

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO



FACULTAD DE QUÍMICA



DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO

Evaluación de la extracción con CO_2
supercrítico para el análisis de
fosforatos y NO_3^-
en suelos de Jalisco

ROSA MARÍA LÓPEZ ROMERO

T E S I S

Presentada como requisito parcial
para obtener el grado de:

**MAESTRO EN CIENCIAS QUÍMICAS
(QUÍMICA ANALÍTICA)**

Ciudad Universitaria, D. F.,

1 9 9 5

FALLA DE ORIGEN

2
2E7



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

JURADO ASIGNADO:

PRESIDENTE:	Dr. Armando Manjarrez.
VOCAL:	Dra. Ma. Aurora Armenta
SECRETARIO:	Dra. Araceli Peña
PRIMER SUPLENTE:	Dr. Alfonso Vázquez Botello
SEGUNDO SUPLENTE:	M. en C. Francisco Rojo Callejas

SITIO DONDE SE DESARROLLA EL TEMA:

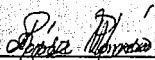
Laboratorio de cromatografía de gases,

Departamento de Química Analítica,

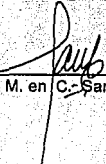
División de Estudios de Posgrado,

Facultad de Química, UNAM.

SUSTENTANTE:


Q.A. Rosa María López Romero

ASESOR:


M. en C. Santiago Capella Vizcaino

Agradezco a Colegio de Postgraduados y a la Dirección de Intercambio Académico de la Universidad Nacional Autónoma de México la beca otorgado para la realización de mis estudios de maestría.

Igualmente agradezco al M. en C. Santiago Capella Vizcaino por todo el apoyo brindado así como al Dr. Jorge Etchevers Barra.

CONTENIDO

	PAGINA	
INDICE DE TABLAS EN EL APENDICE	I	
INDICE DE FIGURAS	III	
INDICE DEL ANEXO	V	
1	RESUMEN	1
2	INTRODUCCIÓN	2
	2.1 Objetivo	3
3	ANTECEDENTES	4
	3.1 Generalidades de fluidos supercríticos.	4
	3.2 Solubilidad de los analitos en fluidos supercríticos.	5
	3.3 Elección del fluido supercrítico.	9
	3.4 Extracción con fluidos supercríticos.	10
	3.5 Tipos de extracciones.	12
	3.6 Optimización de parámetros para EFS.	13
	3.6.1 Presión.	13
	3.6.2 Temperatura.	14
	3.6.3 Modificadores.	15
	3.7 Factores que afectan la extracción con fluidos supercríticos.	16
	3.7.1 Velocidad del fluido supercrítico.	16
	3.7.2 Naturaleza de la matriz.	17
	3.8 Sistema de recolección de analitos.	19
	3.9 Validación de un método cuantitativo de EFS.	23
	3.10 Investigaciones para optimizar la extracción con fluidos supercríticos.	24
	3.11 Aplicaciones de la EFS en el análisis de suelos.	25
4	MATERIALES Y METODOS	27
	4.1 Muestreo.	27

	4.2	Montaje del equipo de extracción con fluidos supercríticos.	27
	4.3	Evaluación de recolección de analitos.	28
	4.4	Optimización del método de recolección para BHC y heptacloro.	29
	4.5	Extracciones por sonicación y Soxhlet.	30
	4.6	Extracciones con fluidos supercríticos.	31
	4.7	Condiciones cromatográficas.	32
5		RESULTADOS Y DISCUSION	33
	5.1	Pruebas preliminares: recolección de analitos en perlas de vidrio silanizadas, C ₁₈ y disolvente.	33
	5.2	Optimización del método de recolección para BHC y Heptacloro.	37
	5.3	Resultados de extracciones preliminares Soxhlet (10 g de muestra).	41
	5.4	Resultados de extracciones preliminares Soxhlet (70 g de muestra).	44
	5.5	Resultados de extracción con fluidos supercríticos.	54
	5.6	Reproducibilidad del estándar interno.	65
	5.7	Análisis con detector de captura de electrones.	66
6		CONCLUSIONES	69
7		BIBLIOGRAFIA	70
8		APENDICE	76
9		ANEXOS	94

INDICE DE TABLAS EN EL APENDICE

TABLAS		PAGINA
1 a 3	Evaluación de la recolección de HAP,s en CH_2Cl_2 con CO_2 a 100 atm y temperatura ambiente.	76, 77
4 a 7	Evaluación de la recolección de HAP,s en perlas de vidrio silanizadas con CO_2 a 100 atm y tem. ambiente.	77, 79
8 a 10	Evaluación de la recolección de HAP,s en columna C_{18} con CO_2 a 100 atm y temperatura ambiente.	79, 80
11 y 12	Evaluación de pérdidas de CH_2Cl_2 con 25 ml de CO_2 a 100 atm y temp. ambiente.	81
13 a 16	Recuperación de BHC y heptacloro por adición a Chromosorb con restrictor de 20 cm.	82, 83
17 y 18	Recuperación de BHC y heptacloro por adición a Chromosorb con restrictor de 40 cm.	84
19	Resultados de extracción Soxhlet al suelo no. 206 con hexano/acetona 1:1 durante 24 hr.	85
20	Resultados de extracción Soxhlet con hexano/ acetona 1:1 durante 24 hr.	85
21	Resultados de extracción Soxhlet en dos suelos con hexano/acetona 1:1 durante 24 hr.	86
22	Resultados de extracción Soxhlet para el sueloRangel con hexano/acetona 1:1 durante 24 hr.	86

23	Resultados de 2 extracciones Soxhlet al suelo 206 con hexano/acetona 1:1.	87
24	Resultados de la extracción con CO ₂ supercrítico a 200 atm y 49 °C.	87
25	Resultados de la extracción con CO ₂ supercrítico a 200 atm y temperaturas 67 y 97 °C.	88
26	Resultados de extracciones con CO ₂ supercrítico a 300 atm y temperaturas diferentes.	88
27	Resultados de 3 extracciones con CO ₂ supercrítico a 350 atm y temperaturas de 50 y 70 °C.	89
28	Resultados de 2 extracciones con CO ₂ supercrítico a 350 atm y 40 °C.	89
29	Resultados de extracciones con CO ₂ supercrítico a 50 °C y presiones de 300 y 350 atm.	90
30	Resultados de 2 extracciones con CO ₂ supercrítico a 400 atm y 50 °C.	90
31	Resultados de 2 extracciones con CO ₂ supercrítico a 400 atm 50 °C y extrac. dinámica 20 y 40 min.	91
32	Resultados de extracciones con CO ₂ supercrítico a 400 atm y 50 °C	91
33	Resultados de extracciones con CO ₂ supercrítico y extracción Soxhlet.	92
34	Resultados de recuperaciones del estándar interno en extracciones con CO ₂ supercrítico.	92
35	Resultados del suelo 206 en extracciones soxhlet y SF con detector de captura de electrones.	93
36	Resultados de concentraciones del suelo 206 en extr. Soxhlet y con CO ₂ supercrítico.	93

INDICE DE FIGURAS

FIGURA		PAGINA
1	Efecto de temperatura y presión sobre el parámetro de solubilidad de Hildebrand (δ) para el CO ₂ supercrítico.	7
2	Esquema de un sistema de extr. con fluidos supercríticos.	10
3	Formas de recolección del extracto en SFE.	33
4	Recuperación de HAP,s en CH ₂ Cl ₂ .	34
5	Recuperación de HAP,s en perlas de vidrio silanizadas.	35
6	Recuperación de HAP,s en fase C ₁₈ .	36
7	Evaluación de tres métodos de recolección de analitos.	37
8	Procedimientos para desfogar el frasco de recolección.	39
9	Recuperación de BHC y heptacloro en función de la longitud del restrictor.	40
10	Estándar de alfa BHC.	41
11	Estándar de beta BHC.	42
12	Estándar de gama BHC (Lindano).	42
13	Estándar de delta BHC.	43
14	Estándar de heptacloro.	43

15	Análisis de 70 g del suelo 206 por Soxhlet. Monitoreo de pesticidas.	45
16	Análisis por SIM del suelo del rancho Rangel.	52
17	Influencia de la temperatura del restrictor en la recuperación de endosulfan sulfato a 200 atm.	55
18	Recuperación de endosulfan sulfato en función de la presión y temperatura.	57
19	Recuperación de endosulfan sulfato en función de la presión a 50 °C.	58
20	Efecto del tiempo de extracción en la recuperación de endosulfan sulfato a 400 atm y 50 °C.	59
21	Recuperación de endosulfan sulfato en función de la longitud del restrictor a 400 atm y 50 °C.	60
22	Comparación de extracción Soxhlet y CO ₂ supercrítico.	61
23	Extracción con CO ₂ supercrítico a 400 atm y 50 °C.	63
24	Extracción en soxlet, suelo 206, análisis por SIM.	64
25	Recup. del estándar interno (aldrin) en función de la presión.	65
26	PLagucidas encontrados en el suelo 206.	68

INDICE DEL ANEXO

ANEXO		PAGINA
A	Equipo de extracción con fluidos supercríticos diseñado para pruebas preliminares.	94
B	Plaguicidas encontrados en el sedimento río Papaloapan (no. 2). Análisis con detector de captura de electrones (Rueda, 1993).	95
C	Monitoreo del blanco de reactivos en la extracción Soxhlet. Análisis por SCAN.	96
D	Estándar de 15 plaguicidas, análisis con detector de captura de electrones.	98
E	Estándar de 15 plaguicidas para cuantificar la extracción Soxhlet y con fluidos supercríticos. Análisis con DCE.	99
F	Cromatograma de extracción con fluidos supercríticos con DCE.	100
G	Cromatograma de extracción en Soxhlet con DCE.	101

1. RESUMEN

La extracción con fluidos supercríticos (EFS) aplicado a la química analítica en años recientes es una alternativa a la extracción con disolventes líquidos, siendo uno de sus usos la extracción de plaguicidas en suelos.

La optimización de un sistema de extracción con fluidos supercríticos está afectada por una serie de variables, como son la presión, la temperatura, el uso de modificadores, las interacciones de los analitos con la matriz y el fluido utilizado, entre otros. Las extracciones reportadas en suelos nativos son muy pocas, ya que trabajar con muestras reales involucra una serie de factores no del todo conocidos a la fecha.

En este trabajo se estudiaron 3 suelos de la zona del Bajío mexicano, se utilizó la extracción Soxhlet como método de referencia para las extracciones con CO_2 supercrítico. Se probaron diferentes presiones y temperaturas, longitud de restrictores, temperatura de calentamiento del restrictor y tres métodos de recolección de analitos. Las mejores condiciones de extracción para el suelo estudiado fueron a 400 atm a 50 °C, con restrictor de 40 cm de longitud y 50 μm de diámetro interno calentado a 180 °C. Se realizó extracción estática y dinámica por 10 y 20 minutos respectivamente, recolectando los plaguicidas en CH_2Cl_2 .

Los plaguicidas identificados con un sistema gases/masas en el suelo estudiado fueron beta endosulfan y endosulfan sulfato. Además se identificó con la utilización de un detector de captura de electrones alfa endosulfan, dieldrin, endrin y pp' DDD en el mismo suelo.

2. INTRODUCCIÓN

Debido al creciente aumento de la población mundial, la producción de alimentos se ha incrementado, lo que ha traído consigo la necesidad de emplear en la mayoría de los casos agroquímicos (fertilizantes, plaguicidas) para poder obtener cosechas adecuadas. Sin embargo, muchos de los pesticidas utilizados tienen persistencia en el suelo.

En nuestro país se sabe poco de la situación actual de los plaguicidas (Vélez, 1992), ya que por una parte, es imprescindible contar con los recursos económicos necesarios para realizar investigación en esta área y por otra, se requiere la formación de investigadores que se dediquen a estudiar y proponer soluciones al complejo problema de contaminación en los suelos.

Los procedimientos para el análisis de plaguicidas involucran la extracción de analitos con cantidades grandes de disolventes que son costosos y cuyo uso está cada vez más restringido debido a su toxicidad y a su potencial carcinogénico. En los últimos años se ha planteado como una alternativa promisoría la extracción en medios supercríticos, pero es aún insuficiente la información sobre su uso en muestras reales donde las interacciones de los analitos con la matriz pueden reducir los rendimientos significativamente.

Es de tal importancia el uso de los fluidos supercríticos que la Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos (EPA) inició un programa de 4 años para desarrollar métodos de EFS, con el objeto de reducir la cantidad de cloruro de metileno utilizado en sus técnicas debido a que este compuesto tienen un riesgo potencial a la salud (Hawthorne, 1990). Recientemente EPA ha aprobado un método de EFS para evaluar hidrocarburos totales del petróleo en suelos (Gere et al, 1993).

2.1 Objetivo

Optimizar y evaluar un procedimiento de extracción con CO_2 supercrítico para la determinación de compuestos organoclorados principalmente heptacloro y BHC en suelos del Bajío mexicano.

3. ANTECEDENTES

3.1 Generalidades de fluidos supercríticos

La preparación de la muestra para un análisis cromatográfico es frecuentemente el aspecto que consume más tiempo en un proceso analítico. Los métodos usados para dicha preparación pueden comprender fraccionamiento, concentración, remoción del disolvente y aislamiento de los componentes de interés (Cortes, 1991). La EPA adoptó dos métodos primarios para la extracción de contaminantes semivolátiles: la extracción por sonicación y la extracción en Soxhlet; desafortunadamente estos métodos consumen mucho tiempo e involucran el uso de volúmenes grandes de disolventes que frecuentemente son tóxicos y/o carcinógenos. Además de ser un problema, su eliminación es costosa; una vez obtenidos los extractos deben ser concentrados. En este proceso el exceso de disolvente es usualmente evaporado en una campana extractora y eliminado a la atmósfera contribuyendo así al problema de la contaminación (Snyder *et al* 1992). Es importante tener presente que el manejo de la muestra después de la extracción es con frecuencia la mayor fuente de error durante la preparación de la muestra (Ashraf-Khorassani, 1992).

Los fluidos supercríticos han mostrado ciertas ventajas sobre los procedimientos tradicionales (Wright, 1987a). A causa de que los fluidos supercríticos son gases en condiciones ambientales, los pasos de concentración después de la EFS son más simples y el paso a las técnicas cromatográficas se facilita enormemente (Hawthorne, 1990).

Estudios recientes han mostrado que la EFS proporciona eficiencias de extracción comparables o mejores que la extracción convencional con Soxhlet y que hay una disminución en el tiempo de extracción en más de una orden de magnitud (Wright, 1987b). Así, una extracción cuantitativa de fluidos supercríticos generalmente se realiza entre 10 y 60 min, mientras que la extracción con disolventes líquidos se encuentra en un intervalo de varias horas o días (Wright, 1987a).

La EFS para fines analíticos de compuestos orgánicos ha llegado a incrementarse en los últimos años a causa de su eficiencia y rapidez. Puede incluso presentar otras ventajas sobre las extracciones clásicas con disolventes, por ejemplo, mejor selectividad, mayor eficiencia y ausencia de disolventes tóxicos, con lo cual se reduce el riesgo a la salud para el personal que realiza este tipo de análisis (Lee, 1990 y Camel, 1993).

Un fluido se dice que está en un estado supercrítico cuando su temperatura y su presión están arriba de sus valores críticos. En estas condiciones no condensa a un líquido, pero a altas presiones puede alcanzar densidades semejantes a las de los líquidos. Desde hace más de 100 años se conoce que un fluido supercrítico puede disolver un analito de baja volatilidad y que la solubilidad es dependiente de la presión. La posibilidad de controlar la solubilidad por medio de la presión y de la temperatura ha originado el uso de procesos de extracción con fluidos supercríticos (Bartle *et al*, 1991).

Los fluidos supercríticos poseen propiedades físico-químicas únicas lo cual los hace atractivos como disolventes de extracción. Su viscosidad es de 5 a 20 veces más baja que la de un líquido ordinario, consecuentemente los coeficientes de difusión de los solutos son más grandes, lo que conduce a extracciones más rápidas y más eficientes. Tienen densidades de 100 a 1000 veces más grandes que los gases, lo cual les da un poder solvante más cercano al de los líquidos (Camel, 1993).

3.2 Solubilidad de los analitos en fluidos supercríticos

Se han hecho pocos intentos a la fecha para aplicar la teoría para optimizar las condiciones de una extracción con fluidos supercríticos o para la predicción de solubilidades de analitos en fluidos supercríticos; así, usualmente el analista selecciona las condiciones de extracción sobre bases empíricas, particularmente cuando se conoce poco acerca de la matriz de la muestra (Lee, 1990). El conocimiento de la solubilidad de sustancias en los fluidos supercríticos es importante y en años recientes se han realizado un gran número de mediciones (Bartle *et al*, 1991). Sin embargo, la disolución de un soluto en un fluido supercrítico es un fenómeno complicado y la predicción teórica del equilibrio de solubilidad es difícil (Mitra and Wilson, 1991)

Se han realizado determinaciones experimentales de la solubilidad de solutos en fluidos supercríticos pasando el fluido a través de una cama de soluto a una condición específica de presión y temperatura. La presión se disminuye, los solutos precipitan y finalmente la solubilidad se calcula gravimétricamente o por recolección del soluto y medición de su cantidad usando cromatografía o espectroscopía. Para estudiar el mecanismo involucrado se miden las solubilidades de compuestos modelo en medios supercríticos, desarrollándose expresiones termodinámicas para su cuantificación (Mitra and Wilson, 1991).

Para predecir datos de solubilidad se han utilizado ecuaciones de estado, particularmente la modificación de Soave de la ecuación de Redlich-Kwong y la ecuación de Peng-Robinson. Otros planteamientos usados para describir la solubilidad incluye el parámetro de solubilidad de Hildebrand (Mitra y Wilson, 1991).

Como ya se mencionó, la fuerza disolvente del fluido supercrítico puede controlarse fácilmente, ya que depende de la presión y de la temperatura usada para la extracción, como se muestra en la figura 1 donde se presenta la dependencia del parámetro de solubilidad de Hildebrand como una función de la temperatura y la presión para el CO₂ supercrítico (Hawthorne, 1990).

De esta gráfica se deduce que a temperatura constante, las presiones más bajas favorecerán la extracción de los analitos menos polares y a presiones más altas favorecerán la extracción de los analitos más polares y de alto peso molecular. Esto permite optimizar una extracción para una clase de compuestos particulares, simplemente cambiando la presión y, en menor medida, la temperatura de la extracción (Hawthorne, 1990).

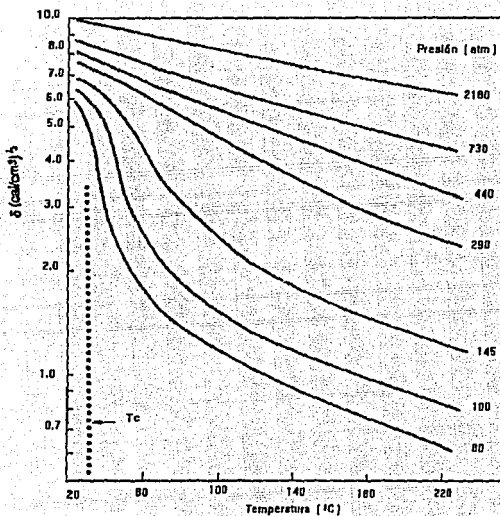


Figura 1. Efecto de temperatura y presión sobre el parámetro de solubilidad de Hildebrand (δ) para el CO_2 supercrítico. T_c = temperatura crítica.

La predicción de las condiciones óptimas de extracción, quizá debido al desarrollo histórico de la EFS, ha sido frecuentemente basada en las condiciones de presión y temperatura donde los analitos de interés tienen su más alta solubilidad en el fluido supercrítico. Esta condición puede ser aproximada si el parámetro de solubilidad del analito es conocido y si ciertas correlaciones son usadas, tales como las propuestas por Giddings *et al* (Hawthorne, 1990):

$$\delta = 1.25 P_c^{1/2} (\rho/\rho_1)$$

donde δ es el parámetro de solubilidad de Hildebrand, P_c es la presión crítica del fluido, ρ es la densidad del fluido supercrítico y ρ_1 es la densidad del fluido en su estado líquido.

Tales correlaciones son útiles cuando el analito de interés representa un gran porcentaje del seno de la muestra; sin embargo, no lo son tanto cuando la concentración de los analitos está en el nivel de trazas. King, citado por Hawthorne (1990) sugiere combinar las condiciones de máxima solubilidad con la presión de umbral (pressure threshold), en ésta los analitos ya son significativamente solubles, para determinar el intervalo de presiones que son aplicables a una extracción particular.

Se han reportado 58 compilaciones de datos de solubilidad para fluidos supercríticos, a partir de los cuales puede determinarse la presión de umbral (Bartle, *et al*, 1991). Tales datos son generalmente obtenidos por mediciones gravimétricas, aunque se ha usado con algo de éxito un procedimiento cromatográfico más rápido (HPLC con tratamiento matemático de resultados). Sin embargo, a la fecha no hay datos de solubilidades de plaguicidas (Bartle, *et al*, 1990).

Los datos de solubilidad y las correlaciones proporcionan información útil para elegir las condiciones iniciales de EFS. Cabe mencionar que, la determinación de las condiciones óptimas de extracción de analitos en el nivel de trazas ha sido en gran extremo empírica. En primer lugar, la EFS involucra la recuperación de una compleja variedad de analitos; en tales casos, las extracciones deben optimizarse por grupos de compuestos, lo que complica la predicción de las mejores condiciones de extracción. Más importante, es que las consideraciones de solubilidad se enfocan a sólo una parte del problema de la extracción y la extracción del analito depende de su distribución entre el fluido supercrítico y la matriz en la que se encuentre.

La comprensión de los mecanismos y las interacciones entre la matriz, los analitos y el fluido supercrítico, así como la cinética que controla estas interacciones, será

importante para el futuro planteamiento de los métodos de EFS analíticos. Los modelos de los mecanismos de extracción podrían ser particularmente útiles para diseñar extracciones usando fluidos supercríticos modificados, dando la posibilidad de seleccionar modificadores que compitan mejor con los analitos por los sitios adsorptivos de la matriz y modificadores que incrementen la solubilidad en el fluido supercrítico (Hawthorne,1990).

3.3 Elección del fluido supercrítico

La elección de un fluido supercrítico depende frecuentemente de consideraciones prácticas como sus propiedades físicas, costo o reactividad (Lee, 1990). El fluido supercrítico más ampliamente usado es el CO₂, por el hecho de ser químicamente inerte, barato, no tóxico, no inflamable, con un punto crítico de 31.1 °C y 72.8 bar y densidad crítica de 0.468 g ml⁻¹ (Camel,1993). El dióxido de carbono a densidades moderadas es considerado un disolvente no polar con un poder disolvente equivalente al del hexano; así las moléculas no polares serán fácilmente solubilizadas en el CO₂ supercrítico y por lo tanto podrán extraerse (Fahmy *et al*,1993). Sin embargo, su gran momento cuadrupolar le permite alguna afinidad con solutos polares y muchas moléculas orgánicas grandes polares son solubles en él (Janda,1993). Como sabemos la polaridad de los analitos de interés cambia por la presencia de grupos funcionales polares y a medida que la molécula es más polar es más difícil que estos analitos lleguen a extraerse con el CO₂ supercrítico puro (Fahmy *et al*, 1993).

Para la extracción de compuestos muy polares podría elegirse un fluido con una fuerza solvatante más alta, pero el uso de fluidos más polares está severamente limitado por consideraciones prácticas. Así, el amoníaco supercrítico es muy atractivo desde el punto de vista de su fuerza disolvente, pero es difícil de bombear ya que tiende a disolver los sellos de las bombas, por otra parte es químicamente reactivo. El metanol supercrítico es también un excelente disolvente pero menos atractivo a causa de su temperatura crítica alta ya que es un líquido en condiciones ambientales, lo cual complica la concentración de la muestra después de la extracción (Hawthorne,1990). Se ha empleado también N₂O, sin embargo por su poder oxidante reacciona con ciertos compuestos, e incluso se han reportado algunas explosiones (Taylor, Raynie,1993).

3.4 Extracción con fluidos supercríticos

La extracción cuantitativa de un contaminante particular de un sólido ambiental puede ser vista como un proceso de tres pasos: primero, el analito debe ser eficiente y rápidamente extraído de la matriz de la muestra al seno del fluido supercrítico; segundo, el analito debe ser sacado de la celda de extracción y finalmente el analito debe ser eficientemente recolectado en una forma que sea compatible con el método usado para el análisis del extracto (Hawthorne *et al*, 1993).

La extracción con fluidos supercríticos es conceptualmente simple de realizar (figura 2). Se usa una bomba para proporcionar una presión conocida del fluido de extracción al recipiente de extracción, el cual por medio de un calentador se mantiene a una temperatura superior a la temperatura crítica del fluido. Durante la extracción los analitos solubles son repartidos del seno de la matriz de la muestra al del fluido supercrítico, enviándose a través de un restrictor de flujo a un sistema recolector (Hawthorne, 1990).

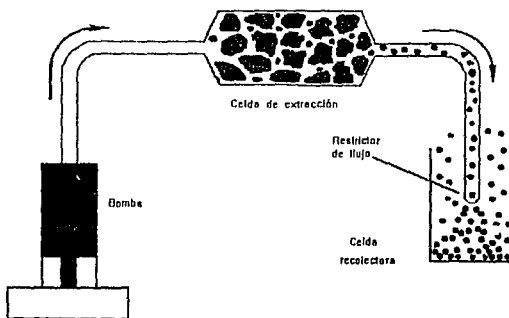


Figura 2. Esquema de un sistema de extracción con fluidos supercríticos

El primer requerimiento y el más obvio de una condición de EFS es la habilidad del fluido de extracción para solvatar a los analitos de interés. Las primeras investigaciones fueron basadas sobre la suposición que el lograr una alta solubilidad en el fluido supercrítico podría ser suficiente para obtener altas eficiencias de extracción de muestras del medio ambiente. Sin embargo, una alta solubilidad en el fluido de extracción generalmente no es una condición suficiente para proporcionar altas eficiencias de extracción y tales resultados claramente demuestran que hay otros factores adicionales en las muestras reales que deben ser considerados (Hawthorne *et al*, 1993).

Desafortunadamente la naturaleza entre las interacciones analito-matriz entre contaminantes y muestras heterogéneas del medio ambiente no son bien entendidas y el potencial para diferentes tipos de interacciones parece casi interminable considerando los componentes individuales. Por ejemplo, los contaminantes de una muestra de suelo pueden estar asociados con una variedad de sitios activos inorgánicos (alúmina, sílica) y orgánicos (húmicos y fúlvicos), cada uno con diferentes fuerzas de enlace. Incluso, la extracción de contaminantes puede ser inhibida por barreras físicas como las localizadas en microporos intersticiales en las partículas del suelo (o entre las capas de arcilla, cubiertas (o asociadas) con material orgánico o con gotitas de agua, que podrían ser extraídos antes que los analitos. Razón por la cual los problemas termodinámicos y cinéticos necesitan ser resueltos para desarrollar un método exitoso. Sin embargo, se ha publicado trabajo suficiente para permitir un método lógico en el desarrollo de un método de EFS (Hawthorne *et al*, 1993).

Para optimizar las condiciones de extracción de fluidos supercríticos para una muestra específica, un químico analítico necesita los siguientes pasos lógicamente ordenados. Primeramente, las soluciones estándares de los analitos deben ser primero depositadas sobre una matriz no adsorbtiva tal como papel filtro, arena o perlas de vidrio desactivadas. Como en este caso no hay interacciones matriz-soluto, este paso proporciona al analista las condiciones mínimas de extracción antes de extraer los solutos de matrices más difíciles. Los efectos de matriz pueden entonces ser estudiados por preparación EFS en una muestra simulada es decir adicionándole concentraciones conocidas de analitos. La muestra real debe ser la última en ser extraída ya que las condiciones de extracción en muestras reales son más severas que en las muestras simuladas.

La revisión de literatura disponible demuestra que las condiciones de EFS con las que han extraído exitosamente un contaminante específico de una muestra del medio ambiente, pueden no dar recuperaciones cuantitativas en una matriz diferente, es importante tener presente que existen inconsistencias similares en los métodos de extracción convencionales con disolventes líquidos, pero rara vez se investigan y discuten (Hawthorne *et al*, 1993).

3.5 Tipos de extracciones

Las extracciones con un fluido supercrítico pueden realizarse de dos maneras: el modo "estático" en el cual se presuriza la celda y se extrae la muestra sin flujo del fluido supercrítico, después de un lapso se abre una válvula de descarga y los analitos se recogen en un vaso recolector. En el modo "dinámico, el fluido supercrítico está constantemente fluyendo a través de la celda, se utiliza un restrictor para mantener la presión en el recipiente de extracción y permitirle al fluido supercrítico despresurizarse en el sistema recolector (Hawthorne, 1990, Wheeler y McNally, 1989). El diámetro interno de los restrictores usados oscila entre 20 y 50 μm . Los restrictores usualmente se calientan para prevenir la obstrucción, cuando los materiales extraídos contienen agua, la cual se congela por efecto de la despresurización del fluido supercrítico (efecto Joule Thompson) y por otra parte previenen la deposición del material extraído en el restrictor.

El modo estático permite una mejor penetración del fluido en la matriz, pero el segundo método (modo dinámico) evita la saturación del fluido de extracción, conduciendo a una recuperación mejor y tiempos de extracción más cortos. En algunos casos se combinan ambos modos: un período de tiempo corto para el equilibrio estático, antes de permitir que la muestra sea dinámicamente extraída (Camel, 1993).

A la fecha los criterios específicos para seleccionar modos estáticos o dinámicos no son aún claros, y ambos métodos han sido usados para realizar extracciones con fluidos supercríticos de una gran variedad de muestras (Hawthorne, 1990). Los partidarios del método estático consideran que el contacto más largo de muestra/disolvente hincha la matriz y mejora la penetración del extractante en los intersticios, incrementando así la

recuperación; los que prefieren extracción dinámica argumentan que la exposición continua del analito al disolvente puro favorece el desplazamiento del equilibrio de partición hacia la fase móvil.

Por otra parte, la extracción con fluidos supercríticos se realiza de dos maneras: fuera de línea y en línea (Hawthorne,1990). La primera es más simple de realizar y proporciona un extracto disponible para otros análisis, mientras que la segunda consiste en tener un sistema de extracción acoplado al cromatográfico con lo cual se logra la máxima exactitud y sensibilidad minimizando pérdidas (Mulcahey *et al*,1991).

3.6 Optimización de parámetros para EFS

Para realizar la extracción de un soluto específico de una matriz es necesario la optimización de varios parámetros, principalmente la presión, temperatura, el tiempo de extracción y en ocasiones la presencia de un modificador (Camel,1993).

3.6.1 Presión

Respecto a la influencia de la presión, 4 parámetros son muy útiles para entender la conducta del soluto en el medio supercrítico y en la consecuente extracción exitosa con dicho método (King,1989):

(i) la miscibilidad o presión de umbral (Giddings *et al*,1969), corresponde a la presión en la cual el soluto inicia su reparto en el fluido supercrítico.

(ii) la presión en la cual el soluto alcanza su máxima solubilidad.

(iii) el intervalo de fraccionamiento de la presión, que está comprendido entre la miscibilidad y la presión de solubilidad máxima (en este intervalo es posible extraer selectivamente un soluto eligiendo la presión correcta); y

(iv) el conocimiento de las propiedades físicas del soluto, particularmente su punto de fusión, de hecho, la mayoría de los solutos se disuelven mejor cuando están en su estado líquido (Lee, 1990 y Camel, 1993).

La presión del fluido es el principal parámetro que influye en la recuperación de la extracción. Al elevar la presión a una temperatura dada se incrementa la densidad de fluido, lo cual significa una mejor solubilidad de los solutos (McNally y Wheeler, 1988). Sin embargo, una presión alta no siempre es recomendable para matrices complejas, debido a la más alta solubilidad de los solutos cuando la presión es elevada; la extracción puede ser poco selectiva y, consecuentemente, su análisis puede ser muy difícil. Por otra parte, debe tenerse en mente que la presencia de otros solutos coextraídos puede cambiar dramáticamente el nivel de solubilidad del soluto de interés (Camel, 1993).

3.6.2 Temperatura

Respecto a la influencia de la temperatura, se sabe que a una presión constante la densidad del CO₂ disminuye cuando la temperatura aumenta, este efecto llega a ser más pronunciado por el incremento en la compresibilidad. La temperatura afecta también la volatilidad del soluto, por lo tanto el efecto de la elevación de la temperatura es difícil de predecir a causa de su dependencia de la naturaleza de la muestra. Para un soluto no volátil, una temperatura más alta podría resultar en una baja recuperación de la extracción debido a una disminución en la solubilidad (Camel, 1993).

Langenfeld y colaboradores (1993) publicaron en un artículo en el que se estudia el efecto de la temperatura y la presión de los fluidos supercríticos sobre las eficiencias de extracción de los hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAP,s) y bifenilos policlorados (BPC,s), sus resultados demuestran que la temperatura es más importante que la presión para lograr eficiencias altas de extracción cuando las interacciones entre las moléculas contaminantes y las matrices de la muestra son fuertes e indican que incrementando la temperatura de la EFS puede ser una alternativa útil a la adición de modificadores orgánicos para lograr buenas eficiencias de extracción de muestras ambientales.

3.6.3 Modificadores

La baja polaridad del CO_2 limita su uso a la extracción de solutos apolares o moderadamente polares. De tal manera que una pequeña cantidad de un disolvente polar orgánico como metanol, acetonitrilo, agua, etc., llamado modificador, es usualmente adicionado a un fluido supercrítico para la extracción de solutos más polares. Su función es incrementar el poder solvante del fluido y romper las interacciones que existen entre el analito y la matriz (Taylor, 1993 y Luque de Castro, 1993). Desde luego que la naturaleza del modificador depende de la naturaleza del soluto que va a ser extraído (Camel, 1993). De acuerdo a Crowther y Henion, (1985) un punto de partida razonable consiste en seleccionar un modificador que sea un buen disolvente en su estado líquido para el análisis de interés. Debe considerarse que la adición de grandes cantidades de modificador cambia considerablemente los parámetros críticos de la mezcla.

Los modificadores pueden ser introducidos como fluidos mezclados en el sistema de bombeo con una segunda bomba y una cámara de mezclado (Camel, 1993) o simplemente inyectando el modificador como un líquido en la muestra antes de la extracción (Wheeler y McNally, 1989. Janda *et al*, 1993), pero una limitación de éste es que el cosolvente es efectivo solamente por un tiempo corto hasta que es removido con el CO_2 . Solamente se pueden aplicar cantidades pequeñas, ya que volúmenes grandes pueden resultar en un sistema de dos fases y el cosolvente líquido puede salir de la celda de extracción. Reindl y Hofer (1994) utilizan entre 200 y 400 μl en los suelos nativos estudiados. Por otra parte la segunda opción es menos útil debido a que conduce a gradientes de concentración dentro de la matriz. Otra alternativa es utilizar un cilindro de CO_2 modificado, sin embargo es más caro y como el tanque se va vaciando, el contenido del modificador tiende a incrementarse (Camel, 1993).

La mayoría de las publicaciones reportan la adición del modificador a la bomba, cuya concentración oscila de 3 a 5 %. Actualmente algunos equipos se venden con un cilindro de premezclado; por sistemas independientes se envían el fluido y el modificador, lo que permite un mejor control de la concentración y facilita la preparación de mezclas deseadas y el uso de modificadores diferentes.

Aunque el metano es el modificador de más uso, han sido usados una variedad de compuestos orgánicos. Pero la selección de éstos y sus concentraciones ha sido empírica a causa de que existen muy pocos datos de solubilidad para fluidos modificados. Por otra parte, las interacciones competitivas entre el fluido supercrítico modificado y los analitos de interés con los sitios adsorptivos en el seno de la matriz son pobremente entendidos. Por ello, hasta que los mecanismos de extracción que controlan la distribución de los analitos entre la matriz y el seno del fluido supercrítico sean mejor entendidos, la optimización de los métodos de EFS usando fluidos modificados frecuentemente requerirá modificadores de prueba con diferentes polaridades y concentraciones así como la determinación de las condiciones óptimas de temperatura y presión.

3.7 Factores que afectan la extracción con fluidos supercríticos

3.7.1 Velocidad del fluido supercrítico

Es importante tener presente que la velocidad del fluido supercrítico fluyendo a través de la celda tiene una fuerte influencia en la eficiencia de extracción. A menor velocidad del fluido mayor penetración en la matriz. La velocidad del fluido puede ser expresada por la velocidad lineal, la cual es dependiente del flujo y de la geometría de la celda (Camel, 1993).

El caudal puede cambiarse fácilmente con restrictores con diferente diámetro interno o longitud. La disminución del flujo resulta en una velocidad lineal más baja y usualmente en incremento de las recuperaciones de extracción, como resultado de un mejor contacto entre el fluido supercrítico y la muestra. Sin embargo, esto ocasiona más tiempo de extracción (Hawthorne *et al*, 1991). En el otro extremo, los flujos altos pueden resultar en una disminución de la recuperación ya sea por inducción de una calda de presión elevada a través de la celda de extracción (McNally y Wheeler, 1988) o por incremento de pérdida del analito durante la descompresión del fluido. Así, el flujo óptimo debe encontrarse experimentalmente (Camel, 1993).

La velocidad lineal del fluido puede cambiarse usando varias celdas que tengan el mismo volumen pero diferentes diámetros internos. Con celdas cortas y anchas se esperan eficiencias altas de extracción, ya que la velocidad lineal del fluido disminuye cuando el diámetro de la celda se incrementa. En algunos casos particulares, la recuperación de la extracción puede mejorarse disminuyendo el diámetro de la celda de extracción (i.e. por incremento de la velocidad lineal). Este resultado puede ser explicado por una mejor transferencia de masa dentro de la celda debido a un incremento en la turbulencia y dispersión del fluido dentro de la celda de extracción (Camel, 1993). Así, para reducir el volumen vacío de la celda, una alternativa útil es colocar a la entrada de la celda material inerte, como arena limpia u otro material (Hawthorne *et al*, 1993).

La orientación de la celda también afecta los resultados de la extracción. Hawthorne y colaboradores (1993) estudiaron la remoción de un alcano de una muestra de arena, colocando 2 g en una celda de extracción de 10 ml. Observaron que cuando la celda se colocó verticalmente y el fluido se bombeó de la parte superior hacia la inferior, se recuperó más del 95 % del tridecano con 3 ml de CO₂; en contraste, cuando la extracción fue realizada con el flujo del fluido de abajo hacia arriba la recuperación del tridecano se retardó por 10 min; similarmente, el diseño de flujo más inadecuado es cuando la celda se coloca en posición horizontal, lo que también resulta en una recuperación mucho más lenta del tridecano que cuando se usa una configuración vertical en dirección del flujo. Sin embargo, cuando las celdas de extracción se llenan totalmente, el efecto de la orientación y la forma de la celda es mínimo.

3.7.2 Naturaleza de la matriz

Respecto a la influencia de la naturaleza de la matriz, factores tales como: tamaño de la partícula, forma, área de la superficie, porosidad, humedad, tiempo de contacto del analito con la matriz y la naturaleza química de la matriz afectan los resultados analíticos. De la misma manera las interacciones entre solutos y los sitios activos de la matriz pueden requerir condiciones rigurosas de extracción (Camel, 1993).

Con frecuencia las muestras sólidas deben triturarse antes e hacer la extracción, debido a que un incremento en el área superficial expuesta al fluido supercrítico permite una mejor difusión del soluto entre éste y la matriz de la muestra. Sin embargo, deben tomarse en cuenta ciertas precauciones para evitar caídas de presión grandes en la celda de extracción, debido a la compactación de la muestra; así, no es recomendable un triturado fino de la muestra, ya que ocasiona el taponamiento de la celda de extracción; la adición de pequeñas piezas de papel filtro, lana de vidrio o de perlas de vidrio en ambos extremos de la celda, impide que las partículas sean sacadas del recipiente de extracción (Camel, 1993).

La presencia de agua afecta la eficiencia de extracción dependiendo de la naturaleza del soluto (Camel, 1993). El agua usualmente obstaculiza la extracción de compuestos apolares porque reviste la superficie de la matriz y actúa como una barrera a la penetración del CO₂ (Hawthorne *et al.*, 1992). En contraste, el agua ayuda a acarrear compuestos polares en solución debido a la competencia por los sitios activos de la matriz. La humedad podría también tener una influencia sobre la acción de un modificador (Camel, 1993).

La manera en la cual los analitos son incorporados dentro de la matriz es de primordial importancia. Con mayor tiempo de permanencia del soluto en el sólido, se favorece su difusión a través de los poros y la posibilidad de reacción con los sitios activos contenidos en el interior. Un soluto recientemente adicionado reside superficialmente en la matriz y es, por lo tanto, más fácilmente extraído por el fluido supercrítico; además, si el disolvente adicionado no es removido antes de la extracción (para minimizar la pérdida de volátiles) podría actuar como un modificador y afectar las condiciones de extracción.

En muestras reales contaminadas, pueden producirse reacciones químicas entre el soluto y otros materiales o sitios activos de la matriz, resultando en productos que podrían ser más difíciles de extraer. Por ejemplo, el paratión (plaguicida organofosforado) tiende a formar productos tóxicos tales como el 4-nitrofenol, aminoparación y dielil tiosfato (Wong *et al.*, 1991). En suma, algunos solutos difícilmente son extraídos de muestras reales contaminadas a causa de asociaciones entre las moléculas del soluto y los componentes de la matriz (Camel, 1993).

Respecto a la influencia de la naturaleza química de la matriz, la extracción de un analito depende de su distribución entre el fluido supercrítico y los sitios adsorptivos de la matriz de la muestra. El porcentaje de recuperación es por lo tanto una función tanto de la naturaleza química del soluto como de la matriz misma. Un sólido con numerosos sitios activos adsorberá solutos altamente polares resultando en un rendimiento de extracción bajo (Camel, 1993). Por otra parte algunas matrices son particularmente difíciles de extraer (Hawthorne y Miller, 1987).

3.8 Sistema de recolección de analitos

La recolección de los analitos es una etapa primordial para la optimización de los métodos de extracción con fluidos supercríticos, ya que de no tener optimizado este paso puede asegurarse erróneamente que la extracción es ineficiente. Una vez que los compuestos de interés se encuentran en el fluido de extracción supercrítico, el siguiente paso es aislarlos para análisis posteriores. Lo cual generalmente se realiza por descompresión del fluido a través de un restrictor (Camel, 1993).

Restrictores

Un aspecto de vital importancia es el de los restrictores. Ya que la descompresión toma lugar a través de una gran distancia, algunos analitos pueden precipitar en el tubo restrictor (en la punta y dentro del tubo), sobre todo en matrices que contienen concentraciones altas de agua o algunos componentes de dicha matriz que son extractables (Burford *et al*, 1992). Esto ocasiona que el restrictor se tape parcial o totalmente produciendo recuperaciones incompletas o reproducibilidades pobres. Al controlar la temperatura del tubo restrictor se reduce el taponamiento para algunos tipos de muestras (Porter *et al*, 1992).

Burford y colaboradores (1992) publicaron un estudio en el cual se comparan tres métodos de calentamiento de restrictores lineales; calentando el restrictor a 50 °C se obtienen pobres eficiencias de recolección (30 - 65 %). Estas mejoraron de 80 a 90 % al atomizar un disolvente con el efluente del restrictor. El tercer método consistió en calentar el restrictor excepto los últimos 3 cm. Dependiendo del tipo de muestra, las temperaturas del restrictor oscilaron de 50 a 200 °C y las eficiencias se incrementaron de 90 - 100 % para HAP.s.

Porter *et al* (1992), presentan otra publicación en la cual se estudia la optimización de restrictores y la recolección en una extracción con fluidos supercríticos fuera de línea empleando colección en disolvente. Concluyen que calentando todo el restrictor (50 - 250 °C) se eliminó el problema del taponamiento del restrictor para los analitos estudiados (BPC,s y HAP,s). Utilizan un diseño diferente para calentar todo el restrictor.

Reindl y Hofer (1994) publican un trabajo en el cual se muestra el efecto de utilizar diferentes temperaturas de calentamiento del restrictor 130, 200 y 250 °C, obtuvieron mejores resultados a 200 °C y optaron por realizar sus experimentos a 180 °C.

Recolección de analitos

La gran mayoría de las aplicaciones se han realizado fuera de línea, recolectando los analitos ya sea en una trampa criogénica o adsorbente o más comúnmente en un pequeño volumen de disolvente líquido. Este último modo de recolección es un camino mecánicamente simple para atrapar a un analito. El restrictor se coloca en un vial con disolvente, el analito se disuelve en el disolvente mientras que el fluido descomprimido se elimina a la atmósfera. Naturalmente que el disolvente debe ser compatible con los analitos de interés y con el fluido de extracción cuando se emplean modificadores (Mulcahey *et al*, 1991).

Por otra parte las eficiencias de recolección, particularmente de los componentes más volátiles, obtenidas usando el método de recolección en disolvente, pueden afectarse por la identidad del disolvente de recolección, el volumen y la temperatura, el vial de recolección, el flujo del fluido de extracción y el uso de calentadores del restrictor. Es importante considerar que con frecuencia, en forma equivocada, las bajas eficiencias se atribuyen más a una extracción pobre que a la eficiencia de recolección (Hawthorne *et al*, 1993).

Cada método de recolección depende de la despresurización del fluido supercrítico comprimido en condiciones ambientales con una coincidente deposición de los analitos en el medio de recolección. Sin embargo, ya que por ejemplo un flujo de 1 ml/min de CO₂ supercrítico se despresuriza en aproximadamente 500 ml/min de CO₂ gaseoso, el paso de

recolección llega a ser un problema esencial en la captura eficiente de los analitos con un flujo alto de gas (Hawthorne *et al*, 1993). Debido a que este gran volumen de gas pueden causar un violento burbujeo del disolvente de recolección y conducir a pérdida de los analitos (Mulcahey *et al*, 1991). Sin embargo, lo anterior puede solucionarse por aumento de la longitud del restrictor o por disminución del diámetro interno del mismo. Actualmente el problema de los restrictores se ha solucionado utilizando restrictores de acero inoxidable cuyo diámetro se ajusta de acuerdo al experimento (Luque de Castro, 1993). De esta forma, las eficiencias de recolección pueden ser muy variables dependiendo del método usado para recolectar los analitos extraídos. Obviamente cada método de recolección tiene mecanismos de pérdida potenciales diferentes asociados con el fenómeno usado para atraparlos (Hawthorne *et al*, 1993).

En cuanto a recolecciones en trampas frías, el medio de recolección es una superficie sólida enfriada criogénicamente. Las superficies sólidas que han sido empleadas son viales de vidrio, perlas de vidrio y de acero inoxidable. Los analitos son atrapados sobre la superficie fría y después son eluidos para su posterior análisis con disolvente adecuado (Mulchaney *et al*, 1991).

Otro sistema de recolección usado en una EFS dinámica fuera de línea es un adsorbente en fase sólida. La trampa se enfría criogénicamente y los analitos atrapados se eluyen con un disolvente. Este material empacado proporciona dos mecanismos de recolección: criogénico y absorción. Mulchaney y colaboradores en 1991, evaluaron cartuchos de extracción en fase sólida en una extracción con fluidos supercríticos fuera de línea. Se estudiaron fases normales (diol, sílica, ciano y amino) y reversas (C₁₈, C₈ y fenil) con hidrocarburos, fenoles y una mezcla (analitos de polaridad variable) para evaluar la eficiencia de recolección. Estas trampas fueron usadas para la extracción de BPC,s de sedimentos de río. Sin embargo, concluyeron que encontrar una fase sólida que atrape eficientemente analitos de polaridad y presión de vapor variable es difícil. El hecho de obtener recuperaciones mayores de 90 % de la mezcla de prueba es alentador, sin embargo las muestras reales contienen múltiples componentes extraíbles y no es factible cambiar disolventes de lavado y trampas para cada componente.

La retención cuantitativa sobre trampas adsorbentes es particularmente difícil cuando se adicionan modificadores orgánicos al CO_2 , por ejemplo el metanol es un disolvente en la despresurización y puede él mismo eluir a los analitos de interés de la resina adsorbente durante el paso de la extracción con el fluido supercrítico, resultando en recuperaciones bajas (Hawthorne *et al*, 1993).

En general para realizar la evaluación del método de recolección se adicionan estándares a matrices inertes y se lleva a cabo la extracción con el fluido supercrítico. Estos estudios de recuperación de adiciones además de ayudar en el desarrollo de un sistema de recolección eficiente, determinan si el analito de interés tiene suficiente solubilidad para extraerse bajo las condiciones de EFS seleccionadas inicialmente (Hawthorne *et al*, 1993). Sin embargo, trabajando con muestras reales las condiciones seleccionadas inicialmente no siempre extraen cuantitativamente a los analitos de interés y es necesario modificar las condiciones de extracción.

Ashraf-Khorassani *et al* en 1992 evaluaron los porcentajes de recuperación de hidrocarburos alifáticos, HAP,s y pesticidas usando tres diferentes métodos de recolección fuera de línea, en esta investigación se estudió también el efecto del flujo de CO_2 a través de la celda de extracción, la temperatura de la trampa criogénica y la elección del disolvente de lavado sobre la eficiencia de recolección de los analitos de interés. Las extracciones se realizaron en un recipiente de extracción de 1 ml. Trabajaron a 450 atm y 100 °C con extracción dinámica por 30 min. Utilizaron 2 tipos de restrictores; lineal de sílice fundida y un restrictor (DuraFlow, cuya patente está pendiente) de acero inoxidable de 1/16 de pulgada, el cual tiene una muesca en el restrictor para disminuir el flujo del fluido. La longitud de ambos fue de 30 cm y 50 μm de d.i. con flujos aproximados de 2 ml/min. Sin embargo, no discuten los resultados en función de los restrictores.

Cada mezcla estándar fue colocada en la celda de extracción vacía para eliminar el efecto de matriz. Reportaron eficiencias pobres de recolección cuando se recolecta la muestra en un vial vacío, por otra parte se obtienen altas eficiencias de recolección (> 90 %) de estándares en un vial con disolvente, solamente cuando emplea flujos de CO_2 menores a 1 ml/min. Al efectuar la recolección en un frasco enfriado criogénicamente, lleno de perlas de vidrio silanizadas (80-100 mallas) obtienen una eficiencia > al 90 %. Observaron que el

flujo del CO_2 no tiene ningún efecto sobre la eficiencia de recolección. Argumentan que el alto porcentaje de recuperación es debido a dos factores: a) congelamiento de los analitos en la trampa por efecto de la descompresión del fluido y b) retención de los analitos sobre las perlas silanizadas.

Evaluaron también 8 plaguicidas, recolectándolos en trampas enfriadas criogénicamente. La recolección se realizó a $-30\text{ }^\circ\text{C}$, y la elución con 2 ml de metanol a $40\text{ }^\circ\text{C}$. Las recuperaciones para la mayoría fueron mayores a 85 %, sin embargo para el heptacloro fue de 75 %. Estos resultados se atribuyeron a que las perlas de vidrio silanizadas no estaban completamente desactivadas, las cuales tienen sitios activos que adsorben los analitos.

3.9 Validación de un método cuantitativo de EFS

El desarrollo y validación de un método de extracción cuantitativa para muestras del medio ambiente está generalmente basado sobre uno de los tres siguientes métodos dependiendo de que las suposiciones de cada uno puedan o no ser válidas:

i) Determinación de la recuperación de concentraciones conocidas de compuestos adicionados a la matriz de la muestra. Este enfoque asume que los analitos adicionados se conducen de manera semejante a los analitos nativos durante la extracción y también que en la adición de analitos no hay pérdida antes de la extracción por procesos tales como la volatilización.

ii) Por comparación de las recuperaciones de los analitos nativos con aquellas logradas usando métodos de extracciones aceptados convencionalmente (incluyendo el uso de materiales de referencia estándar). En este enfoque se asume que el método convencional es cuantitativamente eficiente.

iii) Efectuando múltiples extracciones secuenciales de la misma muestra. Se asume que la extracción final remueve todos los analitos nativos y que los analitos adicionados no

están asociados con la muestra por interacciones fuertes como los analitos que fueron ya extrahidos.

Los tres enfoques han sido usados para desarrollar y para intentar validar la EFS. Quizá la técnica menos confiable para validar las habilidades cuantitativas de un método de extracción es el uso de recuperaciones de adiciones, simplemente porque los analitos adicionados no son expuestos o desarrollados con los sitios activos de la matriz como lo son los contaminantes nativos (Hawthorne *et al*, 1993).

Burford *et al* (1993), publicaron un estudio en el cual se demuestra que los métodos de adición comunmente usados no son válidos para determinar condiciones de extracción cuantitativas de matrices heterogéneas usando EFS o extracciones convencionales con disolventes. Se probaron 4 procedimientos de adición de analitos, pero ninguno representa los analitos nativos, los cuales estuvieron más fuertemente enlazados en las matrices ambientales que los analitos adicionados.

3.10 Investigaciones para optimizar la EFS

Varios trabajos se han publicado relativos a la optimización de la extracción de diversos contaminantes ambientales. Por ejemplo, Ho y Tang (1992), trabajaron con 29 compuestos (HAP,s y pesticidas organoclorados). Adicionaron 25 µgde cada compuesto a un cartucho de extracción en fase sólida, C₁₈ de 500 mg. Se realizó una extracción dinámica, empleando restrictor de 40 cm y 50 µm de d.i., la recolección se realizó en un vial de 15 cm con 2 ml de acetona. Se utilizó un diseño factorial estadístico de 2³ con el objeto de estudiar la importancia relativa de tres variables: presión, temperatura y tiempo de extracción. Las presiones probadas fueron 100, 200 y 300 atm. Temperaturas de 40, 60 y 80 °C y tiempos de extracción de 10, 20 y 40 min.

En esta investigación se demuestra que la presión tiene un efecto estadísticamente significativo sobre la recuperación de todos los compuestos estudiados. La siguiente variable de más influencia es el tiempo de extracción, el cual tiene también un efecto

estadísticamente significativo sobre la recuperación de algunos de los HAP,s, resultando ser la temperatura el factor de menor influencia. Sin embargo los autores concluyen que en condiciones de presión moderada 350 a 400 atm y tiempo de extracción de 25 a 35 minutos la mayoría de los analitos fueron cuantitativamente recuperados en un cartucho C₁₈ y para los analitos que no fueron extractados eficientemente se adicionó metanol como modificador, incrementándose las recuperaciones.

3.11 Aplicaciones de la EFS en el análisis de suelos

Brady *et al* (1987), utilizó el CO₂ supercrítico para extraer BCl_s, DDT y Toxafeno de suelos y subsuelos contaminados. Su grupo de trabajo utilizó extracción dinámica a 100 atm y 40 °C empleando 10 g de suelos. La primera prueba que realizaron fue para demostrar la efectividad de la extracción con el CO₂ supercrítico para lo cual analizaron suelos nativos que tenían 1000 y 400 ppm de DDT y toxafeno, analizados por métodos EPA. De ellos se recuperó el 70 % del DDT y el 75 % del toxafeno. Cuantificaron también la extracción adicionando estándares a un subsuelo, obteniendo valores similares de recuperación. Realizaron otras pruebas como la evaluación del contenido de agua en el suelo, extrayendo tanto suelos secos como húmedos (preparado en laboratorio con 20 % de humedad). Al comparar las extracciones es evidente que en los suelos húmedos hay una velocidad de remoción más lenta de los contaminantes, pero los niveles finales de dichos compuestos fueron comparables a los obtenidos en extracciones con suelo seco.

Continuando con el trabajo de Brady, Dooley *et al* (1987) publicaron una investigación en la cual prueban tolueno y metanol como modificadores para el suelo contaminado con 1000 ppm de DDT. La eficiencia de la extracción mostró ser una función tanto del modificador como de la temperatura de extracción. Se utilizó una mezcla de CO₂ supercrítico con 5 % de tolueno, pero no mostró mejora respecto al CO₂ sólo y únicamente el 70 % del DDT fue removido en 10 minutos. Sin embargo, una remoción casi completa (95%) del DDT se obtuvo empleando como modificador metanol al 5 % a 40 °C en 5 minutos.

Janda, (1993) cita el trabajo realizado por Schafer en 1988 en el cual 20 pesticidas organoclorados fueron adicionados a una matriz de sedimentos. Se emplearon de 1 a 10 g de muestra, se efectuó la extracción a 60 °C y 250 atm, 5 minutos en modo estático y 29 minutos dinámico, a un flujo de 0,5 cm³/min. Se utilizó metanol como modificador de la polaridad. Las recuperaciones fueron mayores a 90 %.

En 1992, Snyder trabajó varios suelos: arenoso, suelo superficial, arcilloso y sedimento de río. Realizó extracciones con CO₂ supercrítico a 350 atm y 50 °C, con metanol al 3 % , empleó extracción estática por 10 min y dinámica por 20 min, y restrictor de 50 µm, adició 12 pesticidas organoclorados y organofosforados a los suelos, cuyas concentraciones oscilaban de 30 - 76 ng/g para los organoclorados y de 36 - 520 ng/g para los organofosforados. Las recuperaciones promedio totales de los doce pesticidas adicionados para suelo arenoso, superficial, arcilloso y sedimento de río fueron 87 %, 98 %, 105 % y 85 %, respectivamente con una precisión del 5 %.

Un suelo fue fortificado y extraído por tres métodos, las recuperaciones fueron las siguientes; sonicación 94.7 %, soxhlet 93.1 % y SFE 91.6 %. Reportan haber trabajado también con tres suelos nativos, realizando extracción por sonicación y con fluidos supercríticos obteniendo precisiones comparables y recuperaciones muy cercanas al método empleado como referencia. En uno de los suelos nativos cuantificaron 14 ng/g de Heptacloro por EFS con una desviación estándar relativa (DER) de 40 % (para evaluar la recuperación emplearon como estándares TCMX (2,4,5,6 - tetracloro - meta - xileno) y DCB (dibutil clorendato) obteniendo 76 % y 90 % con DSRs de 14 y 5.9 % respectivamente) y por el método de sonicación 16 ng/g con una DSR de 17 % (la recuperación del TCMX fue de 68 % y DCB de 130 % y DSRs de 11 y 6.9 %).

4. MATERIALES Y METODOS

4.1 Muestreo

El presente estudio se realizó empleando suelos de la zona del Bajío, por ser una de las que han recibido una gran cantidad de pesticidas debido a la agricultura intensiva desarrollada en la región. La información de la situación de los plaguicidas en la zona fue proporcionada por las autoridades técnicas de Sanidad Vegetal de la Secretaría de Agricultura y Recursos Hidráulicos (Martínez, 1992). El cultivo de la papa es uno de los que más problemas de plagas presenta, los insecticidas utilizados son: furadan, heptacloro, tecto 60 y BHC. Para el presente estudio se seleccionaron los compuestos organoclorados debido a su persistencia y toxicidad. Así, el 95 % de BHC tarda en degradarse 6.5 años y el heptacloro 3.5 años. El primero tiene una LD₅₀ oral de 190 mg/kg en ratas y el segundo de 100 mg/kg (Hayes and Laws, 1991).

Las muestras de suelo se tomaron de dos parcelas cercanas a León, Guanajuato en las cuales se aplicaron estos compuestos hace 2 años. El muestreo se efectuó en el mes de diciembre (1993) en terrenos recién cosechados, se realizó al azar, a una profundidad de 10 cm. Los suelos se secaron a la sombra y a temperatura ambiente. Tamizados en malla 20 (0.8 mm) se guardaron en frascos de vidrio. Se realizaron análisis fisicoquímicos en el laboratorio de fertilidad de suelos del Colegio de Postgraduados. Los números dados a los suelos corresponden a su registro en el laboratorio. Posteriormente se recibió una tercer muestra procedente del rancho Rangel.

4.2 Montaje del equipo de extracción con fluidos supercríticos para pruebas de recolección de analitos

La primera parte de esta investigación fue realizar el montaje de un equipo de extracción para fluidos supercríticos; se empleó una bomba de cromatografía de líquidos (VARIAN modelo 8500), la cual proporcionaría la presión deseada para llegar al estado de fluido supercrítico. A la salida de la misma se colocó una válvula de acero

inoxidable (SGE, SMOV - 1), para controlar el flujo del CO_2 y para despresurizar el sistema en caso de existir algún problema.

La celda de extracción para las pruebas preliminares fue de acero inoxidable (UPCHURCH SCIENTIFIC, C-130) con capacidad de 25 mg a la cual se conectó un restrictor de sílice fundida de 50 micras de diámetro interno, el cual permitía mantener la presión dentro de la celda y despresurizar el fluido supercrítico en el medio recolector. El restrictor se calentó para evitar el taponamiento por efecto de la precipitación de los analitos, el sistema consistía de un tubo de acero inoxidable de 3 mm de diámetro externo, cubierto con una resistencia, utilizando en dos puntos del tubo 2 sensores para conocer la temperatura proporcionada al restrictor ($60 \pm 2^\circ \text{C}$).

El restrictor utilizado fue 20 cm de largo. En el diseño original se utilizó también tubo de PEEK (mezcla de polímeros); sin embargo, tiene la desventaja de deformarse y extrangularse a medida que se aprietan más los conectores para evitar fugas. También se emplearon tubos de acero inoxidable con férulas de PEEK, las cuales presentan el mismo problema que los tubos, por lo que se emplearon férulas de vespel - grafito. En el anexo A se muestra el montaje del equipo de extracción con fluidos supercríticos empleado para las pruebas preliminares.

4.3 Evaluación de recolección de analitos

Las pruebas se realizaron empleando Chromosorb (Supelco) de 80 - 100 mallas (como soporte) tratado con disolventes. Llena la celda de extracción, se adicionaron 40 μl de una mezcla de tres HAP,s (Aldrich, Chem) de 200 ppm. Para evaluar la recuperación de recolección de los analitos se empleó CO_2 a 100 atm y temperatura ambiente; esto es, condiciones subcríticas. Sin embargo, se asume que no hay interacciones con la matriz, las condiciones anteriores resultaban adecuadas para evaluar la eficiencia de recolección de estos analitos.

Se probaron diferentes métodos de recolección de los analitos: disolvente, perlas de vidrio silanizadas (enfriadas a - 40 ° C con alcohol isopropílico (G.T.) - hielo seco) y fase sólida (C18).

El proceso de silanizado de las perlas de vidrio se realizó empleando como reactivo silanizante una mezcla de hexametildisilazano (HMDS) , trimetilclorosilano (TMCS) y piridina (Alltech Associates,Inc) en relación 4:1:5. Las perlas de vidrio a silanizar se dejaron varias horas en contacto con HNO_3 a temp moderada, se lavaron exhaustivamente para eliminar el exceso de ácido. Ya secas se colocaron en tubo pyrex o de acero. Se impregnaron con el reactivo y se colocaron en el horno a temperaturas altas (300 a 350 °C) durante 4 hr. Posteriormente fueron lavadas con metanol y secadas en estufa.

Se utilizó un cromatografo Hewlett Packard 5890 con detector de ionización de flama. Se empleó una columna 1 % vinil, 5 % fenil metil silicon de 10 m y 0.25 mm de d.i. El programa de temperatura fue de 60 °C durante 0.5 minutos a 10 °C/min hasta 170 °C y 6 °C/min hasta 300 °C por 20 minutos.

4.4 Optimización del método de recolección para BHC y Heptacloro

Se realizó la optimización del método de recolección en disolvente para BHC y heptacloro, el objetivo fue evaluar que cantidad de CH_2Cl_2 (Baker,R.A.) se perdía, probando volúmenes diferentes de disolvente, capacidad de frascos y tubos de sílice con diferentes diámetros internos para desfogar la presión del frasco. Se probaron frascos con capacidad de 5 y 10 ml y tubos de sílice de 5, 13 ,50 y 250 μm . Se empleó un baño de hielo con NaCl (- 11°C) para enfriar el frasco de recolección durante la extracción.

La eficiencia de recolección para los plaguicidas se realizo de la siguiente manera: llena la celda de extracción con Chromosorb se adicionó en la parte superior 10 μl de una mezcla de heptacloro y BHC (isómeros) de 1000 ppm. El CO_2 era enviado

a la celda de extracción y los analitos recolectados en un frasco con disolvente, el cual se selló con un tapón de hule, cubierto de cinta teflón y una tapa de metal la cual era sellada con pinza adecuada, el restrictor que procedía de la celda de extracción se introdujo al frasco empleando una aguja de insulina quedando perfectamente sumergido en el disolvente de recolección y un tubo de sílice de 8 cm para desfogar la presión del frasco, el cual era insertado al tapón con una aguja normal, sacándose ésta y quedando el restrictor presionado en el tapón de hule a una profundidad de aproximadamente 3 mm. La recolección de los analitos se realizó en frascos calibrados a 1 ml, colocando diferente volumen de disolvente según las pruebas, una vez recolectados los analitos se destapaba el frasco y se ajustaba el volumen antes de realizar el análisis cromatográfico.

4.5 Extracciones por sonicación y Soxhlet

Se utilizó el método Soxhlet como método de referencia para determinar la concentración de los analitos de interés y evaluar la eficiencia de extracción con CO₂ supercrítico. Se utilizó la técnica recomendada por la EPA (método 3540B, 1990).

Se trabajó con 10 g de suelo, se utilizó hexano-acetona 1:1 (Baker, R.A.) la muestra se extrajo durante 24 hr. Posteriormente se concentró en Kuderna-Danish y finalmente a 1 ml con flujo de nitrógeno. Se inyectó al cromatógrafo de gases con detector de masas. No se realizó el proceso de limpieza a la muestra ya que de acuerdo a EPA si las muestras son analizadas utilizando el detector anterior puede prescindirse de la limpieza de la muestra.

Se realizaron extracciones Soxhlet preliminares con 10 y 70 g de muestra, se analizaron tres suelos (201, 206 y Rangel). Todos los extractos fueron analizados primeramente por monitoreo iónico total (SCAN), y la búsqueda de los pesticidas se realizó con un extracto iónico del cromatograma; esto es, monitoreando los seis iones más intensos del espectro de masas de cada analito. La evaluación de las recuperaciones obtenidas de los extractos se analizarán por monitoreo de iones

selectivos (SIM). Con estándares de determinó el tiempo de retención y los espectros de masas de los 4 isómeros de BHC y heptacloro (Chem Service).

Para comparar la recuperación de la extracción con CO₂ supercrítico se realizó la extracción Soxhlet al suelo 206 analizando 10 g de muestra.

4.6 Extracciones con fluidos supercríticos

Para las extracciones con el fluido supercrítico (CO₂), se empleó un equipo Suprex (SFC/200A), al cual se le adicionó un restrictor de longitud variable (40 a 80 cm) y 50 µm de diámetro interno (d.i.), calentado con una resistencia. Se trabajó con una celda de extracción de 3 g de acero inoxidable, empleando 2 g de suelo mezclados con Na₂SO₄ (Baker, R.A.) para absorber el agua aún remanente en la muestra, se utilizó también Chromosorb (Supelco), colocado en los extremos de la celda para evitar el taponamiento de los filtros de la misma debido a las pequeñas partículas de suelo. Se empleó como modificador 200 µl de metanol (Baker), adicionándolo a la celda de extracción sobre el Chromosorb y como estándar interno aldrin (Polyscience Corp) en concentraciones de 2 y 0.2 ppm colocado en el disolvente recolector o impregnado al suelo que estaba empacado en la celda de extracción.

Se probaron diferentes presiones y temperaturas. Se realizó la evaluación de la temperatura del restrictor, la recuperación en función del tiempo de extracción y en función de la longitud del restrictor. Se realizó extracción estática - dinámica. La primera por 10 minutos y la segunda por 20 minutos. La recolección de los analitos se efectuó con 5 ml de CH₂Cl₂ enfriándose previamente a - 4 °C. Terminada la recolección el volumen se ajustó a 1 ml, previamente los frascos se habían calibrado. Todos los extractos con CO₂ supercrítico fueron analizados en modo SIM, el análisis no se puede realizar por SCAN ya que los componentes se pierden en el ruido.

El CO₂ utilizado para las pruebas preliminares fue grado extra seco (Linde) y para las extracciones de las muestras reales grado SFC/SFE (Air products).

4.7 Condiciones cromatográficas

Para todas los experimentos se utilizó un cromatógrafo Hewlett Packard 5890 acoplado a un detector de masas Hewlett Packard 5971. Se empleó una columna DB1 de 30 mt y 0.25 mm de d.i. El programa de temperatura fue de 60 °C durante 2 minutos a 20 °C/min hasta 240 °C y 10 °C/min hasta 290 °C por 7 minutos.

Al finalizar la presente investigación se presentó la oportunidad de utilizar un cromatógrafo de gases Hewlett Packard 5890 serie II con detector de captura de electrones perteneciente al Instituto de Ciencias del Mar y Limnología de la UNAM (ICMyL). Con columna de 5 % metil fenil silicon de 30 mt. Con un programa de temperatura de 90 °C por 0.5 min a 10 °C/min hasta 170 °C y 6 °C/min hasta 300 °C por 20 min.

Se realizó análisis cualitativo, se inyectaron las dos últimas muestras de la extracción con CO₂ supercrítico y la segunda extracción soxhlet usada como referencia. Con la finalidad de tener una idea del orden de magnitud de la concentración de los compuestos encontrados se realizó un análisis semicuantitativo. Para la identificación y cuantificación de los compuestos se utilizó un estándar de 15 plaguicidas de 20 ng/ml.

5. RESULTADOS Y DISCUSION

5.1 Pruebas preliminares: recolección de analitos en disolvente, en perlas de vidrio silanizadas y en cartucho C₁₈

Las pruebas preliminares de recolección de analitos fueron realizadas en colaboración con Lilia Castro Ortiz (estudiante de maestría del laboratorio de cromatografía de gases), utilizándose naftaleno, acenafteno y antraceno. Se probaron tres métodos de recolección de analitos: disolvente, perlas de vidrio silanizadas y fase sólida C₁₈ (figura 3). Para las pruebas realizadas en disolvente (CH₂Cl₂), los primeros experimentos se efectuaron sin calentar el restrictor obteniéndose recuperaciones insignificantes ya que el restrictor se tapaba. Las recuperaciones aumentaron al incrementar la temperatura del restrictor a 60 °C, con lo cual se evitó la formación de hielo seco en la punta del mismo debido al propio enfriamiento del CO₂ expandido (tablas 1 a 3 del Apéndice).

Se obtuvo una recuperación promedio de 94 % con DER de 10 % para ensayos en los cuales el restrictor se calentó a 60 °C en contraste a los obtenidos a temperatura ambiente con recuperación de 43 % y DER de 40 %. Los resultados se muestran en la figura 4. De estos experimentos se concluye que es imprescindible calentar el restrictor, de no hacerlo los analitos precipitan, disminuyen el flujo y taponan parcial o totalmente el restrictor.

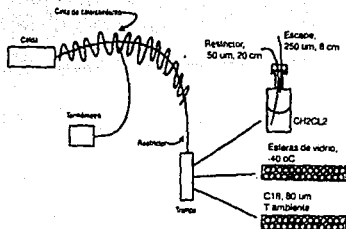


Figura 3. Formas de recolección del extracto en SFE

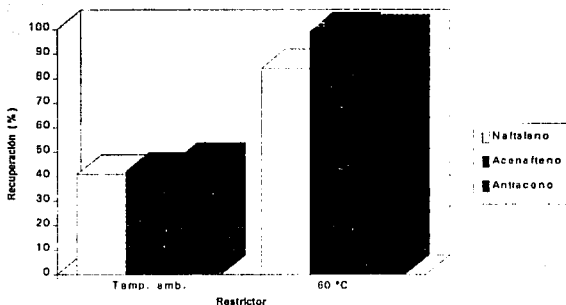


Figura 4. Recuperación de HAP,s en CH_2Cl_2

Se utilizaron dos procedimientos de silanización con elución de analitos a temperatura ambiente y a 40 °C. Los resultados de estas extracciones se ilustran en la figura 5. Al comparar las extracciones se deduce que hay una variación importante y que el proceso de silanizado o de elución no es reproducible, se obtuvo un promedio de 50 % con DER de 42 %. Los resultados no son muy claros y ponen de manifiesto que hay otras interacciones complejas de los analitos con las perlas de vidrio, o también que los analitos podrían ser arrastrados por el cloruro de metileno en la elución ya que se realizó cerca del punto de ebullición de éste. El comportamiento anterior también podría adjudicarse a que aún se tienen sitios activos que están adsorbiendo los analitos, ocasionando recuperaciones bajas (tablas 4 a 7 del Apéndice), lo anterior no coincide con lo reportado en la literatura, Khorassani *et al* (1992) obtuvo entre otros analitos 102 % de recuperación para antraceno, sin embargo, no menciona el sistema criogénico utilizado.

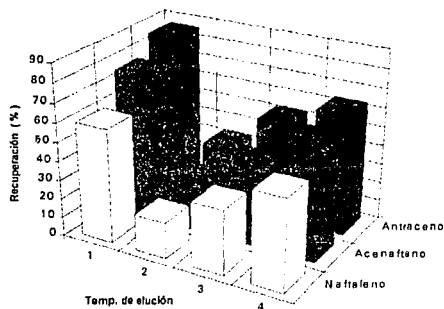


Figura 5. Recuperación de HAP,s en perlas de vidrio silanizadas
 1 y 2 silanización en tubo sellado, 3 y 4 en atmósfera inerte. 1 y 3
 temperatura de elución ambiente, 2 y 4 40 °C.

Respecto a la recolección de HAP,s en columna C₁₈, los resultados se grafican en la figura 6. Se observa que al igual que en el proceso de silanización de las perlas, la recolección en fase reversa no es reproducible, se obtuvo un promedio de 43 % con DER de 53 % (tablas 8 a 10 del Apéndice). Furton *et al* (1993) plantean que la elución de los analitos de adsorbentes en fase sólida está afectada por una variedad de factores interrelacionados incluyendo la presión de vapor del analito, la afinidad del analito por el adsorbente, así como la solubilidad y el coeficiente de difusión del analito en el fluido supercrítico.

Por otra parte Mulcahey *et al* (1991), comenta que los porcentajes de recuperación para trampas en fase sólida son inherentemente una combinación de la recolección de los analitos y de la eficiencia de elución y que no hay manera de separar estos dos fenómenos. Y en cuanto al uso de estas trampas en muestras reales ya que contienen múltiples componentes extractables, no es factible cambiar disolventes de lavado y trampas para cada componente.

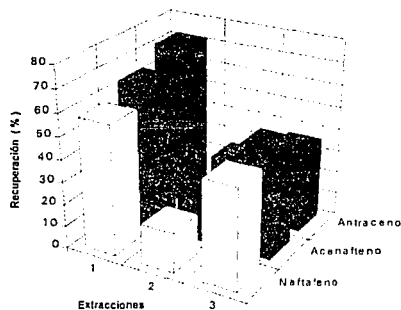


Figura 6. Recuperación de HAP,s en fase C₁₈

En la figura 7 se presentan los promedios de los tres métodos utilizados. Se obtuvieron eficiencias de recolección en disolvente, en perlas de vidrio silanizadas y en cartuchos con fase C₁₈ de 94 %, 50 % y 43 % respectivamente. Por lo que bajo estas condiciones de trabajo y para estos hidrocarburos aromáticos polinucleares el mejor método de recolección es en disolvente.

Los resultados obtenidos ponen de manifiesto que el lograr recuperaciones aceptables en EFS involucra una compleja interrelación entre una diversidad de variables experimentales, incluyendo el tipo de fluido supercrítico, los modificadores adicionados al fluido (que en esta fase preliminar no se utilizaron), la densidad (presión), la temperatura, el volumen total del fluido de extracción, el flujo del fluido y la forma de captura (Furton et al, 1993).

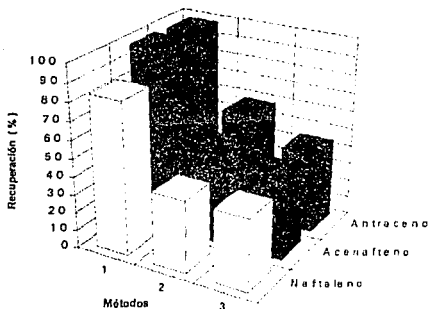


Figura 7. Evaluación de tres métodos de recolección de analitos

(1) CH_2Cl_2 , (2) perlas silanizadas y (3) C_{18}

5.2 Optimización del método de recolección para BHC y Heptacloro

En la figura 8 se ilustran en (a) y (b) los dos procedimientos utilizados para controlar la presión dentro del frasco de recolección de analitos. En (a) se tiene la desventaja de que aún existe presión en el frasco de recolección lo cual ocasiona que el

tapón del frasco se abombe y estalle ocasionando pérdida de muestra, del restrictor y de tiempo.

En (b) la aguja tiene dos funciones: pasar por la abertura el restrictor y servir al mismo tiempo para despresurizar el CO_2 , sin embargo, ésta es relativamente grande y ocasiona que el disolvente se evapore rápidamente, algunos autores reportan restablecer el volumen de disolvente que se va perdiendo, sin embargo es problemático, debido a la presión que existe en el frasco. Hay que tener en cuenta que al diseñar un método de extracción, éste debe ser lo más sencillo posible y cumplir con ciertos requisitos como son rapidez, exactitud y bajo costo.

En (c) se muestra el diseño final utilizado en los subsecuentes experimentos que consta de un tubo de sílice de 8 cm de longitud y 250 μm de d.i. y agujas de insulina las cuales se probaron obteniendo mejores resultados en cuanto a la pérdida del disolvente.

Se probaron frascos de 5 y 10 ml. Las pérdidas de CH_2Cl_2 fueron del 50 % del volumen utilizado sin observarse diferencias entre el volumen perdido en ambos frascos, por lo cual para las pruebas posteriores se trabajó con frascos de 5 ml. Por otra parte es menor la longitud del restrictor que queda sin calentar cuando se utilizan recipientes de 5 ml (tablas 11 y 12 del Apéndice).

Recuperación de BHC y heptacloro

Se realizaron experimentos probando restrictores de 50 μm de d.i. y de 20 y 40 cm de longitud. En la figura 9 se muestran los promedios de las recuperaciones obtenidas para BHC y heptacloro con ambos restrictores.

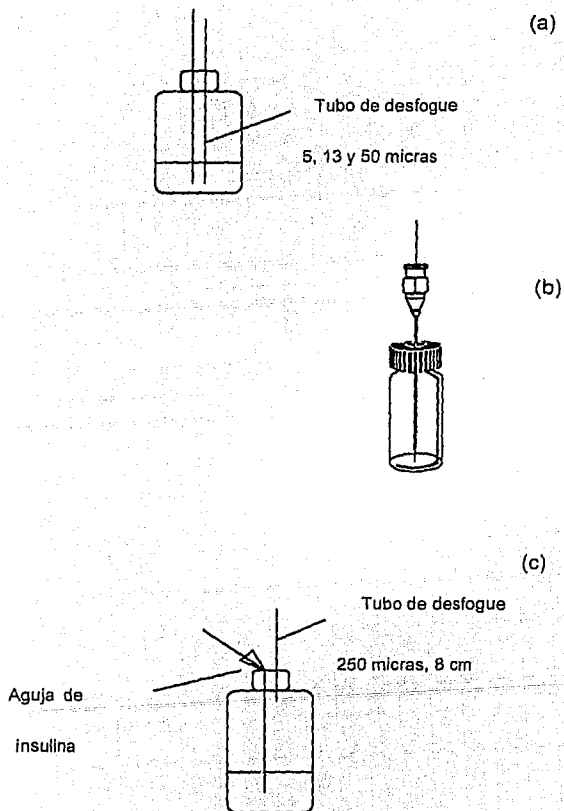


Figura 8. Procedimientos probados para desfogar el frasco de recolección

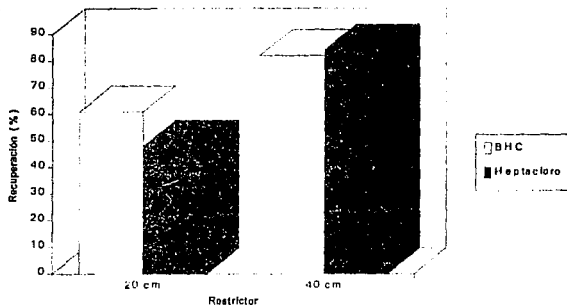


Figura 9. Recuperación de BHC y heptachloro en función de la longitud del restrictor

Se observa que con un restrictor de 40 cm de longitud se obtuvieron recuperaciones más altas; 82 % para BHC y 84 % para Heptachloro con desviaciones estándares relativas de 8 y 2 % respectivamente, en contraste al utilizar un restrictor de 20 cm de longitud las recuperaciones fueron menores, 61 % para BHC y 48 % para heptachloro con desviaciones estándares relativas de 43 y 46 % respectivamente. Para estas pruebas se utilizó escualeno como estándar interno (tablas 13 a 18 del Apéndice).

Reindl y Hofler (1994) plantean que una recolección insuficiente puede atribuirse al flujo del fluido, a la temperatura del restrictor o del disolvente de recolección. Con un restrictor de 20 cm se tienen un flujo muy alto, lo que ocasiona mayor pérdida de analitos, éstas disminuyen al aumentar la longitud del mismo, como se comprueba con el restrictor de 40 cm. Por otra parte se asume que no hay pérdida de analitos por la temperatura proporcionada al restrictor (60 °C).

5.3 Resultados de extracciones preliminares Soxhlet (10 g de muestra).

De las figuras 10 a la 14 se muestran los cromatogramas y los espectros de masas de los isómeros de BHC (alfa,beta, gamma y delta) y de heptacloro.

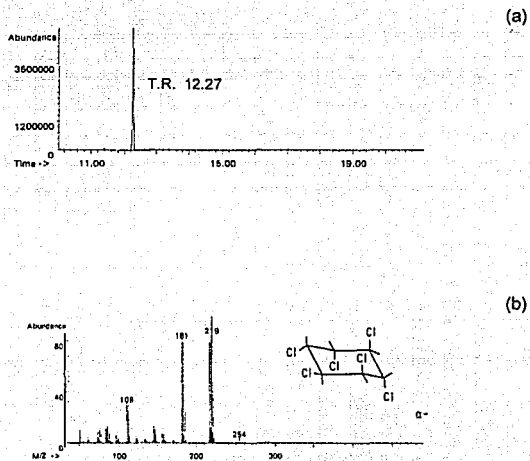


Figura 10. Estándar de alfa BHC. (a) Cromatograma ionico total, (b) espectro de masas.

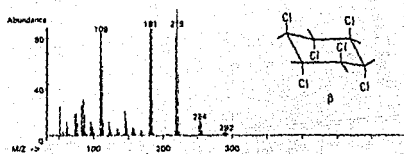
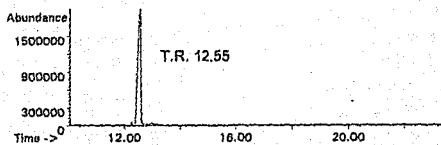


Figura 11. Estándar de beta BHC. (a) Cromatograma iónico total y (b) espectro de masas.

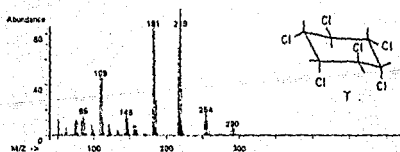
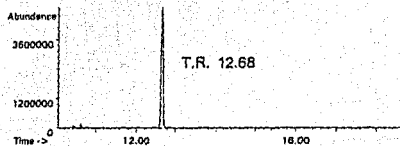
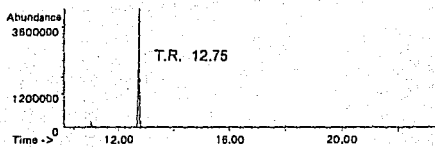


Figura 12. Estándar de gama BHC (Lindano). (a) Cromatograma iónico total y espectro de masas.

(a)



(b)

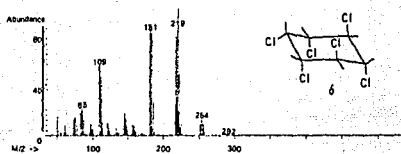
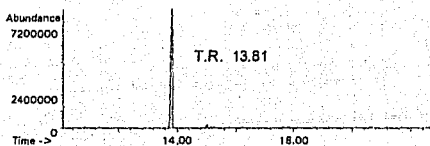


Figura 13. Estándar de delta BHC. (a) Cromatograma iónico total y (b) espectro de masas.

(a)



(b)

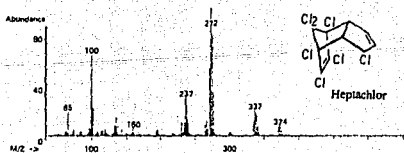


Figura 14. Estándar de heptachloro. (a) Cromatograma iónico total y (b) espectro de masas.

Para el suelo 201 la respuesta es negativa para BHC, heptacloro, aldrin, endrin, endosulfan y endosulfan sulfato.

El suelo 206 resulto negativo a BHC, heptacloro y a los otros plaguicidas buscados excepto beta endosulfan y endosulfan sulfato. En la tabla 19 del Apéndice se presentan resultados del suelo 206. El coeficiente de variación de las extracciones para endosulfan sulfato fue de 2.9 %. Las muestras se concentraron a 0.25 ml, sin embargo, los plaguicidas de interés no se encontraron.

Se analizaron otras 2 muestras: un suelo (Rangel) y un sedimento proporcionando por el ICMYL. En el suelo el único plaguicida encontrado fue endosulfan sulfato. La muestra de sedimento resulto negativa para todos los analitos de interés, al concentrarla a 0.1 ml se obtuvo el mismo resultado (tabla 20 del Apéndice). Es importante hacer notar que ésta fue analizada por el laboratorio de origen con un detector de captura de electrones, resultando positiva como se muestra en la anexo B, la muestra es la número 2 "Rio Papaloapan " (Rueda, 1993). Naturalmente no es posible comparar la sensibilidad de un detector de captura de electrones (DCE), que es un detector específico y de sensibilidad más alta con un detector de masas. McNair y Bonelli (1969) reportan una sensibilidad para el DCE con fuente de Ni ⁶³ de 5×10^{-14} gm/sec para CCl₄, con una cantidad mínima detectable de 4×10^{-12} gm para lindano, estos niveles son menores que los esperados en un detector de masas.

5.4 Resultados de extracciones preliminares Soxhlet (70 g de muestra)

Para confirmar que los suelos analizados no tenían los analitos de interés (BHC y heptacloro) se realizó la extracción con la máxima cantidad posible de muestra en el cartucho de extracción, se trabajo con 70 g de suelo siguiendo el mismo procedimiento utilizado en muestras anteriores (tablas 21 y 22 del Apéndice).

El suelo 201 resulto nuevamente negativo para BHC, heptacloro y para los otros plaguicidas.

En el suelo 206 no se encontró BHC o heptacloro. Se realizó el monitoreo de pesticidas utilizando el perfil iónico (figura 15). De la figura se concluye que de los plaguicidas monitoreados solo beta endosulfan y endosulfan sulfato son positivos.

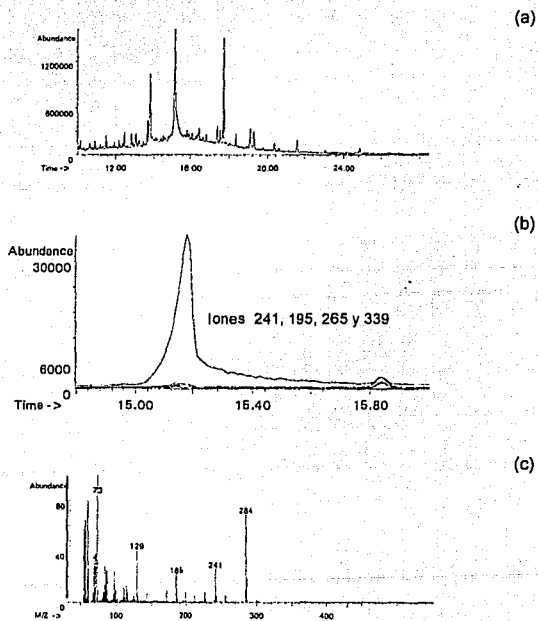
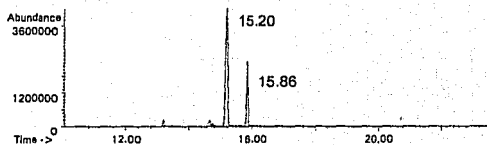
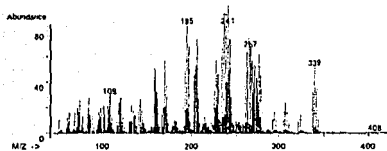


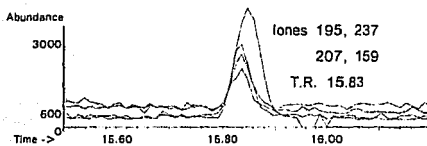
Figura 15. Análisis de 70 g del suelo 206 por Soxhlet. Monitoreo de pesticidas. (a) Cromatograma iónico total, (b) Monitoreo de alfa endosulfan, (c) Espectro de masas obtenido.



(d)



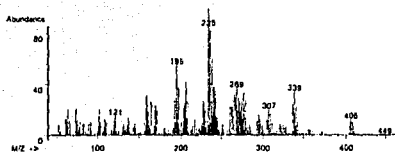
(e)



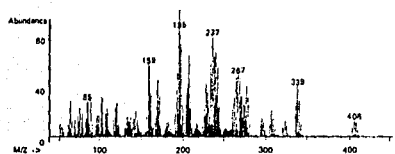
(f)

Figura 15. (continuación). (d) estándares de alfa y beta endosulfan. (e) espectro de masas de alfa endosulfan, (f) Monitoreo de iones de beta endosulfan,

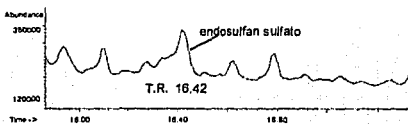
47



(g)



(h)



(i)

Figura 15. Continuación. (g) Espectro de masas obtenido, (h) Estándar de beta endosulfan, (i) Amplificación del cromatograma,

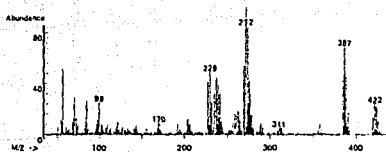
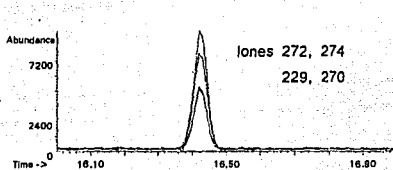
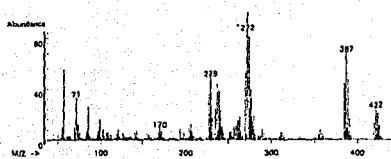


Figura 15. Continuación. (j) Espectro de masas del endosulfan sulfato, (k) monitoreo de endosulfan sulfato, (l) Espectro de masas de endosulfan sulfato del suelo.

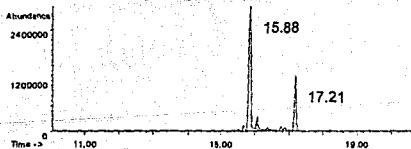
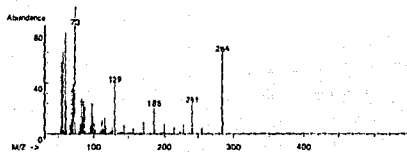
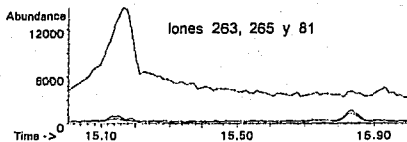
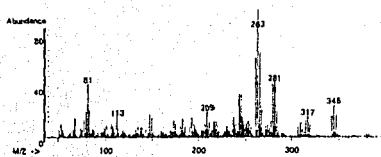
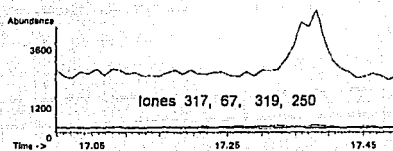


Figura 15. Continuación. (m) Monitoreo de alfa endrin, (n) Espectro de masas anterior, (o) Estándar de alfa y beta endrin, (p) Espectro de masas de alfa endrin.

(p)



(q)



(r)

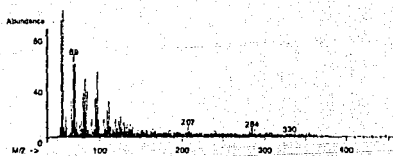


Figura 15. Continuación. (p) Espectro de masas de alfa endrin
(q) Monitoreo de beta endrin. (r) Espectro de
masas anterior.

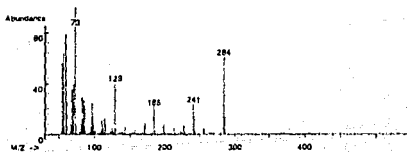
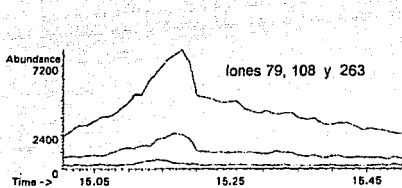
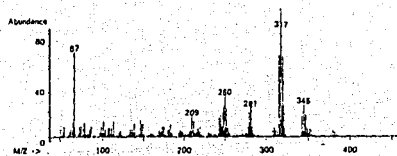


Figura 15. Continuación. (s) Estándar de beta endrin, (t) Monitoreo de dieldrin, (u) Espectro de masas del monitoreo para dieldrin anterior.

Para el suelo del rancho Rangel el análisis resulto negativo para los analitos buscados, excepto para endosulfan sulfato, se obtuvo un coeficiente de variación de 19.5 % en las extracciones (figura 24).

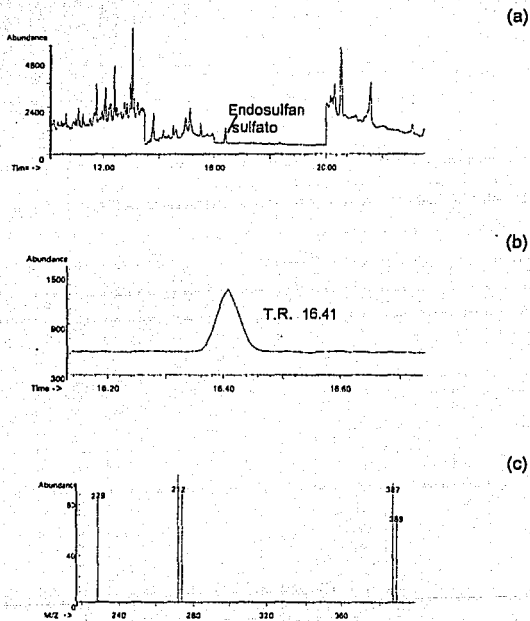


Figura 16. Análisis por SIM del suelo del rancho Rangel.
(a) Cromatograma, (b) Amplificación y (c) Monitoreo de iones selectivos de endosulfan sulfato.

Se efectuaron también 2 blancos de reactivos y se comprobó que no aparecen señales que interfieran con los analitos de interés (Anexo C).

Fundado en los resultados anteriores fue seleccionado el suelo 206 para realizar las extracciones con CO_2 supercrítico. Posteriormente a la par de las extracciones con fluidos supercríticos se realizaron otras extracciones soxhlet al suelo 206, empleando 10 g de muestra, de aquí se deduciría el área correspondiente a 2 g para establecer la comparación con las extracciones con CO_2 supercrítico. La reproducibilidad de las extracciones fue de 1.9 % para endosulfan sulfato y de 1.4 % para beta endosulfan (tabla 25 del Apéndice).

5.5 Resultados de extracción con fluidos supercríticos

Se utilizó metanol como modificador. Para el tipo de suelo empleado en este trabajo al adicionar 400 μ l de metanol la celda empezaba a gotear al contacto del fluido supercrítico razón por la cual se utilizó un volumen de 200 μ l.

En todas las extracciones con CO₂ supercrítico se realizó extracción estática por 10 minutos y dinámica por 20 minutos. Si bien no hay acuerdos entre los investigadores y los estudios no son concluyentes en la decisión de extracción estática o dinámica, se han reportado mejores extracciones realizando primero extracción estática y después dinámica, sobre todo en matrices en las cuales los analitos son difíciles de lixiviar. En los estudios con suelos se realizan ambos modos de extracción. Castro (1994), trabajando con sedimentos marinos obtiene mejores resultados en extracciones estáticas y posteriormente dinámicas que solamente realizando la segunda, lo anterior también lo observa Rojas (1994) con cáscara de mango.

Evaluación de la temperatura del restrictor

Todos los resultados se evaluaron tomando como referencia (100 %) la extracción a 350 atm y 50 °C, se utilizó el cociente de áreas y aldrin como estándar interno. Para evaluar la temperatura de calentamiento del restrictor se trabajó a 200 atm y 50 °C. Se probaron dos temperaturas de calentamiento del restrictor 100 y 220°C, sin embargo el restrictor se tapó. Se realizaron otros ensayos calentando el restrictor a 180 °C, se observó que a esta temperatura el restrictor tenía buen flujo y no se obstruía. Las recuperaciones obtenidas son insignificantes oscilan entre 3 y 8 % a diferentes temperaturas. Se adicionó también Chromosorb en ambos extremos de la celda para evitar el taponamiento de los filtros (tablas 24 y 25 del Apéndice). En la figura 17 se muestra el comportamiento anterior.

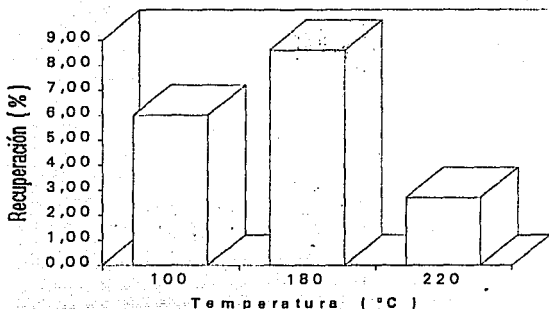


Figura 17. Influencia de la temperatura del restrictor en la recuperación de endosulfan sulfato a 200 atm. Temperatura de calentamiento de celda de extracción 50 y 67 °C.

El comportamiento observado pone de manifiesto la importancia de la temperatura de calentamiento del restrictor ya que la temperatura adecuada depende de los analitos que se estén extrayendo, por otra parte temperaturas muy altas pueden ocasionar la pérdida de los mismos por descomposición dando lugar a recuperaciones bajas manifestadas al calentar el restrictor a 220 °C. Sin embargo, es importante considerar que con altas temperaturas en el restrictor se puede ocasionar la evaporación del disolvente de recolección y perder los compuestos volátiles; así, la temperatura del restrictor debe ser tan alta como sea posible para evitar el taponamiento del restrictor, pero tan baja que se minimice la pérdida de componentes volátiles (Reindi y Hofer, 1994). La disminución del endosulfan sulfato se explica porque otros componentes extraídos precipitaron en el restrictor, ésto se comprobó al cortar el restrictor a diferentes longitudes y presurizarlo con CO₂ a la presión del tanque, observando que no había flujo, inclusive en los primeros 5 cm del restrictor.

En las extracciones anteriores se observó que al utilizar el restrictor por segunda vez se obstruía a pesar de calentar a 180 °C y de usar Chromosorb. En muestras reales con contenidos altos de agua se ocasionan problemas en el restrictor, al congelarse en la punta de éste y bloquearlo. Puesto que los suelos fueron secados a temperatura ambiente y a la sombra tienen una humedad entre 3 y 5 %, por lo que se utilizó Na_2SO_4 mezclado con el suelo antes de llenar la celda, se obtuvo buen flujo y no se tapó el restrictor.

Si bien es cierto que la recolección de los analitos se ve afectada por la temperatura de recolección del disolvente, en estos ensayos y en los subsecuentes ésta se realizó enfriando el recipiente de recolección con el disolvente antes de la extracción durante 15 min a - 4 °C, no se utilizó el baño de hielo con NaCl, ya que al quedar cubierto el frasco de extracción no se observa si el restrictor se ha tapado, hay que tener presente que trabajar con muestras reales implica enfrentarse a otro tipo de problemas.

Extracciones a 300 y 350 atm a diferentes temperaturas

Se realizaron experimentos a 300 y 350 atm y temperaturas de 40,49, 67 y 97°C. En la figura 18 se muestra la recuperación de endosulfan sulfato en función de la presión y de la temperatura (no se consideraron las recuperaciones a 200 atm porque son insignificantes), resultados en tablas 26 a 29 del Apéndice.

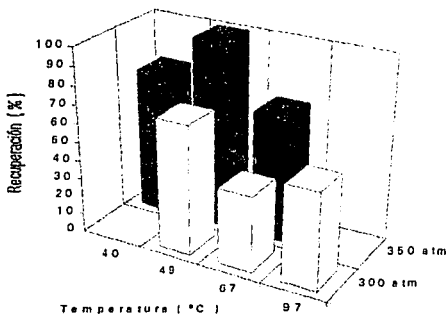


Figura 18. Recuperación de endosulfan sulfato en función de la presión y temperatura

Como se observa las mejores recuperaciones se obtienen a 49 °C y 350 atm, lo cual se explica porque en estas condiciones se tienen una mayor densidad del CO₂ supercrítico, por lo tanto, mayor poder de solvatación para endosulfan sulfato. Estos resultados concuerdan con la investigación realizada por Snyder (1992).

En cualquier extracción con fluidos supercríticos, la variable más importante a ensayar es la presión, lo cual se comprueba en el experimento anterior, aumentándola se incrementa la densidad, por consiguiente habrá mayor poder de solvatación. Por otra parte al mantener constante la presión y aumentar la temperatura, la densidad disminuye y consecuentemente su poder disolvente. Cabe preguntarse de estas dos variables cuál es la más importante en una extracción con fluidos supercríticos; según Taylor (1993) depende del analito en la matriz. De los resultados obtenidos la variable más importante es la presión.

Extracciones a 400 atm y 50 °C

Para determinar si todo el endosulfan sulfato había sido extraído con el CO₂ supercrítico, se realizaron otras pruebas a 400 atm y 50 °C. En la figura 19 se presenta la recuperación a las diferentes presiones ensayadas a 50 °C (tablas 30 a 31 del Apéndice).

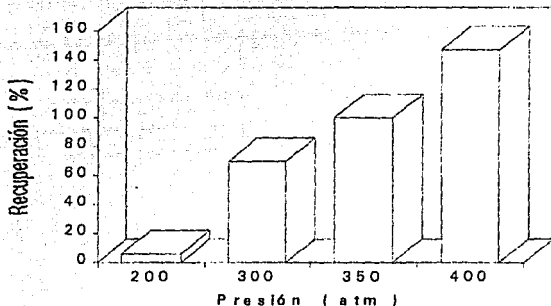


Figura 19. Recuperación de endosulfan sulfato en función de la presión a 50 °C

Como se observa la recuperación aumenta a medida que se incrementa la presión por aumento de la densidad y en consecuencia el poder de solvatación para el analito estudiado. De estos experimentos se deduce que las condiciones más adecuadas de extracción para obtener mayor recuperación de endosulfan sulfato con CO₂ supercrítico es a 400 atm a 50 °C.

Recuperación en función del tiempo de extracción

Otra de las variables a optimizar en una extracción con fluidos supercríticos es el tiempo de extracción. En la figura 20 se presenta el comportamiento a 20 y 40 minutos de extracción a 400 atm y 50 °C.

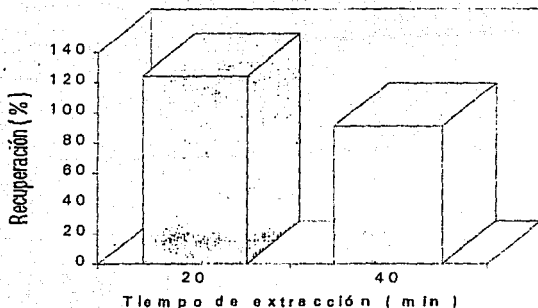


Figura 20. Efecto del tiempo de extracción en la recuperación de endosulfan sulfato a 400 atm y 50 °C. Restrictor de 70 cm.

De aquí observamos que a 40 min ya no se extrae más endosulfan sulfato, e inclusive hay una disminución. Se esperaba igual o mayor recuperación de endosulfan sulfato. Sin embargo, ya que a 400 atm es mayor el caudal hay mayor caída de presión en la celda de extracción, y si la muestra no está bien empacada dará lugar a una disminución en la eficiencia de la extracción, lo que explica el comportamiento anterior.

Recuperación en función de la longitud del restrictor

En las extracciones realizadas a 400 atm y 50 °C con restrictor de 40 cm el flujo del CO₂ es muy alto (mayor a 2 ml/min). Se probaron restrictores de 70 y 80 cm de longitud para disminuir el flujo. Con el primero el flujo se mantiene, no así en el segundo ya que en pocos minutos el restrictor se tapó, lo cual indica que otros compuestos están siendo extraídos. Es importante mencionar que para cada extracción se utilizó el restrictor una sola vez, como ya se dijo si éste se empleaba para una segunda extracción en muy poco tiempo se tapaba. En la figura 21 se muestra el efecto.

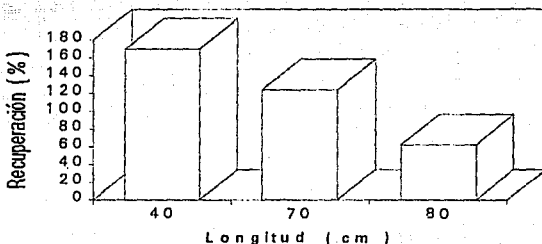


Figura 21. Recuperación de endosulfan sulfato en función de la longitud del restrictor a 400 atm y 50 °C

En esta gráfica se observa que al aumentar la longitud del restrictor la recuperación disminuye, y se explica porque al tener a medida que aumenta la longitud del restrictor hay mayor caída de presión, el fluido se va despresurizando disminuyendo su solubilidad y en algún punto del restrictor los analitos precipitan ocasionando disminución del flujo y en consecuencia menor recuperación de analitos. De esta gráfica se deduce que la recuperación más alta se logra con restrictores de 40 cm a pesar de tener un caudal alto.

Se realizaron otras extracciones a 400 atm y 50 °C, en estas últimas se monitoreo por SIM el beta endosulfan que tenia el suelo. En la tabla 32 del Apéndice se presentan los datos de 6 extracciones con fluidos supercríticos para beta endosulfan y para endosulfan sulfato, con éstos se realizó la comparación con las extracciones en Soxhlet.

Comparación de la extracción Soxhlet y CO₂ supercrítico

La comparación de los resultados obtenidos en la extracción Soxhlet y con CO₂ supercrítico se presentan en la figura 22. Se obtuvo mayor recuperación en la extracción con el fluido supercrítico que con la extracción Soxhlet. Para beta endosulfan se obtuvo una recuperación de 175 % con una DER de 10 % y para endosulfan sulfato 148 % y DER de 39 % (tabla 31 del Apéndice).

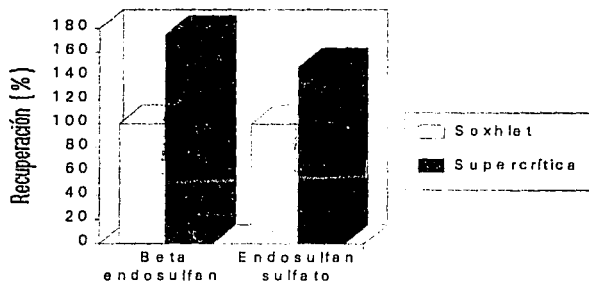


Figura 22. Comparación de extracción Soxhlet y CO₂ supercrítico.

Los valores de recuperación mayores de 100 % se justifican porque a la extracción Soxhlet se le asigna una recuperación de 100 %. Sin embargo, estas diferencias indican que por el método tradicional no se extrae dicho porcentaje de los analitos a pesar de extraer la muestra durante muchas horas.

Las características del suelo utilizado en esta investigación se presentan en la tabla 1.

Tabla 1. Resultados analíticos del suelo 206.

No. de lab.	Identificación	pH 1:2 H ₂ O	M.O. ^a %	Arena ----	Limo % ^b	Arcilla ----
206	C-7 parcela 2	7.1	1.7	49	20	31

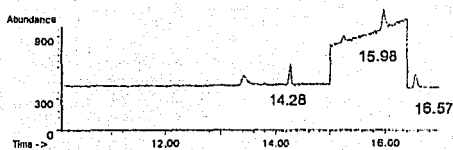
a) Mét. Walkley y Black.

b) Mét. Bouyucos. Suelo franco arcillo arenoso.

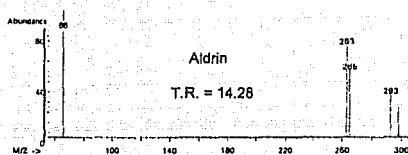
De la tabla anterior la característica más importante en relación con la facilidad para extraer fácilmente los analitos de interés es la materia orgánica (M.O.), el suelo estudiado está dentro del límite superior de la clase baja (Etchevers *et al.*, 1971) con un valor menor a 2 %. Ya que la adsorción de compuestos organoclorados muestra un considerable incremento al aumentar el contenido de materia orgánica en el suelo, la facilidad con la cual endosulfan sulfato y beta endosulfan se han extraído se explica por el bajo contenido de materia orgánica del suelo y por el alto porcentaje de arena.

En las figuras 23 y 24 se muestran los cromatogramas obtenidos por SIM para las extracciones con fluidos supercríticos a 400 atm y 50 °C y para la extracción Soxhlet utilizada como referencia.

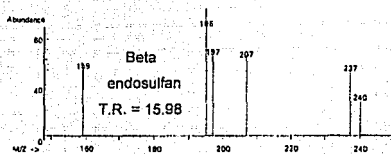
(a)



(b)



(c)



(d)

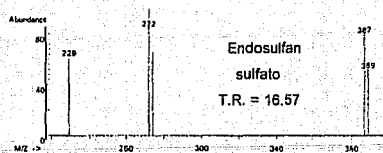
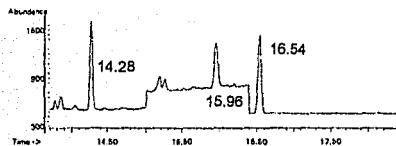
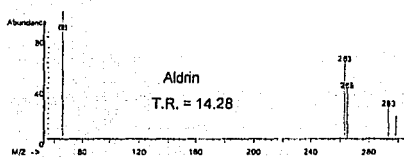


Figura 23. Extracción con CO₂ supercrítico del suelo 206 a 400 atm a 50 °C. Análisis por SIM, 2g de suelo. Restrictor70cm.
 a) cromatograma, b) espectro de masas de aldrin, c) beta endosulfan y d) endosulfan sulfato.

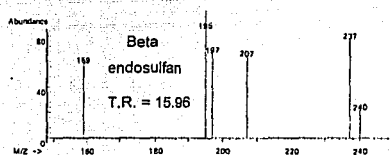
(a)



(b)



(c)



(d)

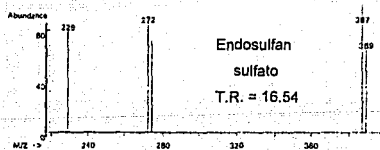


Figura 24. Extracción en Soxhlet, suelo 206 análisis por SIM.
 10 g, a) cromatograma, b) espectro de masas de aldrin,
 c) beta endosulfan y d) endosulfansulfato.

5.6 Reproducibilidad del estándar interno

En la tabla 34 del Apéndice se presentan resultados de recuperaciones obtenidas del estándar interno (aldrin) en las extracciones con CO_2 supercrítico. El promedio obtenido cuando el aldrin fue adicionado al disolvente de recolección fue de 64 % con una DER de 4 %. Para el aldrin adicionado al suelo el promedio obtenido fue de 53 % con DER de 43 %. Esto se puede explicar debido a que se obtiene menor recuperación cuando se adiciona el analito al suelo por las interacciones que pueden ocurrir entre éste y la matriz, a diferencia del analito colocado en el disolvente de recolección que solo es afectado por el flujo del fluido que se está despresurizando. Estas bajas recuperaciones no se observaron cuando se utilizó escualeno como estándar interno para las pruebas preliminares, en las que se obtuvieron recuperaciones altas. Un factor que hay que considerar es la presión de trabajo, ya que las condiciones iniciales de extracción fueron 100 atm y 50 °C y para la extracción con la muestra de suelo oscilaron entre 200 y 400 atm. Este comportamiento se muestra en la figura 25.

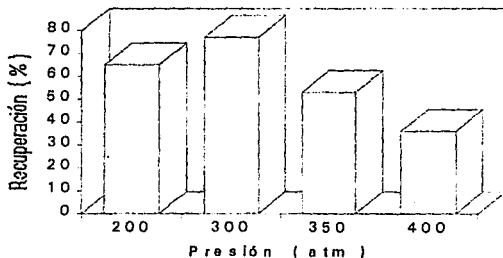


Figura 25. Recuperación del estándar interno (aldrin) en función de la presión

Como se observa a medida que aumenta la presión a partir de 300 atm la recuperación del estándar disminuye. Las pérdidas pueden ser porque el aldrin se haya perdido en la despresurización del CO₂ ya que a medida que aumenta la presión el caudal es más alto. También, es importante tener en cuenta que en una extracción estática los solutos pueden precipitar sobre las paredes de la celda (Taylor,1993) y quizá las bajas recuperaciones del aldrin se deben a ello.

5.7 Análisis con detector de captura de electrones

Para la identificación de los compuestos se utilizó un estándar de 15 plaguicidas proporcionado por ICMYL de 20 ng/ml (anexo D). La identificación de los compuestos fue con base en el tiempo de retención. Se encontraron los mismos plaguicidas tanto en la extracción soxhlet como con fluidos supercríticos. Los pesticidas encontrados fueron : alfa endosulfan, dieldrin, endrin, beta endosulfan, pp. DDD y endosulfan sulfato.

Con la finalidad de tener una idea del orden de magnitud de la concentración de los compuestos encontrados se realizo un análisis semicuantitativo. Se inyectaron estándares de endosulfan sulfato, de isómeros de BHC y heptacloro y aldrin para corroborar los tiempos de retención antes determinados. Para efectuar el análisis semicuantitativo se inyectó el estándar de 15 plaguicidas (anexo E). Los cromatogramas se muestran en los anexos F y G. Es importante hacer notar que los extractos obtenidos empleando fluidos supercríticos resultaron más limpios que los de las extracciones por Soxhlet. Los resultados de las áreas de los plaguicidas encontrados y del estándar se encuentran en la tabla 35 del Apéndice.

En el tabla 36 del Apéndice se muestra el promedio de las concentraciones en ng/g obtenidas para ambas extracciones y en la tabla 2 se compara la extracción con fluidos supercríticos respecto a la extracción por Soxhlet.

Tabla 2. Recuperación de plaguicidas respecto a la extracción Soxhlet.

Compuesto	Supercrítica/Soxhlet * 100
alfa endosulfan	143
Dieldrin	126
Endrin	17
beta endosulfan	138
p,p'DDD	75
Endosulfan sulfato	145

Se observan recuperaciones mayores para las extracciones con fluidos supercríticos con respecto a la extracción Soxhlet, con la excepción de endrin y p,p' DDD. Para discutir este punto sería necesario conocer la solubilidad de estos plaguicidas en el fluido supercrítico, sin embargo estos datos no existen. Lo más importante es hacer notar la capacidad que tiene la extracción con fluidos supercríticos y por otra parte la sensibilidad que tiene un detector de captura de electrones comparado con un detector de masas.

En la figura 26 se ilustran las concentraciones en ng/gde ambas extracciones.

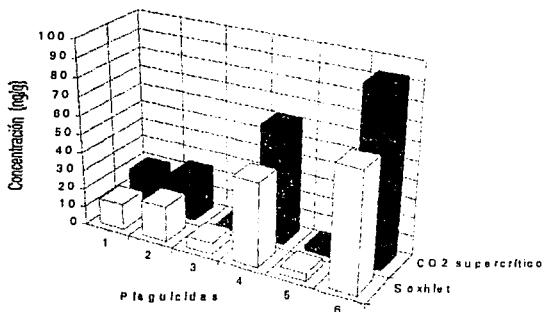


Figura 26. PLAGUICIDAS obtenidos en el suelo 206. (1)alfa endosulfan, (2) dieldrin (3) Endrin, (4) beta endosulfan, (5) pp' DDD y (6) endosulfan sulfato.

6. CONCLUSIONES

- El objetivo de la tesis se cumplió, se optimizó y evaluó el procedimiento de extracción de compuestos organoclorados en suelos con CO₂ supercrítico.
- Las mejores condiciones de extracción para el suelo 206 fueron a 400 atm a 50 °C, con restrictor de 40 cm de longitud y 50 µm de diámetro interno, calentado a 180 °C empleando extracción estática y dinámica por 10 y 20 minutos respectivamente.
- El mejor método de recolección para HAP,s fue en disolvente. Los plaguicidas estudiados con este método de captura tienen eficiencias de 82 % para BHC y 84 % para heptacloro con DERs de 8 y 2 % respectivamente.
- El método de extracción con CO₂ supercrítico a 400 atm a 50 °C para la determinación de compuestos organoclorados demostró ser más eficiente que el método Soxhlet para el suelo estudiado.
- Los plaguicidas encontrados en el suelo 206 con un sistema gases/masas fueron beta endosulfan y endosulfan sulfato. Utilizando detector de captura de electrones se encontró además alfa endosulfan, dieldrin, endrin y pp' DDD.
- El tiempo de extracción con fluidos supercríticos disminuye en un orden de magnitud respecto a la extracción Soxhlet. Para el método optimizado un análisis por muestra considerando la preparación y la extracción se realiza en 1 hora a diferencia de la extracción Soxhlet que tan sólo en el paso de la extracción emplea 24 hr.
- La extracción con fluidos supercríticos es más selectiva que la extracción en Soxhlet.

7. BIBLIOGRAFIA

- Akgerman, A., C. Erkey and S.M. Ghoreishi. 1992. Supercritical extraction of hexachlorobenzene from soil. *Ind. Eng. Chem. Res.* 31: 333-339.
- Ashraf - Khorassani, M. R. K. Houck and J. M. Levy. 1992. Cryogenically cooled adsorbent trap for off - line supercritical fluid extraction. *J. of Chrom. Sc.* 30: September. 361 - 366.
- Bartle, K.D., A. A. Clifford, S. A. Jadar, J. P. Kithinji and G. F. Shilstone. 1990. Use of chromatographic retention measurements obtain solubilities in a liquid or supercritical fluid mobile phase. *J. of Chrom.* 517: 459-476.
- Bartle, K.D. A.A. Clifford, S.A. Janar, and G.F. Shilstone. 1991. Solubilities of solids and liquids of low volatility in supercritical carbon dioxide. *J. Phys. Chem. Ref. Data.* 20: No. 4 p. 713-756.
- Brady, B. O., Chien -Ping C. Kao., K. M. Dooley, F. C. Knopf and R. P. Gambrell. 1987. Supercritical extraction of toxic organics from soils. *Ind. Eng. Res. Res.* 26 : 261 - 268
- Burford M. D., S. B. Hawthorne and D. J. Miller, T. Braggins. 1992. Comparison of methods to prevent restrictor plugging during off - line supercritical extraction. *J. of Chrom.* 609: 321 - 332.
- Burford, M.D., S.B. Hawthorne and D. J. Miller. 1993. extraction rates of spiked versus native PAHs from heterogeneous environmental samples using supercritical fluid extraction and sonication in methylene chloride *Anal. Chem.* 65: 1497 - 1505.
- Camel, V., A. Iabuté and M. Caude. 1993. Analytical - scale supercritical fluid extraction: a promising technique for the determination of pollutants in environmental matrices. *J. of Chrom.* 642: 263-281

- Castro, O., L.; 1994. Comunicación personal. Tesis de Maestría. Posgrado de la Facultad de Química, UNAM.
- Cortes, H.J., S. Green y R.M. Campell. 1991. ON line coupling of supercritical fluid extraction with multidimensional microcolumn liquid chromatography/gas chromatography. Anal. Chem. 63: 2719 - 2724
- Crowther J.B. and J. D. Henlos. 1985. Supercritical fluid chromatography of polar drugs using small-particle packed columns with mass spectrometric detection- Anal. Chem. 57: 2711 - 2716.
- Dooley, K.M., C. Kao, R.P. Gambrell, and F. C. Knopf. 1987. The use of entrainers in the supercritical extraction of soils contaminated with hazardous organics. Ind. Eng. Chem. Res. 26: 2058-2062
- Ellen, M.P., McNally and Wheeler. 1988. Supercritical fluid extraction coupled with supercritical fluid chromatography for the separation of sulfonylurea herbicides and their metabolites from complex matrices. J. of Chrom. 435: 63 - 71
- EPA, 1990 Method 3540B. Soxhlet extraction. Revision 2. November. 3540B - 1 3540B - 8
- Etchevers B., J., Espinoza, W. y E. Riquelme. 1971. Manual de laboratorio para fertilidad y fertilizantes. Escuela de Agronomía. Universidad de Concepción Chillan, Chile.
- Fahmy, T., M. E: Paulitis, D. M: Johnson and M: E: P: McNally. 1993. Modifier effects in the supercritical fluid extraction of solutes from clay, soil and plant materials. Anal. Chem. 65: 1462-1469
- Furton K. G. and Q. Lin. 1993. Variation in the supercritical fluid extraction of polychlorinated biphenyls as a function of sorbent type, extraction cell dimensions, and fluid flow rate. J. of Chrom. Sc. 31: June 201 - 206.

- Gere, D.R., C.R. Knipe, P. Castelli, J. Hedrick, L.G. Randall Frank, H. Schulenberg-Schell, R. Schuster, and L. Doherty. J. Orolin, H.B. Lee. 1993. Bridging the automation gap between sample preparation and analysis: an overview of SFE, GC, GC-MS, and HPLC applied to environmental samples. *J. of Chrom. Sc.* 31: July 246 -258.
- Hayes, W. J. Jr. and E. R. Laws, Jr. 1991. *Handbook of pesticide toxicology*. Vol. 2. Academic Press, Inc.
- Hawthorne, S.B., D.J. Miller, M.D. Burford, J.J. Langenfeld, S. Eckert-Tilotta and P. K. Louie. 1993. Factors controlling quantitative supercritical fluid extraction of environmental samples. 642: 301-317.
- Hawthorne, S.B. 1990. Analytical - scale supercritical fluid extraction. *Anal. Chem.* 62 : 633A - 642 A
- Ho, J.S. and P. H. Tang. 1992. Optimization of supercritical fluid extraction of environmental pollutants from a liquid-solid extraction cartridge. *J. of Chrom. Science.* 30: September 1992
- Howard, A.I., W.J. Yoo, and L.T. Taylor, F. K. Schweighardt, A. P. Emery, S.-N. Chesler and W.A. MacCrehan. 1993. Supercritical fluid extraction of environmental analytes using trifluoromethane. *J. of Chrom. Sc.* 31: October . 401 - 408.
- Janda, V., K.D. Bartle and A. A. Clifford. 1993. Supercritical fluid extraction in environmental analysis. *J. of Chrom.* 642: 283-299
- King, J.W. 1989. Fundamentals and applications of supercritical fluid extraction in chromatographic science. *J. of Chrom. Sc.* 27: July 355-364.
- King, J. W.. 1990. Applications of capillary supercritical fluid chromatography supercritical fluid extraction to natural products. *J. of Chrom. Sc.* 28: 9-14.

- King, J.W., J.M. Snyder, D.L. Taylor and J.H. Johnson. 1993. translation and optimization of supercritical fluid extraction methods o comercial instrumentation. J. of Chrom. Sc. 31: 1-5
- Langenfeld, J. L., M. D. Burford, S. B Hawthorne and D. J. Miller. 1992. Effects of collection solvent parameters and extraction cell geometry on supercritical fluids extraction efficiencies. J. of Chrom. 594: 297-307.
- Langenfeld, J.L. S. B. Hawthorne, D. J. Miller and J. Pawliszyn. 1993. Effects of temperature and pressure of supercritical fluid extraction efficiencies of polycyclic aromatic hydrocarbons and polychlorinated biphenyls. Anal. Chem. 65: 338-344
- Langenfeld, J.J., S.B. Hawthorne, D.J. Miller and J. Pawliszyn. 1994. Role of modifiers for analytical - scale supercritical fluid extraction of environmental samples. Anal. Chem. 66: 909-916.
- Lee, M. and K. E. Markides 1990. Analytical Supercritical fluid chromatography and extraction. Edit. E.U.
- Levy, J. M. and W. M. Ritchey. 1986. investigations of the uses of modifiers in supercritical fluid chromatography. J. of Chrom. 24: june 242-248
- Luque de Castro, M. D., M. Valcárcel y M. T. Tena. 1993. Extracción con fluidos supercríticos en el proceso analítico. Editorial Reverte, S.A.
- Martinez, G., Ignacio 1992. Comunicación personal. Jefe del programa de Sanidad Vegetal, Zona del Bajío. S.A.R.H, México
- McNair H.M. y E.J. Bonelli. Basic gas chromatography. 5th edition- march 1969. U.S.A.
- McNally M. E. P. and J. R. Wheeler. 1988. Supercritical fluid extraction coupled with supercritical fluid chromatography for the separation of sulfonyleurea herbicides and their metabolites from complex matrices. J. of Chrom. 435: 63 - 71

- Mitra, S. and N.K. Wilson. 1991. An empirical method to predict solubility in supercritical fluids. *J. of Chrom. Sc.* 29: 305-309.
- Mulcahey, L. J., J.L. Hedrick and L.T. Taylor. 1991. Collection efficiency of various solid - phase traps for off-line supercritical fluid extraction. *Anal. Chem.* 63: 2225 - 2232.
- Porter, N.L. Rynaski, E.R. Campbell, M. Saunders, and B.E. Richter., J.T. Swanson and R.B. Nielsen, . Murphy 1992. Studies of linear restrictors and analyte collection via solvent trapping after supercritical fluid extraction. *J. of Chrom.* 30: Sept. 367-373
- Raynie, Douglas E. 1993. Warning concerning the use of nitrous oxide in supercritical fluid extractions. *Anal. Chem.* 65: 3127 - 3128.
- Reindl S. and F. Hoffer. 1994. Optimization of the parameters in supercritical fluid extraction of polynuclear aromatic hydrocarbons from soil samples. *Anal. Chem.* 66: 1808 - 1816.
- Rojas, E.E., 1994. Comunicación personal. Tesis de maestría. Posgrado de la Facultad de Química, UNAM.
- Rueda Q. L. 1993. Determinación de plaguicidas organoclorados en sedimentos y organismos (moluscos y peces) de lagunas costeras en el sureste de México. Tesis de Licenciatura. E.N.E.P. Iztacala. UNAM.
- Sheng, Yu - Jane., Ping - Chin. Chen ., Tan - Ping. Chen., and D. S. H. Wong. 1992. Calculations of solubilities of aromatic compounds in supercritical carbon dioxide. *Ind. Eng. Chem. Res.* 31: 967-973.
- Snyder, J. L. R. L: Grob, M. E. McNally and T. S. Oostyk. 1992. Comparison of supercritical fluid extraction with classical sonication and extractions for selected pesticides. *Anal. Chem.* 64: 1940 - 1946

- Schantz, M.M. and S:N: Chesler. 1986. Supercritical fluid extraction procedure for the removal trace organics species from solid samples. *J. of Chrom.* 363: 397-401
- Taylor L., T., 1993. Curso de Fluidos supercríticos. Investigador del Instituto Politecnico de Virginia, Estados Unidos. Universidad Autónoma de Querelaro. Junio. 1993
- Veléz, A. 1992. Comunicación personal. Jefe del Registro de plaguicidas. Sanidad Vegetal, S.A.R.H. México. D: F.
- Wallace, J. C. Mark, S:Krieger and R:A: Hites. 1992. Reduction of contamination in on -line supercritical fluid extraction systems. *Anal. Chem.* 64: 2655-2656
- Wright, B.W., C. W.Wright., R.W. Gale and R. D. Smith. 1987a. Analytical supercritical fluid extraction of adsorbent materials. *Anal. Chem.* 59: 38-44
- Wright, B.W., S.R. Frye, D. G. McMinn and R. D. Smith. 1987b. On line supercritical fluid extraction-capillary gas chromatography. *Anal. Chem* 59: 640 - 644

8. APENDICE

TABLA 1

Evaluación de la recolección de HAP,s en CH₂Cl₂ con CO₂ a 100 atm y temp. ambiente *.

Comp.	Areas / 10 ⁻³				Rel. áreas			Rec.(%)		Prom.
	T.R.(min)	Est.	Ext. 1	Ext. 2	Est.	Ext. 1	Ext. 2	Ex. 1	Ext 2	%
Naftal. ^a	3.37	16.58	5.30	12.64	0.520	0.138	0.276	27	55	41
Acenaf. ^b	5.51	30.24	10.31	22.70	0.916	0.267	0.493	29	54	42
Antrac. ^c	7.39	25.84	10.73	20.26	0.782	0.279	0.440	36	56	46
St.int**	12.08	33.04	38.54	46.02						

* Extracción 20 min., restrictor sin calentar.

** Escualeno

(a) naftaleno, (b) acenafteno y (c) antraceno, para todas las tablas.

TABLA 2

Evaluación de la recolección de HAP,s en CH₂Cl₂ con CO₂ a 100 atm y temperatura ambiente *.

Compuesto	Areas / 10 ⁻³			Rel. áreas	Rec.	
	T.R.(min)	Est.	Ext. 1			Ext. 1
Naftal.	3.37	16.58	13.68	0.520	0.375	75
Acenaf.	5.51	30.25	32.05	0.916	0.877	96
Antrac.	7.39	25.84	26.04	0.782	0.713	91
St.int**	12.08	33.04	36.53			

*Extracción 25 ml de CO₂ restrictor a 60 °C

** Escualeno

TABLA 3

Evaluación de la recolección de HAP,s en CH_2Cl_2 con CO_2 a 100 atm * y temperatura ambiente*.

Compuesto	T.R. (min)	Áreas /10 ⁻³		Relación de áreas		Recup. %
		Est.	1er.ext.	Est.	1er. ext.	
Naftal.	3.39	46.08	21.33	0.481	0.447	93
Acenaf.	5.43	47.61	24.26	0.497	0.508	102
Antrac.	7.19	44.80	23.72	0.468	0.497	106
St. int.	11.86	95.73	47.72			

* Extr. 25 ml de CO_2 , restrictor a 60 °C.

TABLA 4

Evaluación de la recolección de HAP,s en perlas de vidrio silanizadas con CO_2 a 100 atm y temperatura ambiente*.

Comp.	T.R.(min)	Áreas/10 ⁻³			Rel. áreas			Rec. %
		Est	1er elu.	2da elu.	Est.	1er.elu.	2da.elu.	
Naftal.	3.41	46.08	27.90	2.17	0,481	0.290	0.021	60 4
Acenaf.	5.44	47.61	36.28	1.18	0,497	0.377	0.018	76 4
Antrac.	7.21	44.80	38.60	0	0,468	0.401	0	86 0
St. int.	11.88	95.73	96.41	102.64				

* Extr. 25 ml de CO_2 , restrictor a 60 °C.

* 1er. y 2da. eluc. temp. ambiente

* Perlas silanizadas a 350 °C en tubo de acero sellado.

TABLA 5

Evaluación de la recolección de HAP,s en perlas de vidrio silanizadas en atmósfera inerte con CO₂ a 100 atm y temperatura ambiente*.

Comp.	T.R.(min)	Áreas /10 ⁻³		Relación de áreas		Recup. %	
		Est.	1er.elu.**	2da.elu.	Est.		1er. eluc.
Naftal.	3.37	48.14	15.68	0	0.482	0.163	34
Acenaf.	5.39	50.18	20.22	0	0.502	0.210	42
Antrac.	7.15	49.28	24.65	0	0.493	0.256	52
St. Int.	11.82	99.95	96.09	96.83			

* Extr. 25 ml de CO₂, restrictor a 60 °C.

** 1er. y 2da. eluc. a temp. amb.

TABLA 6

Evaluación de la recolección de HAP,s en perlas de vidrio silanizadas con CO₂ a 100 atm y temperatura ambiente*.

Comp.	T.R:(Min)	Áreas/10 ⁻³		Rel. de áreas		Rec.		
		Est.	1er.elu.**	2da.elu.	Est	1er. eluc.	2da. eluv.	%
Naftal.	3.41	46.08	8.49	.89	0.481	0.092	0.009	19 2
Acenaf.	5.44	47.69	11.31	1.35	0.497	0.122	0.014	26 3
Antrac.	7.21	44.80	14.05	.58	0.468	0.152	0.006	32 1
St. Int.	11.88	95.73	92.50	94.07				

* Extr. 25 ml de CO₂, restrictor a 60 °C.

* Perlas silanizadas a 350 °C en tubo de acero sellado

** 1er. y 2da. eluc. a 40 °C.

TABLA 7

Evaluación de la recolección de HAP,s en perlas de vidrio silanizadas con CO₂ a 100 atm y temperatura ambiente*.

Comp.	T.R.(min)	Áreas/10 ⁻³				Rel.		Recup. %
		Est.	1er.elu.**	2da.elu.	3er..elu	Est.	1er. elu..	
Naftal.	3,28	64.23	35.81	0	0	0,512	0,244	48
Acenaf.	5,29	70.87	49.94	3.61	2.70	0,565	0,341	60
Antrac.	7,05	64.39	47.51	0	0	0,513	0,324	63
St. int.	11,7	125.53	146.61	137.73	137.24			

* Extr. 25 ml de CO₂, restrictor a 60 °C.

* perlas silanizadas a alta temp. en atmósfera inerte

** 1er. y 2da. eluc. a 40 °C.

TABLA 8

Evaluación de la recolección de HAP,s en columna C₁₈ con CO₂ a 100 atm y temperatura ambiente*.

Compuesto	T.R.(Min)	Áreas/10 ³			Relación de áreas		Recup. %
		Est.	1er.elu.**	2da.elu.	Est.	1er. eluc.	
Naftal.	3,44	54.79	31.49	0	0,474	0,277	58
Acenaf.	5,47	58.57	37.08	0	0,507	0,326	64
Antrac.	7,14	56.20	40.11	0	0,487	0,353	72
St. int.	11,9	115.49	113.77	110.14			

* Extr. 25 ml de CO₂, restrictor a 60 °C.

** 1er. y 2da. eluc. a temp. amb. con CH₂CL₂

ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA

TABLA 9

Evaluación de la recolección de HAP,s en columna C₁₈ con CO₂ a 100 atm y temperatura ambiente*.

Compuesto	Áreas/10 ³				Relación de áreas Recup.		
	T.R.(Min)	Est.	1er.elu. **	2da.elu.	Est.	1er. eluc.	%
Naftal.	3,45	59,16	7,29	0	0,492	0,088	18
Acenaf.	5,48	63,83	7,86	0	0,530	0,948	19
Antrac.	7,25	61,93	10,24	0	0,515	0,124	25
St. Int.	11,9	120,35	82,94				

* Extr. 25 ml de CO₂, restrictor a 60 °C.

** 1er. y 2da. elución a temp. amb. con CH₂CL₂

TABLA 10

Evaluación de la recolección de HAP,s en columna C₁₈ * con CO₂ a 100 atm y temperatura ambiente*.

Comp.	Áreas			Relación de áreas Recup.		
	T.R.(min)	Est.	1er. ext.	Est.	1er. ext.	%
Naftal.	3,45	59,16	31,55	0,492	0,225	45
Acenaf.	5,48	63,83	35,10	0,530	0,250	48
Antrac.	7,25	61,93	25,21	0,515	0,180	36
St. Int.	11,9	120,35	140,27			

* Extr. 25 ml de CO₂, restrictor a 60 °C.

TABLA 11

Evaluación de pérdidas de CH_2Cl_2 con 25 ml de CO_2 a 100 atm y temp. ambiente *.

Desfogue. tubo sílice (micras)	Temp. de recol. °C	Vol. inicial de CH_2Cl_2 (ml)	Vol. final de CH_2Cl_2 (ml)	Observaciones
13	-4	1	0,5	tapón abombado
5	-4	1	0,5	colección suspendida **
50	-4	2	1,5	tapón abombado
50	-10	1	0,4	tapón abombado
50	-11	1	0,2	tapón abombado
50	-11	1	--	explotó el frasco ***

* Frasco 5 ml

** Gran cantidad de CO_2 acumulado*** 1 ml de CO_2 enviado

TABLA 12

Evaluación de pérdidas de CH_2Cl_2 con 25 ml de CO_2 a 100 atm y temp. ambiente *.

Capacidad del frasco (ml)	Temp. recol. °C	Vol. inicial de CH_2Cl_2 (ml)	Vol. final de CH_2Cl_2 (ml)	Observaciones
5	-11	2	--	disol. consumido **
10	-11	2	--	disol. consumido **
10	-11	2	1,5	mayor control de temp.
10	-11	3	1,5	mayor control de temp.
5	-11	2	1	mayor control de temp.
5	-11	2	1	mayor control de temp.

* Tubo de sílice de 8 cm y de 250 μm de d.l.

** No hubo un buen control de la temp.

TABLA 13

Recup. de BHC y heptacloro por adición a Chromosorb con restrictor de 20 cm.

Compuesto	T.R.(min)	Áreas/10 ⁻⁶		Relación de áreas		Recup. %
		Est.	Ext.	Est.	Ext.	
BHC	9,58	1,178	0,86	0,544	0,259	48
BHC	10,1	2,590	1,00	1,197	0,426	36
Heptacloro	10,4	5,006	1,00	2,313	0,432	19
St. int. **	13,7	2,164	3,00			

* Extr. 25 ml de CO₂ a 100 atm y temp. amb., restrictor a 60 °C.

** Escualeno

BHC mezcla de isómeros, lab. Cromatografía de gases UNAM.

TABLA 14

Recup. de BHC y heptacloro por adición a Chromosorb con restrictor de 20 cm *.

Compuesto	T.R.(min)	Áreas/10 ⁻⁶		Relación de áreas		Recup. %
		Est.	Ext.	Est.	Ext.	
BHC	12,34	1,989	1,037	0,143	0,088	61
BHC	12,76	2,017	1,114	0,145	0,094	64
Heptacloro	13,98	4,956	2,822	0,355	0,238	67
St. int. **	16,78	1,395	1,186			

* Extr. 25 ml de CO₂ a 100 atm y temp. amb., restrictor a 60 °C.

** Escualeno

BHC mezcla de isómeros, lab. Cromatografía de gases UNAM.

TABLA 15

Recup. de BHC y heptacloro por adición a Chromosorb con restrictor de 20 cm *.

Compuesto	Areas/10 ⁻⁶		Relación de áreas		Recup. %	
	T.R.(min)	Est.	Ext.	Est. Ext.		
BHC	12,33	1,989	9,331	0,143	0,058	40
BHC	12,76	2,017	1,104	0,145	0,068	47
Heptacloro	13,98	4,956	2,426	0,355	0,149	42
St. int. **	16,79	1,395	1,622			

* Extr. 25 ml de CO₂ a 100 atm y temp. ambiente restrictor a 60 °C.

** Escualeno

BHC mezcla de isómeros, lab. Cromatografía de gases UNAM.

TABLA 16

Recup. de BHC y heptacloro por adición a Chromosorb con restrictor de 20 cm *.

Compuesto	Areas/10 ⁻⁶		Relación de áreas		Recup. %	
	T.R.(Min)	Est.	Ext.	Est. Ext.		
BHC	11,92	45,04	58,59	0,093	0,103	110
BHC	12,31	52,24	53,07	0,108	0,093	86
Heptacloro	13,49	1,262	93,83	0,261	0,165	63
St. int. **	15,48	4,835	56,95			

* Extr. 25 ml de CO₂ a 100 atm y temp. ambiente, restrictor a 60 °C.

** Escualeno

BHC mezcla de isómeros, lab. Cromatografía de gases UNAM.

TABLA 17

Recup. de BHC y heptacloro por adición a Chromosorb con restrictor de 40 cm *.

Compuesto	T.R.(min)	Áreas/10 ⁻⁶		Relación de áreas		Recup. %
		Est.	Ext.	Est.	Ext.	
BHC	12,25	1,095	78,02	0,068	0,055	80
BHC	12,65	2,046	1,456	0,126	0,102	81
BHC	12,71	1,007	6,691	0,062	0,047	75
Heptacloro	13,78	6,858	5,157	0,423	0,361	85
St. int. **	20,92	1,622	1,428			

* Extr. 25 ml de CO₂ a 100 atm y temp. ambiente, restrictor a 60 °C.

** Escualeno

BHC mezcla de isómeros, lab. de plaguicidas Universidad de Agricultura de Chapingo.

TABLA 18

Recup. de BHC y heptacloro por adición a Chromosorb con restrictor de 40 cm *.

Compuesto	T.R.(min)	Áreas/10 ⁻⁶		Relación de áreas		Recup. %
		Est.	Ext.	Est.	Ext.	
BHC	12,26	1,061	0,493	0,085	0,080	94
BHC	12,66	1,769	0,800	0,142	0,129	91
BHC	12,74	0,994	0,338	0,080	0,055	69
Heptacloro	13,80	6,388	2,643	0,512	0,427	83
St. int. **	20,96	12,48	6,200			

* Extr. 25 ml de CO₂ a 100 atm y temp. ambiente, restrictor a 60 °C.

** Escualeno

BHC mezcla de isómeros, lab. de plaguicidas Universidad de Agricultura de Chapingo.

TABLA 19

Resultados de extracción Soxhlet al suelo no. 206
con hexano/acetona 1:1 durante 24 hr.

<i>Extrac.</i>	<i>Muestra</i> (g)	<i>Vol.final</i> (ml) ^b	<i>BHC</i>	<i>Heptacloro</i> <i>Áreas</i>	<i>Endosulfan</i> <i>sulfato</i>
1 ^{b,d}	8	1	neg.	neg.	149801
2 ^b	8	0.25	neg.	neg.	neg.
3 ^c	8	0.25	neg.	neg.	107890
4 ^b	10	1	neg.	neg.	179630
5	10	0.25	neg.	neg.	133015

- a) Concentrado con N2
b) Análisis por SCAN
c) Análisis por SIM
d) Reflujo 14 hr.

TABLA 20

Resultados de extracción Soxhlet con hexano/acetona 1:1 durante 24 hr.

<i>Identificación</i>	<i>Extr.</i>	<i>Muestra</i> (g)	<i>Vol.final</i> (ml) ^a	<i>BHC</i>	<i>Heptacloro</i> <i>Áreas</i>	<i>Endosulfan</i> <i>sulfato</i>
Suelo /Rangel	1 ^b	10	1	neg.	neg.	neg.
	1 ^d	10	1	neg.	neg.	10685
Sedimento ^c	2 ^b	10	1	neg.	neg.	neg.

- a) Concentrado con N2
b) Análisis por SCAN
c) Muestra proporcionada por Ciencias del Mar, UNAM
d) Análisis por SIM

TABLA 21

Resultados de extracción Soxhlet en dos suelos con hexano/acetona 1:1 durante 24 hr. ^a.

Identif.	Inyec.	Proced. análisis	BHC ^a	Hepta-cloro ^a	Beta endosulfan ^a	Endosulfan sulfato ^a
Suelo 201	1	SCAN	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.
	1	SIM	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.
Suelo 206	2	SCAN	Neg.	Neg.	288859	Positivo
	2r	SIM	Neg.	Neg.	No cuant.	581611
	2r	SIM	Neg.	Neg.	No cuant.	508241
	3	SCAN	Neg.	Neg.	210432	Positivo
	3r	SIM	Neg.	Neg.	No cuant.	293943
	3r	SIM	Neg.	Neg.	No cuant.	298255

a) 70 g de muestra, conc. K - D. y N2. (a) áreas

TABLA 22

Resultados de extracción Soxhlet para el suelo Rangel con hexano/acetona 1:1 durante 24 hr. ^a

Identif.	Inyec.	Proced. análisis	BHC ^b	Hepta-cloro ^b	Beta endosulfan ^b	Endosulfan sulfato ^b
Rangel	1	SIM		Neg.	Neg.	21336
	1r	SIM	Neg.	Neg.	Neg.	16154
	1	SCAN	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.
	1r	SCAN	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.
	2	SCAN	Neg.	Neg.	Neg.	Positivo

a) 70 g de muestra, conc. K - D y N2. (b) áreas

TABLA 23

Resultados de 2 extracciones Soxhlet al suelo 206
con hexano/acetona 1:1. ^a

Compuesto	T.R.		Areas		
	Min	Est.	1er. extr. b	Est.	2da. extr. c
Estándar interno	14.29	11642	3334	153752	22901
Beta endosulfan	15.96		16571		16897
Endosulfan sulfato	16.55		23746		24388

a) Extr. 24 hr., 10 g suelo, análisis por SIM

b) Aldrin 0.2 ppm

c) Aldrin 2 ppm

TABLA 24

Resultados de la extracción con CO₂ supercrítico
a 200 atm y 49 °C.

Compuesto	T.R.		Areas	
	Min	Est.	1er. extracción, ^a	2da. extracción, ^b
Estándar interno ^c	14.13	144854	98603	90299
Endosulfan sulfato	16.40		5941	2578

a) Restrictor a 100 °C, extr. estática 10 min., dinámica 2 min.

b) Restrictor hasta 170 °C, extr. estática 10 min., dinámica 20 min.

a) y b) Metanol como modificador (200 µl), restrictor 40 cm.

c) Aldrin 2 ppm

TABLA 25

Resultados de la extracción con CO₂ supercrítico
a 200 atm y temperaturas de 67 y 97 °C.

Compuesto	T.R.		Áreas		
	Min	Est.	1er. extr. ^a	Est.	2da. extr. ^b
Estándar interno ^c	14.13	154252	96519	154944	99288
Endosulfan sulfato	16.40		8803		3169

- a) Temperatura 67 °C, extr. estática 10 min., dinámica 12 min.
 b) Temperatura 97 °C, extr. estática 10 min., dinámica 20 min.
 a) y b) Metanol (200 µl), restrictor 40 cm. a 180 °C
 c) Aldrin 2 ppm

TABLA 26

Resultados de extracciones con CO₂ supercrítico
a 300 atm y temperaturas diferentes.

Compuesto	T.R.		Áreas	
	Min	Est.	1er. extr. ^a	2da. extr. ^b
Estándar interno ^d	14.13	15468	14668	12464
Endosulfan sulfato	16.39		4198	5283

- a) y b) Restrictor 40 cm a 180 °C.
 a) y b) T CO₂ 68 y 97 °C, extr. estát. 10 min., dinám. 20 min.
 a) y b) Metanol (200 µl), Aldrin 0.2 ppm

TABLA 27

Resultados de 3 extracciones con CO₂ supercrítico
a 350 atm y temperaturas de 50 y 70 °C.

Compuesto	T.R. Min	Areas				
		Est.	1er. extr. ^a	St.	2da. extr. ^b	3er. extr. ^c
Estándar interno ^d	14.29	123439	98426	10896	3993	5374
Endosulfan sulfato	16.56		7562		6730	4929

a), b) y c) Extr. estática 10 min., dinámica 20 min, restrictor 40 cm.

a) y b) Extracción 50 °C, restrictor a 180 °C

c) Extracción 70 °C

d) Aldrin 2 ppm

TABLA 28

Resultados de 2 extracciones con CO₂ supercrítico
a 350 atm y 40 °C.

Compuesto	T.R. Min	Areas			
		Est.	1er. extr. ^a	Est.	2da. extr. ^b
Estándar interno ^c	14.29	10927	28614	9767	51402
Endosulfan sulfato	16.55		5186		5428

a) y b) Extr. estática 15 min., dinámica 20 min, restrictor 40 cm.

a) y b) Restrictor a 180 °C

d) Aldrin 0.2 ppm

TABLA 29

Resultados de extracciones con CO₂ supercrítico
a 50 °C y presiones de 300 y 350 atm.

Compuesto	T.R.	Areas		
	Min	1er. extr. ^a	2da. extr. ^a	3er. extr. ^b
Endosulfan sulfato	16.56	7562	6730	4327

a) y b) Extr. estática 10 min., dinámica 20 min, restrictor 40 cm.

a) Presión 350 atm, restrictor a 180 °C

b) Presión 300 atm.

TABLA 30

Resultados de 2 extracciones con CO₂ supercrítico
a 400 atm y 50 °C.

Compuesto	T.R.	Areas			
	Min	Est.	1er. extr. ^a	Est.	2da. extr. ^b
Estándar interno ^c	14.28	8863	4938	12333	3309
Endosulfan sulfato	16.55		9977		5046

a) Extr. estática 10 min., dinámica 20 min. Restrictor 40 cm.

b) Extr. estática 10 min., dinámica 8 min. Restrictor 80 cm

a) y b) Metanol (200 µl), restrictor a 180 °C

c) Aldrin 0.2 ppm

TABLA 31

Resultados de 2 extracciones con CO₂ supercrítico a 400 atm.,
50 °C y extrac. dinámica 20 y 40 min.

Compuesto	T.R.		Areas		
	Min	Est.	1er. extr. ^a	Est.	2da. extr. ^b
Estándar interno ^c	14.29	11872	4130	11771	2926
Endosulfan sulfato	16.56		9783		7053

a) Extr. estática 10 min., dinámica 20 min.

b) Extr. estática 10 min., dinámica 40 min.

a) y b) Metanol (200 µl), restrictor (70 cm) a 180 °C

c) Aldrin 0.2 ppm

TABLA 32

Resultados de extracciones con CO₂ supercrítico
a 400 atm y 50 °C.

Comp.	Extr.1	Extr.2	Extr.3	Extr.4	Extr.5	Extr.6	Prom.	DER.
Beta endosulfan	-	5176	-	6558	5609	6061	5851	10
Endosulfan sulfato	9977	-	9783	7053	4098	4648	7112	39

TABLA 33

Resultados de extracciones con CO₂ supercrítico
y extracción Soxhlet.

Compuesto	1er. Extr.	2da. Extr.	Prom.	Prom.	Prom.	Recup. (%)
	Soxhlet	Soxhlet	10 g	2g a	SF	
Beta endosulfán	16571	16897	16734	3347	5851	175
Endos. sulfato	23746	24388	24067	4813	7112	148

a) calculado

TABLA 34

Resultados de recuperaciones del estándar interno
en extracciones con CO₂ supercrítico.

Extr.	Recup.	Prom. (%)	Extr.	Recup.	Extr.	Recup.	Prom. (%)
1 a	68	64	8 c	95	19 c	56	52
2 a	62		9 c	80	21 c	27	
3 a	62		10 c	68	22 c	35	
4 a	64		11 d	80	23 c	25	
5 a	67		13 c	37	24 c	37	
7 b	64		14 c	49	25 c	36	
			10 c	47			

a) Aldrin 2 ppm y b) 0.2 ppm adicionado al CH₂CL₂
c) Aldrin 0.2 ppm y d) 2 ppm adicionado al suelo

TABLA 35

Resultados del suelo 206 en extracciones soxhlet y FS
con detector de captura de electrones.

Compuesto	T.R. min.	Áreas/10 ⁻⁴ Sohxlet				CO2 superocr.
		St.	1er b	2da. .b	3er c	
Aldrin ^a	14.67	9,42	798,0	725,0	383,0	345,0
alfa endosulfan	17.30	7,69	188,0	167,0	96,0	156,0
Dieldrin	17.98	7,20	-	219,0	122,0	175,0
Endrin	18.97	5,68	59,0	551,0	-	6,73
beta endosulfan	19.20	6,38	516,0	461,0	331,0	396,0
pp. DDD	19.41	4,37	291,0	258,0	-	12,9
End. sulfato ^d	20.68	4,89	551,0	486,0	417,0	454,0

a) Estándar interno

b) y c) 1 µl y 0.5 ul inyectados, vol final 300 µl.

c) 1 µl inyec. vol final 100 µl.

d) endosulfan sulfato

TABLA
36

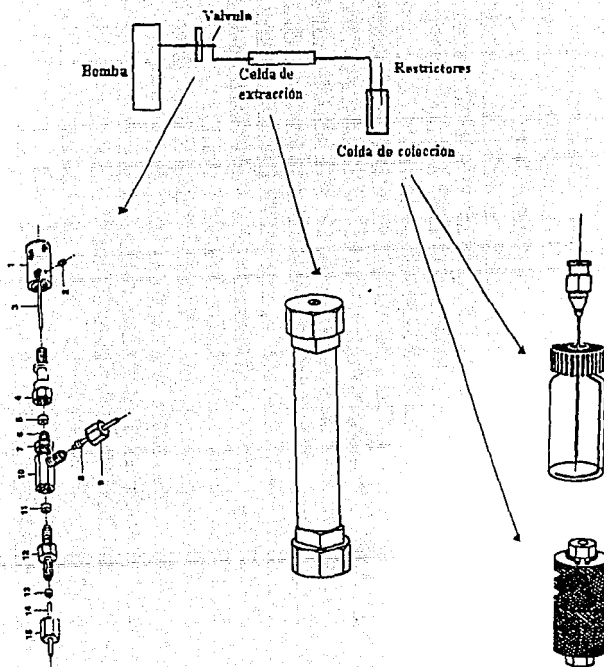
Resultados de concentraciones del suelo 206
en extracciones Soxhlet y con CO₂ supercrítico.

Compuesto	T.R. min.	Concentraciones extracción Sohxlet	(ng/g) extrac. con CO ₂ supercrítico
alfa endosulfan	17.30	14	20
Dieldrin	17.98	19	24
Endrin	18.97	6	1
beta endosulfan	19.20	45	62
pp. DDD	19.41	4	3
Endosulfan sulfato	20.68	64	93

9. ANEXOS

ANEXO A

Montaje del equipo de extracción con fluidos supercríticos para pruebas preliminares.



ANEXO B

Plaguicidas encontrados en el sedimento río Papaloapan (no. 2).
Análisis con detector de captura de electrones (Rueda, 1993).

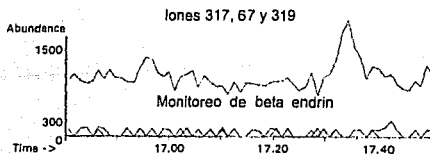
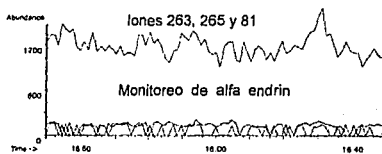
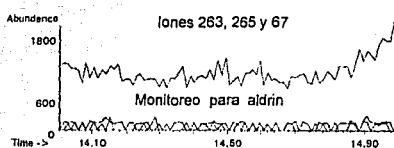
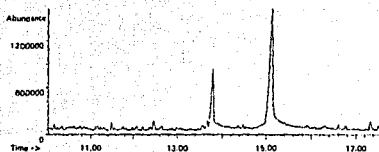
TABLA 8. Concentración de compuestos organoclorados (ng/g peso seco) en
SEDIMENTOS SECIENTES de la laguna de Alvarado, Veracruz.
Junio de 1999.

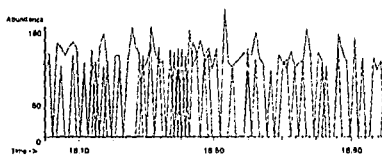
COMPUSTOS	E S T A C I O N E S					X	D.E.
	LA BARBA(1)	RIO PAPALOAPAN(2)	RIO PAQUITA(3)	BOCA DEL TRAGADERO(4)	LAGUNA DE S. PAIS(5)		
1. ALFA BHC	0.72	0.057	N.D	0.50	0.62	0.47	0.29
2. GAMA BHC	0.46	0.35	0.61	0.91	1.92	0.85	0.63
3. BETA BHC	1.67	0.47	0.81	1.45	1.69	1.26	0.60
4. SEPTACLORO	3.46	0.44	0.02	14.77	0.88	3.91	6.21
5. ALDRIN	2.00	1.15	0.00	2.91	4.43	2.11	1.66
6. SEPTACLORO E.	0.99	0.54	N.D	0.49	1.45	0.87	0.45
7. ENDOSULFAN I	N.D	N.D	N.D	N.D	1.22	1.22	--
8. p,p'-DDE	3.12	0.10	4.42	N.D	3.50	1.78	1.77
9. DIALDRIN	2.10	N.D	N.C	N.D	2.01	2.05	0.06
10. ENDRIN	11.02	1.02	6.20	7.07	12.00	7.02	4.77
11. p,p'-DDD	0.89	N.D	N.D	N.D	N.D	0.89	--
12. ENDOSULFAN II	N.D	N.D	N.D	N.D	0.67	0.67	--
13. p,p'-DDT	2.24	N.D	N.D	N.D	N.D	2.24	--
14. ENDRIN ALDERIDO	1.77	N.D	N.D	N.D	N.D	1.77	--
15. ENDOSULFAN S.	N.D	N.D	1.40	N.D	N.D	1.40	--
	31.24	4.13	6.62	20.10	31.49		

SUMA TOTAL = 104.577 ng/g
N.D. = No Detectado

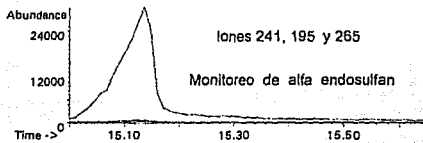
ANEXO C

Monitoreo del blanco de reactivos en la extracción Soxhlet. Análisis por SCAN.

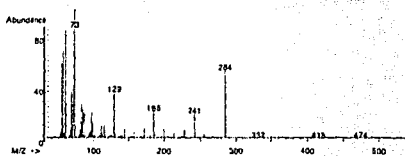




Monitoreo de endosulfan sulfato
Iones 272, 274 y 229



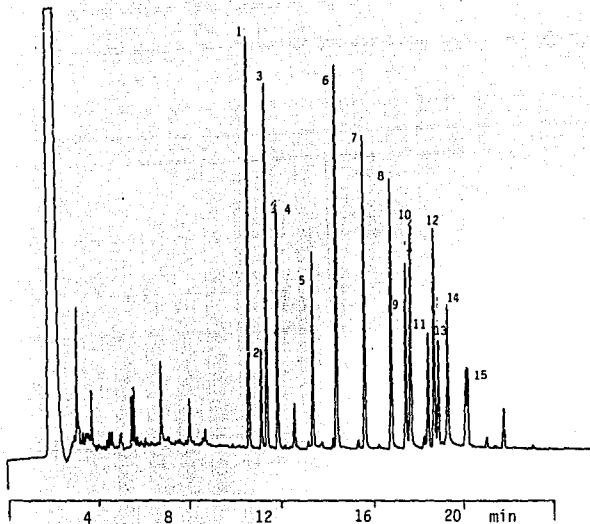
Iones 241, 195 y 265
Monitoreo de alfa endosulfan



Espectro de masas del monitoreo anterior:
Ión 141 pequeño, no corresponde al alfa endosulfan

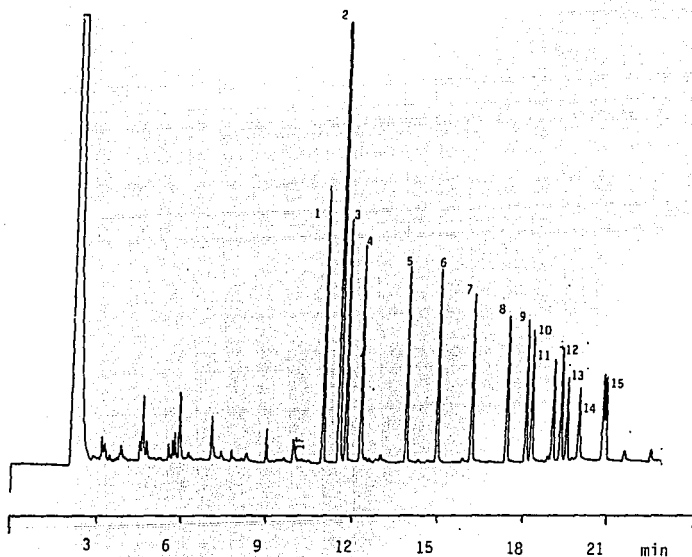
ANEXO D

Estándar de 15 plaguicidas, análisis con detector de captura de electrones. Columna DB1 30 mt, 0.25 mm de d.i. Programa de temperatura: 60 °C durante 2 minutos a 20 °C/min hasta 240 °C y 10 °C/min hasta 290 °C por 7 minutos. (1) Alfa BHC, (2) beta BHC, (3) gama BHC, (4) delta BHC, (5) heptacloro, (6) aldrin, (7) heptacloro epoxido, (8) alfa endosulfan, (9) dieldrin, (10) p,p'DDE, (11) endrin, (12) beta endosulfan, (13) p,p'DDD, (14) endrin aldehído y (15) endosulfan sulfato.



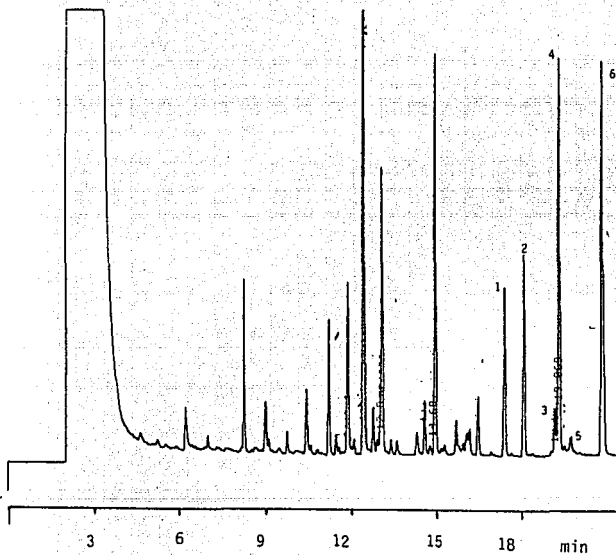
ANEXO E

Estándar de 15 plaguicidas para cuantificar la extracción Soxhlet y con fluidos supercríticos. Análisis con DCE. Condiciones en anexo D. (1) Alfa BHC, (2) beta BHC, (3) gama BHC, (4) delta BHC, (5) heptacloro, (6) aldrin, (7) heptacloro epóxido, (8) alfa endosulfan, (9) dieldrin, (10) p,p'DDE, (11) endrin, (12) beta endosulfan, (13) p,p'DDD, (14) endrin aldehído y (15) endosulfan sulfato.



ANEXO F

Cromatograma de una muestra de suelo extraída con CO_2 supercrítico utilizando DCE. Condiciones en anexo D. (1) Alfa endosulfan, (2) dieldrin, (3) endrin, (4) beta endosulfan, (5) p,p DDD, y (6) endosulfan sulfato.



ANEXO G

Cromatograma de una muestra de suelo extraída en Soxhlet utilizando DCE. Condiciones en anexo D. (1) Alfa endosulfan, (2) dieldrín, (3) endrín, (4) beta endosulfan, (5) p,p DDD y (6) endosulfan sulfato.

