R ²		0,9997				
LÍMITES						
Límite		Valor			Unidades	
De detección		0,7792			mg/L	
De cuantificación		1,1363			mg/L	
PRECISION, EXACTITUD, INCERTIDUMBRE						
Nivel (mg/L)	Repetibilidad		Reproducibilidad		Exactitud	U mg/L
	Sr	%CVr	SR	%CVR	% Error	
4,00	2,96E-02	0,74	5,20E-02	1,30	0,34	0,120812
10,00	1,05E-01	1,05	1,84E-01	1,84	0,28	0,235208
25,00	1,36E-01	0,54	3,40E-01	1,36	0,00	0,321377
40,00	1,35E+00	3,38	9,02E-01	2,26	0,04	0,946023
50,00	6,27E-01	1,25	4,51E-01	0,90	0,29	0,722174
Intervalo de trabajo validado:			4mg/L a 50mg/L			
PORCENTAJE DE RECUPERACIÓN						
Nivel Bajo (8,3mg/L)		97 %				
Nivel Medio (16,7mg/L)		98 %				
Nivel alto (33,3mg/L)		96 %				
Rango de trabajo en muestra (25mL):		0,0048g/L a 0,6mg/L				
CRITERIOS DE ACEPTACIÓN Y RECHAZO						
Pendiente:		329177	A	324706		
Ordenada al origen:		-127234	A	-230929		
Coeficiente de correlación mínimo:		0,9900				
%CVr máximo:		10%				
%CVR máximo:		10%				
% recuperación mínimo:		60%-140%				

ANEXO 4: Certificado de análisis Diesel Range Organics Mixture #2- GRO/DRO



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

CERTIFICATE OF ANALYSIS

INVOICE #: CS314805
PO #: PO-02-2010

CATALOG #: TPH-6RPM

DESCRIPTION: Diesel Range Organics Mixture #2 - GRO/DRO (repkg)
in Methylene chloride

LOT #: 431-116A

EXPIRATION DATE: 11/11

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

1000ug/ml	F2182	n-Decane
1000ug/ml	F2415	n-Undecane
1000ug/ml	F2000	n-Dodecane
1000ug/ml	O-2273	n-Tridecane
1000ug/ml	F2197	n-Tetradecane
1000ug/ml	O-2238	n-Pentadecane
1000ug/ml	F2185	n-Hexadecane
1000ug/ml	O-2110	n-Heptadecane
1000ug/ml	F2188	n-Octadecane
1000ug/ml	F2269	n-Nonadecane
1000ug/ml	F2183	n-Eicosane
1000ug/ml	O-2108	n-Heneicosane
1000ug/ml	F2194	n-Docosane
1000ug/ml	O-2270	n-Tricosane
1000ug/ml	F2198	n-Tetracosane
1000ug/ml	O-2246	n-Pentacosane

acth
3/10/10



ISO 9001
Certificate Number: 31610



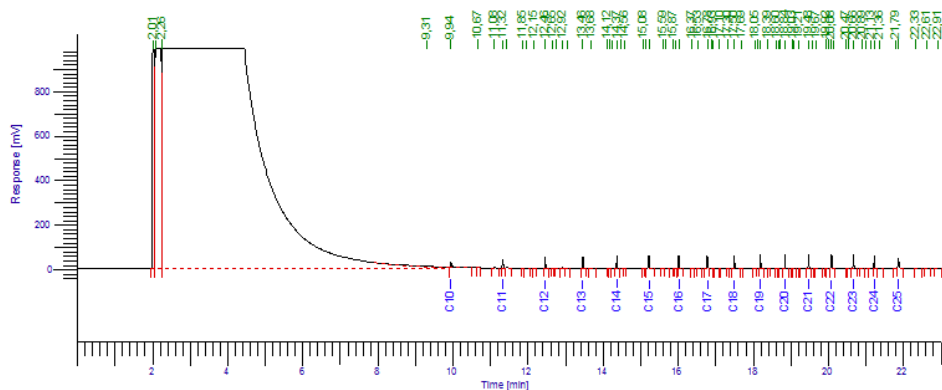
ISO/IEC 17025
Accreditation Number: 63520

ANEXO 5: Reportes cromatográficos de los estándares que se utilizaron para la elaboración de la curva de calibración.

Page 1 of 2

Software Version : 6.3.1.0504 Date : 03/03/2011 12:52:11
 Reprocess Number : lab_cesaq1: 1438
 Sample Name :
 Instrument Name : CESAQ Data Acquisition Time : 03/03/2011 12:28:58
 Rack/Vial : 0/0 Channel : B
 Sample Amount : 1,000000 Operator : manager
 Cycle : 1 Dilution Factor : 1,000000

Result File : C:\CESAQ\TPH\4ppmdiesel2run13311.rst
 Sequence File : C:\CESAQ\TPH\dcm-201110303-121311.seq



CESAQ

BTEX

Peak #	Component Name	Time [min]	Area [uV*sec]	Adjusted Amount
5	C10	9,943	110715,46	0,1107
8	C11	11,324	66218,85	0,0662
13	C12	12,459	68279,48	0,0683
18	C13	13,458	69785,04	0,0698
23	C14	14,370	73368,85	0,0734
28	C15	15,218	74065,75	0,0741
33	C16	16,017	72852,80	0,0729
36	C17	16,775	73755,12	0,0738
41	C18	17,498	75525,27	0,0755
45	C19	18,186	76540,23	0,0765
50	C20	18,844	77553,69	0,0776
54	C21	19,476	78332,64	0,0783
59	C22	20,081	78939,39	0,0789
63	C23	20,664	78793,19	0,0000
67	C24	21,231	77533,12	0,0000
70	C25	21,865	76224,75	0,0000

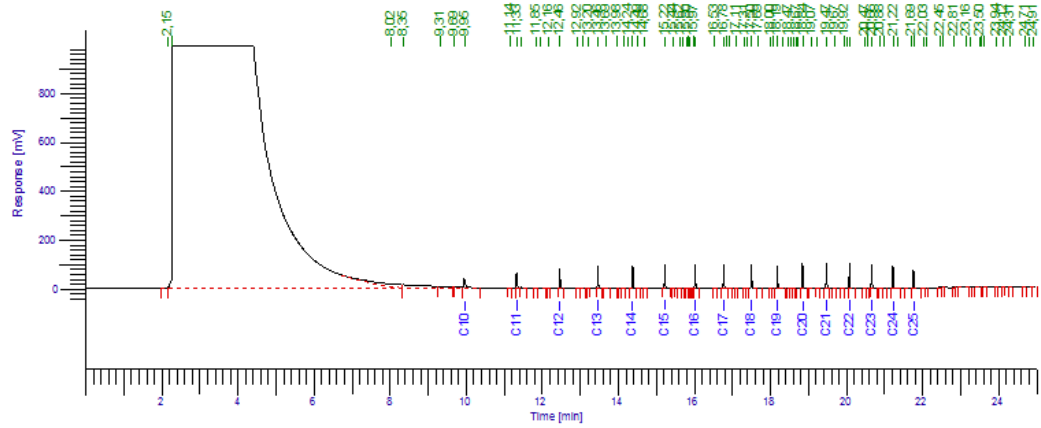
1099962,22 0,9959

Missing Component Report
 Component Expected Retention (Calibration File)

All components were found

Software Version : 6.3.1.0504 Date : 27/04/2011 10:51:36
 Reprocess Number : lab_cesaq1: 1643
 Sample Name :
 Instrument Name : CESAQ Data Acquisition Time : 27/04/2011 10:26:24
 Rack/Vial : 0/0 Channel : B
 Sample Amount : 1,000000 Operator : manager
 Cycle : 1 Dilution Factor : 1,000000

Result File : C:\CESAQ\TPH\10ppmdiesel2run127411.rst
 Sequence File : C:\CESAQ\TPH\10ppmdiesel2run127411.seq



CESAQ

BTEX

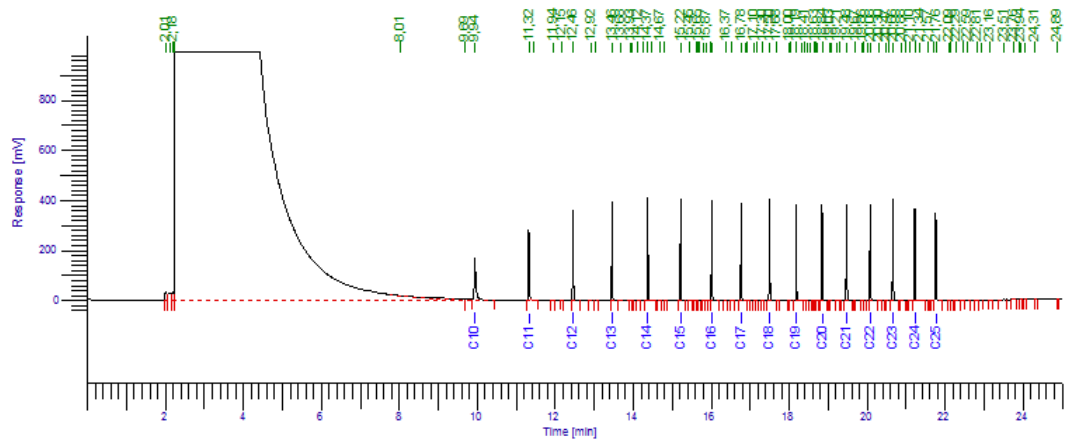
Peak #	Component Name	Time [min]	Area [uV*sec]	Adjusted Amount
7	C10	9,950	140037,53	0,1400
9	C11	11,329	108883,85	0,1089
14	C12	12,464	113043,76	0,1130
18	C13	13,463	116108,46	0,1161
23	C14	14,375	120929,09	0,1209
26	C15	15,222	122521,27	0,1225
34	C16	16,021	123034,91	0,1230
36	C17	16,778	123070,94	0,1231
42	C18	17,500	127342,00	0,1273
46	C19	18,186	129690,52	0,1297
53	C20	18,845	130701,83	0,1307
56	C21	19,475	128986,24	0,1290
60	C22	20,080	131511,13	0,1315
63	C23	20,662	127221,21	0,0000
66	C24	21,219	123123,37	0,0000
69	C25	21,759	123965,45	0,0000
			3150873,30	1,6159

Missing Component Report
 Component Expected Retention (Calibration File)

All components were found

Software Version : 6.3.1.0504 Date : 27/04/2011 17:39:57
 Reprocess Number : lab_cesaq1: 1652
 Sample Name :
 Instrument Name : CESAQ Data Acquisition Time : 27/04/2011 17:14:27
 Rack/Vial : 0/0 Channel : B
 Sample Amount : 1,000000 Operator : manager
 Cycle : 1 Dilution Factor : 1,000000

Result File : C:\CESAQ\TPH\25ppmdiesel2run227411.rst
 Sequence File : C:\CESAQ\TPH\25ppmdiesel2run227411.seq



CESAQ

BTEX

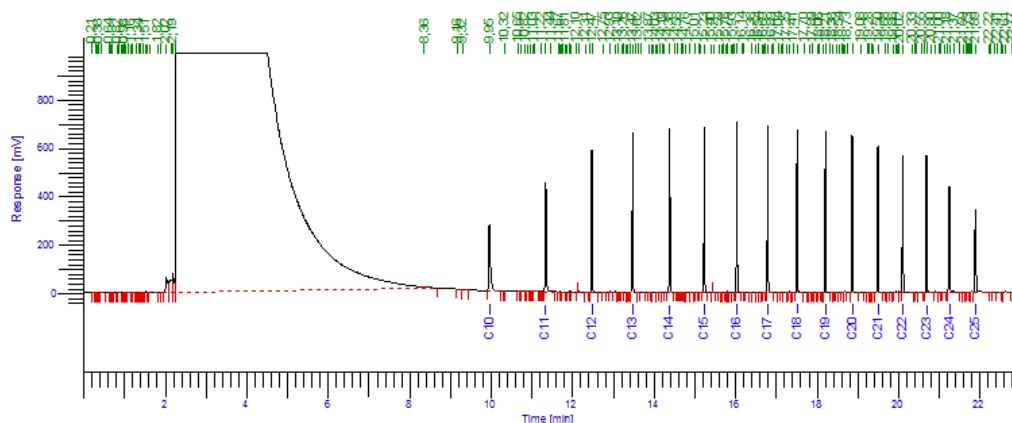
Peak #	Component Name	Time [min]	Area [uV*sec]	Adjusted Amount
7	C10	9,938	499105,23	0,4991
8	C11	11,322	466630,73	0,4666
12	C12	12,459	481193,10	0,4812
15	C13	13,458	487689,16	0,4877
21	C14	14,369	490807,81	0,4908
25	C15	15,216	492049,48	0,4920
33	C16	16,017	496589,24	0,4966
36	C17	16,775	492373,85	0,4924
42	C18	17,497	499298,90	0,4993
46	C19	18,186	506846,05	0,5068
54	C20	18,844	513606,06	0,5136
59	C21	19,476	514520,91	0,5145
64	C22	20,081	519438,96	0,5194
68	C23	20,663	508078,29	0,0000
72	C24	21,223	494727,01	0,0000
76	C25	21,760	484405,73	0,0000
			7705532,94	6,4601

Missing Component Report
 Component Expected Retention (Calibration File)

All components were found

Software Version	: 6.3.1.0504	Date	: 15/03/2011 12:41:53
Reprocess Number	: lab_cesaq1: 1459		
Sample Name	:		
Instrument Name	: CESAQ	Data Acquisition Time	: 15/03/2011 12:18:39
Rack/Vial	: 0/0	Channel	: B
Sample Amount	: 1,000000	Operator	: manager
Cycle	: 1	Dilution Factor	: 1,000000

Result File : C:\CESAQ\TPH\40ppmdiesel2run115311.rst
Sequence File : C:\CESAQ\TPH\40ppmdiesel2run115311.seq



CESAQ

BTEX

Peak #	Component Name	Time [min]	Area [uV*sec]	Adjusted Amount
38	C10	9,954	771295,96	0,7713
49	C11	11,337	770626,91	0,7706
63	C12	12,473	797579,44	0,7976
74	C13	13,471	812347,72	0,8123
86	C14	14,385	829975,77	0,8300
97	C15	15,234	843595,75	0,8436
108	C16	16,034	867616,70	0,8676
117	C17	16,793	876687,44	0,8767
126	C18	17,516	894494,33	0,8945
133	C19	18,205	904292,13	0,9043
142	C20	18,864	918713,74	0,9187
148	C21	19,496	907795,28	0,9078
155	C22	20,102	916225,00	0,9162
161	C23	20,683	895392,39	0,0000
168	C24	21,252	871641,95	0,0000
177	C25	21,889	861198,02	0,0000

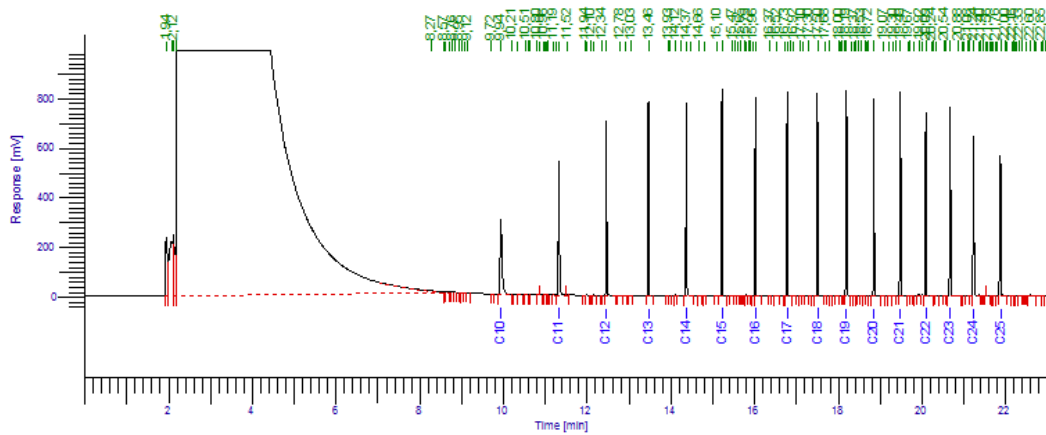
12742958,59 11,1112

Missing Component Report
Component Expected Retention (Calibration File)

All components were found

Software Version : 6.3.1.0504 Date : 01/03/2011 15:05:12
 Reprocess Number : lab_cesaq1: 1420
 Sample Name :
 Instrument Name : CESAQ Data Acquisition Time : 01/03/2011 14:41:33
 Rack/Vial : 0/0 Channel : B
 Sample Amount : 1,000000 Operator : manager
 Cycle : 1 Dilution Factor : 1,000000

Result File : C:\CESAQ\TPH\50ppmrun11311.rst
 Sequence File : C:\CESAQ\TPH\50ppmrun11311.seq



CESAQ

BTEX

Peak #	Component Name	Time [min]	Area [uV*sec]	Adjusted Amount
16	C10	9,939	928065,90	0,9281
30	C11	11,323	942190,62	0,9422
37	C12	12,463	966531,67	0,9665
41	C13	13,462	988275,93	0,9883
46	C14	14,374	1012651,76	1,0127
51	C15	15,222	1035971,37	1,0360
62	C16	16,023	1064861,81	1,0649
66	C17	16,783	1072043,13	1,0720
72	C18	17,505	1087713,84	1,0877
79	C19	18,194	1096673,11	1,0967
88	C20	18,854	1102421,03	1,1024
93	C21	19,485	1086521,03	1,0865
99	C22	20,090	1071659,93	1,0717
105	C23	20,671	1035020,19	0,0000
111	C24	21,238	982621,98	0,0000
122	C25	21,874	931713,75	0,0000
			16209033,71	13,4556

Missing Component Report
 Component Expected Retention (Calibration File)

All components were found

ANEXO 6: Análisis de varianza de las muestras analizadas por cromatografía de gases

	Muestra superficial	Muestras profundas
Bloque 1	Concentración en muestra (mg/L)	Concentración en muestra (mg/L)
Aucacocha B1 M01	0,147	0,156
Aucacocha B1 M02	0,148	0,145
Aucacocha B1 M03	0,145	0,155
Aucacocha B1 M04	0,152	0,151
Bloque 2		
Aucacocha B2 M01	0,154	0,153
Aucacocha B2 M02	0,154	0,150
Aucacocha B2 M03	0,151	0,149
Aucacocha B2 M04	0,143	0,145
Bloque 3		
Aucacocha B3 M01	0,154	0,151
Aucacocha B3 M02	0,154	0,148
Aucacocha B3 M03	0,145	0,155
Aucacocha B3 M04	0,142	0,154
Bloque 4		
Aucacocha B4 M01	0,153	0,150
Aucacocha B4 M02	0,150	0,155
Aucacocha B4 M03	0,149	0,153
Aucacocha B4 M04	0,148	0,147
Bloque 5		
Aucacocha B5 M01	0,156	0,144
Aucacocha B5 M02	0,138	0,153
Aucacocha B5 M03	0,148	0,148
Aucacocha B5 M04	0,148	0,156

Análisis de varianza de un factor

RESUMEN

Grupos	Cuenta	Suma	Promedio	Varianza
Muestra superficial	20	2,979	0,14895	2,2366E-05
Muestras profundas	20	3,018	0,1509	1,4726E-05

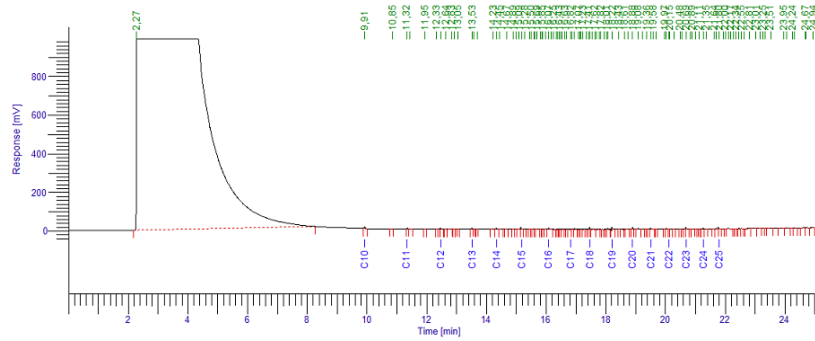
ANÁLISIS DE VARIANZA

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	3,8025E-05	1	3,8025E-05	2,05030153	0,16035059	4,09817173
Dentro de los grupos	0,00070475	38	1,8546E-05			
Total	0,00074278	39				

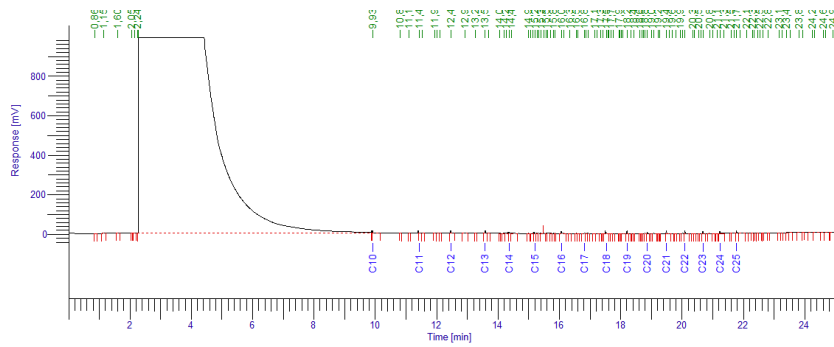
Conclusión: $F < F_{\text{crítico}}$ entonces no existe una diferencia significativa.

ANEXO 7: Cromatogramas de las muestras de agua analizadas. Primera corrida

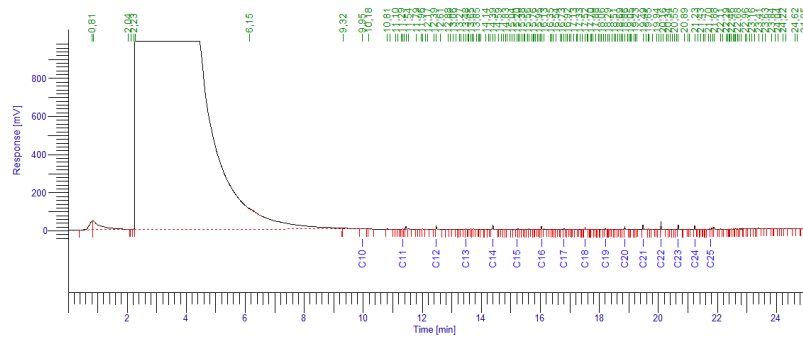
AUCACOCHA B1 M01 SUPERFICIAL



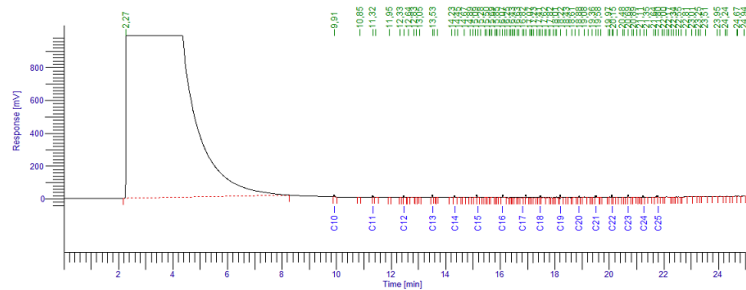
AUCACOCHA B1 M01 PROFUNDA



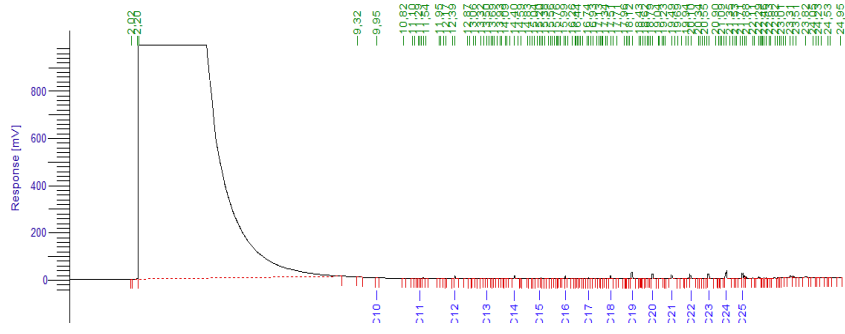
AUCACOCHA B1 M02 SUPERFICIAL



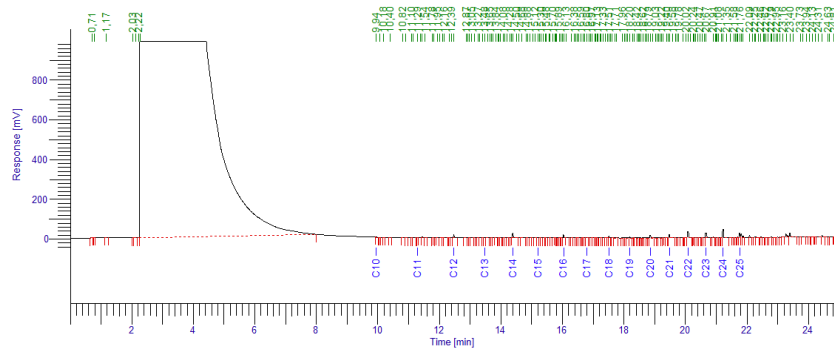
AUCACOCHA B1 M02 PROFUNDA



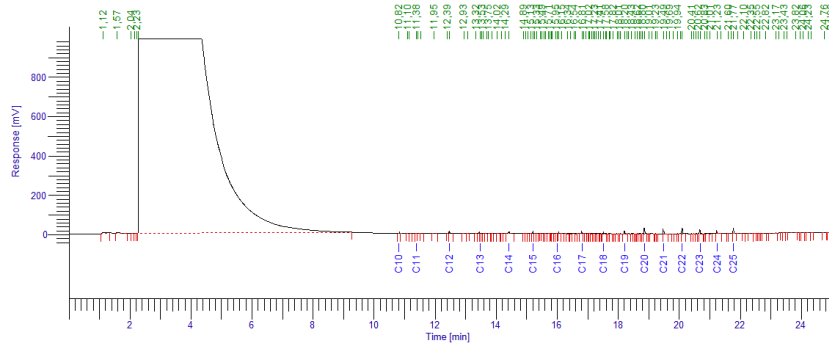
AUCACOCHA B1 M03 SUPERFICIAL



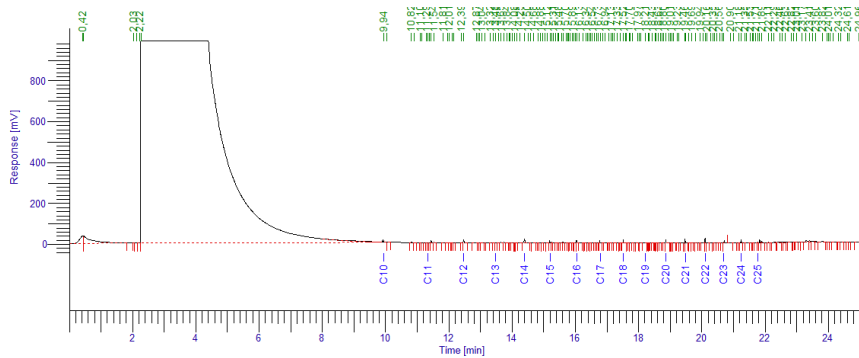
AUCACOCHA B1 M03 PROFUNDA



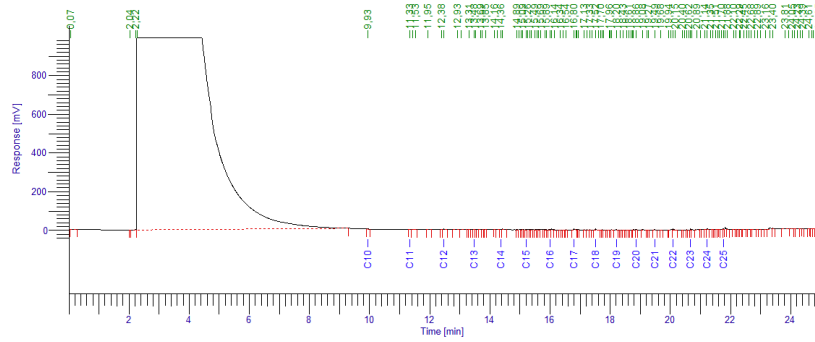
AUCACOCHA B1 M04 SUPERFICIAL



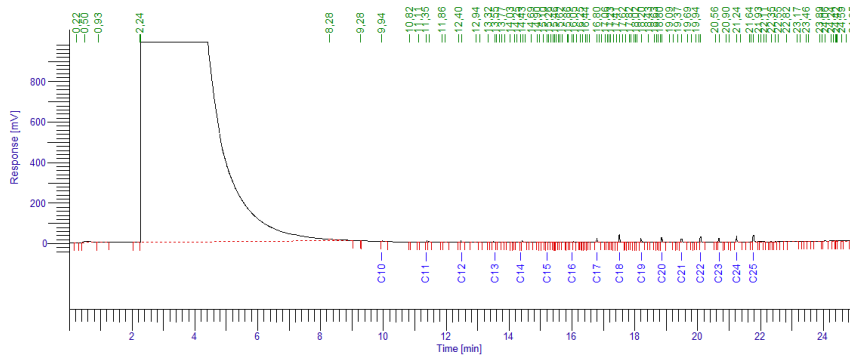
AUCACOCHA B1 M04 PROFUNDA



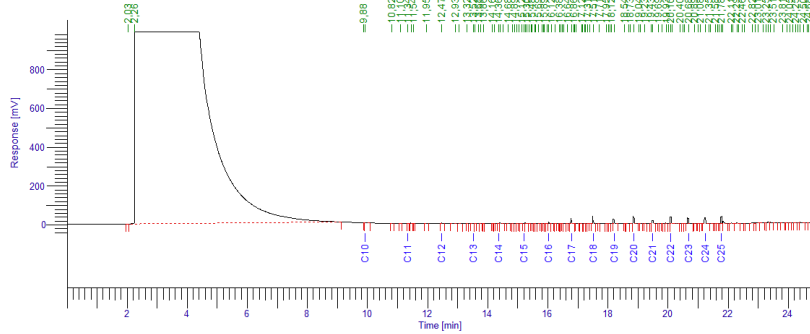
AUCACOCHA B2 M01 SUPERFICIAL



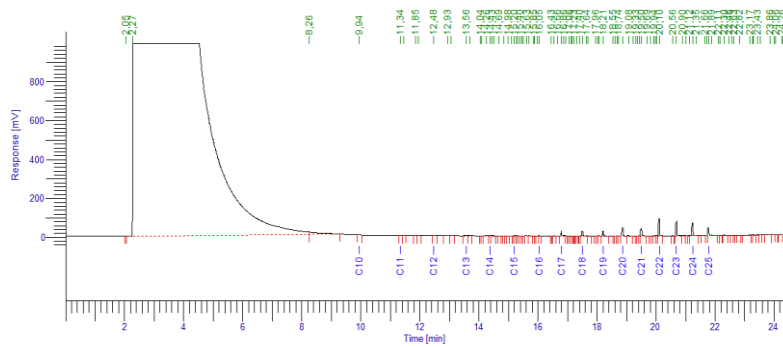
AUCACOCHA B2 M01 PROFUNDA



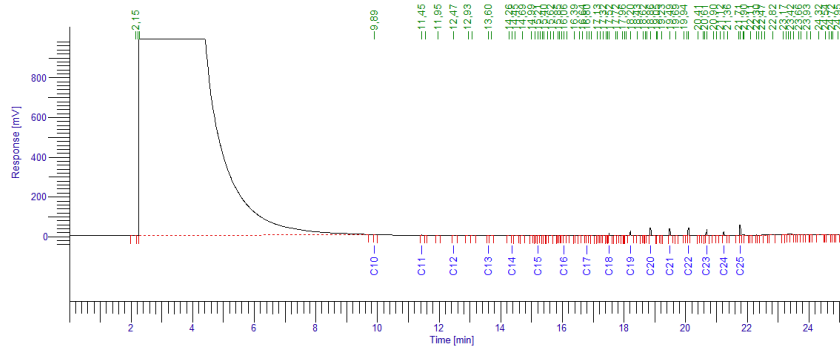
AUCACOCHA B2 M02 SUPERFICIAL



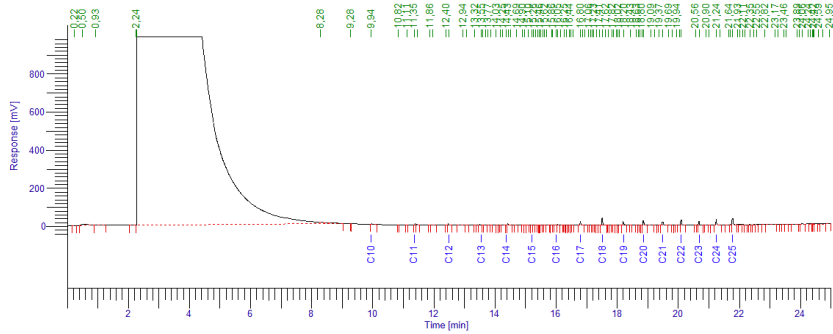
AUCACOCHA B2 M02 PROFUNDA



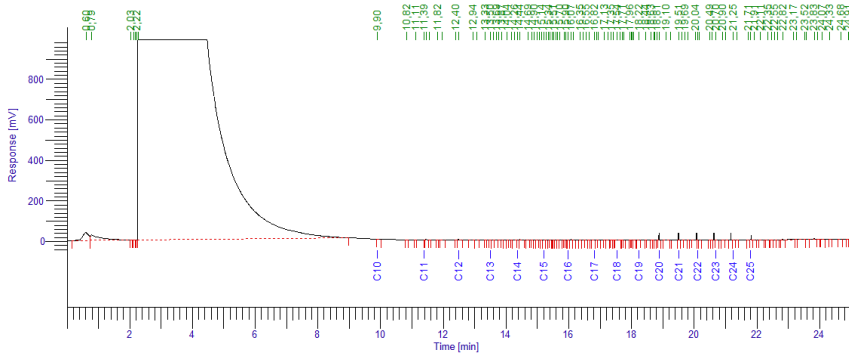
AUCACOCHA B2 M03 SUPERFICIAL



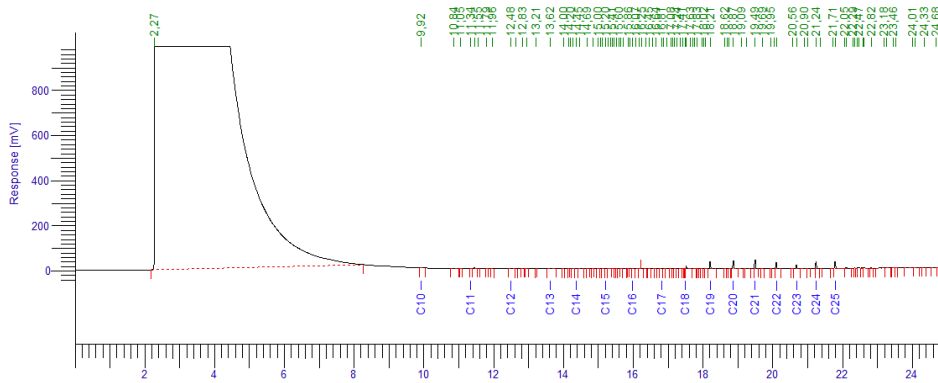
AUCACOCHA B2 M03 PROFUNDA



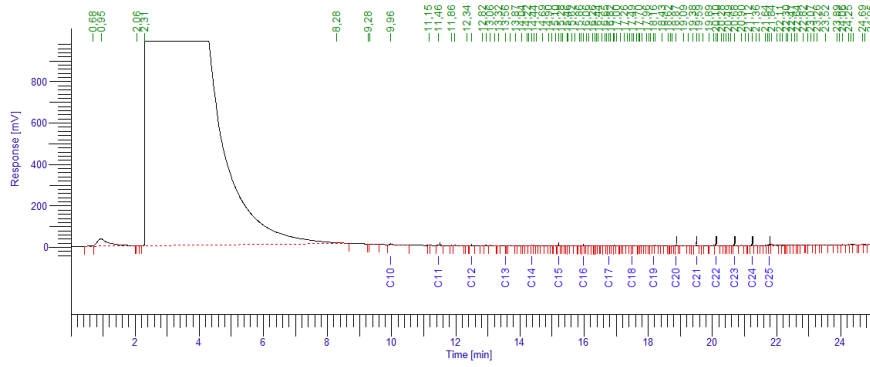
AUCACOCHA B2 M04 SUPERFICIAL



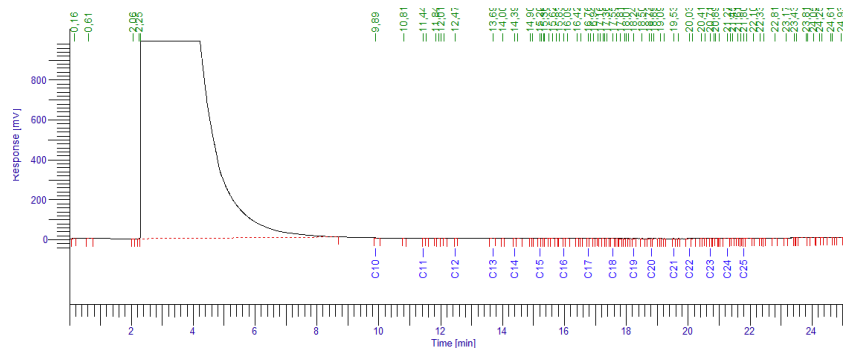
AUCACOCHA B2 M04 PROFUNDA



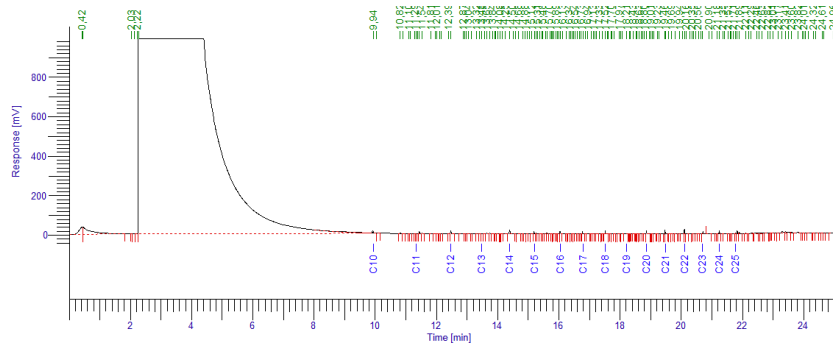
AUCACOCHA B3 M01 SUPERFICIAL



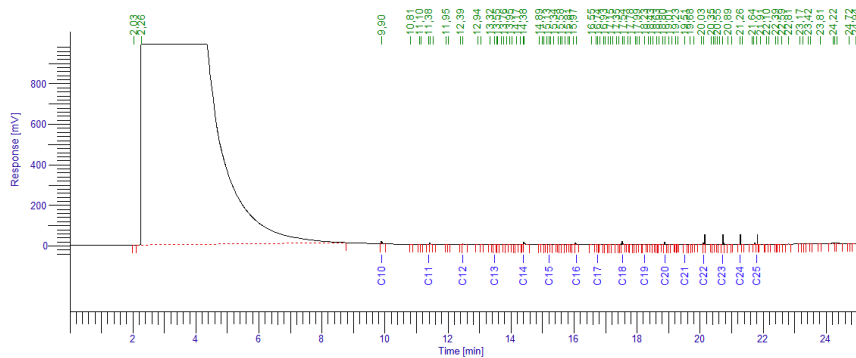
AUCACOCHA B3 M01 PROFUNDA



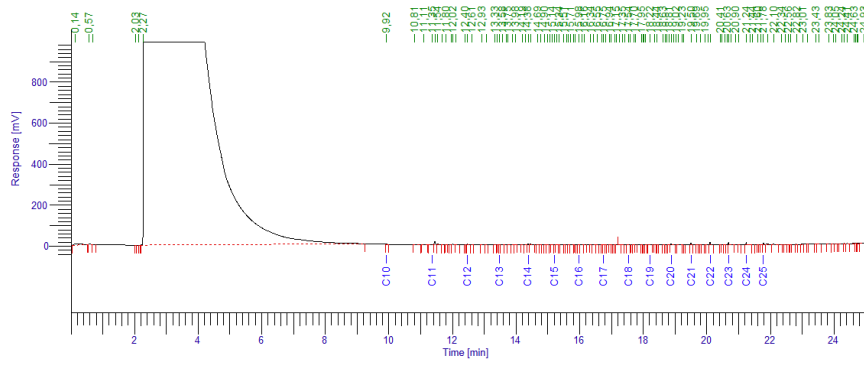
AUCACOCHA B3 M02 SUPERFICIAL



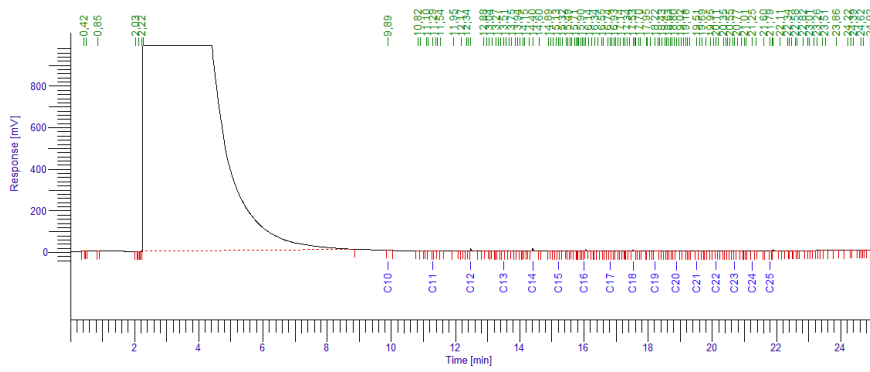
AUCACOCHA B3 M02 PROFUNDA



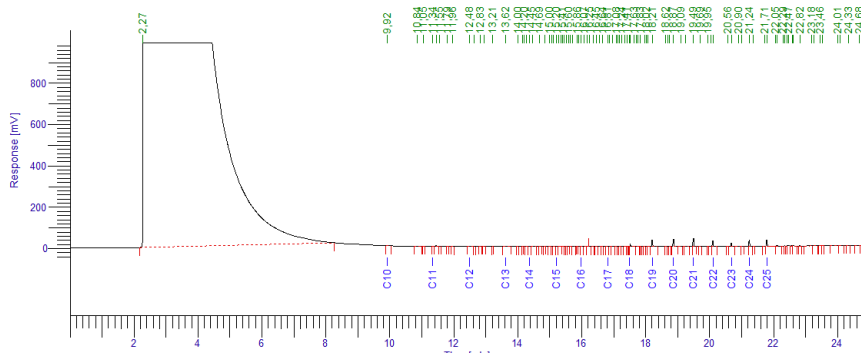
AUCACOCHA B3 M03 SUPERFICIAL



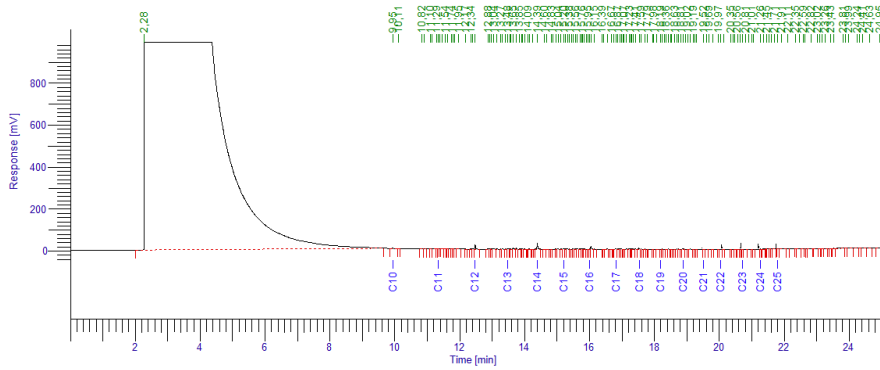
AUCACOCHA B3 M03 PROFUNDA



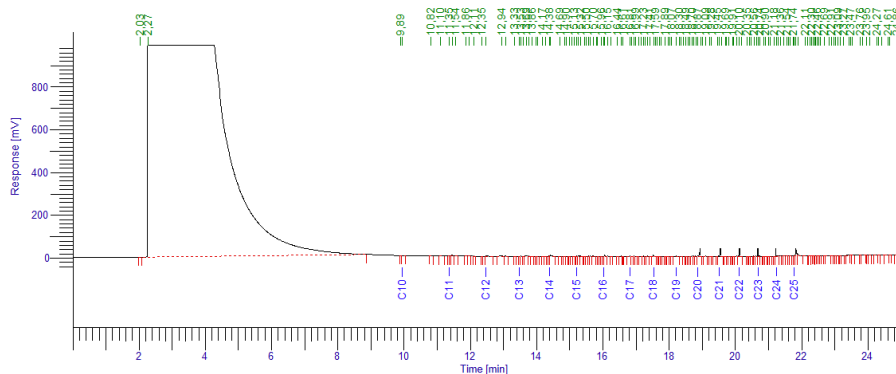
AUCACOCHA B3 M04 SUPERFICIAL



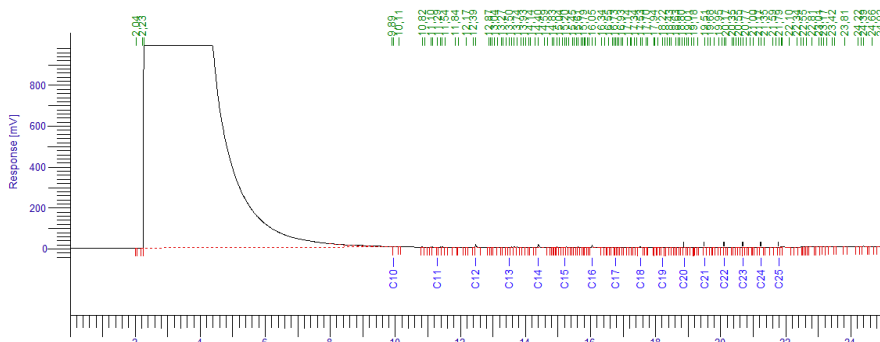
AUCACOCHA B3 M04 PROFUNDA



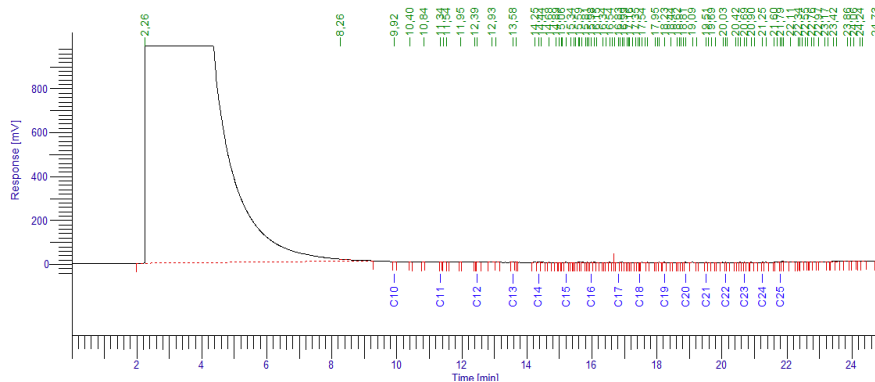
AUCACOCHA B4 M01 SUPERFICIAL



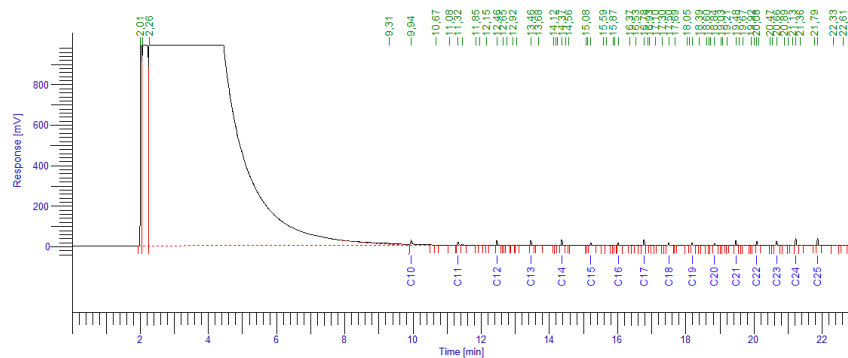
AUCACOCHA B4 M01 PROFUNDA



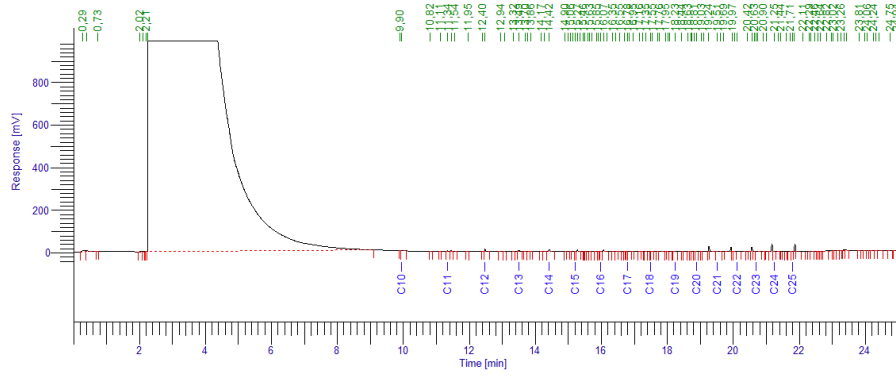
AUCACOCHA B4 M02 SUPERFICIAL



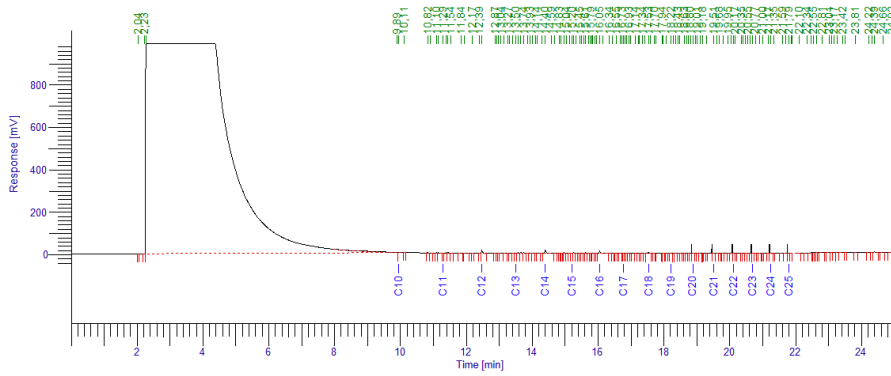
AUCACOCHA B4 M02 PROFUNDA



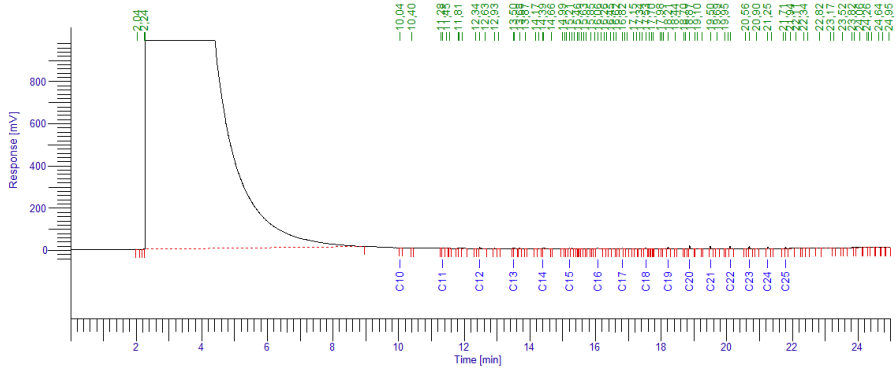
AUCACOCHA B4 M03 SUPERFICIAL



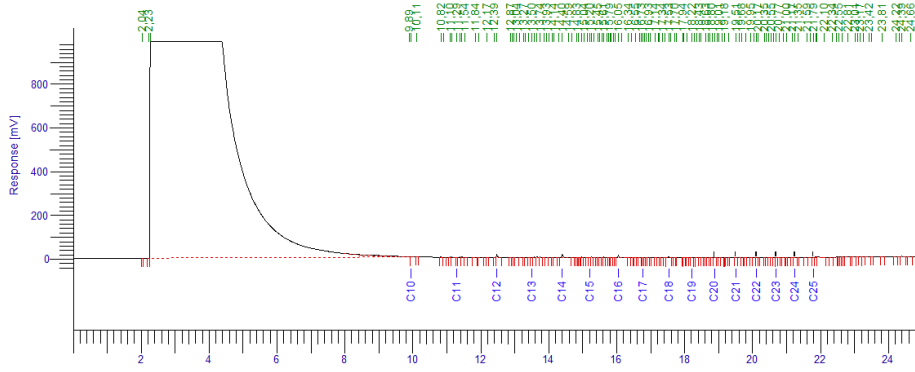
AUCACOCHA B4 M03 PROFUNDA



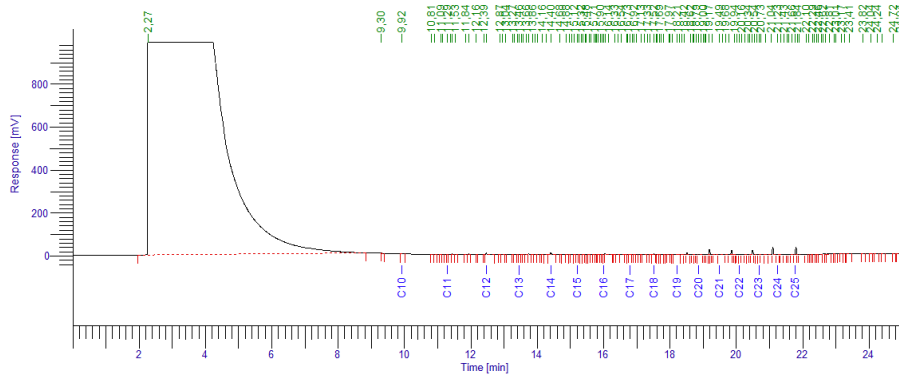
AUCACOCHA B4 M04 SUPERFICIAL



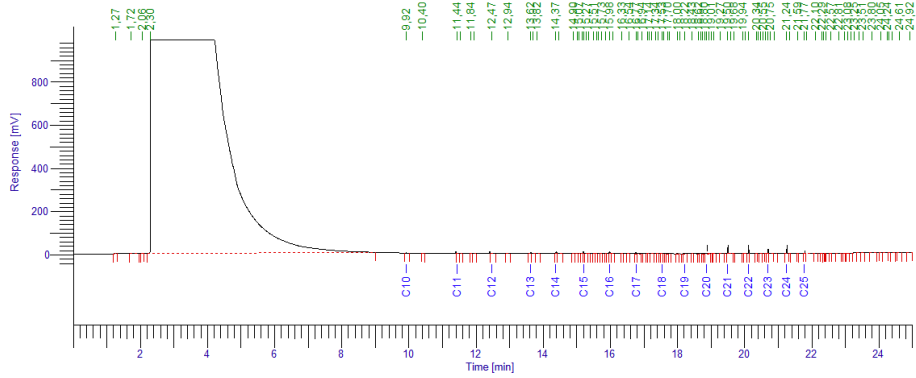
AUCACOCHA B4 M04 PROFUNDA



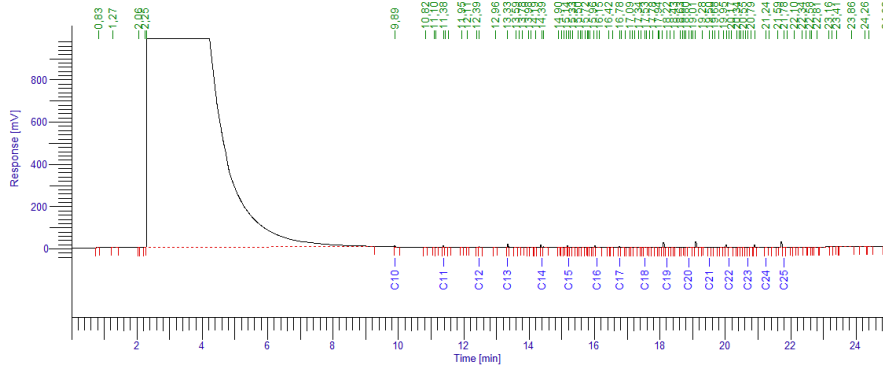
AUCACOCHA B5 M01 SUPERFICIAL



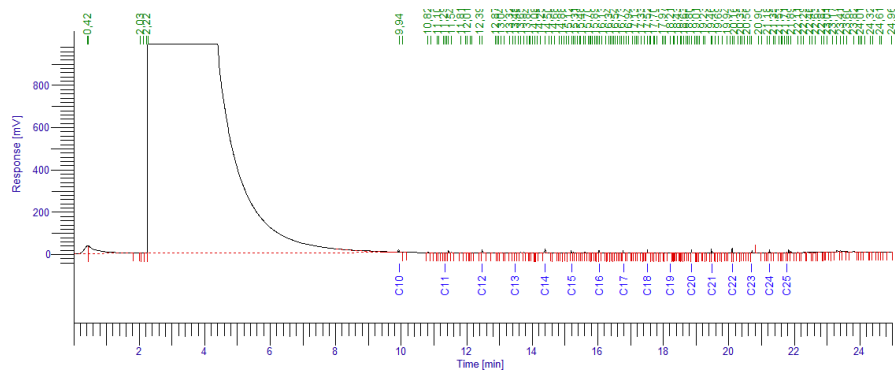
AUCACOCHA B5 M01 PROFUNDA



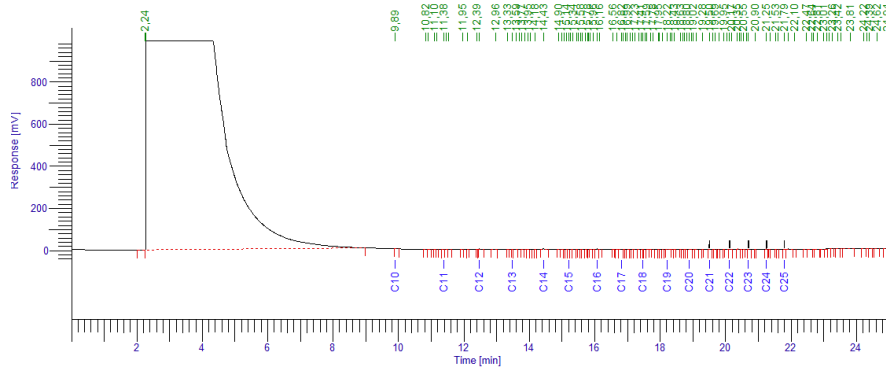
AUCACOCHA B5 M02 SUPERFICIAL



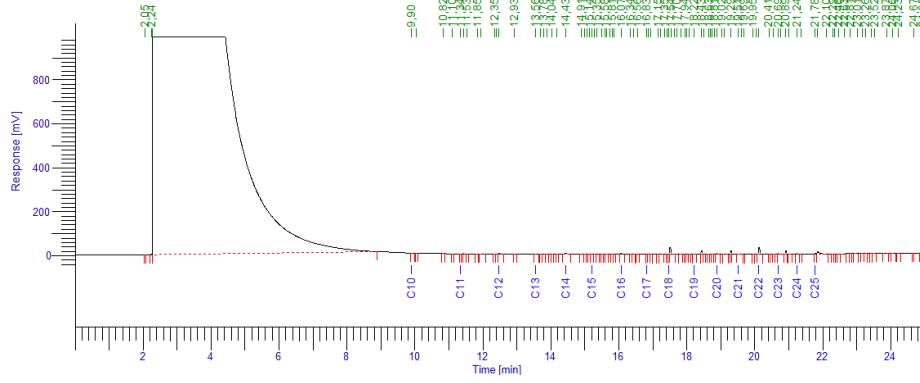
AUCACOCHA B5 M02 PROFUNDA



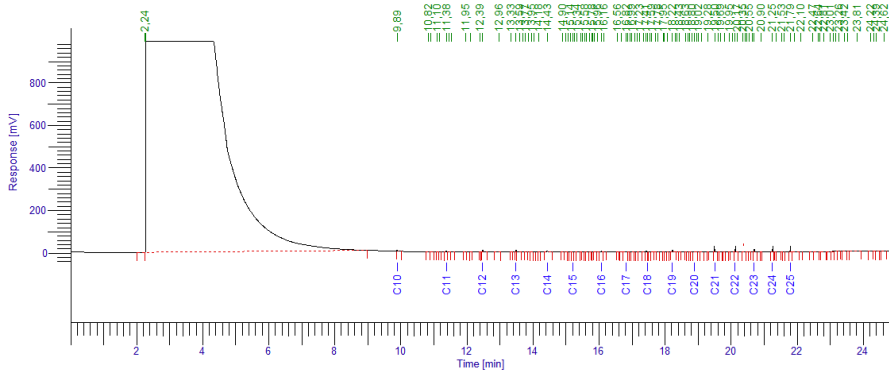
AUCACOCHA B5 M03 SUPERFICIAL



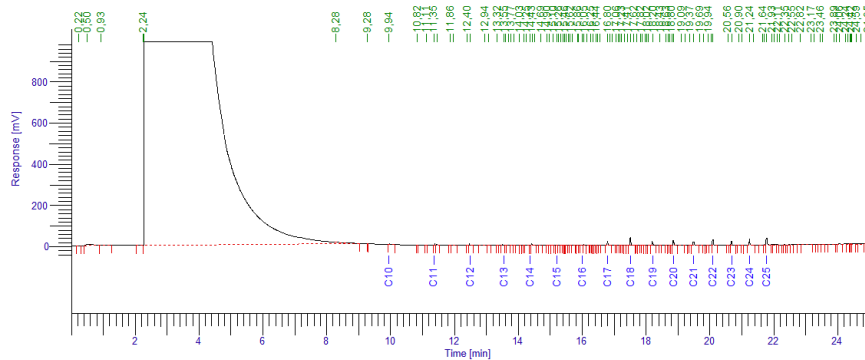
AUCACOCHA B5 M03 PROFUNDA



AUCACOCHA B5 M04 SUPERFICIAL



AUCACOCHA B5 M04 PROFUNDA



ANEXO 8: Fotografías tomadas durante la realización del estudio

Foto 1. Extracción de muestras



Foto2. Río Cuyabeno



Foto3. Laguna Grande



Foto 4. Laguna Grande



Foto 5. Entrada a la laguna Aucacococha



Foto 6. Entrada pantanosa a la laguna Aucacocha



Foto 6. Laguna Aucacocha



Foto 7. Laguna Aucacocha



Foto 8. Vida silvestre de RPFC: monos aulladores

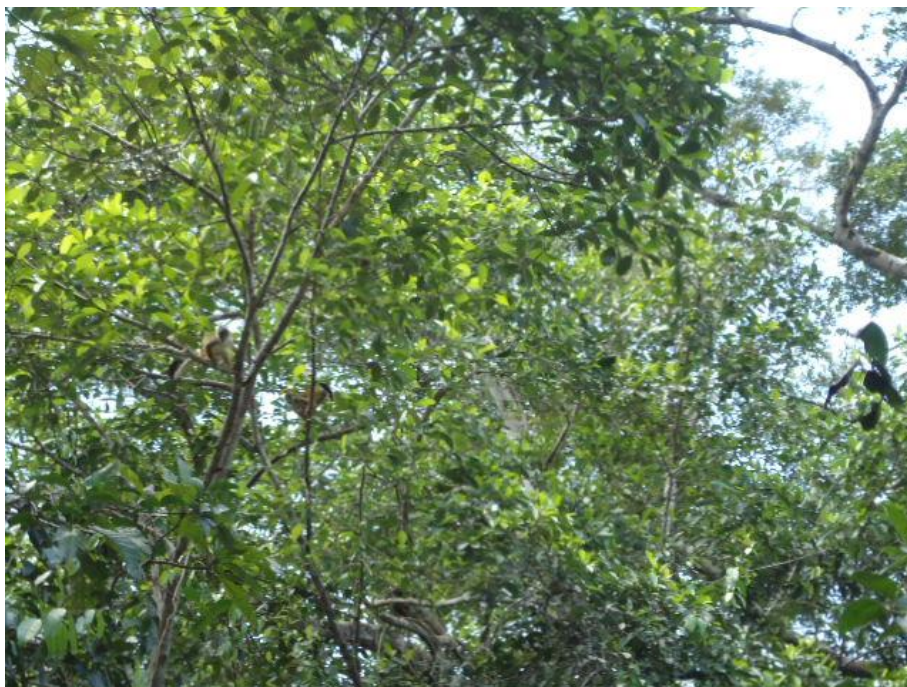


Foto 9. Vida silvestre en la RPFC: caimán negro



Foto 10. VISA silvestre en la RPFC: Oso perezoso

