





**ESCUELA POLITÉCNICA DEL EJÉRCITO**

**CARRERA DE INGENIERÍA GEOGRÁFICA Y DEL MEDIO  
AMBIENTE**

**PROYECTO DE GRADO PARA LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE  
INGENIERÍA**

**ANÁLISIS DE HIDROCARBUROS DE PETRÓLEO EN AGUA  
MEDIANTE CROMATOGRAFÍA DE GASES**

**SOFÍA ESTRELLA MOREIRA**

**SANGOLQUÍ – ECUADOR**

**OCTUBRE 2011**

## **DECLARACIÓN**

Yo, Sofía Belén Estrella Moreira declaro que el trabajo aquí descrito es de mi autoría; que no ha sido previamente presentado para ningún grado o calificación profesional; y que he consultado las referencias bibliográficas que se incluyen en este documento.

La Escuela Politécnica del Ejército puede hacer uso de los derechos correspondientes a este trabajo, según lo ha establecido por la Ley de Propiedad Intelectual, por su reglamento y por la normativa institucional vigente.

---

Sofía Estrella

## **CERTIFICACIÓN**

Certifico, que el siguiente trabajo fue realizado en su totalidad por la Srta. Sofía Belén Estrella Moreira, como requerimiento parcial a la obtención del Título de Ingeniera Geógrafa y del Medio Ambiente

---

Ing. Paulina Guevara

---

Dr. Vicente Delgado

## RESUMEN

Los Hidrocarburos de Petróleo son una mezcla de productos químicos compuestos principalmente de hidrógeno y carbono, llamados hidrocarburos que suponen entre el 50% y el 98% de la composición, su origen es el petróleo crudo. Debido a que hay muchos productos químicos diferentes en el petróleo crudo y en otros productos derivados del petróleo, no es práctico medir cada uno en forma separada. Sin embargo, es útil medir la cantidad total de hidrocarburos en un sitio, es por ello la importancia del desarrollo de métodos que permitan determinar estos productos.

El presente trabajo tiene como finalidad la descripción del Protocolo de análisis de Diesel Fuel en agua mediante el método de extracción líquido-líquido con Diclorometano como solvente de extracción, para su posterior análisis en el Cromatógrafo de gases con detector FID basados en el método USEPA 8015B modificado.

La validación del método se realizó con cinco estándares conocidos de 500ppm, 1000ppm, 1500ppm, 2000ppm, y 3000ppm, el análisis de muestras fortificadas a tres niveles de concentración (750ppm, 1000ppm y 1860ppm), y el análisis de muestras reales tomadas del Río Santa Clara, en un intervalo de trabajo de 500ppm a 3000ppm.

Concluido los análisis se tiene un coeficiente de correlación de correlación de 0,989, desviación de repetibilidad y reproducibilidad de 0,227, el límite de detección de 457ppm y el de cuantificación de 541ppm, y el porcentaje de recuperación promedio del 88,15%.

## **ABSTRACT**

The hydrocarbons of petroleum are a mixture of chemical products composed primarily of hydrogen and carbon, called hydrocarbons which represent between 50% and 98% of the composition, its origin is crude oil.

Because there are many different chemicals in crude oil and other petroleum products, it is not practical to measure each one separately. However, it is useful to measure the total amount of hydrocarbons at a site, it is therefore the importance of the development of methods to identify these products.

This paper aims to the description of the Protocol for analysis of Diesel Fuel in water by the method of extraction liquid with dichloromethane as solvent extraction, for further analysis in the gas chromatograph with detector FID based on the USEPA 8015B method modified.

The validation study of this method is based was effected with five known standards of 500ppm, 1000ppm, 1500ppm, 2000ppm and 3000ppm. The analysis of water samples fortified to a three levels of concentration (750ppm, 1000ppm y 1860ppm) and the analysis of real water samples taken from Rio Santa Clara in intervals of work the 500ppm to 3000ppm

Once the analysis where conclude we obtain a correlation coefficient ( $r$ ) of 0.989, deviations of repeatability and reproducibility of 0,227, the detention limit of 457ppm and the quantification limit of 541 ppm and the average percentage of recuperation of 88,15%.

## DEDICATORIA

" A mis Padres Alejandro y Edita que han sido la base de mi vida, por quienes soy lo que soy y por los que cada día me esfuerzo para ser su orgullo, a mis hermanos Willian, Patricia, Benhur, Alex, Luis quienes con su amor me han sabido enseñar a ser mejor persona y a quienes admiro, a mi cuñado Luis Enrique por ser un gran hombre, a mis sobrinos Miguel Ángel y Thomas que son mis angelitos uno en la tierra y uno en el cielo, a mis Abuelitas Aura y Lotita que me enseñaron la grandeza de ser mujer, mis primos especialmente Damian, que son mi vida y que sin ellos no sería quien soy y a mis amigos que son como hermanos y que han sabido brindarme su cariño y apoyo en todo momento, especialmente a Cristina A. y Freddy R."

## **AGRADECIMIENTO**

A Dios

A mi Directora de Tesis la Ingeniera Paulina Guevara quien con su apoyo y paciencia me ayudo a sacar adelante este proyecto y que más que una ingeniera supo ser una amiga, a mi Codirector, el Doctor Vicente Delgado quien siempre supo guiarme y ayudarme.

A mis padres por su confianza y apoyo durante toda la Carrera.

A mis hermanos que son el complemento perfecto, a quienes admiro y son ejemplos de vida.

A mis sobrinos por su amor incondicional.

A mis tíos y primos que son una verdadera bendición.

A mis amigos Freddy, Krislen, Miguel Ángel, Cristina que más que amigos son mis hermanos, Andrés que fue y será siempre un gran pilar de mi vida con quién compartí bellos momentos.

Mariela, Edgar, Cynthia a quienes siempre llevare en mi corazón



## ÍNDICE

DECLARACIÓN  
CERTIFICACIÓN  
RESUMEN  
ABSTRACT  
DEDICATORIA  
AGRADECIMIENTO

### CAPITULO I

<b>1. INTRODUCCION AL PROYECTO .....</b>	<b>1</b>
1.1. Formulación del Problema .....	3
1.2. Justificación .....	4
1.3. Objetivos de la Investigación.....	5
1.3.1. Objetivo General .....	5
1.3.2. Objetivos Específicos.....	5
1.4. Metas.....	6

### CAPITULO II

<b>2. HIDROCARBUROS DE PETRÓLEO .....</b>	<b>7</b>
2.1. Definición .....	7
2.2. Clases de Hidrocarburos .....	8
2.2.1. Hidrocarburos Saturados.....	8
2.2.2. Hidrocarburos insaturados .....	9
2.2.3. Compuestos aromáticos .....	9
2.2.4. Otros compuestos.....	10
2.3. Propiedades físicas y químicas de los hidrocarburos.....	10
2.3.1. Densidad .....	10
2.3.2. Polaridad .....	11
2.3.3. Solubilidad en agua .....	11
2.3.4. Presión de vapor .....	11

2.4.	Impactos ambientales producidos por los hidrocarburos de petróleo .....	11
2.4.1.	Contaminación del agua .....	12
2.5.	Efectos de los hidrocarburos en la salud humana.....	13
2.6.	Diesel .....	16
2.6.1.	Características del Diesel .....	16
2.6.2.	Propiedades del Diesel.....	16
2.7.	Análisis de Hidrocarburos .....	17
2.8.	Métodos de Extracción.....	18
2.8.1.	Extracción líquido – líquido .....	18
2.8.2.	Extracción en fase sólida (SPE).....	20
2.9.	Método de Análisis .....	21
2.9.1.	Análisis por espectrofotometría de infrarrojos .....	22
2.9.2.	Análisis por cromatografía de gases.....	23
2.10.	Validación y Análisis Estadísticos .....	33
2.10.1.	Definición .....	33
2.10.2.	Importancia .....	33
2.10.3.	Parámetro de validación.....	34

### **CAPITULO III**

<b>3.</b>	<b>MÉTODOS Y PROCEDIMIENTOS.....</b>	<b>46</b>
3.1.	Equipos .....	46
3.2.	Materiales.....	47
3.3.	Reactivos, Estándar y Disoluciones.....	47
3.3.1.	Reactivos.....	47
3.3.2.	Estándar .....	47
3.3.3.	Diluciones .....	48
3.4.	Protocolo de Análisis .....	49
3.4.1.	Recolección de la muestra.....	50
3.4.2.	Proceso de Extracción.....	50
3.4.3.	Proceso de Purificación o Clean - Up .....	50
3.4.4.	Proceso de Concentrado y Almacenamiento.....	50
3.4.5.	Cuantificación mediante cromatografía .....	51
3.4.6.	Validación del Método .....	52

## **CAPITULO IV**

<b>4. METODOLOGÍA.....</b>	<b>53</b>
4.1. Valores de las áreas de los estándares de calibración. ....	54
4.2. Valores de las áreas de las soluciones fortificadas .....	54
4.3. Valores de las áreas de las muestras del Río Santa Clara .....	55
4.4. Valores de las áreas de los Blancos .....	55

## **CAPITULO V**

<b>5. CÁLCULOS Y RESULTADOS .....</b>	<b>57</b>
5.1. Curva de Calibración del Equipo .....	57
5.2. Cálculo de la Concentración de Soluciones Fortificadas .....	58
5.3. Cálculo de la Concentración en Muestras de Soluciones Fortificadas .....	60
5.4. Cálculos de Parámetros de Validación .....	61
5.4.1. Linealidad .....	61
5.4.2. Precisión (Repetibilidad y Reproducibilidad) .....	64
5.4.3. Límite de Detección y Cuantificación .....	66
5.4.4. Intervalo de Trabajo.....	66
5.4.5. Incertidumbre del método .....	67
5.4.6. Porcentaje de Recuperación.....	70

## **CAPITULO VI**

<b>6. DISCUSIÓN DE RESULTADOS .....</b>	<b>71</b>
---	-----------

## **CAPITULO VII**

<b>7. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....</b>	<b>733</b>
7.1. Conclusiones.....	733
7.2. Recomendaciones.....	754

## **REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

### **ANEXOS**



## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 Adsorbentes y sistemas de extracción a vacíos empleados en SPE...	20
Figura 2. Horno con columna capilar.....	25
Figura 3. Esquema de funcionamiento de un detector de ionización a llama ..	28
Figura 4. (a) Esquema de relación de número de carbonos/punto de ebullición, (b) Cromatograma de gasolina, (c) Cromatograma de Diesel(a) .....	30
Figura 5. Detector de Conductividad Térmica .....	31
Figura 6. Detector de Captura de Electrones .....	32
Figura 5.1. Gráfica Área Vs Concentración de Diesel Fuel # 2.....	58
Figura 5.4.1 Gráfica de la Curva de Ajuste de Linealidad.....	62

## ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 2.3.1.1 Densidades de algunos Hidrocarburos.....	10
Tabla 2.5.1. Afectaciones a la salud.....	14
Tabla 2.6.1.1. Características del Diesel.....	16
Tabla 2.6.2.1. Propiedades del Diesel.....	17
Tabla 2.9.2.1. Tipos de columnas.....	26
Tabla 2.10.3.1. Parámetros a considerar para cada tipo de ensayo.....	35
Tabla 2.10.3.2. Parámetro para análisis ANOVA .....	37
Tabla 3.4.5.1 Condiciones Instrumentales para la cuantificación .....	51
Tabla 4.1. Tabla de Variaciones Método EPA 8510b.....	53
Tabla 4.2. Tabla de Variaciones Método EPA 3510c.....	54
Tabla 4.1 Valores de las áreas de los estándares de calibración .....	53
Tabla 4.1.1 Valores de las áreas de la solución fortificada con estándar de 1500ppm.....	54
Tabla 4.2.2 Valores de las áreas de la solución fortificada con estándar de 2000ppm .....	55
Tabla 4.2.3 Valores de las áreas de la solución fortificada con estándar de 1500ppm .....	55
Tabla 4.3 Valores de las áreas de las muestras tomadas en el Río Santa Clara.....	55
Tabla 4.4 Valores de las áreas de los Blancos .....	56
Tabla 5.1 Valores promedios de los estándares .....	57
Tabla 5.2.1 Valores de concentración de la solución fortificada con estándar de 1500ppm .....	59
Tabla 5.2.2 Valores de concentración de la solución fortificada con estándar de 2000ppm .....	59
Tabla 5.2.3 Valores de concentración de la solución fortificada con estándar de 3000ppm .....	59
Tabla 5.2.4 Valores de concentración de la solución fortificada con estándar de 3000ppm .....	59
Tabla 5.3.1 Valores de concentración en muestra con estándar de 1500ppm ....	60
Tabla 5.3.2 Valores de concentración en muestra con estándar de 2000ppm ....	61
Tabla 5.3.3 Valores de concentración en muestra con estándar de 3000ppm ....	61
Tabla 5.4.1.1 Cálculo de la Curva de Ajuste .....	62
Tabla 5.4.1.2 Cálculos para determinar las desviaciones .....	63
Tabla 5.4.2.1 Análisis de Varianzas .....	64
Tabla 5.4.2.2 Valores de precisión para la concentración de 1,5ppm .....	65

Tabla 5.4.2.3 Valores de precisión para la concentración de 1,5ppm .....	66
Tabla 5.4.2.4 Valores de precisión para la concentración de 1,5ppm .....	66
Tabla 5.4.5.1 Incertidumbre de los materiales. ....	67
Tabla 5.4.5.2 Incertidumbre de Estándares. ....	68
Tabla 5.4.5.3 Incertidumbre de las muestras fortificadas .....	69
Tabla 5.4.5.4 Incertidumbre expandida de las soluciones estándar. ....	69
Tabla 5.4.5.5 Incertidumbre expandida de las muestras fortificadas. ....	69
Tabla 5.4.6.1 Porcentaje de Recuperación. ....	70

## GLOSARIO

TULAS	Texto Unificado de Legislación Ambiental Secundaria
RAOHE	Reglamento Ambiental para Operaciones Hidrocarburíferas en el Ecuador
LMA	Laboratorio de Medio Ambiente
EPA	Environmental Protection Agency
IARC	Agencia Internacional para la Investigación del Cáncer
CG	Cromatografía de Gases
TPH	Hidrocarburos Totales de Petróleo
SPE	Extracción en Fase Sólida
FID	Detector de ionización de llama
TCD	Detector de Conductividad Térmica
ECD	Detector de captura de Electrones
MS	Detector de Espectroscopia de Masas
LD	Límite de Detección
LC	Límite de Cuantificación
ppm	Partes por millón





# **CAPITULO I**

## **INTRODUCCIÓN**

### **1. INTRODUCCION AL PROYECTO**

La actividad petrolera, el manejo diario de hidrocarburos, en algunos casos conlleva a la contaminación del agua cuando tanques de reserva, oleoductos y diversas instalaciones sufren pérdidas por fallas o descuidos humanos estos líquidos por el relieve de la topografía migran hacia cursos de agua, suelo, subsuelo, y hacia aguas subterráneas.

La contaminación de aguas y suelos por hidrocarburos, tiene un efecto sobre sus propiedades. La determinación cuantitativa de los compuestos de origen del petróleo es muy importante en aguas naturales y residuales, por la disminución en el contenido de oxígeno

en el agua, de la misma manera disminuye la tensión superficial, afectando a los ecosistemas.

Las diferentes actividades humanas que han usado combustibles fósiles han producido contaminación por residuos de hidrocarburos en el medio ambiente, en especial en su almacenamiento, distribución y uso, por lo que se creó la necesidad de regular las actividades que empleen este tipo de combustible. En el país las normas que regulan su nivel de contaminación son el RAOHE 1215 (Reglamento Ambiental para Operaciones Hidrocarburíferas en el Ecuador) y TULAS (Texto Unificado de Legislación Ambiental Secundario) que establecen los límites máximos permisibles para el análisis de TPH's en suelos y agua y método de análisis recomendado que es por cromatografía.

La cromatografía es un método físico de separación para la caracterización de mezclas complejas. Es el conjunto de técnicas basadas en el principio de retención selectiva, cuyo objetivo es separar los distintos componentes de una mezcla, permitiendo identificar y determinar las cantidades de dichos componentes.

Las técnicas cromatográficas son muy variadas, pero en todas ellas hay una fase móvil que consiste en un fluido (gas, líquido o fluido supercrítico) que arrastre a la muestra a través de una fase estacionaria que se trata de un sólido o un líquido fijado en un sólido. Los componentes de la mezcla interaccionan en distinta forma con la fase estacionaria. De este modo, los componentes atraviesan la fase estacionaria a distintas velocidades y se van separando. Después de que los componentes hayan pasado por la fase estacionaria, separándose, pasan por un detector que genera una señal que puede depender de la concentración y del tipo de compuesto.

La Escuela Politécnica del Ejército promueve los proyectos de iniciación científica, con extensión a la protección del medio ambiente, y siendo primordial para el Departamento de Ciencias de la Tierra y la Construcción, el desarrollo de métodos de análisis en su Laboratorio del Medio Ambiente (LMA) planteando la necesidad de desarrollar un método de determinación de los TPH's en aguas.

Actualmente el Laboratorio de medio ambiente del Departamento de Ciencias de la Tierra y la Construcción cuenta con un cromatógrafo de gases con detector tipo FID, que se puede utilizar para el análisis de diversos contaminantes orgánicos derivados del petróleo como: Diesel y gasolina. Estos análisis pueden ser un apoyo en la generación de mapas de contaminación, estudios de línea base en proyectos de impacto ambiental, monitoreos de contaminación, para la realización de análisis en puntos de descargas como lo requiere el Municipio de Quito y Rumiñahui cuando emiten permiso de funcionamiento de gasolineras y lubricadoras, también para monitoreo de sitios contaminados y abandonados donde se realiza la respectiva declaración de pasivo ambiental requerido por el Ministerio del Ambiente.

### 1.1. Formulación del Problema

Basados en el método EPA 8015B modificado según las necesidades y disposición de equipos del laboratorio se pretende implementar un método de análisis de TPH, que permita cuantificar en aguas los hidrocarburos y establecer casos de contaminación, mediante la comparación de los resultados obtenidos con los límites permisibles en la legislación del país.

## 1.2. Justificación

Ecuador es un país netamente petrolero, basa su economía en la explotación y refinamiento de este recurso natural no renovable, "algunos de los hidrocarburos presentes en el crudo tienen una conocida toxicidad para el ser humano pero, de la mayoría de ellos desconocemos el grado de peligrosidad" (Borrás, 2009, pag 1 )<sup>1</sup> y que pueden ser cuantificados a partir del análisis de laboratorio como por ejemplo la determinación de Hidrocarburos Totales de Petróleos (TPH's)

Los Hidrocarburos son una mezcla de productos químicos compuestos principalmente de hidrógeno y carbono, su origen es el petróleo crudo.

El medio ambiente es un sistema frágil, la presencia de los hidrocarburos en él, puede causar la alteración física y química de los hábitats naturales de las especies, si los vertidos son en agua, la alteración de la cadena alimenticia por la contaminación de especies, moluscos, que aunque sobrevivan y se acoplen a las nuevas condiciones de su hábitat, estos pueden ser un gran peligro para los seres humanos si los consumen.

La pérdida de la flora y fauna es un gran problema no solo por la pérdida de especies sino por la alteración que sufre el sistema, es importante mencionar que los lugares donde se puede dar la contaminación por hidrocarburos son zonas de gran fragilidad ambiental, las principales zonas petroleras del Ecuador se encuentran

---

<sup>1</sup> Borrás, G. (2009), Efectos de los Hidrocarburos en la Salud Humana, [http://webs.uvigo.es/h06/webh06/tsfp/es-en/efectos\\_es.html](http://webs.uvigo.es/h06/webh06/tsfp/es-en/efectos_es.html)

en las provincias de Sucumbíos, Pastaza, Morona Santiago, Guayas y Napo.

Debido a que hay muchos productos químicos diferentes en el petróleo crudo y en otros productos derivados del petróleo, no es práctico medir cada uno en forma separada. Sin embargo, es útil medir la cantidad total de TPH en un sitio, es por ello la importancia del desarrollo de métodos que permitan determinar estos productos.

El THP es un contaminante regulado por la Legislación Nacional para toda actividad hidrocarburífera y de sus derivados, en especial los municipios del Distrito Metropolitano de Quito y Rumiñahui que en sus ordenanzas municipales de control ambiental contemplan este parámetro para la extensión de permisos de funcionamiento en Gasolineras, Lubricadoras y sitios de almacenamiento de hidrocarburos. También el Ministerio del Ambiente para la aplicación de RAOHE (Reglamento Ambiental de Operaciones Hidrocarburíferas del Ecuador) para el control de toda actividad de exploración, explotación y distribución de hidrocarburos y derivados, también para la declaración de pasivos ambientales en áreas, remediadas o abandonadas.

### 1.3. Objetivos de la Investigación

#### 1.3.1. Objetivo General

Desarrollar un método de análisis de Hidrocarburos Totales de Petróleo mediante cromatografía de gases

#### 1.3.2. Objetivos Específicos

- i. Cumplir los procedimientos técnicos internos del Laboratorio de Medio Ambiente que da los lineamientos para la elaboración de la documentación de calidad en lo referente a la parte técnica y de gestión. Empleando el método EPA 3510C, extracción líquido – líquido (LMA) para el tratamiento de las muestras para el análisis de TPH's mediante la cromatografía de gases
- ii. Desarrollar un método de análisis de TPH's basados en el método EPA 8015B modificado el cromatógrafo Clarus 400 Perkin
- iii. Estimar los errores de medición del análisis de TPH's mediante la técnica de cromatografía de gases
- iv. Aplicar el método desarrollado en muestras reales tomadas en el Rio Santa Clara. Desde Selva Alegre hasta el Geovanni Farina.

#### 1.4. Metas

- i. Redactar el Procedimiento Técnico Interno del Laboratorio de Medio Ambiente para análisis de TPH's en muestras líquidas.
- ii. Redactar el Instructivo de manejo de equipo y procesamiento de muestras líquidas y Lavado de Equipo.
- iii. Generar un mapa de localización de puntos de muestreo y las concentraciones analizadas del Rio Santa Clara.

## **CAPITULO II**

### **MARCO TEÓRICO**

#### **2. HIDROCARBUROS DE PETRÓLEO**

##### **2.1. Definición**

El término hidrocarburos de petróleo, se usa para describir a un grupo extenso de varios cientos de sustancias químicas derivadas originalmente del petróleo crudo. En este sentido, los hidrocarburos de petróleo son realmente una mezcla de productos químicos compuestos principalmente de hidrógeno y carbono.<sup>2</sup>

---

<sup>2</sup> Method EPA 8015, (2002), Characterization of C6 to C35 Petroleum hydrocarbons in environmental samples: Total petroleum hydrocarbons, Aliphatic Hydrocarbons, Aromatic Hydrocarbons, Aproximate Boiling Point/carbon number distribution.



La mayoría de los productos que contienen hidrocarburos de petróleo son inflamables, algunos son líquidos incoloros o de color claro, altamente volátiles; mientras que otros son líquidos espesos de color oscuro o semisólidos de baja volatilidad.

Debido a la demanda de muchos productos derivados del petróleo, como combustibles por ejemplo gasolina, kerosén, diesel, lubricantes, asfaltos, la posibilidad de contaminación ambiental por estos productos es relativamente alta.

En problemas de contaminación ambiental debido al gran número de hidrocarburos involucrados, no es muy práctico cuantificar cada componente en forma individual y resulta más útil determinar la cantidad total de hidrocarburos que se encuentran contaminando los suelos, aguas o aire.<sup>3</sup>

## 2.2. Clases de Hidrocarburos

Los hidrocarburos pueden ser agrupados en las siguientes clases: saturados, insaturados y aromáticos.

### 2.2.1. Hidrocarburos Saturados

Los hidrocarburos saturados constituyen la principal clase de compuestos existentes en el petróleo y en la mayoría de sus derivados. En su estructura se tienen solo enlaces simples.

(i) Alifáticos: pueden ser lineales y ramificados.

Los nombres comunes para estos tipos de compuestos son alcanos e isoalcanos. En la industria del petróleo se conoce a estos compuestos como parafinas.

---

<sup>3</sup> Agencia para Sustancias Tóxicas y el Registro de Enfermedades División de Toxicología y Medicina Ambiental ATSDR, Hidrocarburos Totales de Petróleo, (Diciembre 2001), español, [www.atsdr.cdc.gov/es/diciembre2001](http://www.atsdr.cdc.gov/es/diciembre2001).

Las parafinas son uno de los principales constituyentes del crudo y se encuentran en los diferentes productos refinados del petróleo: gasolina, queroseno, diesel, aceites combustibles, etc.<sup>4</sup>

(ii) Cicloparafinas: Estos compuestos son hidrocarburos cíclicos saturados de fórmula general  $C_{2n}H_{2n}$ , que contiene uno o más anillos a los que pueden estar unidas cadenas saturadas. Son también conocidos como cicloalcanos. En la industria del petróleo se denomina comúnmente naftenos.

### 2.2.2. Hidrocarburos insaturados

En esta clase de compuestos se tiene al menos a dos átomos de carbono de la molécula unidos por un enlace doble o triple. Estos compuestos normalmente no se encuentran en el petróleo crudo y son constituyentes de los derivados del petróleo, ya que son resultado principalmente del proceso de cracking en la refinación. Los alquenos o compuestos con dobles enlaces tienen la fórmula general  $C_nH_{2n}$  y los alquinos que contienen triples enlaces, su fórmula general es  $C_nH_{2n-2}$

### 2.2.3. Compuestos aromáticos

Los compuestos aromáticos son una clase especial de hidrocarburos insaturados, en la estructura de estos compuestos tiene como base el anillo de benceno, que contiene 6 carbonos, siendo su fórmula general  $C_nH_n$ .

Todos los crudos y derivados del petróleo, excepto algunos solventes, contienen compuestos aromáticos

Entre los principales compuestos aromáticos se tiene:

---

<sup>4</sup> Escuela Superior de Salud y Ambiente, Universidad Nacional del Comahue, (2005), Evaluación preliminar del estado de contaminación en suelos de la provincia del Neuquén donde se efectúan actividades de explotación hidrocarburífera, [www.tesis.bioetica.org/pab2-4.htm](http://www.tesis.bioetica.org/pab2-4.htm).

- (i) Los alquibencenos, en estos compuestos se tiene como base el anillo aromático unido a un radical alquino, por ejemplo el tolueno.
- (ii) Los hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAP's); estos compuestos están formados por dos o más anillos aromáticos, por ejemplo naftaleno.<sup>5</sup>

#### 2.2.4. Otros compuestos

El petróleo contiene trazas de compuestos orgánicos que no se consideran hidrocarburos, principalmente contienen oxígeno, nitrógeno y azufre. Hay también pequeñas cantidades de compuestos organometálicos y sales inorgánicas. Estos compuestos se concentran en las fracciones pesadas de destilación y en los residuos durante el refinado. Se les denomina frecuentemente a estos como asfaltenos.

### 2.3. Propiedades físicas y químicas de los hidrocarburos

Es de suma importancia conocer las propiedades físicas y químicas de los hidrocarburos, con el objeto de predecir su destino en los organismos vivos y en el medio ambiente, a continuación se describen algunas de sus propiedades más relevantes.

#### 2.3.1. Densidad

Los compuesto orgánicos con densidad menor al agua como la gasolina, aceite y el propio petróleo, tienden a formar una capa superficial en el agua y se mueven en dirección del flujo.

Tabla 2.3.1.1 Densidades de algunos Hidrocarburos

---

<sup>5</sup> Escuela Superior de Salud y Ambiente, Universidad Nacional del Comahue, (2005), Evaluación preliminar del estado de contaminación en suelos de la provincia del Neuquén donde se efectúan actividades de explotación hidrocarburífera, [www.tesis.bioetica.org/pab2-4.htm](http://www.tesis.bioetica.org/pab2-4.htm).

Sustancia	Densidad en Kg/m3
Agua	1000
Aceite	920
Gasolina	680
Diesel	850

### 2.3.2. Polaridad

Representa la uniformidad de distribución de las cargas eléctricas en una molécula, la mayoría de los hidrocarburos son compuestos no polares.

### 2.3.3. Solubilidad en agua

Al ser los hidrocarburos compuestos no polares, no son solubles en agua, o son muy pocos solubles.

### 2.3.4. Presión de vapor

La permanencia de los hidrocarburos en el agua está determinada por su presión de vapor. La presión de vapor es la tendencia de un líquido o sólido a volatilizarse.

Los crudos ligeros son más volátiles, tienden a ser muy fluidos y se extienden con rapidez en la superficie del agua, por su elevada velocidad de evaporación desprenden un fuerte olor y son normalmente inflamables.

Los crudos más pesados y menos volátiles poseen una gama de velocidades de evaporación y pueden ser inflamables<sup>6</sup>

## 2.4. Impactos ambientales producidos por los hidrocarburos de petróleo

---

<sup>6</sup> Ortiz, R. (1997), Aspectos en la contaminación del suelo por hidrocarburos en México, [www.monografias.com/trabajos7/hime/hime2.shtml](http://www.monografias.com/trabajos7/hime/hime2.shtml).

El impacto ambiental, se puede definir como un grupo de huellas y problemas que deja en el medio ambiente natural una actividad industrial, en este caso, la actividad hidrocarburífera en el Ecuador. La contaminación del aire, el agua, el suelo, daños en la flora y en la fauna son claros indicadores de este problema.

Los impactos se dan en todas las fases de la industria petrolera, como son: exploración, perforación, producción, almacenamiento, transporte, procesamiento y distribución de derivados. Cada una de estas fases lleva implícita una serie de procesos y relación directa con la naturaleza y el ser humano y todas son de alto riesgo. El recurso agua, es uno de los elementos más vulnerables a la contaminación por la actividad hidrocarburífera.<sup>7</sup>

Los efectos de los hidrocarburos se manifiestan de diferentes formas, las más importantes se describen a continuación:

#### 2.4.1. Contaminación del agua

La contaminación del agua puede provenir de la inapropiada disposición de los desechos sólidos en la fase de perforación exploratoria como lodos de perforación, derrumbes de tierra por la deforestación, desechos generados como basura, aguas negras, que son acarreados a los cuerpos de agua.

Al ser mal manejados estos desechos pueden contaminar notablemente ríos, riachuelos y lagunas.

##### (i) Contaminación de aguas superficiales

Una de las principales fuentes de contaminación son los vertidos residuales. Los residuos domésticos e industriales

---

<sup>7</sup> Amazonía en la Red, (2001), Exploración y derrames Petroleros en la Región Amazónica Ecuatoriana, [www.library.thinkquest.org/28368/ingles/petroleo.htm#Explotacion%20y%20derrames](http://www.library.thinkquest.org/28368/ingles/petroleo.htm#Explotacion%20y%20derrames).

son vertidos directamente en las aguas superficiales a través de los sistemas de alcantarillado

(ii) Contaminación de aguas subterráneas

Uno de los principales peligros de la contaminación es que el agua contaminada puede infiltrarse a las aguas subterráneas. Este factor representa un potencial perjuicio para el abastecimiento de este recurso, y la posibilidad de afectaciones a la salud.

(iii) La fauna puede verse afectada por varios factores: la persistencia de una mancha de crudo limita el paso de la luz y por tanto reduce la actividad fotosintética de muchas plantas, si la mancha las cubre dificulta también su función reproductora y fijación.

(iv) Alteración física y química de los hábitats naturales (las especies más resistentes toman los espacios dejados por otras especies desaparecidas).

(v) Contaminación en especies de la cadena alimenticia humana, peces, moluscos. (aunque sobrevivan pueden estar contaminados y por tanto su consumo puede ser perjudicial).

(vi) Pérdida de zonas pesqueras y marisqueras.

## 2.5. Efectos de los hidrocarburos en la salud humana

Es conocido que algunos hidrocarburos tienden a acumularse en los organismos a través de las cadenas alimenticias con creciente riesgo de cáncer y de mutagénesis.<sup>8</sup> Por ello los organismos más expuestos son los humanos. Estos contaminantes incluyen el benceno, los fenoles, y a

---

<sup>8</sup> Agency for Toxic Substances and Disease Registry, ATSDR (Septiembre 1999), Hidrocarburos de Petróleo, [http://www.atsdr.cdc.gov/es/phs/es\\_phs123.html](http://www.atsdr.cdc.gov/es/phs/es_phs123.html).

los hidrocarburos policíclicos que son muy peligrosos por sus efectos cancerígenos.

Los efectos en la salud humana dependen de muchos factores, estos incluyen:

- Tipo de hidrocarburo al que se encuentra expuesto
- Tiempo de exposición
- Cantidad de la sustancia química con la que se está en contacto.

Se conoce muy poco acerca de la toxicidad de muchos de los hidrocarburos del petróleo. Hasta el momento, todo lo que se sabe acerca de los efectos de los hidrocarburos sobre la salud, está basado en estudios de los compuestos o productos de petróleo específicos.

Los compuestos de las diferentes fracciones de hidrocarburos, afectan la salud. Algunos componentes, especialmente los compuestos aromáticos simples, como el benceno, tolueno y xileno (componentes de la gasolina), pueden afectar el sistema nervioso de los seres humanos.

Tabla 2.5.1. Afectaciones a la salud

Compuesto	Concentración (ppm)	Tiempo (horas)	Sintomatología	Observaciones
Benceno	100	>3	Fatiga Dolor de cabeza Náuseas Adormecimiento	Cuando la exposición cesa, los síntomas desaparecen

n-hexano	500 - 2500	>24	Afectación al sistema nervioso central “neuropatía periférica” característico por pérdida de la sensación en los pies y piernas	En casos graves produce parálisis  Exposición al compuesto en el aire
Gasolina, Diesel, kerosén			Irritación a la garganta y estómago Depresión del sistema nervioso Dificultad al respirar Neumonía	Debido a la ingestión

La Agencia Internacional para la Investigación del Cáncer (IARC) ha determinado que el benceno es cancerígeno en los seres humanos, produce leucemia. Se considera que otros hidrocarburos por ejemplo el venzo(a)pireno y la gasolina como tal, produce cáncer en los seres humanos.<sup>9</sup>

<sup>9</sup> Borrás, G. (2009), Efectos de los Hidrocarburos en la Salud Humana, [http://webs.uvigo.es/h06/webh06/tsfp/es-en/efectos\\_es.html](http://webs.uvigo.es/h06/webh06/tsfp/es-en/efectos_es.html).



## 2.6. Diesel

El diesel, derivado del petróleo también conocido con el nombre de gasóleo debe su nombre al inventor del motor a diesel Rudolf Christian Diesel.

### 2.6.1. Características del Diesel

Tabla 2.6.1.1. Características del Diesel

Característica	
Color	Blancuzco a Verdoso
Densidad	0,850 g/cm <sup>3</sup>
Composición	Principalmente parafinas
Rango de Carbonos	C8 – C26

### 2.6.2. Propiedades del Diesel

- Punto de inflamación

Permite determinar la existencia de cantidades excesivas de alcohol.

- Viscosidad

Propiedad que tiene un fluido a oponerse a su flujo cuando se le aplica una fuerza.

- Índice de Cetano

Es una medida de la calidad de la ignición de un combustible e influye en las emisiones de humo y en la calidad de combustible.

- Corrosión al Cobre

Mediante la comprobación del desgaste de una lámina de cobre se puede observar si existen en el sistema compuestos corrosivos y/o presencia de ácidos

Tabla 2.6.2.1. Propiedades del Diesel

Parámetro	Norma	Unidades	Cantidad
Viscosidad 40°C	ISO 3104	cSt	2,0 – 4,5
Punto de Inflamación	ISO/CD 3679	°C	55 min
Azufre	ISO 14596	ppm	350 máx.
Agua	ISO 12937	ppm	200 máx.
Corrosión al Cobre	ISO 2160		Clase 1
Estabilidad de Oxidación	ISO 12205	mg/l	25 máx.
Índice Cetano	ISO 5165		46 min

## 2.7. Análisis de Hidrocarburos

Previo a la determinación de hidrocarburos de petróleo se debe llevar a cabo un muestreo, luego la preparación de muestras, que

normalmente va a incluir una etapa de extracción y purificación con el fin de obtener un extracto final de Hidrocarburos, compatible con la cuantificación

### Muestra Medio Ambientales

Previo al análisis de hidrocarburos o derivados de petróleo en agua se requiere realizar un proceso de extracción y recuperación.

## 2.8. Métodos de Extracción

La extracción del analito puede ser realizada utilizando los siguientes métodos de extracción:

### 2.8.1. Extracción líquido – líquido

La extracción líquido – líquido es un método común y estándar para separar analitos. Utiliza solventes, los cuales después de ser mezclados forman dos fases, se separan las fases drenando una de ellas, hasta alcanzar la interface.

Esta extracción se utiliza frecuentemente para separar los analitos orgánicos de soluciones acuosas.<sup>10,11</sup>

Se basa en la distinta distribución de los componentes de la muestra entre dos disolventes inmiscibles, donde matriz y analito tienen diferente solubilidad en cada uno de ellos.

---

<sup>10</sup> Rubison K. & Ruvinson J., (Madrid 2000), Análisis Instrumental, Prentice-Hall.

<sup>11</sup> APHA, (1995), Standard method for the examination of water and waste water.

Cuando se agita un compuesto con dos disolventes inmiscibles, el compuesto se distribuye entre los dos disolventes. A una temperatura determinada, la relación de concentraciones del compuesto en cada disolvente es siempre constante, y esta constante es lo que se denomina coeficiente de distribución o de reparto cuya fórmula es la siguiente:<sup>12</sup>

$K = \text{concentración en disolvente 2} / \text{concentración en disolvente 1}$

La eficiencia de la extracción se puede medir por:

- El coeficiente de reparto
- La relación volumen entre la fase acuosa y orgánica
- El número de veces que se debe repetir la extracción

Los disolventes orgánicos con baja polaridad como diclorometano, éter dietílico, acetato de etilo, hexano, o tolueno son los más utilizados como disolventes orgánicos de extracción.

Las ventajas del método son:

- Utilización de equipos simples y fáciles de utilizar
- Procedimientos sencillos.

Las desventajas del método son:

- Formación de emulsiones difíciles de romper
- Utilización de grandes cantidades de solvente, que luego deben ser evaporadas

---

<sup>12</sup> Universidad de Barcelona, Operaciones Básicas en el Laboratorio de Química. Tipos de Extracciones.

- El material de vidrio debe ser sometido a condiciones rigurosas de limpieza
- El riesgo profesional inherente al manejo de solventes

### 2.8.2. Extracción en fase sólida (SPE)

La extracción en fase sólida es una potente y simple técnica de limpieza de muestras, que es al mismo tiempo, rápida y económica. Una columna SPE consiste en un lecho adsorbente de partículas gruesas manteniendo entre dos discos porosos en un tubo desechable. SPE permite la preconcentración de la muestra con un riesgo mínimo de pérdida o contaminación de la misma. El componente de interés resulta retenido en una fase sólida mientras que los contaminantes de la matriz se eluyen.



Figura 1 Adsorbentes y sistemas de extracción a vacíos empleados en SPE

La extracción consta de tres fases:

Activación: (A) en la que se utiliza un solvente orgánico para "humidificar" la fase.

Acondicionamiento: la fase estacionaria SPE se acondiciona (K) con el mismo solvente de la matriz, por ejemplo, con matrices acuosas el solvente es agua. El acondicionamiento permite "alinearse" la fase estacionaria. Cualquier solvente orgánico residual se elimina en esta etapa, asegurando que los componentes de interés sean retenidos en la parte superior de la columna.

Retención: las interacciones entre las moléculas de la muestra y la fase estacionaria controlan la retención en el adsorbente de SPE. Para maximizar las interacciones la muestra (A = analitos+ M =matriz) deben cargarse en el adsorbente de SPE a aproximadamente 3ml/min. Este caudal puede controlarse mediante una válvula en la estación de vacío. Los componentes de interés han de retenerse en el adsorbente de SPE mientras que la matriz y los contaminantes deben eluirse y descartarse.

Durante las etapas el adsorbente SPE ha de mantenerse húmedo siempre, puesto que el secado del mismo puede acarrear una pérdida de muestra.<sup>13</sup>

## 2.9. Método de Análisis

Los hidrocarburos totales y derivados de petróleo se analizan básicamente utilizando dos métodos fundamentales:

- Análisis por espectrofotometría de infrarrojos
- Análisis por cromatografía de gases

El uso de un método depende de las facilidades en equipamiento de la información que propiamente se quiere obtener.

---

<sup>13</sup> Extracción en fase sólida, <http://www.ucm.es/info/ucmp/cont/descargas/documento15962.pdf>

### 2.9.1. Análisis por espectrofotometría de infrarrojos

La espectrofotometría de infrarrojo se basa en la detección de las vibraciones que ocurre cuando una molécula absorbe energía en la región infrarroja del espectro electromagnético.

Los analitos de interés son extraídos con solventes específicos como el Freón -114,  $\text{CCl}_4$  y son detectados a una longitud de onda específica alrededor de  $2930 \text{ cm}^{-1}$ , absorción del enlace carbono – hidrógeno.

Las ventajas del método para hidrocarburos de petróleo basados en la espectrofotometría de infrarrojos, simple, rápido y de bajo costo.

La desventaja del método es el solvente utilizado, por ejemplo el Freon-113, el mismo que está restringido, de acuerdo con el Protocolo de Montreal por ser un solvente que agota el ozono troposférico. Además algunos laboratorios están agotando el Freón que se encuentra en stock, o redestilando el Freón usado, otros en cambio han optado por solventes alternativos como el  $\text{CCl}_4$  (en la Comunidad Europea), su uso es limitado en los EEUU debido a que es un cancerígeno conocido y a sus efectos en la capa de ozono.<sup>14</sup>

---

<sup>14</sup> Escuela Superior de Salud y Ambiente, Universidad Nacional del Comahue, (octubre 2005), Evaluación preliminar del estado de contaminación en suelos de la provincia del Neuquén donde se efectúan actividades de explotación hidrocarburífera, [www.tesis.bioetica.org/pab2.4.htm](http://www.tesis.bioetica.org/pab2.4.htm).

La espectrofotometría de infrarrojos no brinda información del origen y naturaleza del derrame, sino más bien proporciona una medida de la suma de todos los compuestos que contribuyen al resultado de los hidrocarburos de petróleo, es decir la cantidad total de los hidrocarburos presentes llamados también TPH's

### 2.9.2. Análisis por cromatografía de gases

La cromatografía de gases es una técnica en la que la muestra se volatiliza y se inyecta en la cabeza de una columna cromatográfica. La elución se produce por el flujo de una fase móvil de gas inerte. El gas portador debe ser un gas inerte, para prevenir su reacción con el analito o la columna. Generalmente se emplean gases como el helio, argón, nitrógeno, hidrógeno o dióxido de carbono, la elección del gas depende del tipo de detector que sea empleado.

El gas portador cumple básicamente con dos propósitos

- Transportar los componentes de la muestra
- Crear una matriz adecuada para el detector

Un gas portador debe cumplir las siguientes condiciones:

- Debe ser inerte para evitar interacciones (tanto con la muestra como con la fase estacionaria)
- Fácilmente disponible y puro
- Económico
- Adecuado al detector a utilizar

A diferencia de los otros tipos de cromatografía, la fase móvil no interacciona con las moléculas del analito; su única función es la de transportar el analito a través de la columna.



## **Componentes de un Cromatógrafo de Gases**

Un cromatógrafo de gases consiste de:

- Puerto de inyección
- Horno de la columna
- Sistema de Separación
- Detector
- Sistema de registro de dato
  
- Puerto de inyección

Es un dispositivo que permite la introducción de la muestra en la corriente de gas portador. Existe cierta variedad de diseños según el tipo de muestra que se trata de analizar. El más común es el inyector de líquidos, que puede utilizarse para sólidos (en disolución) y gases (mediante jeringas especiales). El inyector se trata de una cámara situada a la entrada de la columna y calentada independientemente de ésta (a temperatura superior del punto de ebullición del componente más volátil de la muestra, generalmente), que suele tener una membrana de caucho a través de la cual se introduce la muestra con la ayuda de una micro jeringa hipodérmica

- Horno de la columna

En el interior se sitúa la columna, donde se debe tener una buena regulación de la temperatura. Dentro del horno la columna se conecta en un extremo al puerto de inyección, y

en el otro al detector. La columna debe estar en el centro del horno sin tener contacto con las paredes (Fig. 2.)

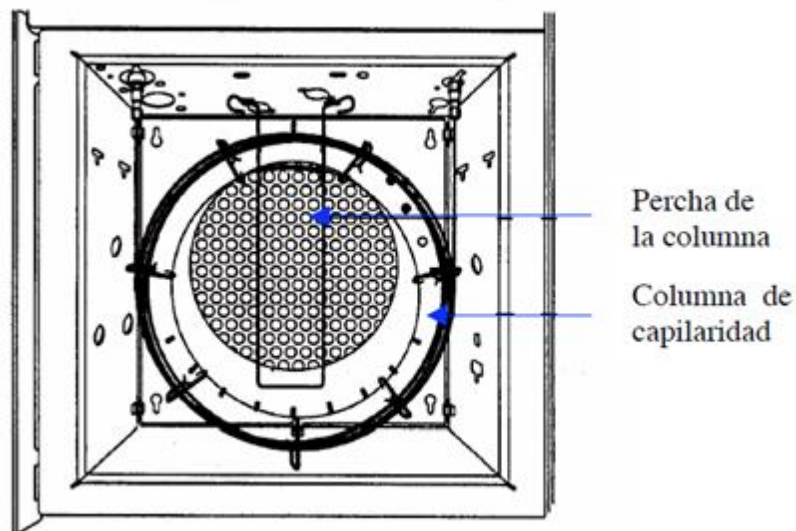


Figura 2. Horno con columna capilar

### Sistema de separación

El modo de separación más utilizado actualmente se basa en el empleo de columnas capilares. Estas columnas requieren pequeñas cantidades de volumen de muestra de  $1\mu\text{L} - 5\mu\text{L}$ . Esto se logra empleando un inyector que incorpore un divisor de flujo <sup>15</sup>

#### Modo Split:

En este modo, sólo una cierta cantidad de muestra inyectada llega a la columna (porque ésta "se divide" antes de entrar; una parte entra a la columna, otra se expulsa a través de una válvula, Split vent.). Dado que el sistema de "split-injection"

<sup>15</sup> Alvarado, B., (octubre 2007) Cromatografía de Gases y sus Aplicaciones.

puede provocar discriminación de los componentes de mayor punto de ebullición, no siempre puede ser utilizado con fines cuantitativos. Con Split los picos de los cromatogramas salen más estilizados y más limpios, esto es porque si en la muestra el analito es mayoritario, el resto de componentes (suciedad, interferencias, etc.) se ven notablemente reducidos.

#### Modo Split-Less

En el modo Split-Less, la mayoría de muestra inyectada entra a la columna. De hecho, el analito se reconcentra en la cabeza de la columna.

Cuando las sustancias a separar se encuentran a muy baja concentración (traza) o diluidas se realiza inyección sin divisor (splitless).

#### Tipos de columnas

Tabla 2.9.2.1. Tipos de columnas

Tipo de columna	Material de construcción	Diámetro Interior	Longitud	Observación	Clasificación	Detalle
Empacadas	-Acero inoxidable, -Níquel, o -Vidrio	1,6mm - 9mm	< 3m	se rellenan de un material adsorbente adecuado a las sustancias a separar		
Capilares	-Sílice fundida	0,32mm	> a 20m	Existen dos tipos de columnas capilares	Empacadas con partículas sólidas ocupando el total del diámetro de la columna	
					Tubulares abiertas, con trayectoria para el flujo abierta y sin restricción por el centro de la columnas	Se clasifican en: WCOT (pared recubierta), SCOT (soporte recubierto),

- Detectores

Durante el desarrollo de la cromatografía de gases se han investigado y utilizado docenas de detectores, pero todos requieren ciertas características:

- Sensibilidad: Es necesario que pueda determinar con precisión cuándo sale analito y cuando sale sólo el gas portador. Tienen sensibilidades entre  $10^{-8}$  y  $10^{-15}$  g/s de analito.
- Respuesta lineal al analito con un rango de varios órdenes de magnitud.
- Tiempo de respuesta corto, independiente del caudal de salida.
- Intervalo de temperatura de trabajo amplio, por ejemplo desde temperatura ambiente hasta unos 350-400 °C, temperaturas típicas trabajo.
- Estabilidad y reproducibilidad, es decir, a cantidades iguales de analito debe dar salidas de señal iguales.

A continuación se describen los utilizados más frecuentemente:

### **Detector de ionización de llama (FID)**

Este detector añade hidrógeno al eluyente de la columna.

La mezcla pasa a través del conducto de un mechero, donde se mezcla con aire externo y luego arde.

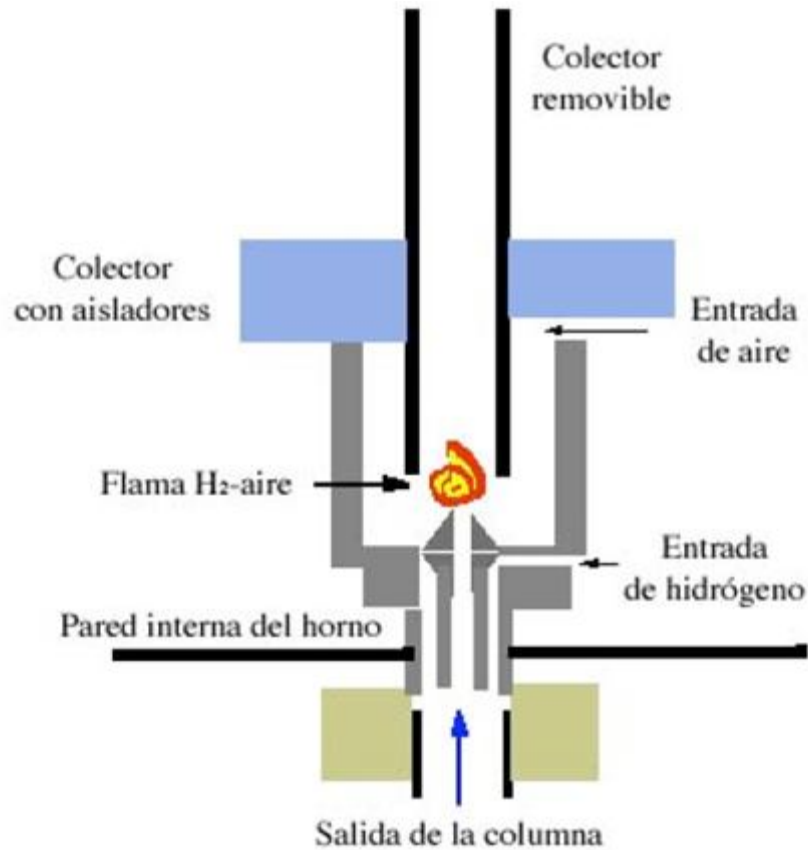


Figura 3. Esquema de funcionamiento de un detector de ionización a llama<sup>16</sup>

La cuantificación de los hidrocarburos de petróleo se realiza por la sumatoria de las áreas de los picos

Las ventajas de la CG son su alta resolución, velocidad, sensibilidad y sencillez.

<sup>16</sup> James, k. (2010), <http://ull.chemistry.uakron.edu/analytical/GC/>.

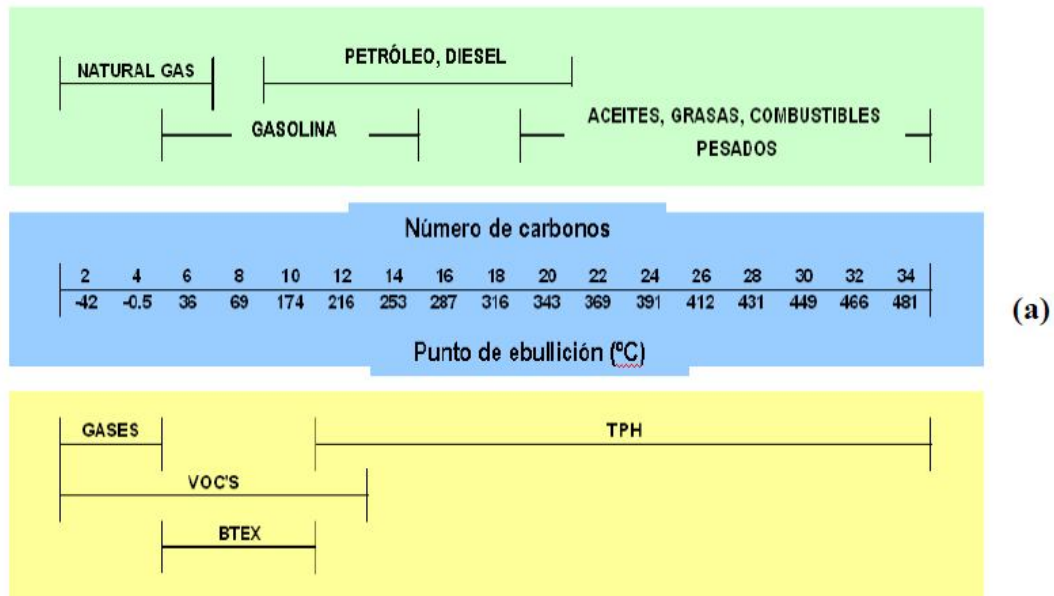
Esta técnica se utiliza para determinar la concentración de componentes individuales y/o un rango de hidrocarburos, por ejemplo, la gasolina está constituida de muchos componentes de bajo rango de ebullición menor a 200°C, incluyendo alcanos de C4 a C12, alquenos de C4 a C7 y aromáticos tipo BTEX. Los compuestos de rango intermedio de ebullición se utilizan en diferentes proporciones para conseguir productos como kerosén, diesel y aceites combustibles. Estos productos contienen alcanos de C10 a C24 y policíclos aromáticos, como se observa en la Figura 4.<sup>17</sup>

Mediante los cromatogramas obtenidos se puede identificar fácilmente si la contaminación esta originado por algún tipo de derivado del petróleo, como combustibles, gasolina, diesel, solventes, o por petróleo.<sup>18</sup>

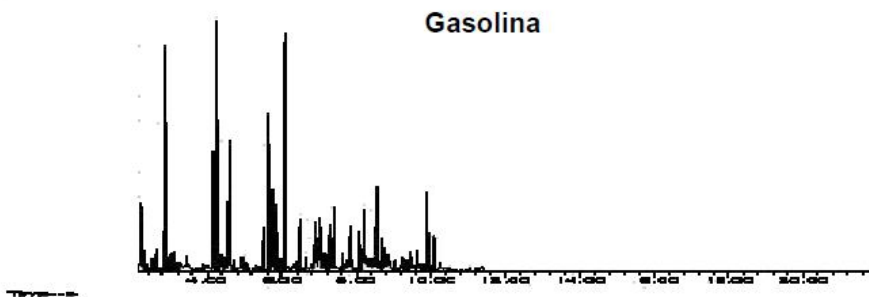
---

<sup>17</sup> Revista Iberoamericana de Micología, Rev Iberoam Micol 2004, 21: 103-120.

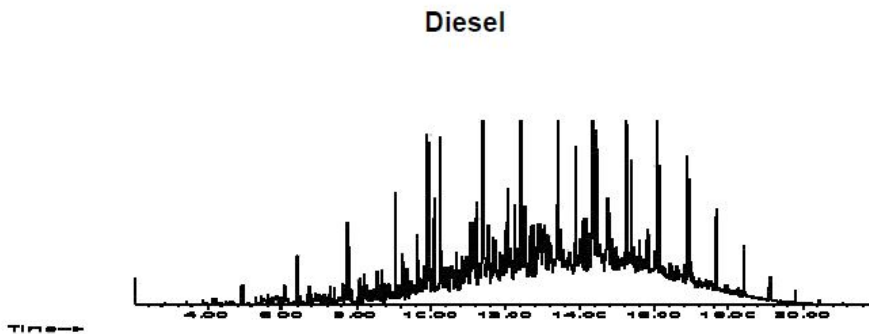
<sup>18</sup> Fingas, M. & Wang, Z. Journal of Chromatography, 774 (1997) 51 -78.



(a)



(b)



(c)

Figura 4. (a) Esquema de relación de número de carbonos/punto de ebulición, (b) Cromatograma de gasolina, (c) Cromatograma de Diesel(a)<sup>19</sup>

<sup>19</sup> Fingas, M. & Wang, Z. (1997), "Developments in the analysis of petroleum hydrocarbons in oils, petroleum products and oil-spill-related environmental samples by gas chromatography", - Emergencies Science Division, ETC, Environment Canada, 3439 River Road, Ottawa, Ontario, Canada, K1A 0H3, ), Journal of Chromatography A, 774 (1997) 51- 78.

### Detector de Conductividad Térmica (TCD)

Utiliza un filamento caliente colocado en el flujo de gas emergente.

La cantidad de calor por conducción que pierde el filamento hacia las paredes del detector depende de la conductividad térmica de la fase gaseosa.

Es útil para determinar la presencia incluso de pequeñas cantidades de materiales orgánicos que producen una reducción relativamente grande en la conductividad térmica del eluyente de la columna.<sup>20</sup>

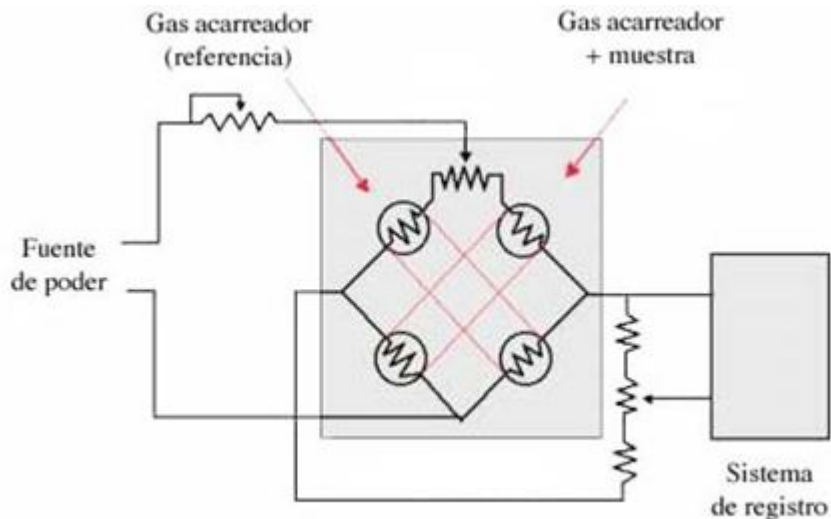


Figura 5. Detector de Conductividad Térmica<sup>21</sup>

### Detector de captura de electrones (ECD)

El eluyente pasa entre dos electrodos. Uno de los electrodos tiene en su superficie un radioisótopo que emite electrones de alta energía conforme decae.

<sup>20</sup> Alvarado, B. (Octubre 2007), Cromatografía de Gases y sus Aplicaciones.

<sup>21</sup> James, k. (2010), <http://ull.chemistry.uakron.edu/analytical/GC/>.



Los electrones bombardean el gas portador formándose un plasma que contiene iones positivos, radicales y electrones térmicos.

Se aplica una diferencia de potencial de modo que se recolectan los electrones generados. Los compuestos que absorben electrones reaccionan con los electrones térmicos disminuyendo la corriente del detector, la cual es medida y permite la cuantificación.

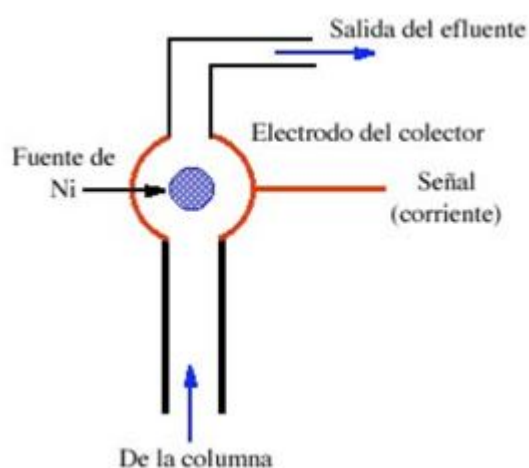


Figura 6. Detector de Captura de Electrones<sup>22</sup>

### **Detector de espectroscopía de masas (MS)**

Los eluyentes son ionizados y fragmentados. Los iones resultantes se dirigen a través de un cuadrupolo y se ordenan en función de su masa. Este detector permite obtener el espectro de masas del compuesto que ha eluido.

Se puede por tanto conocer, además el tiempo de retención del espectro de masas del compuesto y contrastarlo con bibliotecas de espectros.

<sup>22</sup> James, k. (2010), <http://ull.chemistry.uakron.edu/analytical/GC/>.

Se trata por lo tanto de un detector universal para la mayoría de los compuestos conocidos.<sup>23</sup>

## 2.10. Validación y Análisis Estadísticos

### 2.10.1. Definición

"Validar es comprobar y certificar, con evidencia convenientemente documentada que un método, sistema o proceso, cumple y se desarrolla tal y como estaba previsto, dentro de intervalos definidos"<sup>24</sup>

La validación de un método analítico asegura que los resultados de un análisis son confiables, consistentes y que existe un nivel de confianza en los resultados.

### 2.10.2. Importancia

- Proporciona un alto grado de confianza, seguridad en el método analítico y en la calidad de los resultados.
- Permite un conocimiento detallado del método, así como de sus características.
- Reconocimiento por parte de organismos de acreditación.

Este contenido y seguridad en el método analítico que ha sido validado se traduce en:

- Disminución del número de fallos y repeticiones, con el consiguiente ahorro de costos asociados
- Cumplimiento de los plazos previstos de análisis

---

<sup>23</sup> Alvarado, B. (Octubre 2007), Cromatografía de Gases y sus Aplicaciones.

<sup>24</sup> Morales de la Cruz, C. (2005), Desarrollo y Validación prospectiva de una técnica analítica por HPLC.

- Optimización del método<sup>25</sup>

### 2.10.3. Parámetro de validación

Las características de desempeño del método analítico se expresa en función de los siguientes parámetros analíticos:

- Selectividad/especificidad
- Exactitud (Sesgo)
- Precisión (repetibilidad, reproducibilidad)
- Linealidad/ función respuesta
- Límite de detección
- Límite de cuantificación
- Intervalo de trabajo/ rango
- Incertidumbre

Los parámetros que es preciso determinar difieren según el alcance del método de ensayo a validar.

Los tipos de ensayo a considerar serán los siguientes:

- a) Métodos de identificación
- b) Determinación cuantitativa de un componente
- c) Determinación cualitativa de un componente

En la tabla siguiente se definen los parámetros a considerar para cada tipo de ensayo:

---

<sup>25</sup> Castro, M. & Gastón, S. Otros, (Florida 1996), Validación de métodos analíticos, Farma Internacional, Scientific Books.

Tabla 2.10.3.1. Parámetros a considerar para cada tipo de ensayo

<b>TIPO DE ENSAYO</b>	<b>PARÁMETRO</b>
Identificación	Selectividad / Especificidad
Determinación cualitativa	Selectividad / Especificidad Límite de detección
Determinación cuantitativa de un componente	Intervalo de trabajo Linealidad / Función respuesta Selectividad / Especificidad Precisión Exactitud Límite de cuantificación Incertidumbre

### **Selectividad / especificidad**

Normalmente, salvo en el caso de que estemos validando un método completamente desarrollado de nuevo por el laboratorio, este parámetro de validación se resuelve bibliográficamente, ya que los métodos seleccionados, de reconocida aplicación, cuentan con información sobre su selectividad y especificidad y las interferencias que se conocen.

Para poder asegurar la selectividad y especificidad de un método, cuando se conoce la existencia de interferencias, por experiencia previa o por información bibliográfica, habrá que diseñar un estudio experimental del efecto de las mencionadas interferencias, mediante la adición de cantidades conocidas de componente interferente.

Los efectos matriz que puedan existir se estudian en la función de respuesta.

### **Precisión (Repetibilidad / Reproducibilidad)**

La precisión de reproducibilidad que mide la siguiente  $s_R$  es la **del método en el laboratorio** (es por tanto una medida de precisión intermedia según el esquema de la norma ISO 5725, que define la  $s_R$  como desviación estándar de reproducibilidad del método en el “mercado”, incluyendo la variabilidad que proviene de los distintos laboratorios de un ensayo interlaboratorios adecuado).

El estudio de la precisión se puede realizar calculando, a través del análisis simple de varianza (ANOVA de dos factores totalmente anidados homogéneos), las desviaciones estándar de repetibilidad ( $s_r$ ) y de reproducibilidad ( $s_R$ ) para cada uno de los niveles de ensayo.

Las medias de cada día están definidas por: 
$$\bar{L}_i = \frac{\sum_{j=1}^5 L_{ij}}{5} \quad (1)$$

La media general es:

$$\bar{L} = \frac{\sum_{i=1}^5 \sum_{j=1}^5 L_{ij}}{25} = \frac{\sum_{i=1}^5 5\bar{L}_i}{25} = \frac{\sum_{i=1}^5 \bar{L}_i}{5} \quad (2)$$

Para el Análisis ANOVA los parámetros a calcularse serán los siguientes:

Tabla 2.10.3.2. Parámetro para análisis ANOVA

<b>Análisis simple de la varianza</b>			
<b>Origen de la varianza</b>	<b>Grados de libertad (<math>\nu</math>)</b>	<b>Sumas de diferencias cuadráticas (SDC)</b>	<b>Diferencias cuadráticas medias (DCM = SDC/<math>\nu</math>) (varianzas)</b>
<b>Entre grupos (Between)</b>	$\nu_1 = 5-1=4$	$SDC_B = \sum_{i=1}^5 5(\bar{L}_i - \bar{L})^2$ (3)	$DCM_B = \frac{SDC_B}{4}$ (4)
<b>Dentro del grupo (Within)</b>	$\nu_2 = 25-5=20$	$SDC_W = \sum_{i=1}^5 \sum_{j=1}^5 (L_{ij} - \bar{L}_i)^2$ (5)	$DCM_W = \frac{SDC_W}{20}$ (6)
<b>Total</b>	$\nu = 25-1=24$ (= 4 + 20)	$SDC_T = \sum_{i=1}^5 \sum_{j=1}^5 (L_{ij} - \bar{L})^2$ (= $SDC_B + SDC_W$ ) (7)	$DCM_T = \frac{SDC_T}{24}$ (8)

De acuerdo a ISO 5725 (UNE 82009):

La desviación estándar de repetibilidad ( $s_r$ ) es

$$s_r = \sqrt{DCM_W} \quad (9)$$

La desviación estándar de reproducibilidad ( $s_R$ ) es  $s_R = \sqrt{s_r^2 + s_L^2}$

(10)

$$\text{Donde } s_L^2 = \frac{DCM_B - DCM_W}{5}, \quad (11)$$

Siendo el denominador ( $n$ ) igual al número de observaciones que se realizan cada día (en cada nivel)

Las  $s_r$  y  $s_R$  del método estarán comprendidas entre el valor menor y el valor mayor de todas las desviaciones típicas calculadas (todos los niveles) (o CV.s si se quiere presentar en términos relativos, que es más comparable).

Si el intervalo de trabajo del método es muy amplio, es razonable esperar que las  $s$  sean significativamente diferentes para cada punto de la función de respuesta del método, lo que nos obligaría a tomar decisiones relativas a la definición de su uso por tramos. (En algunos casos podría ser conveniente tratar de establecer si existe alguna relación funcional entre las  $s$  y los respectivos niveles de ensayo).

### **Coefficiente de Variación**

Es la magnitud que caracteriza la dispersión de una serie de  $n$  mediciones de un mismo mesurando, expresada como medida relativa a la media aritmética de los  $n$  resultados considerados. Su valor se calcula como:

$$C.V.(%) = \frac{S}{\bar{X}} \cdot 100 \quad (12)$$

Donde  $S$  es la desviación típica de la serie de mediciones y  $\bar{X}$  la media aritmética.

### **Linealidad**

Es la relación entre la concentración de analito y la respuesta del método. Esta relación, denominada comúnmente curva patrón o curva de calibración, no tiene por qué ser lineal para que el método sea

eficaz. Cuando no sea posible la linealidad para un método, se deberá encontrar un algoritmo adecuado.

Si los datos se ajustan a una recta (respuesta lineal), la ecuación de la función será del tipo:

$$L = mX + b \quad (13)$$

### **Pendiente de la recta (m)**

La pendiente (m) se llama también coeficiente de regresión: a mayor, mayor sensibilidad.

Para el cálculo de la pendiente se emplea la siguiente fórmula:

$$b_{yx}(m) = \frac{n \sum xy - \sum x \sum y}{n \sum x^2 - (\sum xi)^2} \quad (14)$$

La desviación estándar o error estándar de la pendiente  $S_m$  se utiliza también como expresión de la linealidad, a menor desviación estándar mejor linealidad. Se determina con la siguiente ecuación:

$$S_m = \frac{S_{yx}}{\sqrt{\sum (x - \bar{x})^2}} \quad (15)$$



**Término independiente (b):**

El valor de b, es el valor intercepción del eje de las ordenadas con el origen, indica el error sistemático del método. En el caso ideal este valor es cero, se determina con la siguiente fórmula:

$$a_{yx} = \frac{\sum y - byx \sum x}{n} \quad (16)$$

La desviación o error estándar del término independiente es:

$$Sb = Sm \sqrt{\frac{\sum x^2}{N}} \quad (17)$$

**Error estándar de Estimación:**

Está dado por:

$$S_{yx} = \sqrt{\frac{\sum (y - YEST)^2}{n - 2}} \quad (18)$$

Donde; YEST se refiere a la respuesta obtenida de sustituir valores en la ecuación (13) para tener:

$$yEST = mX + b \quad (19)$$

### **Desviación de Patrones (x) con respecto a los datos (y)**

Está dado por:

$$S_{xy} = \sqrt{\frac{\sum (x - x_{EST})^2}{N - 2}} \quad (20)$$

Donde  $x_{EST}$  se refiere a la respuesta obtenida de despejar el valor de X de la ecuación:

$$x_{EST} = (y - b) / m \quad (21)$$

### **Coeficiente de Correlación (r)**

El coeficiente de correlación refleja el grado de relación entre las variables x. Su valor máximo es uno.

Si r es cercano a la unidad, significa que existe correlación con una probabilidad elevada.

Fórmula para hallar r:

$$r = \frac{n \sum xy - (\sum x)(\sum y)}{\sqrt{(n \sum x^2 - (\sum x)^2)(n \sum y^2 - (\sum y)^2)}} \quad (22)$$

En los análisis químicos se obtienen valores de r elevados, iguales o superiores a 0,999

### **Límite de detección**

Es la menor concentración de analito en una muestra que puede ser detectada siguiendo el proceso completo del método con un nivel

aceptable de confianza de que dicha concentración es mayor que el blanco.

El límite de detección (LD) se calcula a partir de los resultados obtenidos del blanco, según la ecuación:

$$\boxed{LD = B + 3 * Sb} \quad (23)$$

LD = Límite de detección

B = Media General de los Blancos

Sb = Desviación Típica

### **Límite de Cuantificación**

Concentración mínima de analito que puede determinarse con un nivel aceptable de exactitud y precisión.

Normalmente corresponde al punto inferior de la curva de calibración (excluido el blanco). Se calcula con la siguiente fórmula:

$$\boxed{LC = B + 10 * Sb} \quad (24)$$

LC = Límite de cuantificación

B = Media General de los blancos

Sb = Desviación típica

### **Intervalo de Trabajo**

El intervalo de trabajo se encuentra estrechamente vinculado con el intervalo de concentraciones para la cual el método se calibra. La más baja concentración puede coincidir con el límite de cuantificación, es el intervalo de concentración en el que puede obtenerse una exactitud y precisión adecuadas al objetivo del método.

### Incertidumbre

Estimación que caracteriza el intervalo de valores en el que se sitúa, generalmente con una alta probabilidad dada, el valor verdadero de la magnitud medida.

La incertidumbre de medida incluye, en general, varias componentes. Algunas pueden estimarse a partir de la distribución estadística de los resultados de series de medición, y pueden caracterizarse por la desviación típica muestral. Las estimaciones de las otras componentes solamente pueden basar en la experiencia o en otras informaciones.

La manera más común de cuantificar la incertidumbre está basada en un análisis estadístico de una serie de mediciones (utilizando desviación estándar), obtenidas en el curso de la actual medición.

### Distribuciones de Probabilidad

Constituye las probabilidades de todos los eventos de un espacio muestral. Las distribuciones más frecuentes son:

#### Distribución normal

Es una distribución de probabilidad continua llamada también curva normal o de Gauss

#### Distribución Rectangular

En esta distribución cada valor en un intervalo dado tiene la misma probabilidad, es decir que la función de densidad de probabilidad es constante.

### Distribución Triangular

Si se conoce el límite superior e inferior y además hay evidencia que la probabilidad es más alta para los valores en el centro del intervalo y se reduce hacia los límites, es recomendable la utilización de ésta distribución.

Para realizar el cálculo de la incertidumbre se emplearon las siguientes ecuaciones:

$$C_1 \times V_1 = C_2 \times V_2 \quad (24)$$

$$C_2 = \frac{C_1 \times V_1}{V_2} \quad (25)$$

$$(26)$$

$$\mu C_2 = C_2 \times \sqrt{\left(\frac{\mu C_1}{C_1}\right)^2 + \left(\frac{\mu V_1}{V_1}\right)^2 + \left(\frac{\mu V_2}{V_2}\right)^2}$$

Donde:

C1 = Concentración Estándar

C2 = Concentración del estándar en muestra

$\mu C_1$  = incertidumbre de C1

$\mu C_1$  = incertidumbre de C1

V1 = volumen de Aforo

$\mu V_1$  = Incertidumbre de V1

V2 = Volumen del disolvente

$\mu V_2$  = Incertidumbre de V2

### Incertidumbre Expandida

Representa la mitad de incertidumbre de la medición. El resultado debe ser reportado junto con la incertidumbre de la medición, utilizando un factor de cobertura de 1,96, lo cual representa un nivel de confianza del 95%, se emplea la siguiente fórmula:

$$\mu_{\text{exp}} = \mu * 1,96$$

(27)

### **Exactitud – Porcentaje de Recuperación**

Es el grado de concordancia entre el resultado de una medición y el valor de referencia aceptado.

Se emplea la siguiente fórmula:

$$\% \text{Recuperación} = (\text{valor obtenido} / \text{valor teórico}) * 100$$

(28)

### **Concentración de la muestra**

Para determinar la concentración en cada muestra se aplica la siguiente fórmula:

$$C = \frac{\text{Concentración (cada muestra) (mg/L)}}{\text{Volumen de extracción (mL)}}$$

(29)

El volumen de extracción utilizado es de 500 mL.

## **CAPITULO III**

### **3. MÉTODOS Y PROCEDIMIENTOS**

La metodología está basada en el Método de la Agencia de Protección del Medio Ambiente (EPA) 8015B y el Método EPA 3015.

#### **3.1. Equipos**

- Cromatógrafo de gases Perkin Elmer Modelo Clarus 400  
Contiene:
  - Inyector de columnas capilares con control electrónico de presión Split/Splitless
  - Sistema de Detección de llama (FID)
  - Software Total Chrom Navigator
- Balanza Analítica de apreciación 0,1mg
- Tanques de gas para helio y aire
- Generador de Hidrógeno
- Rotavapor
- Kuderna-Danish

### 3.2. Materiales

- Pipeta Automática de Volumen variable de 100µL a 1mL
- Matraz aforado de 250mL
- Balones de 10, 25, 50mL
- Vasos de precipitación de 50, y 100 mL
- Papel Filtro cualitativo de 125mm de diámetro
- Embudos de Vidrio de 60°
- Botella color ambar de 1L
- Viales para Cromatografía
- Probetas de vidrio de 25mL

### 3.3. Reactivos, Estándar y Disoluciones

#### 3.3.1. Reactivos

- Diclorometano grado HPLC (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>)
- Sulfato de Sodio Granular y Anhidro (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>)

#### 3.3.2. Estándar

Diese Fuel No. 2 - 50000 µg/mL

Solvente (Matriz) Cloruro de Metileno

Estándar	Unidades	Valores Gravimétricos	Valores Certificados	k	Incertidumbre
Diesel Fuel No.2	µg/mL	50000 ±485	50000 ± 1460	2.00	± 0,923%



### 3.3.3. Diluciones

Las siguientes disoluciones se realizaron con un micropipeta en unidades de volumen etiquetadas previamente y almacenadas en refrigeración a 4°C

- Soluciones para la Calibración del Equipo  
Se realizaron 5 soluciones para la calibración, 500ppm, 1000ppm, 1500ppm, 2000ppm y 3000ppm aforadas en un vial a 1mL con diclorometano.

Solución Madre de Diesel Fuel No. 2

Se toma el 1,5mL del Estándar Diesel Fuel No. 2 y se pone en el balón de de 25mL y se afora con Diclorometano

Solución de 3000ppm

Se tomo 1mL de la Solución Madre y se coloco en un vial

Solución de 3000ppm a 2000ppm

Tomar 0,670mL de la Solución Madre de 3000ppm y aforar en un vial a 1 mL con Diclorometano

Solución de 3000ppm a 1500ppm

Tomar 0,5mL de la Solución Madre de 3000ppm y aforar en un vial a 1 mL con Diclorometano.

Solución de 3000ppm a 100ppm

Tomar 0,330mL de la Solución Madre de 3000ppm y aforar en un vial a 1mL con Diclorometano.

Solución de 3000ppm a 500ppm

Tomar 0,167mL de la Solución Madre de 3000ppm y aforar en un vial a 1mL con Diclorometano.

- Soluciones fortificadas para Validación del Método
  - Se toma 0,5mL de la solución de 1500ppm para posteriormente colocarla en la muestra de agua de 500mL y realizar el protocolo de análisis esperando una recuperación teórica de 750ppm en equipo y de 1,5ppm en muestra
  - Se toma 0,5mL de la solución de 2000ppm para posteriormente colocarla en la muestra de agua de 500mL y realizar el protocolo de análisis esperando una recuperación teórica de 1000ppm en equipo y de 2ppm en muestra.
  - Se toma 0,620mL de la solución de 3000ppm para posteriormente colocarla en la muestra de agua de 500mL y realizar el protocolo de análisis esperando una recuperación teórica de 1860ppm en equipo y de 3,72ppm en muestra.

#### 3.4. Protocolo de Análisis

En el protocolo de análisis de hidrocarburos de petróleo en aguas limpias y residuales se diferencian varias etapas, descritas a continuación:

#### 3.4.1. Recolección de la muestra

La muestra de agua se recolecta en botellas color ambar de 1L con tapa rosca, dejando como mínimo dos centímetros de aire, y colocando papel parafilm alrededor de la tapa para evitar contaminación o derrame de la muestra.

Para las muestras tomadas en el Río Santa Clara es importante conocer que el agua debe ser tomada del agua superficial, ya que si se introduce la botella al fondo del río puede darse la presencia de una cantidad excesiva de sedimentos.

#### 3.4.2. Proceso de Extracción

Para la extracción de hidrocarburos totales de petróleo en matriz acuosa se utilizó la extracción líquido-líquido.

Se realizaron extracciones de las muestras fortificadas a tres diferentes concentraciones, y se realizaron ocho extracciones a las muestra tomadas del Río Santa Clara.

#### 3.4.3. Proceso de Purificación o Clean - Up

El proceso de purificación no es necesario en muestras relativamente limpias. Si fuese necesario se debe hacer pasar la muestra por sulfato de sodio anhidro.

#### 3.4.4. Proceso de Concentrado y Almacenamiento

El extracto se concentra hasta aproximadamente 5mL en el rotavapor y luego se pasa al Kuderna-Danish dónde se concentra a 1mL, luego se coloca en un vial para cromatografía. Las muestras deben ser preservadas en refrigeración a 4°C por 40 días.

### 3.4.5. Cuantificación mediante cromatografía

Los hidrocarburos totales de petróleo son cuantificados mediante cromatografía gaseosa con detector FID, inyectando un 1 $\mu$ L de muestra.

Las condiciones instrumentales para la cuantificación de los TPH's en matrices líquidas de agua se recogen en la siguiente tabla.

Figura 3.4.5.1 Condiciones Instrumentales para la cuantificación

<b>Detector:</b>	FID /250°C			
<b>Inyector:</b>	MANUAL /280°C			
<b>Columna:</b>	Phase: Elite5 Dimensiones: Longitud: 30 m. Diámetro Interno: 0,32mm Rango de Temperatura: -60 a 330/350°C			
<b>Rampa del Horno:</b>	<b>RAMP</b>	<b>RATE</b>	<b>TEMPERATURE (C°)</b>	<b>HOLD</b>
<b>Inicial</b>	0,00	0,00	50	2,00
<b>1</b>	7,00	7,00	290	7,00
<b>2</b>		0,00	0,00	0,00

Los TPH's son identificados en un cromatograma en general, debido a la complejidad de identificar cada componente.

Es importante recalcar que el desarrollo de análisis completo se encuentra descrito en el Procedimiento Técnico Interno del laboratorio del Medio Ambiente.

El manejo del Cromatógrafo se encuentra descrito en el Instructivo de Uso y Manejo de Equipo.

#### 3.4.6. Validación del Método

Para la validación es requerido los siguientes pasos:

- Preparación de soluciones Fortificadas
- Preparación de Extractos (tres concentraciones) y blancos.
- Cuantificación, para la validación del método se inyecta cada estándar por cinco días incluido un blanco. Para las extracciones se realiza la inyección de cada muestra por triplicado por tres días. La inyección es de 1µL
- Determinación y cálculo de parámetros estadísticos
  - ◆ Linealidad, función respuesta.
  - ◆ Precisión (Repetibilidad y Reproducibilidad), tres repeticiones en tres días diferentes.
  - ◆ Límite de detección, obtenida mediante el uso de los blancos de las mediciones
  - ◆ Límite de cuantificación, obtenida mediante el uso de los blancos de las mediciones.
  - ◆ Intervalo de trabajo/rango, se determina mediante el límite de cuantificación como valor inferior.
  - ◆ Incertidumbre, Se calcula del método y soluciones.
  - ◆ Porcentaje de recuperación, se aceptan valores entre el 70 – 110%

## CAPITULO IV

### 4. METODOLOGÍA

Para el desarrollo del método se utilizó los métodos EPA 3510c y 8510b modificados de acuerdo al material y equipo disponible en el laboratorio.

Tabla 4.1. Tabla de Variaciones al Método EPA 8510b

VARIACIONES AL MÉTODO EPA 8510b	
Método EPA 8510c	Método desarrollado
Columna 4-30m x 0.53mm, columna capilar de sílica (DB-5, SPB-5, RTx o equivalentes)	Columna Elite 5 30m de longitud, diámetro interno de 0,32mm
Condiciones del Equipo Gas portador: Helio Temperatura Inyector: 200°C Temperatura Detector: 340 Programa de Temperatura Temperatura inicial: 45, hold 3 min Programa: 45 a 275 , 12 c/min	Condiciones del Equipo Gas Portador: Helio Temperatura Inyector: 250 Temperatura Detector: 280 Programa de Temperatura Temperatura inicial:50, hold 2min Programa: 50 a 290, 7c/min

Temperatura Final: 275, hold 12min	Temperatura Final: 290, hold 7min
------------------------------------	-----------------------------------

Tabla 4.2. Tabla de Variaciones al Método 3510c

VARIACIONES AL MÉTODO 3510c	
Método EPA 3510c	Método Desarrollado
El volumen de extracción es de 1L	El volumen de extracción utilizado es de 500 mL

#### 4.1. Valores de las áreas de los estándares de calibración.

Tabla 4.1.1 Valores de las áreas de los estándares de calibración

ESTANDAR	DIA 1 $\mu\text{v}^*\text{sec}$	DIA 2 $\mu\text{v}^*\text{sec}$	DIA 3 $\mu\text{v}^*\text{sec}$	DIA 4 $\mu\text{v}^*\text{sec}$	DIA 5 $\mu\text{v}^*\text{sec}$
<b>500ppm</b>	1957121,02	2050679,18	1823330,48	2131699,33	2026249,9
<b>1000ppm</b>	3140778,76	3183423,87	3258178,3	3171447,43	3241036,46
<b>1500ppm</b>	4266084,59	4429153,75	4468785,23	4220240,29	4310238,97
<b>2000ppm</b>	5110888,03	5182176,35	5323845,47	5075068,75	5277195,95
<b>3000ppm</b>	8121177,13	8367574,82	8344651,94	8301958,29	8320749,4

#### 4.2. Valores de las áreas de las soluciones fortificadas

Tabla 4.2.1 Valores de las áreas de la solución fortificada con estándar de 1500ppm

Estándar de 1500ppm		
Área $\mu\text{v}^*\text{sec}$		
DIA 1	DIA 2	DIA 3
2634674,12	2350484	2425348,89
2471109,71	2229542,35	2134989,83
2562480,16	2180090,13	2221705,84
2532421,52	2063358,2	2353781,14
2323127,31	2407553,94	2483274,46

Tabla 4.2.2 Valores de las áreas de la solución fortificada con estándar de 2000ppm

Estándar de 2000ppm		
Área $\mu\text{v}^*\text{sec}$		
DIA 1	DIA 2	DIA3
2435068,36	2938395,24	3485936,24
2386484,58	3311533,12	3390587,06
3927700,65	3065608,69	2621865,98

Tabla 4.2.3 Valores de las áreas de la solución fortificada con estándar de 1500ppm

Estándar de 3000ppm		
Área $\mu\text{v}^*\text{sec}$		
DIA 1	DIA 2	DIA3
4514966,47	4377158,33	4637994,27
4546845,69	4720405,96	4752528,38
4593177,4	4720183,29	4726425,09

#### 4.3. Valores de las áreas de las muestras del Río Santa Clara

Tabla 4.3 Valores de las áreas de las muestras tomadas en el Río Santa Clara

MUESTRAS TOMADAS DEL RIO SANTA CLARA								
AREA $\mu\text{v}^*\text{sec}$								
	MUESTRA 1	MUESTRA 2	MUESTRA 3	MUESTRA 4	MUESTRA 5	MUESTRA 6	MUESTRA 7	MUESTRA 8
CORRIDA 1	1150221,57	1107739,54	1080939,16	1126129,1	1150612,67	1255036,38	923634,98	987695,2
CORRIDA2	1117889,06	1007086,13	953996,44	998640,65	1094981,17	1067415,11	896046,84	982046,8

#### 4.4. Valores de las áreas de los Blancos

Tabla 4.4 Valores de las áreas de los Blancos



BLANCO	AREA $\mu\text{v}^*\text{sec}$
1	1316066,70
2	1359034,06
3	1268093,33
4	1094900,35
5	1287448,71
6	1185144,40
7	1287448,71
8	1335404,24
9	1254005,10
10	1227992,52

## CAPÍTULO V

### 5. CÁLCULOS Y RESULTADOS

#### 5.1. Curva de Calibración del Equipo

Con los valores promedio de cada estándar se procede a construir la curva de calibración de acuerdo a una regresión lineal, la misma que se muestra a continuación:

Tabla 5.1 Valores promedios de los estándares

ESTANDAR	PROMEDIO $\mu\text{v} \cdot \text{sec}$
500ppm	1997815,982
1000ppm	3198972,964
1500ppm	4338900,566
2000ppm	5193834,91
3000ppm	8291222,316

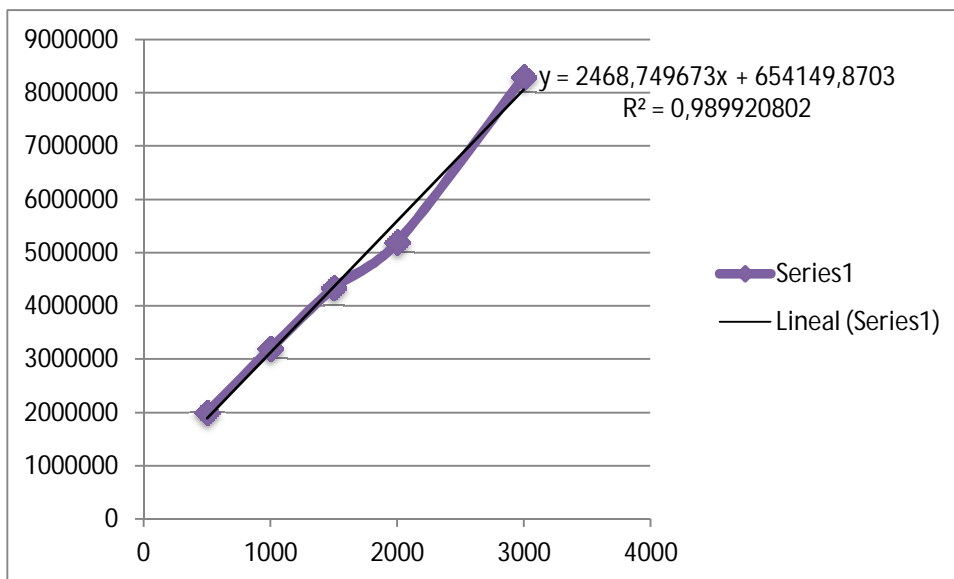


Figura 5.1 Gráfica Área vs Concentración de Diesel Fuel #2

## 5.2. Cálculo de la Concentración de Soluciones Fortificadas

Tomando como ejemplo el primer valor de la Tabla 4.2.1, y la ecuación correspondiente a la gráfica del Área Vs Concentración de Diesel Fuel # 2, se calcula la concentración (mg/L o ppm), de la siguiente manera:

$$y = 2468,749673x + 654149,8703$$

$$2634674,12 = 2468,749673x + 654149,8703$$

$$x = (2634674,12 - 654149,8703) / 2468,749673$$

$$x = 802,23 \text{ ppm}$$

Se realiza el mismo cálculo para todas las muestras fortificadas obteniendo los valores que se presentan en las siguientes tablas:

Tabla 5.2.1 Valores de concentración de la solución fortificada con estándar de 1500ppm

Estándar		1500 ppm
Valor Teórico de Recuperación		750ppm
DIA 1	DIA 2	DIA3
802,237777	687,1227765	717,447799
735,98383	638,1337472	599,833987
772,99465	618,1024655	634,959464
760,818997	570,8186395	688,458327
676,041584	710,2397172	740,911324

Tabla 5.2.2 Valores de concentración de la solución fortificada con estándar de 2000ppm

Estándar		2000 ppm
Valor Teórico de Recuperación		1000 ppm
DIA 1	DIA 2	DIA3
721,3848	925,26407	1147,05286
701,705292	1076,40855	1108,4304
1325,99543	976,793575	797,049669

Tabla 5.2.3 Valores de concentración de la solución fortificada con estándar de 3000ppm

Estándar		3000 ppm
Valor Teórico de Recuperación		1860 ppm
DIA 1	DIA 2	DIA3
1563,87529	1508,05426	1613,70934
1576,78839	1647,09129	1660,10291
1595,55567	1647,0011	1649,52942

Tabla 5.2.4 Valores de concentración de la Blancos

BLANCO	CONCENTRACION ppm
1	268,118245
2	285,522748

3	248,685991
4	178,531864
5	256,526146
6	215,08642
7	256,526146
8	275,951174
9	242,979366
10	232,442623
PROMEDIO	246,037072

### 5.3. Cálculo de la Concentración en Muestras de Soluciones Fortificadas

Para obtener el valor de concentración en muestra de las soluciones fortificadas se debe dividir el valor de la concentración para el valor de aforo utilizado en la extracción, que en nuestro caso equivale a 500mL; como se muestra en el siguiente ejemplo:

Se toma el primer valor de la Tabla 5.2.1

Concentración en muestra 802,23/500

Concentración en muestra = 1,60 ppm (mg/L)

Tabla 5.3.1 Valores de concentración en muestra con estándar de 1500ppm

<b>Estándar</b>		1500ppm
<b>Valor Teórico de recuperación</b>		1,5 ppm
<b>Concentración (ppm)</b>		
<b>DIA 1</b>	<b>DIA 2</b>	<b>DIA 3</b>
1,60447555	1,37424555	1,4348956
1,47196766	1,27626749	1,19966797
1,5459893	1,23620493	1,26991893

1,52163799	1,14163728	1,37691665
1,35208317	1,42047943	1,48182265

Tabla 5.3.2 Valores de concentración en muestra con estándar de 2000ppm

<b>Estándar</b>		2000ppm
<b>Valor Teórico de recuperación</b>		2ppm
<b>Concentración (ppm)</b>		
<b>DIA 1</b>	<b>DIA 2</b>	<b>DIA 3</b>
1,4427696	1,85052814	2,29410572
1,40341058	2,1528171	2,2168608
2,65199086	1,95358715	1,59409934

Tabla 5.3.3 Valores de concentración en muestra con estándar de 3000ppm

<b>Estándar</b>		3000ppm
<b>Valor Teórico de recuperación</b>		3,72ppm
<b>Concentración (ppm)</b>		
<b>DIA 1</b>	<b>DIA 2</b>	<b>DIA 3</b>
3,12775057	3,01610852	3,22741868
3,15357678	3,29418258	3,32020581
3,19111133	3,29400219	3,29905884

#### 5.4. Cálculos de Parámetros de Validación

Se calculan los siguientes parámetros para la validación del método analítico:

##### 5.4.1. Linealidad

✓ Determinación de la Curva de Ajuste

Con el valor promedio del área de los blancos y el valor promedio de las extracciones se procede a realizar el ajuste:

Tabla 5.4.1.1 Cálculo de la Curva de Ajuste

CALCULO PROMEDIOS EN MUESTRA					
n	datos y	datos teóricos)x	x*2	x*y	y*2
1,000	1261553,812	0,000	0,00E+00	0,00E+00	1,59E+12
2,000	2,36E+06	1,50E+00	2,25E+00	3,54E+06	5,56E+12
3,000	3,06E+06	2,00E+00	4,00E+00	6,13E+06	9,38E+12
4,000	4,62E+06	3,72E+00	1,38E+01	1,72E+07	2,14E+13
<b>SUMA</b>	<b>1,13E+07</b>	<b>7,22E+00</b>	<b>2,01E+01</b>	<b>2,69E+07</b>	<b>3,79E+13</b>
<b>PROMEDIO (xm)</b>	<b>2,83E+06</b>	<b>1,81E+00</b>	<b>5,02E+00</b>	<b>6,71E+06</b>	<b>9,47E+12</b>

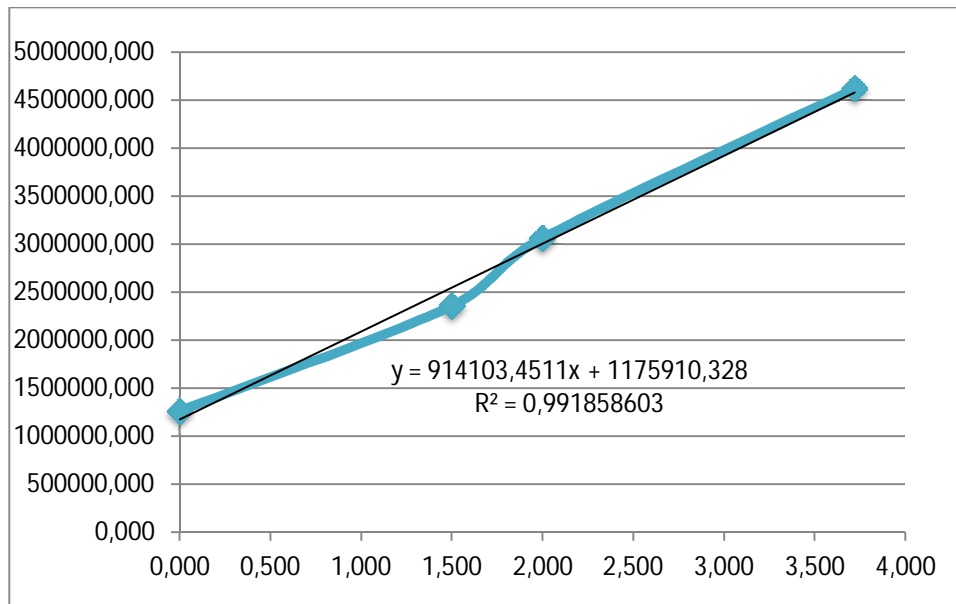


Figura 5.4.1 Cálculo de la Curva de Ajuste de Linealidad

Para el cálculo de la pendiente (m) y el término independiente (b) se utiliza la ecuación (14) y (15); y se reemplaza los valores:

$$m = \frac{(4 \cdot 2,69E+07) - (7,22E+00 \cdot 1,13E+07)}{(4 \cdot 2,01E+01) - (7,22E+00 \cdot 7,22E+00)}$$

$$m = 914103,451$$

$$b = \frac{1,13E+07 - (914103,451 * 7,22E+00)}{4}$$

$$b = 1175910,3281$$

- ✓ Cálculo de las desviaciones estándar y el coeficiente de correlación en la curva de ajuste.

Tabla 5.4.1.2 Cálculos para determinar las desviaciones

n	yEst=b+mx	(y-yEst) <sup>2</sup>	xEst=(y-b)/m	(x-xEst) <sup>2</sup>	(x-xm) <sup>2</sup>
1,000	1175910,3281	7334806329,9266900	0,094	0,008778	3,2580
2	2547065,5048	35646471426,2952000	1,293	0,042660	0,0930
3	3004117,2304	3417374738,65126	2,064	0,00409	0,0380
4	4576375,1664	1998173267,111970	3,769	0,00239	3,6672

Se reemplaza los valores en las ecuaciones (15), (17), (18) y (20)

$$S_{yx} = \sqrt{\frac{48396825761}{4 - 2}} = 155558,391$$

$$S_{yx} = \sqrt{\frac{0,058}{4 - 2}} = 0,170$$

$$S_m = \frac{155558,391}{\sqrt{7,056}} = 58560,520$$

$$S_b = 58560,520 * \sqrt{\frac{2,01E + 01}{4}} = 131234,373$$

- ✓ Cálculo del coeficiente de correlación:  
Reemplazando los datos en la ecuación (22) tenemos:



$$r = \frac{(4 * 2,01E + 07) - (7,22E + 00 * 1,13E07)}{\sqrt{(4 * 2,01E + 01) - (7,22E + 00)^2} * \sqrt{(4 * 3,79E + 13) - (1,13E + 07)^2}} = 0,9959$$

#### 5.4.2. Precisión (Repetibilidad y Reproducibilidad)

Se realiza el análisis para las soluciones fortificadas (en muestra) de 1,5ppm, 2ppm y 3,72ppm

Tomamos los valores de la Tabla 5.3.1, de nivel de concentración 1,5ppm en muestra y reemplazamos en las ecuaciones de la (1) a la (8):

Tabla 5.4.2.1 Análisis de Varianzas

<b>Análisis simple de la varianza</b>			
<b>Origen de la varianza</b>	<b>Grados de libertad (3)</b>	<b>Sumas de diferencias cuadráticas (SDC)</b>	<b>Diferencias cuadráticas medias (DCM = SDC/v) (varianzas)</b>
<b>Entre grupos (Between)</b>	$v_1 = 5-1=4$	$SDC_B = 0,116$	$DCM_B = 0,0289$ (4)
<b>Dentro del grupo (Within)</b>	$v_2 = 15-3=12$	$SDC_w = 0,040$	$DCM_w = 0.0116$

Se calcula la desviación estándar de repetibilidad ( $S_r$ ) reemplazando en la fórmula (9).

$$S_r = \sqrt{0,0116} = 0,108$$

Para el cálculo de la desviación de reproducibilidad, se reemplaza los valores en la ecuación (11)

$$S_r = \sqrt{0,108} = 0,108$$

Reproducibilidad, se reemplazan los valores en la ecuación (10)

$$S_R = \sqrt{0,108^2 + (0,108 - 3,4486E - 03)^2} = 0,108$$

Para los coeficientes de variación se utiliza a fórmula (12):

$$c_{vr} = 8,364E - 02$$

$$CVR = \frac{0,108}{3,239} = 0,078$$

A continuación se presentan los resultados de precisión para las concentraciones de 1,5ppm, 2ppm y 3,72ppm

Tabla 5.4.2.2 Valores de precisión para la concentración de 1,5ppm

Concentración de 1,5ppm	
<b>Sr</b>	0,108
<b>S2L</b>	3,4486E-03
<b>SR</b>	0,108
<b>cvr</b>	8,364E-02
<b>CVR</b>	0,078

Tabla 5.4.2.3 Valores de precisión para la concentración de 1,5ppm

Concentración de 2ppm	
<b>Sr</b>	0,474
<b>S2L</b>	-6,3842E-02
<b>SR</b>	0,474
<b>cvr</b>	5,886E-02
<b>CVR</b>	0,243

Tabla 5.4.2.4 Valores de precisión para la concentración de 1,5ppm

Concentración de 3,72ppm	
<b>Sr</b>	0,099
<b>S2L</b>	7,6608E-04
<b>SR</b>	0,099
<b>cvr</b>	3,417E-02
<b>CVR</b>	0,031

### 5.4.3. Límite de Detección y Cuantificación

Aplicando las ecuaciones (23) y (24) obtenemos:

$$LD = \frac{3,180 * 131234,373}{914103,451} = 0,457$$

$$LC = \frac{3,180 * 155558,391}{914103,451} = 0,541$$

### 5.4.4. Intervalo de Trabajo

El intervalo de trabajo se tomo basándose en los límites permisibles en el TULAS y el RAHOAE 1215

#### 5.4.5. Incertidumbre del método

Para realizar el cálculo de la incertidumbre del método de análisis se requiere la incertidumbre ( $\mu$ ) de los materiales utilizados en la siguiente tabla:

Tabla 5.4.5.1 Incertidumbre de los materiales

MATERIAL	$\mu$
ESTÁNDAR	1460,0000
Balón de 25 ml	0,0400
Balón de 10 ml	0,0250
Probeta de 25 ml	0,0250
Balón de 250 ml	0,1500
Balón de 500 ml	0,3000
Pipeta	0,0060

- ✓ Cálculo de la Incertidumbre en la preparación de los estándares de calibración

Empleando las ecuaciones (24) y (25) tenemos:

$$50000ppm * 1,5mL = C_2 * 25mL$$

$$C_2 = \frac{50000ppm * 1,5mL}{25mL} = 3000ppm$$

Reemplazando los valores en la fórmula (26) s tiene:

$$\mu C_2 = 3000ppm * \sqrt{\left(\frac{730}{50000}\right)^2 + \left(\frac{0,0163}{25}\right)^2}$$

$$\mu C_2 = \pm 43,884$$

Es importante decir que en este cálculo solo se toman en cuenta los valores de incertidumbre del estándar y el balón puesto que se colocó directamente los 1,5mL de estándar en el balón, para el cálculo de incertidumbre de los demás estándares se deben añadir la incertidumbre de la micropipeta, obteniéndose los siguientes valores:

Tabla 5.4.5.2 Incertidumbre de Estándares

CONCENTRACION	$\mu C_2$
3000,000	43,844
2000,000	29,310
1500,000	21,988
1000,000	14,669
500,000	7,362

✓ Calculo de la Incertidumbre de las muestras fortificadas

Se emplea la fórmula (26),

$$\mu C_2 = 1,5 * \sqrt{\left(\frac{0,0024}{0,5}\right)^2 + \left(\frac{21,988}{1500}\right)^2 + \left(\frac{0,0408}{30}\right)^2} = 0,023$$

Se muestra en la siguiente tabla los valores de incertidumbre de las muestras fortificadas.

Tabla 5.4.5.3 Incertidumbre de las muestras fortificadas

CONCENTRACION (ppm)	$\mu C2$
1,500	0,023
2,000	0,031
3,720	0,057

✓ Incertidumbre Expandida

Las siguientes tablas (5.4.5.4) y (5.4.5.5) presentan la incertidumbre expandida en la preparación de soluciones estándar y las soluciones fortificadas, se trabajo a un nivel de confianza del 95% correspondiente a 1,96; valores correspondientes a la t-student

Tabla 5.4.5.4 Incertidumbre expandida de las soluciones estándar

ESTANDAR			
CONCENTRACION	V1 = ml TOMADOS DEL ESTANDAR	$\mu C2$	$\mu \text{ exp} = \mu * 1,96$
3000	1,5	43,8438137	85,9338749
2000	6,67	29,3096024	57,4468207
1500	5	21,9875817	43,0956602
1000	3,3	14,668991	28,7512224
500	1,67	7,36172057	14,4289723

Tabla 5.4.5.5 Incertidumbre expandida de las muestras fortificadas

MUESTRA				
CONCENTRACION (ppm)	concentración estándar	V1 = ml TOMADOS DEL ESTANDAR	$\mu C2$	$\mu \text{ exp} = \mu * 1,96$
1,5	1500	0,5	0,02327274	0,04561457

2	2000	0,5	0,03102354	0,06080614
3,72	3000	0,62	0,05654489	0,11082798

#### 5.4.6. Porcentaje de Recuperación

En la siguiente tabla 5.4.6.1 se muestran los porcentajes de recuperación para las tres diferentes concentraciones en muestra de las soluciones fortificadas y sus respectivos estándares.

Tabla 5.4.6.1 Porcentaje de Recuperación

CONCENTRACION (ppm)	Concentración estándar(ppm)	V1 = ml TOMADOS DEL ESTANDAR	Porcentaje de recuperación en %
1,5	1500	0,5	91,41
2	2000	0,5	86,64
3,72	3000	0,62	86,39

#### 5.4.7. Muestras Reales

Tabla 5.4.7.1. Muestras Reales

MUESTRAS TOMADAS DEL RIO SANTA CLARA								
ppm en muestra								
	MUESTRA 1	MUESTRA 2	MUESTRA 3	MUESTRA 4	MUESTRA 5	MUESTRA 6	MUESTRA 7	MUESTRA 8
Corrida 1	0,40188092	0,3674651	0,34575339	0,38236297	0,40219776	0,4867942	0,21831708	0,27021397
Corrida 2	0,37568749	0,28592308	0,24291371	0,27908117	0,3571292	0,3347972	0,19596719	0,26563805

## CAPITULO VI

### 6. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

- Se realizó la variación de volumen en el Método de Extracción de 1 Litro como se indica en el método EPA 3510c a 500mL, se realizó una extracción utilizando un litro y se comparó los datos con los resultados utilizando 500ml y no se encontró variación, es importante que se realicen más de 5 extracciones comparativas para tener certeza de esta variación.
- Se modifico el método EPA 8510b, acoplado los materiales y equipos disponibles en el laboratorio a éste método, se utilizó una Columna Elite 5, y se varió las rampas de temperatura descritas en la Tabla 4.1
- El primer día de calibración no se corrió el blanco, comparando los datos con los siguientes cuatro días que se debe correr los estándares para la calibración del equipo no se encuentra variaciones en el área del cromatograma.
- El Cromatógrafo Clarus 400, es un equipo manual por lo que las muestras deben ser inyectadas por el analista, la llama debe ser encendida manualmente y se debe estar pendiente en cada corrida de que la señal no se baje porque se apaga el equipo y no se realiza la lectura.



- Dentro de este trabajo no se tomó como referencia la Norma INEN (TPH) que es de 0,3 µg/L (NTE INEN 1 108:2006), para agua potable.
- En las extracciones de las muestras tomadas del Río Santa Clara, se realizó el Clean – Up, haciendo pasar la muestra por papel filtro cualitativo de 125mm de diámetro (lana de vidrio), debe tomarse en cuenta que las muestras fortificadas también deberían pasar por lana de vidrio.
- Se tomo la temperatura y turbiedad de la muestra en campo y en el laboratorio para comprobar que la muestra no se haya contaminado hasta llegar al Laboratorio.
- El proceso de concentrado se realizó en el Rotavapor hasta aproximadamente 5ml, luego se pasa al Kuderna-Danish dónde se concentra a 1ml, se realiza este proceso puesto que el Rotavapor no tiene medidas exactas pero nos permite la evaporación de la mayor cantidad de solvente utilizado, al pasar al Kuderna-Danish podemos medir exactamente el 1mL que se requiere, para su posterior cuantificación.
- Se utilizó los viales existentes en laboratorio para análisis de HAP's en HPLC de alta precisión ya que no se cuenta con viales para el Cromatógrafo Clarus 400 (equipo manual), la muestra extraída debe ser inyectada el mismo día ya que el almacenarlas en estos viales no es adecuado ya que la tapa tiene un pequeño orificio, considerando que el estándar utilizada es un compuesto orgánico semivolatil, y con la experiencia adquirida durante el desarrollo del proyecto, la muestra se evapora.
- Los cromatogramas fueron integrados con línea base garantizando que el área que nos da sea solo de los picos correspondientes al DRO.
- De las muestras tomadas en el Río Santa Clara ninguno de los puntos excede el límite permisible para punto de control en el cuerpo de agua (inmisión) que es <0,5 en cualquier momento del año.

## CAPITULO VII

### 7. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

#### 7.1. Conclusiones

- Se realizó la curva de calibración con 5 estándares; de 500ppm, 1000ppm, 1500ppm, 2000ppm y 3000ppm, se realizó una regresión lineal obteniendo un  $r^2$  de 0,989.
- El método de extracción líquido-líquido, es eficaz, rápido y reproducible además de la utilización en él de solventes de fácil disponibilidad como el diclorometano.
- Se obtuvo un promedio de 88,15% en los valores de recuperación en las muestras fortificadas, el mismo que entra dentro del rango de aceptación que es del 70% al 110%.
- En las muestras tomadas del Río Santa Clara después de la extracción y la cuantificación no se encontró la presencia de hidrocarburos de petróleo,

basados en los límites permisibles del RAHOAE, pero cabe señalar que los datos no pueden tomarse como verdaderos o absolutos ya que las muestras del río fueron tomadas a orilla del mismo, para próximos análisis se deben realizar a la mitad del río considerando que no se puede utilizar material plástico

- Se debe realizar el análisis de la muestra el mismo día de la toma esto impide la contaminación de la misma.
- Las muestras ya extraídas deben ser refrigeradas, y se debe tomar en consideración que solo deben ser almacenadas por 40 días.
- Las modificaciones a los métodos US EPA 3510c y 8510b realizadas en el desarrollo del proyecto se hicieron basados en la disponibilidad de equipos, materiales y reactivos del Laboratorio de Medio Ambiente.
- Los viales en que deben ser almacenados los extractos a ser cuantificados deben ser los adecuados para evitar la pérdida de solvente.
- El método de extracción líquido – líquido es un método eficaz y reproducible pero en él se emplea una gran cantidad de solvente, es por ello que se utilizó el Rotavapor y el Kuderna – Danish.
- La desviación estándar nos muestra la dispersión de los datos referidos a la media, en nuestro caso todos los valores de desviaciones están dentro del rango aceptable a un 95% de confianza, teniendo como referencia el estándar utilizado de  $50000 \pm 1460$ , teóricamente se acepta una desviación estándar de 87,6, y se obtuvo una desviación de 39,78 para la solución de 3000ppm.
- Para calcular toda incertidumbre de los resultados es necesario identificar todas las fuentes de incertidumbre.

- La incertidumbre obtenida en las soluciones fortificadas de, son aceptadas como válidas debido a que el valor está dentro de los grados de libertad obtenidos de la distribución t-student de 1,96.

## 7.2. Recomendaciones

- Se debe refrigerar la micro jeringa en el congelador a 4°C para evitar la formación de burbujas, por la volatilidad del diclorometano.
- Se debe tener material exclusivo para el análisis de hidrocarburos totales de petróleo para evitar contaminación.
- Trabajar en un área exclusiva para las extracciones, la misma que debe ser ventilada, para evitar la inhalación de los gases de extracción.
- Se recomienda que una vez validado el método se siga con las investigaciones para determinación de hidrocarburos en suelos.
- Se debe realizar análisis con otro laboratorio si se desea la validación del método desarrollado, ya que esto permitirá la comprobación de la eficacia del mismo.
- Es importante que se cuente con todo el material necesario para el desarrollo de nuevos métodos en el Laboratorio de Medio Ambiente ya que esto favorecerá a la Carrera de Ingeniería Geográfica y del Medio Ambiente.
- Se recomienda la investigación de nuevos métodos de extracción que pueden ser utilizados en el análisis de hidrocarburos de petróleo que

utilicen menores cantidades de solvente, lo mismo que facilite la concentración del extracto.

- Se debería dar mantenimiento exhaustivo al cromatógrafo Clarus 400 ya que al momento de encender la llama causa molestias, se debe intentar varias veces para lograr encenderlo.
- Para disminuir los errores de tipo aleatorios se debería comprar el auto muestreador, lo que ayudará a eliminar el valor de la incertidumbre expandida o total.
- Es importante que el Laboratorio de Medio Ambiente; adquiera los tubos SPE para extracción de TPH'S ya que esto permitirá el ahorro de solvente y el riesgo del laboratorista de la inhalación de los gases resultados del proceso de concentración en el Kuderna- Danish.

## REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Borrás, G. (2009), *Efectos de los Hidrocarburos en la Salud Humana*, [http://webs.uvigo.es/h06/webh06/tsfp/es-en/efectos\\_es.html](http://webs.uvigo.es/h06/webh06/tsfp/es-en/efectos_es.html)
2. Method EPA 8015, (2002), Characterization of C6 to C35 Petroleum hydrocarbons in environmental samples: Total petroleum hydrocarbons, Aliphatic Hydrocarbons, Aromatic Hydrocarbons, Aproximate Boiling Point/carbon number distribution.
3. Agencia para Sustancias Tóxicas y el Registro de Enfermedades División de Toxicología y Medicina Ambiental ATSDR, Hidrocarburos Totales de Petróleo, (Diciembre 2001), español, [www.atsdr.cdc.gov/es/diciembre2001](http://www.atsdr.cdc.gov/es/diciembre2001).
4. Ortiz, R. (1997), *Aspectos en la contaminación del suelo por hidrocarburos en México*, [www.monografias.com/trabajos7/hime/hime2.shtml](http://www.monografias.com/trabajos7/hime/hime2.shtml)
5. Amazonía en la Red, (2001), *Exploración y derrames Petroleros en la Región Amazónica Ecuatoriana*, [www.library.thinkquest.org/28368/ingles/petroleo.htm#Explotacion%20y%20derrames](http://www.library.thinkquest.org/28368/ingles/petroleo.htm#Explotacion%20y%20derrames).
6. Agency for Toxic Substances and Disease Registry, ATSDR (Septiembre1999), Hidrocarburos de Petróleo, [http://www.atsdr.cdc.gov/es/phs/es\\_phs123.html](http://www.atsdr.cdc.gov/es/phs/es_phs123.html)
7. Rubison K. & Ruvinson J., (Madrid 2000), *Análisis Intrumental, Prentice-Hall*.
8. APHA, (1995), *Standard method for the examination of water and waste water*.
9. Universidad de Barcelona, *Operaciones Básicas en el Laboratorio de Química*. Tipos de Extracciones.

10. Extracción en fase sólida, <http://www.ucm.es/info/ucmp/cont/descargas/documento15962.pdf>
11. Escuela Superior de Salud y Ambiente, Universidad Nacional del Comahue, (octubre 2005), *Evaluación preliminar del estado de contaminación en suelos de la provincia del Neuquén donde se efectúan actividades de explotación hidrocarburífera*, [www.tesis.bioetica.org/pab2.4.htm](http://www.tesis.bioetica.org/pab2.4.htm).
12. Alvarado, B., (octubre 2007) *Cromatografía de Gases y sus Aplicaciones*.
13. James, k. (2010), <http://ull.chemistry.uakron.edu/analytical/GC/>.
14. Revista Iberoamericana de Micología, Rev Iberoam Micol 2004, 21: 103-120.
15. Fingas, M. & Wang, Z. (1997), "*Developments in the analysis of petroleum hydrocarbons in oils, petroleum products and oil-spill-related environmental samples by gas chromatography*". Emergencies Science Division, ETC, Environment Canada, 3439 River Road, Ottawa, Ontario, Canada, K1A 0H3, ), *Journal of Chromatography A*, 774 (1997) 51- 78.
16. Morales de la Cruz, C. (2005), *Desarrollo y Validación prospectiva de una técnica analítica por HPLC*.
17. Castro, M. & Gastón, S. Otros, (Florida 1996), *Validación de métodos analíticos*, Farma Internacional, Scientific Books.
18. US EPA 8015B, (1996), Nonhalogenated organics using GC/FID
19. Weisman, W. (1998), *Analysis of petroleum hydrocarbons in environment media. Vol. 1. Total Petroleum hydrocarbon criteria working group series. Association of American Railroads BP Oil Company. United States Air Force, Armstrong Laboratory, Occupational Medicine Division*.
20. Instituto Mexicano del Petróleo, Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales. Instituto Nacional de Ecología México, *Manual de técnicas de análisis de suelos aplicadas a la remediación de sitios contaminados.*, D. F. pág., 108 – 111

21. Wilson, H.W. & M.S. Klee. (1997), *Analysis of sulfur and phosphorus compounds with a flame photometric detector on the Agilent 6890 Series Gas Chromatograph.*



## **ANEXOS**

**Anexo 1:** Método EPA 8015b

**Anexo 2:** Método EPA 3510c

**Anexo 3:** Mapa de Ubicación de Puntos de muestreo con sus respectivos valores promedios de TPH's

**Anexo 4:** Cromatogramas

**Anexo 5:** Galería de Fotografías

**Anexo 6:** Cuadro de valores de áreas de cromatogramas

**Anexo 7:** Cuadro de Legislación Ecuatoriana