



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE
MÉXICO

**PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO EN CIENCIAS
QUÍMICAS**

Estudio de la cinética de sorción de HAP en suelos utilizando cromatografía de gases y
cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas.

TESIS
PARA OPTAR POR EL GRADO DE
DOCTOR EN CIENCIAS

PRESENTA

Q. Miguel Ángel Delgadillo Marín



TUTOR: Dra. Araceli Peña Álvarez
Facultad de Química UNAM

AÑO: 2014



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



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 esta 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.

AGRADECIMIENTOS

A mis queridas: Universidad Nacional Autónoma de México y Facultad de Química, por toda la formación que me han brindado.

Al Posgrado en Ciencias Químicas, por permitirme dar un paso más en mi desarrollo profesional.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología por el otorgamiento de la beca doctoral y beca mixta para la realización de ésta investigación y la estancia doctoral en Barcelona, a través del número de becario: 195813.

Al proyecto PAPIIT: IN-204808, por los fondos recibidos para la realización de ésta investigación.

Al apoyo económico de la cátedra “Profesor Francisco Javier Garfías y Ayala”, otorgada por la Secretaría del Medio Ambiente y Recursos Naturales en conjunto con la Facultad de Química de la UNAM para proyectos de investigación de carácter ambiental.

A la Dra. Araceli Peña Álvarez por la dirección del presente trabajo y todos sus consejos y enseñanzas, pero sobre todo por su amistad, apoyo y paciencia.

Al Dr. Josep María Bayona Termens, por su valiosa dirección y enseñanzas durante mi estancia en el entonces Instituto de Investigaciones Químicas y Ambientales, del CSIC, Barcelona.

A la Dra. Alma Luisa Revilla Vázquez y al Dr. Mario Villalobos Peñaloza, que fueron parte de mi comité tutorial y que enriquecieron este trabajo con su valiosa participación y opiniones.

A la Dra. Lucy Mora Palomino y al Dr. Rutilio Ortiz Salinas, por todos sus conocimientos de edafología y suelos compartidos con mi persona, así como por las muestras de suelos que me proporcionaron y la caracterización de los mismos.

A los miembros del jurado, por su tiempo y sus valiosos comentarios durante la revisión de la tesis.

A los profesores: Carmen Labastida, Santiago Capella, Adolfo García, Silvia Mendoza, Ernestina Cervera, Martha Patricia García, Rosario Hernández, Evangelina Camacho por sus valiosos consejos y ánimos durante mi estancia en el posgrado.

A mis compañeros y amigos del laboratorio 101, del posgrado, de la Facultad de Química y de los Institutos de Geología y Geografía, por su amistad y ayuda durante mi estancia en el posgrado y a quienes no terminaría de enumerar aquí, pero que saben que los estimo y les agradezco su apoyo.

¡ Gracias a todos !

“Por mi raza hablará el espíritu”

DEDICATORIA

A mi esposa y mi hijo, por ser todo para mí, ¡con todo mi corazón y mi alma, gracias por apoyarme en todas mis locuras!

A mis padres y a mi hermano, ¡por esa fuente inagotable de comprensión, apoyo y amor!

A la memoria de mi abuelo.

¡ Hasta la victoria siempre y ni un paso atrás.....!

TRABAJOS GENERADOS

El presente trabajo de investigación se realizó con el apoyo UNAM-PAPIIT IN-204808, la beca para estudios de doctorado de CONACyT no. 195813 y generó las siguientes participaciones en congresos nacionales e internacionales:

- XI Congreso Latinoamericano de Cromatografía y Ciencias Afines, “Estudio de la sorción de hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAP’s) en suelo utilizando CG-PTV/ FID”, 26 al 30 de junio 2006, Mérida, Yucatán, México.
- XXI Congreso Nacional de Química Analítica, “Inyección de grandes volúmenes para la determinación de HAP’s en suelos utilizando cromatografía de gases con inyector de temperatura programada de vaporización (PTV)”, 5 al 7 de septiembre 2007, Monterrey, Nuevo León, México.
- 32nd International Symposium on Capillary Chromatography and 5th GC Symposium, “Evaluation of sorption kinetic of PAH in soil by gas chromatography with programmed temperatura vaporization”, 26 al 30 de mayo 2008, Riva del Garda, Italia.
- 44° Congreso Nacional de Química de la Sociedad Química de México, “Caracterización de la sorción de HAPs en suelos; influencia del carbono orgánico”, septiembre de 2009. Puebla, México.

Publicaciones:

- Miguel Ángel Delgadillo-Marín, Araceli Peña-Álvarez, Mario Villalobos. Application of programmed temperature vaporization large volume injection gas chromatography (PTV-LVI- GC) to the analysis of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in soils. Journal of the Mexican Chemical Society. 57(2), 2013, 85-91.

ÍNDICE GENERAL

RESUMEN.....	i
ABSTRACT.....	ii
INTRODUCCIÓN.....	2
HIPÓTESIS.....	4
1. OBJETIVOS.....	5
1.1 Objetivo general.....	5
1.2 Objetivos particulares.....	5
2. ANTECEDENTES.....	7
2.1 Composición del petróleo.....	7
2.2 Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos (HAP).....	7
2.2.1 Propiedades físicoquímicas de los HAP.....	10
2.2.2 Los HAP en el suelo.....	12
2.2.3 Biodegradación de los HAP.....	13
2.2.4 Biodisponibilidad de los HAP.....	15
2.3 El suelo y sus componentes.....	16
2.4 Fracción orgánica del suelo.....	17
2.5 Sorción de contaminantes orgánicos en suelo.....	20
2.5.1 Sorción y desorción de compuestos orgánicos en suelo.....	22
2.6 Coeficientes de reparto K_d y $\log K_{oc}$	23
2.7 Isotermas y curvas cinéticas de sorción.....	25
2.8 Cromatografía de gases y cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas.....	29
2.9 Inyector de temperatura de vaporización programada (PTV) e inyección de grandes volúmenes (LVI por sus siglas en inglés).....	32
3. DESARROLLO EXPERIMENTAL.....	35
3.1 Materiales y reactivos.....	35
3.2 Equipos.....	35
3.3 Estrategia analítica y experimental.....	37
3.4 Caracterización de las muestras de suelo.....	38
3.5 Elección de compuestos para la fortificación de las muestras de suelo.....	39
3.6 Desarrollo y optimización de la metodología por PTV-LVI-GC.....	40
3.6.1 Preparación de muestras.....	40
3.6.2 Optimización de la neumática del PTV.....	41
3.7 Diseño de los experimentos cinéticos.....	42

3.7.1 Experimentos en suelos S1 y S3.....	42
3.7.2 Experimentos en suelos S2 y S4 con carbonilla.....	43
3.8 Determinación de K_d y K_{oc} ; isothermas de sorción.....	44
3.8.1 Experimentos en suelos S1 y S3.....	44
3.8.2 Experimentos en suelos S2 y S4 con carbonilla.....	44
3.9 Análisis de los HAP.....	45
3.9.1 Extracción de HAP en las muestras S1 y S3.....	45
3.9.2 Identificación y cuantificación de HAP en las muestras S1 y S3.....	45
3.9.3 Extracción de PAC en las muestras S2 y S4 con carbonilla.....	46
3.9.4 Identificación y cuantificación de PAC en las muestras S2 y S4 con carbonilla.....	47
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	49
4.1 Caracterización de las muestras de suelo.....	49
4.2 Metodología para la determinación de HAP por CG-LVI-PTV.....	50
4.2.1 Preparación de las muestras.....	50
4.2.2 Optimización de flujo y presión del PTV.....	53
4.2.3 Precisión de la inyección de grandes volúmenes (LVI).....	55
4.2.4 Eficiencia del sistema cromatográfico con inyector PTV.....	57
4.2.5 Validación de la metodología por PTV-LVI-GC.....	60
4.3 Preparación de las muestras de suelo S2 y S4.....	62
4.4 Validación de la metodología por CG-EM.....	72
4.5 Curvas cinéticas de sorción para los suelos S1 y S3.....	74
4.6 Cinéticas de sorción para los suelos S1 y S3.....	78
4.7 Curvas cinéticas de sorción para los suelos S2 y S4 con carbonilla.....	82
4.8 Cinéticas de sorción para los suelos S2 y S4 con carbonilla.....	86
4.9 Isothermas de sorción de Freundlich y obtención de K_d y K_{oc}	89
4.10 Correlación entre $\log K_{oc}$ vs $\log K_{ow}$	95
5. CONCLUSIONES.....	97
6. PERSPECTIVAS.....	99
7. REFERENCIAS.....	100
8. ANEXO.....	110
8.1 Isothermas de muestra para fenantreno en S2.....	110
8.1.1 Isothermas de Freundlich para fenantreno en S2.....	110

8.1.2 Isotermas de Freundlich para fenantreno en S2 adicionado con carbonilla.....	111
8.2 Isotermas de muestra para Fenantreno en S4.....	112
8.2.1 Isotermas de Freundlich para fenantreno en S4.....	112
8.2.2 Isotermas de Freundlich para fenantreno en S4 adicionado con carbonilla.....	113
8.3 Publicación.....	114

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Propiedades fisicoquímicas de los HAP.....	11
Cuadro 2. Identificación de las muestras de suelo estudiadas.....	38
Cuadro 3. Compuestos seleccionados para los experimentos cinéticos y la determinación de K_d y K_{oc}	40
Cuadro 4. Resultados de la caracterización de las muestras de suelo.....	49
Cuadro 5. Precisión de la metodología desarrollada por PTV-LVI, utilizando una disolución estándar de HAP de $50 \mu\text{g L}^{-1}$ (n = 7).....	57
Cuadro 6. Comparación de H (eficiencia) entre una inyección LVI y una inyección splitless.....	59
Cuadro 7. Cuantificación de HAP en el suelo tipo S1 (n=7), con el método por PTV-LVI-G.....	61
Cuadro 8. Cuantificación de HAP en los suelos S2 y S3 (n=3), con el método por PTV-LVI-GC.....	62
Cuadro 9. Porcentaje de recuperación de los analitos de fortificación en el suelo S4, n= 3.....	72
Cuadro 10. Validación del método por CG-EM, realizada con el suelo S4 adicionado con carbonilla.....	74
Cuadro 11. Parámetros cinéticos calculados con el modelo cinético de sorción de primer orden.....	81
Cuadro 12. Coeficientes de correlación (R^2) para el modelo cinético de sorción de primer orden y constantes de velocidad (kr) para los suelos S2 y S4 con y sin adición de carbonilla.....	87
Cuadro 13. Precisión de experimentos cinéticos estimada como CV % (n=3), para los suelos S2 y S4 con y sin carbonilla.....	89
Cuadro 14. Parámetros del modelo de Freundlich K_F y $1/n$, y coeficientes de ajuste (R^2), para los PAC, en las muestras S2 y S4 con y sin carbonilla.....	92
Cuadro 15. Valores de K_d calculados a partir de los datos experimentales en los distintos tipos de suelo.....	94
Cuadro 16. Valores de $\log K_{oc}$ calculados a partir de los datos experimentales en los distintos tipos de suelo.....	95

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Estructura química de 16 hidrocarburos aromáticos policíclicos regulados por la USEPA.....9

Figura 2. Ilustración de las interacciones que pueden llevar a cabo contaminantes orgánicos (sorbato) con partículas de MO nativa de un suelo (sorbente en fase sólida).....19

Figura 3. Procesos que pueden seguir los contaminantes orgánicos en el suelo.....22

Figura 4. Clasificación de Isotermas de sorción, los modelos de Freunlich y Langmuir son las más utilizadas en estudios de sorción de compuestos orgánicos en suelos.....27

Figura 5. Curva cinética de sorción para un compuesto orgánico “x” en suelo.....29

Figura 6. Diagrama de un sistema acoplado de cromatografía de gases – espectrometría de masas (CG-EM).....32

Figura 7. Esquema de operación del inyector PTV en modo de eliminación de disolvente.....34

Figura 8. Cromatogramas: a) análisis por CG-LVI-PTV sin limpieza del extracto de suelo, b) análisis por CG-LVI-PTV de un extracto de suelo saponificado y c) análisis por CG-EM- splitless de un extracto de suelo saponificado. 1. Fenanteno, 2. Antraceno, 3. Fluoranteno, 4. Pireno, 5. Criseno y 6. Benzo (a) pireno a 50 ng mL⁻¹.....52

Figura 9. Optimización del flujo de venteo para PTV-LVI.....53

Figura 10. Optimización del flujo de venteo para PTV-LVI.....55

Figura 11. Cromatograma del análisis de HAP en suelo fortificado: a) inyección splitless, b) inyección LVI60

Figura 12. Cromatogramas de las muestras “blanco” del suelo con S2. A muestra el cromatograma del extracto previo a la limpieza por columna de sílice, C muestra el cromatograma del extracto de la fracción aromática después de realizar la limpieza mediante columna de sílice.....63

Figura 13. Cromatogramas de las muestras “blanco” del suelo S4. A muestra el cromatograma del extracto previo a la limpieza por columna de sílice, C muestra

el cromatograma del extracto de la fracción aromática después de realizar la limpieza mediante columna de sílice.....	64
Figura 14. Análisis de carbonilla. A) cromatograma del extracto de la carbonilla. B) cromatograma de una mezcla de patrones de fortificación.....	65
Figura 15. Cromatogramas de los extractos de suelos blancos adicionados con carbonilla y limpiados, por GPC. A) y B) muestran los cromatogramas de los blancos de suelo S2 y S4 respectivamente, ambos adicionados con carbonilla	66
Figura 16. Cromatogramas por GPC, a) detector UV-visible, b) detector de fluorescencia, para una inyección de la mezcla de estándares de fortificación a una concentración de $10 \mu\text{g mL}^{-1}$	67
Figura 17. Cromatogramas por GPC, a) detector UV-visible, b) detector de fluorescencia, para el extracto de suelo (blanco) S2 con carbonilla (0.05 % p/p).....	68
Figura 18. Cromatogramas por GPC, a) detector UV-visible, b) detector de fluorescencia, para el extracto de suelo (blanco) S4 + CO (0.2 % p/p).....	69
Figura 19. Cromatogramas por GPC, a) detector UV-visible, b) detector de fluorescencia, para el extracto de suelo fortificado con S2.....	70
Figura 20. Cromatogramas por GPC, a) detector UV-visible, b) detector de fluorescencia, para el extracto de suelo S4.....	71
Figura 21. Perfiles cinéticos de sorción de HAP en el suelo S1	75
Figura 22. Perfiles cinéticos de desaparición de HAP en la solución del suelo S1.....	76
Figura 23. Perfiles cinéticos de sorción de HAP en el suelo S3.....	77
Figura 24. Perfiles cinéticos de sorción de HAP en el suelo S2.....	83
Figura 25. Perfiles cinéticos de sorción de HAP en el suelo S2 adicionado con carbonilla.....	83
Figura 26. Perfiles cinéticos de sorción de HAP en el suelo S4.....	85
Figura 27 Perfiles cinéticos de sorción de HAP en el suelo S4 adicionado con carbonilla.....	86
Figura 28. Correlación entre Log Kow y Log Koc para S2.....	96

RESUMEN

Los hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAP) son compuestos orgánicos hidrofóbicos, clasificados como contaminantes prioritarios del medio ambiente. Los HAP se encuentran en el petróleo crudo, por lo que pueden contaminar el suelo por derrames de óleo en sitios con actividad petrolera. Por esta razón, es importante contar con metodologías analíticas sensibles, selectivas, reproducibles y robustas, que permitan realizar estudios sobre la permanencia y destino de estos compuestos en el medio ambiente. En el presente trabajo de investigación, se desarrolló, optimizó y validó una metodología por cromatografía de gases con temperatura de vaporización programada e inyección de volúmenes grandes (GC-PTV-LVI, por sus siglas en inglés), para realizar un estudio de la cinética de sorción de HAP de diferente peso molecular sobre cuatro tipos de suelo del sureste de la República Mexicana, con diferente contenido de materia orgánica (MO). A partir de la aplicación de la metodología desarrollada se logró la correcta identificación y cuantificación de los compuestos de interés en las diferentes muestras de suelo estudiadas, lo cual permitió generar información acerca de la sorción de los HAP en esta matriz. Se obtuvieron límites de detección entre 9 y 12 ng g⁻¹ de suelo para los seis HAP en estudio, así como una adecuada precisión con C.V. menores al 19 % y recuperaciones entre 61 y 96 %. El estudio cinético mostró que la sorción de HAP en suelos con alto contenido de materia orgánica (MO), se lleva a cabo en dos etapas, las cuales se ajustaron a un modelo cinético de primer orden. En la primera etapa ocurre una cinética de sorción rápida, seguida de una segunda sorción más lenta, como lo demostraron las constantes de velocidad calculadas a partir de los resultados experimentales obtenidos. Ambas etapas de sorción presentaron una correlación aceptable ($R^2 > 0.90$) con el modelo cinético de primer orden propuesto. Por otra parte, por medio de las constantes de velocidad y de los coeficientes de reparto K_d obtenidos a partir de los datos experimentales, se demostró que la MO acelera e incrementa la sorción de estos compuestos en el suelo, lo cual disminuye su movilidad y en consecuencia su capacidad de migración y su biodisponibilidad hacia los seres vivos.

ABSTRACT

The polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) are hydrophobic organic compounds classified as priority pollutants of the environment. The PAHs are found in crude oil, which can contaminate soil from oil spills at oil industry sites. For this reason, it is important to have analytical methodologies sensitive, selective, reproducible and robust that allow to study the persistence and fate of these compounds in the environment. In the present research work a methodology by gas chromatography with programmed temperature vaporization and injection of large volumes (PTV-LVI-GC) was developed, optimized and validated, to study the sorption kinetics of PAHs of different molecular weight on four soils of southeastern Mexico, with different content of organic matter (OM). A correct identification and quantification of the compounds of interest in the different soil samples was achieved by application of the developed methodology, which allowed to generate information about the sorption of PAHs in the soil samples. Detection limits between 9 and 12 ng g⁻¹ soil were obtained for the six PAHs under study as well as adequate precision, below 19 % and recoveries between 61 and 96 %. The kinetic studies showed that HAP sorption in soil is carried out in two stages, which were fitted to a kinetic model of pseudo-first order. In the first stage fast sorption kinetics occurs followed by a second slower sorption, as demonstrated by the calculated rate constants from experimental results. Both sorption stages showed a good correlation ($R^2 > 0.90$) with the proposed model of pseudo-first order. Moreover, the rate constants and K_d partition coefficients obtained from experimental data showed that the OM accelerates and increases the sorption of these compounds in soil, while their mobility decreases and consequently their migration ability and bioavailability to organisms.

INTRODUCCIÓN

En México, la Ley General del Equilibrio Ecológico y la Protección al Ambiente en su artículo tercero, define como residuos peligrosos a todos aquellos residuos en cualquier estado físico que por sus características corrosivas, tóxicas, venenosas, reactivas, explosivas, inflamables, biológicas infecciosas o irritantes representen un peligro para el equilibrio ecológico o para el medio ambiente, de manera análoga, a nivel internacional, la Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos (USEPA, por sus siglas en inglés), la Comunidad Económica Europea (CEE), la Organización para la Cooperación y el Desarrollo (OCDE), entre otros organismos, regulan la presencia de sustancias tóxicas en el medio ambiente.

Los hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAP), son considerados contaminantes persistentes y prioritarios para el medio ambiente (agua, suelo y aire) debido a su elevada toxicidad y a sus comprobados efectos mutagénicos en seres humanos y animales, ocasionados entre otras causas por su elevada estabilidad química y, por tanto, su capacidad de bioacumularse en organismos vivos, de tal forma que es importante conocer su movilidad y destino en los diferentes compartimentos ambientales. Los HAP se encuentran en el petróleo crudo en concentraciones entre 20 y 2000 mg Kg⁻¹ [1]. La contaminación del suelo con estos compuestos puede ocurrir por deposición atmosférica asociados a las partículas suspendidas totales en aire (PST), o bien por derrames de petróleo en sitios con actividad industrial y del sector petrolero [2]. Cuando ocurren derrames de petróleo crudo sobre grandes extensiones de suelo, parte del producto derramado pasa a la atmósfera rápidamente por evaporación (fracción volátil); sin embargo, los compuestos semivolátiles y de alto peso molecular permanecen en el suelo por mayores periodos de tiempo, por lo que establecen más interacciones con la materia orgánica (MO) nativa del suelo. La magnitud de dichas interacciones define su movilidad, biodisponibilidad y destino en el medio ambiente [3,4]. El término sorción se utiliza comúnmente para referirse a la retención de un compuesto específico en una matriz ambiental compleja (suelo, sedimento, lodo, etc), donde es prácticamente imposible diferenciar los fenómenos de absorción (inclusión al interior de la matriz) y adsorción

(interacción superficial con la matriz), así, por convención, dicho término abarca ambos aspectos (sorción = adsorción + absorción). Por otra parte, en casos de contaminación por hidrocarburos de la fracción media y pesada del petróleo (donde se encuentran presentes los HAP) sobre áreas de suelo cercanas a cuerpos de agua, la retención o movilidad de estos compuestos toma un papel aún más importante, ya que si los compuestos no son sorbidos (retenidos) por la MO, las posibilidades de migración vertical u horizontal (distribución espacial), o bien procesos de lixiviación hacia cuerpos de agua naturales es elevada, aumentando así el impacto negativo al ecosistema y el riesgo al medio ambiente e incluso a la salud de la población que pudiera consumir agua u organismos acuáticos contaminados con estos compuestos [4-9].

Por lo tanto, el objetivo general de la presente investigación fue el desarrollo, la optimización y la validación de una metodología analítica por cromatografía de gases con temperatura de vaporización programada para la inyección de grandes volúmenes de muestra (GC-PTV-LVI, por sus siglas en inglés), que permitiera realizar un estudio de la cinética de sorción de los HAP en cuatro diferentes suelos del sureste de la República Mexicana; evaluando el efecto del contenido de MO y la adición de carbonilla sobre el proceso de sorción de HAP en los suelos, y de esta manera, generar información acerca de su movilidad y posible destino en el medio ambiente. Para el desarrollo experimental se eligieron compuestos representativos del grupo de los HAP (HAP-nativos y Alquil-HAP), así como compuestos aromáticos policíclicos azufrados y nitrogenados (S-PAC y N-PAC respectivamente, por sus siglas en inglés), los cuales también son componentes del petróleo crudo. Los compuestos elegidos abarcaron estructuras pericondensadas y catacondensadas, así como un intervalo amplio en cuanto a peso molecular y número de anillos aromáticos (de 2 a 6). Las diferencias estructurales y fisicoquímicas de los compuestos aromáticos policíclicos utilizados, así como el diferente contenido de MO de los suelos y la adición de carbonilla, permitieron evaluar y concluir sobre la influencia que tiene el carbono orgánico en la sorción de éstos compuestos en los suelos estudiados desde un enfoque cinético y termodinámico.

HIPÓTESIS

1.- Dada la baja concentración de contaminantes en matrices ambientales complejas como lo es el suelo, mediante el desarrollo y optimización de una metodología analítica de alta sensibilidad y especificidad utilizando la inyección de grandes volúmenes por cromatografía de gases con temperatura de vaporización programada (LVI-GC-PTV, por sus siglas en inglés), será posible la cuantificación de compuestos aromáticos policíclicos en suelos a niveles de trazas y de esta manera realizar un estudio de sorción de este tipo de compuestos persistentes en el medio ambiente.

2.- Debido a la elevada afinidad de los compuestos aromáticos policíclicos por la materia orgánica nativa de los suelos, la cinética de sorción de estos compuestos así como sus coeficientes de distribución K_d y $\log K_{oc}$, se verán modificados en función del contenido de materia orgánica de cada suelo y podrá evaluarse la influencia del carbón negro mediante la adición de carbonilla a los suelos.

3.- Un mayor contenido de materia orgánica, así como la adición de carbonilla a los suelos estudiados, deberá favorecer la no linealidad del proceso de sorción de los compuestos aromáticos policíclicos en los suelos, al aumentar la heterogeneidad de los sitios activos para la sorción de los compuestos estudiados y de esta manera aumentar posiblemente su retención.

1. OBJETIVOS

1.1 OBJETIVO GENERAL

Desarrollar una metodología analítica por cromatografía de gases con temperatura de vaporización programada para la inyección de grandes volúmenes de muestra (GC-PTV-LVI, por sus siglas en inglés), para realizar un estudio de la cinética de sorción de HAP en suelos de la República Mexicana con diferente contenido de materia orgánica y evaluar la influencia del carbón negro mediante la adición de carbonilla, con lo cual se podrá obtener información acerca de su movilidad y posible destino en el medio ambiente.

1.2 OBJETIVOS PARTICULARES

- Obtener muestras de diferentes suelos no perturbados susceptibles a ser contaminadas por derrames de petróleo crudo en zonas con actividad petrolera.
- Caracterizar las muestras obtenidas, determinar textura y contenido de materia orgánica.
- Diseñar los experimentos necesarios para la fortificación de las muestras con compuestos representativos del grupo de los HAP (condiciones experimentales, tiempo de contacto para los experimentos cinéticos, niveles de fortificación, etc)
- Desarrollar, optimizar y validar una metodología analítica por cromatografía de gases con inyector PTV, para la cuantificación de los HAP en las muestras de suelo, utilizando la inyección de grandes volúmenes (LVI por sus siglas en inglés).
- Realizar la validación de una metodología por cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas para la cuantificación de los HAP en las muestras de suelo.
- Realizar un estudio cinético de sorción de HAP, S-PAC y N-PAC en los diferentes tipos de suelo estudiados, con el objeto de conocer la velocidad de la sorción de estos

compuestos en función del contenido de materia orgánica y la adición de carbonilla a dichos suelos.

- Determinar los coeficientes de distribución K_d y K_{oc} para los compuestos de interés en cada tipo de suelo estudiado, en función de su contenido de materia orgánica y mediante la adición de carbonilla, y así conocer la intensidad de la sorción de estos compuestos una vez alcanzado el equilibrio.

2. ANTECEDENTES

2.1 Composición del petróleo

La industria petrolera genera mezclas de hidrocarburos con una gran variedad de características químicas. Los combustibles provenientes del petróleo pueden contener miles de hidrocarburos de diferente naturaleza química. La proporción y composición varían de acuerdo a su origen, almacenamiento, refinación y alteración por condiciones ambientales. Los compuestos que se obtienen al fraccionar el petróleo crudo pueden clasificarse en tres principales grupos, de acuerdo a su solubilidad en disolventes orgánicos: hidrocarburos saturados, hidrocarburos aromáticos y resinas o asfaltenos [1]. Los hidrocarburos saturados están compuestos por alcanos lineales, alcanos ramificados, cicloalcanos y compuestos nafténicos, son los compuestos predominantes (40- 60%) en el petróleo. Los hidrocarburos aromáticos incluyen los aromáticos simples, los hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAP), naftenoaromáticos y normalmente, los compuestos cíclicos de azufre (tiofenos) y nitrógeno (carbazoles), los cuales representan entre el 20 y el 45% del total de los hidrocarburos. Por lo regular, en los aceites crudos, los compuestos aromáticos formados por uno y dos anillos predominan por encima de los compuestos policíclicos de mayor número de anillos aromáticos. Las resinas y asfaltenos, formados entre otros componentes por la fracción de hidrocarburos policíclicos de alto peso molecular, entre los que se incluyen átomos de N, S y O, constituyen los extremos pesados del petróleo y deben considerarse como los miembros naturales de alto peso molecular de las series aromáticas y naftenoaromáticas; este grupo representa del 10 al 30% de los hidrocarburos [1,4,10,11].

2.2 Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos (HAP)

Los HAP son contaminantes importantes del aire, agua y suelo, se generan en cantidades considerables en la producción de derivados de alquitrán de carbón, así como en la combustión incompleta de madera, combustibles fósiles y materiales orgánicos en general [4,12-14]. Los HAP

son parte de la fracción aromática del petróleo crudo y pueden contaminar el agua y/o el suelo como consecuencia de derrames durante la explotación de pozos petroleros, almacenamiento, transporte y refinación del petróleo [10]. En varias zonas de México con actividad petrolera, principalmente en el sureste (Veracruz, Tabasco, Campeche), se han suscitado derrames de petróleo crudo sobre extensas áreas de suelo y cuerpos de agua, vertiéndose en consecuencia una importante cantidad de estos contaminantes a los diferentes compartimentos ambientales (suelo, agua y aire). Por lo anterior, es importante generar información acerca de la sorción de este tipo de compuestos en los suelos afectados.

Cuando se presentan derrames de petróleo crudo sobre un suelo determinado, parte del producto derramado desaparece por evaporación, dispersión y degradación microbiana, dependiendo de las distintas fracciones del petróleo; por ejemplo, los compuestos volátiles presentes en la fracción ligera, rápidamente son liberados a la atmósfera [15,16]. Sin embargo, esto no ocurre con las fracciones más pesadas (compuestos semivolátiles y no volátiles de alto peso molecular), dentro de las cuales se encuentran hidrocarburos de tipo alifático y aromático, incluyendo los HAP, de los cuales 16 compuestos son considerados contaminantes prioritarios y se encuentran regulados por la Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos (USEPA), la Organización Mundial de la Salud (OMS) y la Comunidad Europea (CE), debido a su elevada toxicidad y efectos carcinogénicos para el ser humano y animales [17,18]. En la Figura 1, se ilustran las estructuras de estos contaminantes.

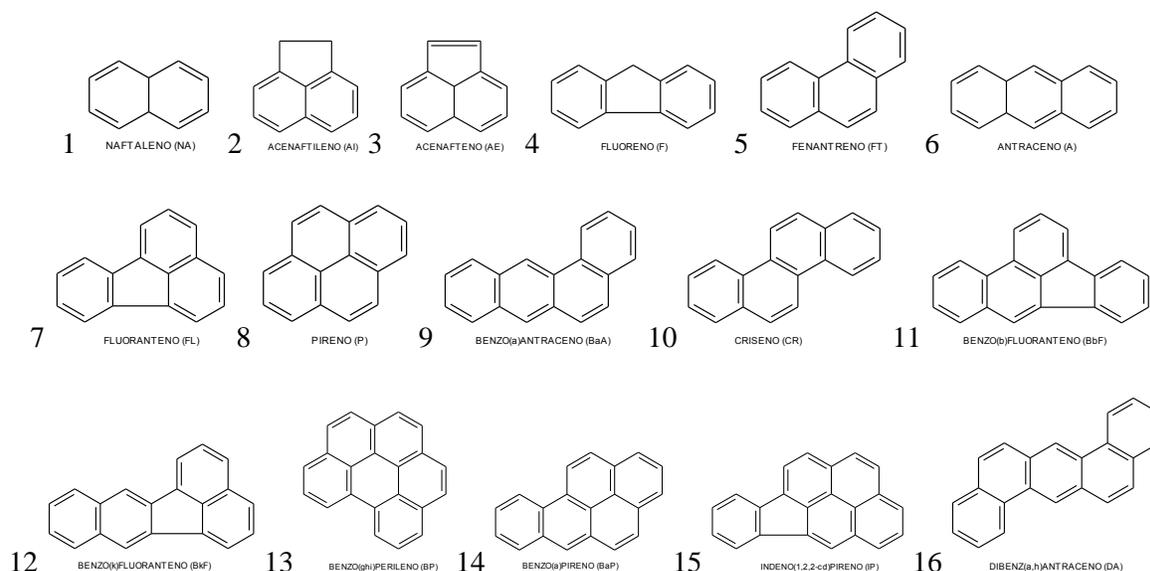


Figura 1. Estructura química de hidrocarburos aromáticos policíclicos regulados por la USEPA.

En México, se han aplicado diversas metodologías para la determinación de HAP en diferentes matrices biológicas y ambientales (agua, suelo, aire, organismos, alimentos, etc); sin embargo, no existen trabajos descritos que caractericen la sorción de HAP en suelos de la República Mexicana, lo cual es necesario realizar principalmente en zonas con actividad industrial y petrolera que han sido afectadas de manera importante a consecuencia de diversas actividades antropogénicas en los últimos años. Para la correcta evaluación del impacto ambiental ocasionado por estos compuestos, se requiere del desarrollo e implementación de metodologías analíticas con elevada sensibilidad y poder de separación para la identificación y la cuantificación de contaminantes en matrices complejas.

2.2.1 Propiedades Fisicoquímicas de los HAP

Los HAP presentan características fisicoquímicas diferentes en cuanto a punto de fusión, punto de ebullición, solubilidad en agua y coeficiente de reparto octanol-agua (K_{ow}) en función del número de anillos aromáticos que los componen. A medida que aumenta el número de anillos y por lo tanto su peso molecular, aumenta también su punto de fusión y ebullición, y disminuye su solubilidad en agua, lo cual indica que aumenta su carácter hidrofóbico y por tanto el valor de K_{ow} (Cuadro 1) [19-21]. Estas características son importantes ya que de ellas depende la afinidad de estos compuestos por la fracción orgánica del suelo y, por tanto, su retención en ésta matriz ambiental

Cuadro 1. Propiedades fisicoquímicas de los HAP.

Nombre (abreviatura)	PM g mol ⁻¹	PF °C	PE °C	P ^s Pa	S mg L ⁻¹	Log K _{ow}
Naftaleno (NA)	128.17	80-82	218	10.4	31	3.37
Acenaftileno (AI)	152.20	88-91	277	0.89	N.d.	N.d.
Acenafteno (AE)	154.21	91-95	279	0.30	3.8	4.00
Fluoreno (F)	166.22	112-116	298	0.09	1.9	4.18
Fenantreno (FT)	178.23	99-101	336	0.02	1.3	4.57
Antraceno (A)	178.23	215-218	340	0.001	0.073	4.54
Fluoranteno (FL)	202.26	109-111	384	0.0012	0.26	5.22
Pireno (P)	202.26	149-151	393	0.0006	0.132	5.18
Benzo(a)antraceno (BaA)	228.30	158-161	437	2.8 × 10 ⁻⁵	0.0482	5.91
Criseno (CR)	228.30	250-255	448	5.3 × 10 ⁻⁵	0.002	5.75
Benzo(b)fluoranteno (BbF)	252.32	215-218	480	6.7 × 10 ⁻⁵	0.0015	5.80
Benzo(k)fluoranteno (BkF)	252.32	215-218	480	5.2 × 10 ⁻⁸	0.0008	6.00
Benzo(a)pireno (BaP)	252.32	175-179	495	7.0 × 10 ⁻⁷	0.0038	6.04
Indeno(123cd)pireno (IP)	276.34	277	N.d.	1.3 × 10 ⁻⁸	5.3 x 10 ⁻²	6.58
Dibenz(ah)antraceno (DA)	278.36	266-270	524	3.7 × 10 ⁻¹⁰	5 x 10 ⁻⁴	6.75
Benzo(ghi)perileno (BP)	276.34	276-280	500	N.d.	2.6 × 10 ⁻⁴	6.50

PM = Peso molecular

PE = Punto de ebullición

S = Solubilidad N.d. = No disponible

PF = Punto de fusión

P^s = Presión de vapor

Log K_{ow} = Coeficiente de reparto octanol-agua

2.2.2 Los HAP en el suelo

Un suelo contaminado por derrames de petróleo cambia en composición con el tiempo, en función de varios factores como la volatilidad, la solubilidad y las reacciones bióticas y abióticas de los contaminantes. Dependiendo de los factores ambientales, de la resistencia de los contaminantes al ataque microbiano y de sus propiedades fisicoquímicas, con el paso del tiempo muchos compuestos permanecen en mayor o menor proporción en el suelo [21-23]. Inicialmente los compuestos más solubles en agua son lixiviados pasando a los mantos freáticos, también se pierden por evaporación los compuestos volátiles de bajo peso molecular. Con el tiempo los *n*-alcanos son generalmente degradados a mayor velocidad en comparación con los otros compuestos del petróleo. En algunos estudios se ha observado que la facilidad hacia la biodegradación entre clases de hidrocarburos es la siguiente: *n*-alcanos > alcanos ramificados > alquenos ramificados > compuestos cíclicos de bajo peso molecular > monoaromáticos > poliaromáticos > asfaltenos [21-23], por lo que los últimos compuestos son los más persistentes en el suelo. Los HAP son de gran interés ya que son parte de los compuestos más persistentes y se pueden alcanzar altas concentraciones en los suelos contaminados. Los HAP son altamente tóxicos para el ser humano, algunos de ellos sobre todo los de mayor peso molecular son potencialmente mutagénicos y cancerígenos [17,18]. Este es un factor muy importante ya que con el tiempo, en suelos contaminados, estos compuestos pueden lixivarse a los mantos freáticos y provocar graves problemas de salud, por esta razón, existen numerosos trabajos publicados para el análisis de HAP en suelos, los cuales involucran cromatografía de gases o cromatografía de líquidos con detectores convencionales como FID y UV respectivamente e incluso con espectrometría de masas (EM) [5,8-19,22], sin embargo, las múltiples interferencias presentes en una matriz compleja como lo es un suelo se co-extraen con los HAP, lo cual dificulta su identificación y cuantificación, además de elevar los límites de detección y de cuantificación, por esta razón, es importante desarrollar y optimizar metodologías analíticas que permitan disminuir las interferencias en el análisis y aumentar la sensibilidad de las determinaciones. En ese sentido, el uso de un inyector con

temperatura de vaporización programada (PTV, por sus siglas en inglés) es una excelente alternativa para disminuir las interferencias en el análisis y mejorar la sensibilidad de la determinación.

2.2.3 Biodegradación de los HAP

La biodegradación de los HAP, ya sea por metabolismo aerobio o anaerobio varía en función de su estructura química; esto es por el número de anillos fusionados, el número, tipo y posición de sustituciones en los anillos. La posibilidad de ataque biológico además de la estructura, también está en función de su solubilidad, toxicidad y reactividad; es decir, conforme aumenta el número de anillos fusionados en los HAP, en general disminuye su susceptibilidad a la degradación. En general los HAP que contienen 2 ó 3 anillos aromáticos son fácilmente degradables, mientras que los que contienen 4 o más anillos son significativamente más difíciles de degradar y algunos pueden ser no biodegradables. De acuerdo a su estructura química, el naftaleno es más fácilmente degradable que el antraceno o el fenantreno [23,24].

La oxidación aerobia (degradación aerobia) de los compuestos con 2 ó 3 anillos (naftaleno, fenantreno y antraceno) se lleva a cabo por un gran número de bacterias del suelo, las más estudiadas son del género de *Pseudomonas*, *Rhodococcus* y *Corynebacterium* [24-25]. Se ha demostrado que la degradación de estos compuestos por consorcios microbianos disminuye la formación de intermediarios tóxicos comparada con la degradación con cepas puras [26]. La reacción inicial de la degradación de los HAP es la introducción de oxígeno molecular al anillo aromático, con la subsecuente producción de intermediarios que alimentan el ciclo de Krebs en los microorganismos. De esta manera, el naftaleno es el compuesto más fácilmente degradable de este grupo de compuestos dado su menor peso molecular [26-27]. También existen estudios sobre la degradación de HAP por hongos filamentosos, e.g., *Phanerochaete chrysosporium*, un hongo patógeno de plantas que participa en la descomposición de la madera ya que degrada la lignina a CO₂, tiene la capacidad de degradar muchos HAP incluyendo pireno, fluoreno, fenantreno e incluso

compuestos halogenados. Este hongo produce, bajo condiciones limitadas de nitrógeno, enzimas inespecíficas, cerca de 100 citocromo P450 monooxigenasas como la lignina peroxidasa, que pueden ser la responsables de la degradación de estos compuestos [28]. Existe relativamente poca información sobre la degradación bacteriana de los HAP que contienen más de tres anillos en comparación con los compuestos de menor peso molecular. Sin embargo, se ha reportado la oxidación microbiana de compuestos como fluoreno, fluoranteno, pireno, benzo[a]pireno, benzo[a]antraceno [29]. En general este tipo de compuestos son susceptibles a ser degradados por cometabolismo [26,29]. El cometabolismo microbiano puede definirse como la transformación de un sustrato que no se utiliza como fuente de carbono y energía, en presencia obligada de otro sustrato que sirve para crecimiento. Es un fenómeno basado fisiológicamente en el acoplamiento de diferentes rutas catabólicas a nivel celular [26]. Bouchez y col. (1995), demostraron la capacidad de seis cepas bacterianas puras del género *Pseudomonas* y *Rhodococcus* para degradar HAP de alto peso molecular como el fluoranteno por cometabolismo. La velocidad de degradación aumenta cuando algunos HAP análogos de bajo peso molecular como el antraceno están presentes como principal fuente de carbono. La presencia de estos compuestos induce la producción de enzimas que son utilizadas para degradar los HAP de alto peso molecular [26]. Por otra parte, se ha encontrado que algunos HAP como naftaleno, fluoreno y fenantreno pueden actuar como compuestos inhibitorios, ya que existe una importante relación entre la capacidad inhibidora de estos compuestos con su solubilidad en agua, con lo cual incrementan su toxicidad frente a los microorganismos [30-33]. Por todos estos factores es difícil desarrollar conclusiones generalizadas sobre la biodegradación de los HAP; sin embargo, en resumen podemos decir que si la biodegradación no es un camino del todo eficaz para asegurar la inmovilización de estos contaminantes en el medio ambiente, la retención de los HAP en la MO del suelo es una importante alternativa para disminuir su transporte y migración en el ecosistema, con lo cual a su vez disminuye su biodisponibilidad y, por lo tanto, el riesgo para el equilibrio ecológico.

2.2.4 Biodisponibilidad de los HAP

La biodisponibilidad puede ser definida como la accesibilidad de un compuesto químico a la degradación microbiana o bien su incorporación al proceso metabólico de algún ser vivo. En el contexto de tratamiento de suelos el término de biodisponibilidad se usa para describir la propiedad general de un suelo contaminado para liberar los contaminantes, de tal forma que los microorganismos puedan captarlos y transformarlos en formas más inocuas a través de su metabolismo [34-36]. La modificación de la biodisponibilidad de un contaminante en el suelo puede atribuirse a diversos factores, por ejemplo, los compuestos hidrofóbicos son fuertemente sorbidos por la MO nativa del suelo debido a su elevada afinidad fisicoquímica. Los contaminantes hidrofóbicos pueden quedar atrapados también en los pequeños poros intrapartícula de las arcillas, disminuyendo así su biodisponibilidad. Particularmente, en los suelos contaminados que permanecen a la intemperie por largos periodos (suelos intemperizados), los compuestos llegan a ser inaccesibles para los microorganismos por las fuertes interacciones que se producen con la MO del suelo, por lo que la disponibilidad de los contaminantes disminuye conforme aumenta su tiempo de permanencia de estos compuestos en el suelo [36], observaron que aumentando el tiempo de permanencia el fenantreno llega a estar progresivamente menos disponible a las bacterias del suelo. Las interacciones del contaminante con el suelo pueden ser el resultado de diferentes procesos, entre ellos se encuentran (i) la adsorción de los compuestos sobre la MO y (ii) la difusión lenta de estos compuestos en los microporos del suelo. Para los compuestos fuertemente sorbidos, la biodisponibilidad y, por lo tanto, la velocidad de degradación está controlada por varios procesos fisicoquímicos como son sorción y desorción, difusión y disolución [37,38]. El grado de biodisponibilidad de los contaminantes orgánicos en un suelo puede verse desde dos enfoques distintos, el primero de ellos pensado en la biorremediación del sitio contaminado, en el cual se desea un aumento de la biodisponibilidad y, por lo tanto, una baja sorción en la MO del suelo, con objeto de que los microorganismos puedan hacer su función de manera óptima. El segundo, a diferencia del anterior, se plantea en los casos en que el número de consorcios bacterianos no es

suficiente para una biodegradación óptima, o bien no presentan actividad frente a estos contaminantes, por lo cual sería deseable una mínima biodisponibilidad de los contaminantes, es decir una elevada sorción a la MO del suelo, evitando así movilidad y migración hacia cuerpos de agua [36,38].

2.3 El suelo y sus componentes

Suelo es un término que se emplea para describir un recurso natural que reside en la superficie terrestre, constituida por diferentes fases. El suelo es un sistema complejo heterogéneo que consta básicamente de tres fases: (i) fase gaseosa, (ii) fase líquida y (iii) fase sólida, dividida en sólidos inorgánicos y sólidos orgánicos. Las fases acuosa y gaseosa comprenden alrededor del 50% del volumen total del suelo, el 50% restante es fase sólida de la cual generalmente la materia inorgánica se encuentra en mayor porcentaje que la materia orgánica o humus.

En la mayoría de los suelos las partículas no existen como entidades individuales sino que están agrupadas en agregados de formas y tamaños característicos, a esto se le conoce como estructura del suelo. La estructura del suelo determina la aireación, disponibilidad de nutrientes, la acción de los microorganismos, la permeabilidad y, por lo tanto, la capacidad de infiltración y el transporte de sustancias [2-3,39-40].

La fracción inorgánica consiste, principalmente, en granos minerales subdivididos de acuerdo a su tamaño (arcilla, limo, arena, etc.). El porcentaje en peso de los diferentes tamaños es la base para la clasificación de la textura del suelo. La mineralogía de las arcillas varía, pero en su gran mayoría están formadas por óxidos de silicio y aluminio en diversas fases cristalinas. Los elementos inorgánicos predominantes en el suelo son silicio, aluminio y hierro, no todos los elementos están a niveles traza y no todos los que están a niveles traza son tóxicos, como algunos metales pesados. Este tipo de elementos presentes naturalmente, difieren de los elementos introducidos por la disposición incorrecta de residuos peligrosos principalmente en el estado químico en que se encuentran; es decir, generalmente, los elementos presentes de forma natural se

encuentran en estados prácticamente insolubles a diferencia de los residuos peligrosos, los cuales en su mayoría son solubles además de encontrarse en concentraciones superiores de varios órdenes de magnitud. Un suelo típico contiene una cantidad apreciable de MO producida básicamente, a partir de la descomposición de restos vegetales o animales, los cuales generan el material húmico o humus del suelo. En consecuencia, el contenido de MO decrece con la profundidad, variando más en la dirección vertical que en sentido horizontal. El contenido orgánico en los suelos es variable dependiendo de su situación geográfica y está compuesto por una amplia mezcla de moléculas orgánicas (ácidos húmicos, ácidos fúlvicos y húminas, principalmente) e incluso de organismos vivos (organismos nativos). La fracción orgánica presenta una elevada heterogeneidad, desde una naturaleza coloidal hasta estructuras poliméricas con un amplio número de grupos funcionales orgánicos. La MO del suelo actúa como un estabilizador, manteniendo partículas inorgánicas unidas en forma de agregados. Así, el manto del suelo está integrado por agregados, cada uno constituido por arena, limo, arcillas y materia orgánica, el tamaño y estructura de dichos agregados varían considerablemente entre los diferentes tipos de suelo [2-3,39-40].

2.4 Fracción orgánica del suelo

La MO del suelo se define como la fracción de suelo que incluye restos de vegetales y animales en diferentes estados de descomposición, así como tejidos y células de organismos que vivieron en el suelo y sustancias producidas por los mismos. En general, esta fracción se determina en suelos que han pasado por un tamiz de 2.0 mm. Bajo condiciones naturales, las hojas y raíces de los árboles, arbustos, hierbas y otras plantas naturales, son grandes proveedores de residuos orgánicos. Dicha fracción almacena elementos esenciales, estimula la adecuada estructura del suelo, regula los cambios de pH y es un enorme depósito geoquímico de carbono [2].

Los suelos varían enormemente por su contenido de materia orgánica. Un suelo típico de un bosque templado puede contener del 5 al 15 % de MO, considerando los primeros 15-20 cm de profundidad, en tanto que un suelo desértico arenoso generalmente contiene menos del 1%.

La MO nativa de un suelo contiene agregados orgánicos de alto peso molecular formados a través de procesos de descomposición y mineralización de materiales orgánicos provenientes de seres vivos y se encuentra principalmente constituida de ácidos húmicos, ácidos fúlvicos, húminas y materiales carbonáceos. Estos agregados moleculares contienen diversos grupos funcionales como aldehídos, cetonas, ácidos carboxílicos, aminas, etc, los cuales establecen interacciones con los compuestos orgánicos vertidos al suelo dependiendo de su estructura y propiedades fisicoquímicas. La Figura 2, ilustra un ejemplo de las interacciones de los especies de naturaleza orgánica con las partículas sólidas del suelo, específicamente con agregados de MO nativa [3,21].

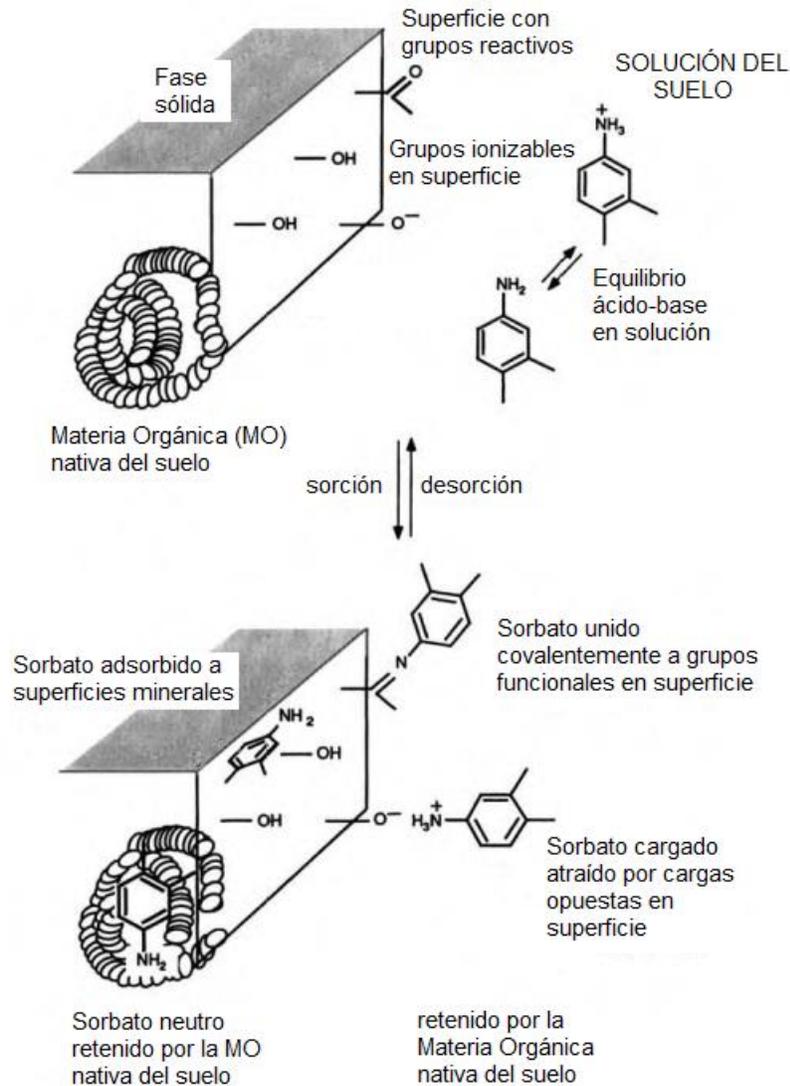


Figura 2. Ilustración de las interacciones que pueden llevar a cabo contaminantes orgánicos (sorbato) con partículas de MO nativa de un suelo (sorbente en fase sólida). Se observa la presencia de diversos grupos funcionales orgánicos que favorecen las interacciones de la MO con los compuestos orgánicos como los HAP, así como la retención por los agregados de MO [21].

Dentro de la MO de un suelo o sedimento, existen también diferentes materiales carbonosos con elevada afinidad por compuestos orgánicos hidrofóbicos, estos materiales carbonosos son principalmente divididos en dos grupos: i) carbón blando o elemental y ii) carbón duro o negro, siendo el segundo tipo el que presenta elevada afinidad y, por lo tanto, alta sorción para compuestos hidrofóbicos, ya que presenta una elevada porosidad y un reducido tamaño de partícula, lo cual aumenta de manera importante su superficie de contacto y con ello el número de sitios activos para

la retención de moléculas orgánicas. De manera general, estos materiales carbonosos forman parte del término conocido como carbono orgánico (CO) del suelo, el cual también se puede expresar como la fracción de carbono orgánico (f_{oc}), la cual se obtiene de dividir la masa de CO entre la masa de suelo seco. Podemos decir entonces, que el contenido de MO es el factor del suelo que está más directamente relacionado con la sorción de la mayoría de los compuestos orgánicos hidrofóbicos. De esta manera, dicha fracción determina el comportamiento de este tipo de compuestos en el suelo y sus procesos como: fitotoxicidad a los cultivos, capacidad de lixiviación, volatilidad y biodegradación [21,39]. Se ha reportado que los contaminantes orgánicos hidrofóbicos que son retenidos fuertemente por la fracción orgánica del suelo, pueden llevar a cabo procesos de mineralización, es decir su inclusión y degradación en agregados complejos de MO y de esta manera ser inmovilizados en el medio ambiente [1-3,39-40], sin embargo la información relacionada con el proceso cinético de la sorción de este tipo de compuestos en la MO de los suelos es limitada.

2.5 Sorción de contaminantes orgánicos en suelo

Los suelos retienen fuertemente a muchas moléculas orgánicas, aunque no tengan carga (retención molecular), de tal forma que el destino y transporte de estas sustancias a través del suelo depende fuertemente de sus propiedades fisicoquímicas, como: solubilidad en agua, peso molecular, presión de vapor, como lo han reportado diversos autores en trabajos de investigación realizados desde los años 70's [20-21,39-42], sin embargo, no existen trabajos reportados que reporten el comportamiento de los HAP en diferentes suelos, basándose en el contenido de MO de cada uno, ya sea desde el punto de vista cinético o termodinámico, lo cual resulta interesante y necesario, ya que dicha información permitiría inferir sobre el comportamiento de los HAP una vez que se han vertido en un suelo determinado. Algunos trabajos evalúan únicamente la desorción de los HAP en suelos contaminados o su retención en algunos materiales carbonaceos [6,7], sin embargo, el estudiar la retención de los HAP con el contenido de MO de un suelo desde el punto de vista

cinético y termodinámico, permitiría incluso predecir el destino de estos contaminantes basándose en su movilidad en dicha matriz, lo cual es parte de los objetivos principales de el presente trabajo de investigación.

Las soluciones percolantes que contienen moléculas orgánicas pasan por una red intrincada de poros del suelo, estas moléculas tienden a ser no polares y se inclinan por un medio menos polar que el del agua. Si se presenta alguna otra fase menos polar, por ejemplo superficies del suelo y especialmente superficies de MO del suelo, las moléculas orgánicas son forzadas materialmente a salir de la fase acuosa. En la retención molecular no hay cargas y, por lo tanto, no requiere un intercambio estricto 1:1 entre el suelo y el aire o agua, a diferencia de la retención iónica. En algunos casos, sin embargo, la retención molecular se ve limitada por el número de sitios de sorción expuestos o por la cantidad de superficie sorbente [20-21,41-42], La sorción determina la distribución de un compuesto orgánico entre el suelo y la solución del suelo y por consiguiente su movilidad en el medio ambiente [41,42].

La evaluación de la sorción es la manera más directa para conocer el destino y biodisponibilidad de un compuesto orgánico hidrofóbico en suelos, lo cual depende directamente de la MO del suelo, que es el principal sorbente para este tipo de compuestos, así como del tiempo de contacto con la misma. La sorción de compuestos orgánicos hidrofóbicos en superficies inorgánicas del suelo puede despreciarse debido a su baja magnitud, si el suelo en estudio posee una fracción de CO (f_{oc}) mayor a 0.1. Sin embargo, los mecanismos de sorción involucrados son complejos y no son del todo conocidos en la actualidad [21,41-42].

La permanencia de los HAP en suelos depende de varios factores como su presión de vapor, solubilidad en agua, degradación microbiana y de sus coeficientes de partición entre el suelo y la solución del suelo (K_d) [41]. Así, la retención de los HAP en un suelo que ha sido contaminado con petróleo crudo se convierte en un factor importante que permite evaluar la movilidad de estos compuestos en la fase acuosa del suelo (solución del suelo), es decir, qué tanto pueden permanecer suspendidos en ella y ser transportados, incluso a cuerpos de agua, aumentando potencialmente el

riesgo al medio ambiente y al equilibrio ecológico [38-42]. En la Figura 3, se muestran los principales procesos que pueden ocurrir con los contaminantes orgánicos una vez que son vertidos en el medio ambiente, de forma análoga con ciertos agroquímicos que se agregan al suelo, con base en sus propiedades fisicoquímicas [43].

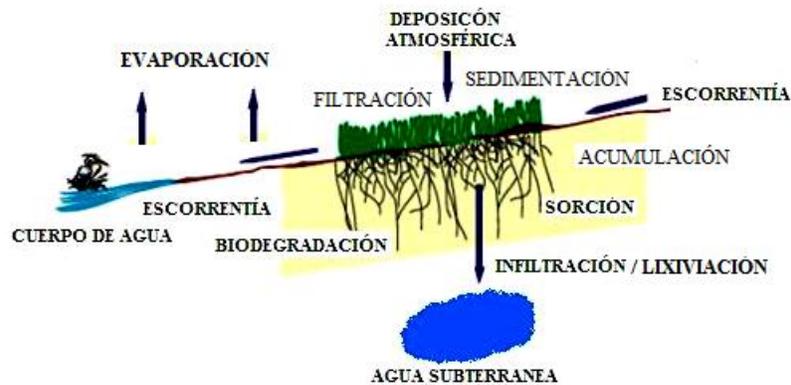


Figura 3. Procesos que siguen los contaminantes orgánicos en el suelo [43]

2.5.1 Sorción y desorción de compuestos orgánicos en suelo

Los análisis de sorción entre un compuesto y una matriz sólida están basados en un equilibrio y en un balance de materia. El equilibrio de sorción se estudia generalmente a través de isothermas de sorción, las isothermas más comunes para el estudio de la sorción de compuestos orgánicos en suelos son las de Freundlich y de Langmuir. Cada tipo de isoterma presenta un comportamiento distintivo y, por lo tanto, una constante de equilibrio [21]. El equilibrio se puede alcanzar en pocas horas o en pocos días, aunque la etapa lenta puede requerir de mucho más tiempo (semanas, meses e incluso años) [21,41]. El proceso de sorción y desorción se realiza en tres etapas: i) el soluto se pone en contacto con el sorbente, ii) la sorción se lleva a cabo, la cual puede ser muy selectiva y lenta, y iii) el soluto sorbido puede o no ser eluido usando métodos químicos o físicos (desorción). En muchos casos, la sorción y la liberación de compuestos orgánicos de partículas naturales es bimodal ya que puede ocurrir en una etapa rápida y otra etapa lenta [44]. Se ha

encontrado que la velocidad de desorción (principalmente en la etapa lenta) disminuye conforme aumenta el tiempo de contacto del compuesto con el sorbente (suelo), por lo que también disminuye su biodisponibilidad [45].

2.6 Coeficientes de reparto K_d y $\log K_{oc}$

En la separación de moléculas orgánicas en el suelo, existen dos fases, el suelo y la solución del suelo (agua de poros). La relación de las concentraciones en las dos fases es una constante denominada coeficiente de distribución K_d [41,42].

$$K_d = C_s / C_{ss} \dots\dots\dots \text{ecuación 1}$$

Donde:

C_s : Concentración del compuesto orgánico en el suelo

C_{ss} : Concentración del compuesto orgánico en la solución del suelo

Así, un $K_d = 1$, indica concentraciones iguales del compuesto en suelo y en solución, un $K_d = 100$, indica 100 veces más químico en el suelo comparado con la concentración en solución. Por lo tanto, a valores altos de K_d se presenta alta sorción y a valores bajos de K_d se tiene baja sorción [41,42].

La K_d provee una medida de la intensidad de sorción de un compuesto químico dado en un tipo de suelo determinado y es una medida de la solubilidad relativa de la molécula en ambas fases. El grado en que un suelo adsorbe un compuesto orgánico, queda determinado por varias de las propiedades de éste y del compuesto (como su polaridad y su solubilidad) [12,21,41,42]. La principal propiedad del suelo que causa las diferencias en los valores de K_d de un compuesto, es el contenido de materia orgánica, el cual es el mejor parámetro para estimar la sorción de compuestos orgánicos hidrofóbicos en suelos. De esta manera, la relación entre la cantidad del compuesto sorbido por el carbono orgánico y la cantidad del compuesto en solución esta expresado por el coeficiente de partición del carbono orgánico K_{oc} :

$$K_{oc} = C_{co} / C_{ss} = K_d * 100 / \% CO \dots\dots\dots \text{ecuación 2}$$

Donde:

Cco: Concentración del compuesto sorbido en el carbono orgánico (g Kg CO⁻¹).

Css: Concentración del compuesto remanente en solución (g L⁻¹ de solución),

% CO: porcentaje de CO en el suelo.

f_{oc}: fracción de carbono orgánico en el suelo. (f_{oc} = Peso de carbono orgánico/ Peso de suelo seco).

Cuando se comparan valores de los coeficientes de distribución K_d para compuestos orgánicos hidrofóbicos en suelos con diferente contenido de MO, se confirma la afirmación hecha por numerosos autores de que la sorción de los compuestos orgánicos hidrofóbicos no iónicos se produce, principalmente, sobre la MO del suelo. [16,46-48]

Con el fin de corregir dicho efecto, se calculan los coeficientes de sorción corregidos por el contenido de MO (K_{oc}), a partir de los valores de K_d, según la expresión mostrada en la ecuación 2, donde el término f_{oc} (fracción de carbono orgánico del suelo), también puede ser estimado a través de la siguiente relación empírica, la cual es muy aproximada para suelos no carbonatados como es el caso de los suelos estudiados en el presente trabajo:

$$f_{oc} = f_{OM} / 1.724 \dots \dots \dots \text{ecuación 3}$$

Donde

f_{oc} : Fracción de carbono orgánico

f_{OM}: Fracción de materia orgánica

De este modo, los valores de K_{oc} presentan menor grado de variación cuando se evalúa la sorción de un mismo compuesto orgánico hidrofóbico en suelos de diferentes características físico-químicas, permitiendo la comparación de los resultados obtenidos por diferentes autores. Green y Karickhoff (1990) indican que el uso de K_{oc} es una aproximación que tiende a unificar los datos de sorción existentes, siempre y cuando se asuman las siguientes consideraciones: i) equilibrio en el proceso de sorción-desorción, ii) isoterma lineal, iii) sorción de los compuestos orgánicos exclusivamente sobre el componente orgánico del suelo y iv) que el carbono orgánico del suelo sea constante en su capacidad de sorción. De tal forma que esta aproximación es válida para

compuestos orgánicos hidrofóbicos no iónicos cuya solubilidad en agua no exceda los 300 mg L^{-1} , como es el caso de los HAP [49].

La magnitud del valor de K_{oc} se refiere al contenido de carbono orgánico, así, se pueden comparar los valores de K_{oc} para determinar la intensidad relativa de sorción entre dos o más compuestos, incluso cuando son determinados en diferentes tipos de suelos [41,42,49], sin embargo, dado que la MO presente en cada suelo no presenta las mismas propiedades de polaridad, tamaño de partícula, etc, es difícil realizar una comparación certera entre los K_{oc} de algunos compuestos en diferentes suelos.

2.7 Isotermas y curvas cinéticas de sorción

La sorción de un compuesto orgánico en un suelo determinado puede estudiarse a través de dos tipos de procesos fundamentales, procesos termodinámicos y cinéticos. El primer tipo se enfoca hacia los diversos mecanismos y fenómenos de retención del compuesto orgánico en el suelo sin importar el tiempo en el que se llevan a cabo, el segundo en cambio, permite estudiar el tiempo que tardan en ocurrir dichos procesos. De esta manera, las isotermas de sorción describen de manera conveniente y cuantitativa, la sorción de un soluto en un sorbente a temperatura y presión constante una vez alcanzado el equilibrio, es decir, sin importar el tiempo involucrado (proceso termodinámico). Una isoterma de sorción muestra la cantidad de sorbato (solute), sorbido por unidad de masa de sorbente, en función de su concentración en la disolución una vez alcanzado el equilibrio. La sorción de una especie química presente en la disolución del suelo (sorbato) por los constituyentes de la fase sólida del suelo (sorbente) ocurre principalmente debido a las interacciones intermoleculares entre los grupos funcionales presentes en las partículas sólidas (sorbente) y en el sorbato, adicionalmente, otros factores que intervienen en este proceso de retención son: la actividad del sorbato en la fase acuosa, el tamaño de partícula, la porosidad y homogeneidad del sorbente y la presencia de otras sustancias de naturaleza similar al sorbato en la disolución. De tal forma, que la cantidad sorbida de una determinada especie depende no sólo de la

composición del suelo, sino también de la especie química de la que se trata y de su concentración en la disolución. Por tal motivo, debido a la condición multifactorial que implica la sorción de un sorbato presente en una fase líquida sobre un sorbente determinado, para el estudio de las isothermas de sorción de un sistema sólido-líquido y con objeto de simplificar los modelos propuestos para la explicación de dichos fenómenos, generalmente se hacen las siguientes consideraciones: i) La superficie de las partículas sólidas es homogénea, por lo que la energía de sorción es la misma en todos los sitios activos del sorbente; ii) La sorción sobre la superficie se produce únicamente en los sitios activos del sorbente; iii) Cada sitio activo puede acumular una sola molécula de sorbato.

Para estudiar la sorción de un compuesto químico sobre un suelo pueden ser usadas dos técnicas de laboratorio: procedimientos por lotes de experimentos independientes (batch) y procedimientos con columnas. El procedimiento en batch (utilizado en este trabajo) consiste en mezclar y agitar una cantidad determinada de suelo con disoluciones de diferentes concentraciones de los solutos estudiados (HAP). La gráfica que representa la concentración del compuesto sorbido (C_s), en función de la concentración en la disolución del suelo (C_{ss}), es la isoterma de sorción, cuya expresión más simple es la correspondiente a la isoterma lineal:

$$C_s = K_d C_{ss} \dots \dots \dots \text{ecuación 4}$$

Cuando la isoterma no es lineal, hay otras aproximaciones para describir la distribución entre el suelo y la disolución del suelo, las más utilizadas son las de Freundlich y Langmuir. Sin embargo, pueden ocurrir varios tipos de relaciones isotérmicas de adsorción. En 1960 Giles propuso una clasificación para las isothermas de sorción en disolución, dividiéndolas en cuatro clases de acuerdo con la pendiente de la parte inicial de la curva y nombradas de acuerdo a su forma [50]. Así, las tipo “S” (S – shape), son aquellas en las que se produce una adsorción competitiva, es decir, a medida que aumenta la concentración en equilibrio aumenta la capacidad del sólido por retener el sorbato (aumenta la pendiente a medida que aumenta la concentración). Las isothermas tipo “L” (Langmuir), son las más comunes ya que a medida que aumenta la concentración en equilibrio en la fase fluida el número de sitios activos disponibles disminuye, hasta llegar a una meseta que representa que el

sólido ya no puede retener más sorbato; esto implica que o bien las moléculas de adsorbato no se adsorben orientadas verticalmente o bien que no hay competencia con el disolvente por los centros activos. Las curvas tipo “H” (High affinity), son aquellas en las que el sorbente tiene una gran afinidad por el sorbato lo que ocasiona que aún a muy pequeñas concentraciones la sorción ocurra de manera significativa; se pueden considerar un caso especial de curvas tipo “L”. Finalmente, las curvas tipo “C” (Constant) se caracterizan por una proporción de sitios activos constantes, es decir, muestran un comportamiento intermedio entre la del tipo “S” y la tipo “L” y se encuentran en sistemas donde el sorbato penetra en el sólido (sorbente) más fácilmente que el disolvente. Este último tipo de curvas aparece en sistemas con sólidos porosos con moléculas flexibles y regiones con diferentes grados de cristalinidad, con un soluto con más afinidad por el sólido que la que presenta el disolvente y con dimensiones tales que pueda penetrar en regiones del sólido que todavía no hayan sido alcanzadas por el disolvente, en la Figura 4, se muestran los principales tipos de isotermas.

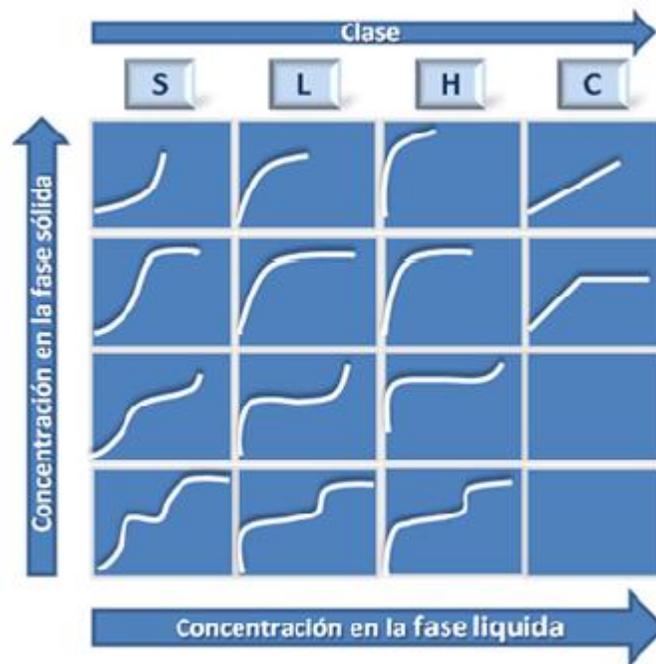


Figura 4. Clasificación de Isotermas de sorción, los modelos de Freunlich y Langmuir son las más utilizadas en estudios de sorción de compuestos orgánicos en suelos [50].

La técnica empleada para obtener datos de sorción se basa en lo siguiente:

Una cantidad conocida de sorbato se agrega a un sistema que contiene una cantidad conocida de sorbente. Se supone que se sorbió cualquier cantidad de sorbato desplazada de la disolución en equilibrio. Las condiciones de equilibrio deben permanecer durante el estudio. Así, para la obtención de las isothermas de sorción deben establecerse condiciones de equilibrio o bien condiciones estables y repetibles para los experimentos, por lo cual es importante conocer el tiempo que tardan los solutos en ser sorbidos, a efecto de mantener dichas condiciones de tiempo en la obtención de las isothermas. Para conocer el tiempo estimado de equilibrio, se realizó previamente un estudio cinético de sorción de los HAP en los diferentes tipos de suelo, dicho estudio cinético de sorción se llevó a cabo mediante experimentos batch, monitoreando la cantidad de compuesto sorbido en función del tiempo, obteniéndose los perfiles cinéticos correspondientes y aplicando el modelo de pseudo primer orden de Lagergren [51,52], el cual trata la sorción de un compuesto orgánico en un sorbente poroso como un proceso de reacción química de primer orden, donde la constante de velocidad k (h^{-1}) es independiente de la concentración del sorbato. La ecuación de Lagergren se representa a continuación:

$$dq_t/dt = k_r * (q_o - q_t) \dots \dots \dots \text{ecuación 5}$$

Donde:

q_t es la concentración de sorbato en disolución al tiempo t

k_r es la constante de velocidad

q_o es la concentración inicial de sorbato

Dado que la constante de velocidad o constante cinética disminuye conforme aumenta la concentración en la fase sólida y en un sistema heterogéneo puede que esto no ocurra de manera uniforme, por lo tanto la cinética de sorción ocurre en más de una etapa, lo cual implica multi linealidad de las representaciones de las cinéticas de sorción en sistemas líquido-sólido complejos [53]. En la Figura 5, se muestra un ejemplo de una curva cinética de sorción para un compuesto orgánico en un suelo.

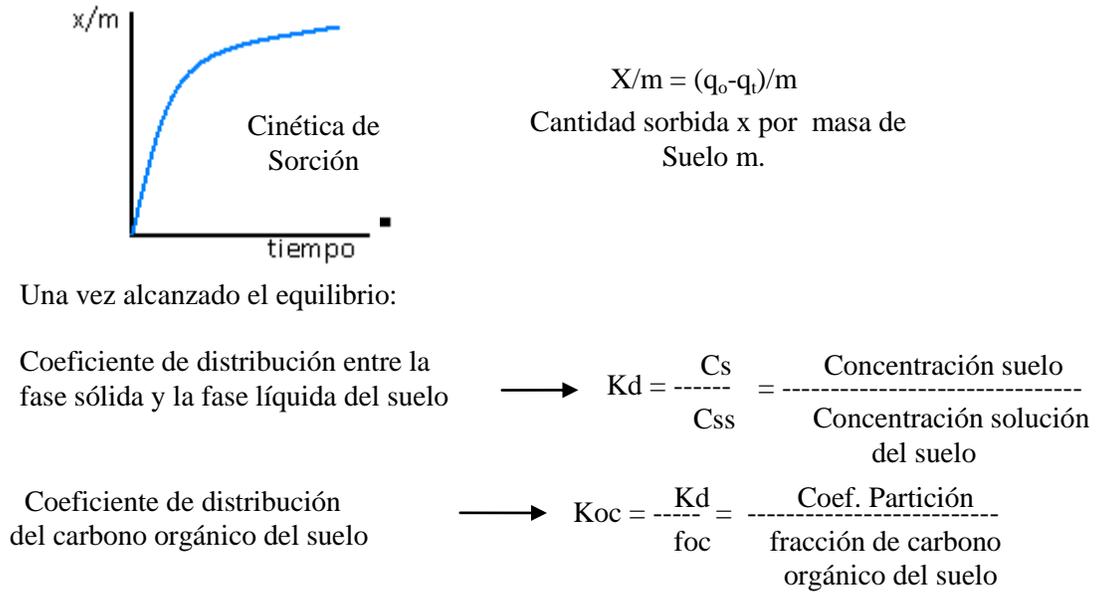


Figura 5. Curva cinética de sorción para un compuesto orgánico “x” en suelo [49].

2.8 Cromatografía de gases y cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas

La cromatografía, de acuerdo con la Union Internacional de Química Pura y Aplicada (IUPAC, por sus siglas en inglés), es un método físico de separación en el cual los componentes de una muestra se distribuyen entre dos fases, una móvil y una estacionaria [54]. En cromatografía de gases, la muestra se volatiliza para mezclarse con un gas inerte y ser arrastrada por éste (fase móvil) a través de un sólido o un líquido (fase estacionaria). Para el caso de cromatografía de gases con columnas capilares de tubo abierto (WCOT por sus siglas en inglés), los analitos se reparten en la fase estacionaria líquida de acuerdo a su presión de vapor, peso molecular y afinidad por la fase estacionaria.

La cromatografía de gases (CG) se utiliza para el análisis de muestras volátiles generalmente de peso molecular bajo (en caso de no ser volátiles se pueden derivatizar) y no es adecuada para muestras termolábiles. Una de las desventajas de la CG es que no se puede confirmar la identidad o la estructura de los picos cromatográficos utilizando un detector convencional, como el detector de ionización de llama (FID por sus siglas en inglés), el detector de conductividad

térmica (TCD por sus siglas en inglés), etc. Los tiempos de retención de los analitos están relacionados con los coeficientes de partición y el factor de capacidad k' para cada compuesto, dicho tiempo es característico pero no único o específico para cada compuesto en un mismo tipo de fase estacionaria [55,56].

La espectrometría de masas (EM) es una poderosa técnica analítica para la caracterización estructural e identificación de compuestos químicos en diferentes áreas. Desde hace varios años, esta técnica se utiliza no sólo en investigación, sino también en análisis de rutina de los procesos industriales, en control de calidad, en análisis ambientales, etc. Sus principales cualidades son:

- Capacidad de identificación de forma prácticamente inequívoca, ya que proporciona un espectro característico de cada molécula.
- Cuantitativa: permite medir la concentración de las sustancias.
- Gran sensibilidad: habitualmente se detectan compuestos en el orden de nanogramos o picogramos.
- Universal y específica.
- Proporciona información estructural sobre la molécula analizada.
- Suministra información isotópica.
- Es una técnica rápida: se puede realizar un espectro en décimas de segundo, por lo que puede monitorizarse para obtener información en tiempo real sobre la composición de una mezcla.

Dentro del espectrómetro de masas, se produce la ionización de la muestra mediante diferentes métodos. El sistema de ionización más frecuentemente utilizado es la ionización electrónica (antes conocido como impacto electrónico), que bombardea las moléculas de los analitos con electrones a una energía de 70 eV, capaces de provocar la emisión de un electrón y así ionizarlas e incluso fragmentar dichas moléculas a través de la ruptura de enlaces químicos.

Además de las moléculas ionizadas o iones moleculares ($M+^*$) también se forman iones fragmento (m^- y m^+) debido a la descomposición de los iones moleculares con exceso de energía. El tipo y

proporción relativa de cada uno de estos fragmentos es característico de las moléculas analizadas y de las condiciones del proceso de ionización. Una vez ionizadas las moléculas, se aceleran y se conducen hacia el sistema detector mediante un analizador de masa. En el caso más simple, se utiliza un cuadrupolo como analizador. La detección consecutiva de los iones formados a partir de las moléculas de la muestra, suponiendo que se trate de una sustancia pura, produce el espectro de masas de la sustancia, que es diferente para cada compuesto químico y que constituye una identificación prácticamente inequívoca del compuesto analizado. El espectro de masas puede almacenarse en la memoria de una computadora para compararse con los espectros de una colección de espectros o librería (a 70 eV) y proceder a su identificación o puede estudiarse para averiguar la naturaleza de la molécula que le dio origen. Generalmente, la comparación se realiza contra la biblioteca del NIST (National Institute of Standard and Technology). La cuantificación se obtiene al relacionar la respuesta del compuesto en comparación con la obtenida de un estándar de concentración conocida.

De esta manera, una de las técnicas más utilizadas para el análisis de contaminantes orgánicos en matrices ambientales es la cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (CG-EM). Este método, ampliamente conocido y aplicado, resulta ser la mejor opción para realizar determinaciones cualitativas y cuantitativas de contaminantes orgánicos en agua, aire, suelos y sedimentos. Entre las ventajas que ofrece se encuentran, la sensibilidad (pueden detectarse hasta nanogramos o picogramos de componentes de la mezcla), la precisión y exactitud con la que pueden determinarse las concentraciones de los analitos, además de la identificación inequívoca de los compuestos de interés. La CG acoplada a un equipo de espectrometría de masas (EM) resulta un método muy eficiente que facilita el análisis químico de muestras complejas. El sistema CG-EM (Figura 6) acorta considerablemente el tiempo de análisis de una muestra debido a múltiples herramientas, entre las que se encuentran: el monitoreo selectivo de iones, la generación de extractos iónicos de corridas en barrido total de espectro y a la utilización de una biblioteca de espectros de masas para la identificación de los picos [55].

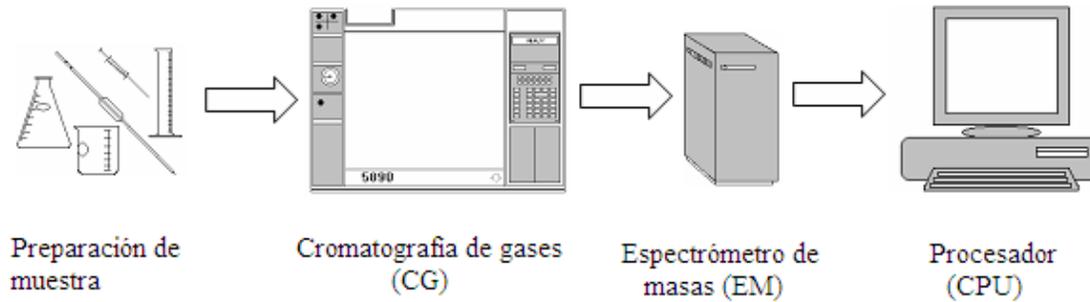


Figura 6. Diagrama de un sistema acoplado de cromatografía de gases – espectrometría de masas (CG-EM).

2.9 Inyector de temperatura de vaporización programada (PTV) e inyección de grandes volúmenes (LVI por sus siglas en inglés)

En el análisis de contaminantes en matrices ambientales (generalmente trazas), es importante contar con metodologías de alta sensibilidad para lograr la correcta identificación y cuantificación de los analitos de interés. Así, la cromatografía de gases representa una excelente opción para el análisis de HAP en muestras ambientales, además de ofrecer diferentes opciones para aumentar la sensibilidad de la técnica como: la inyección sin división de flujo (splitless), la inyección fría directa en la columna (cold on-column) y el inyector de temperatura programada de vaporización (PTV), el cual es ideal para el análisis de contaminantes en concentraciones traza, ya que a diferencia de los dos primeros, permite la inyección de grandes volúmenes de muestra (LVI por sus siglas en inglés), de tal forma que pueden inyectarse hasta 500 μL de muestra contra 1 a 3 μL máximo de los otros modos de inyección. Los tipos de detección recomendados para estos análisis son el FID y el sistema acoplado con espectrometría de masas (CG-EM), los cuales permiten la detección de compuestos orgánicos hidrocarbonados incluso en el orden de picogramos.

La inyección de grandes volúmenes, en cromatografía de gases capilar, tiene por objetivo principal el aumento de la sensibilidad en un análisis por cromatografía de gases cuando se analizan trazas de compuestos en diversas matrices complejas. En el caso de la contaminación de suelos con HAP, por derrames de petróleo crudo en zonas con actividad petrolera, existen diferentes métodos utilizados para la remediación de suelos, los cuales realizando diferentes procedimientos deben eliminar la

mayor cantidad posible de contaminantes del suelo. Los distintos procedimientos para remediación de suelos, requieren de metodologías analíticas para monitorear los niveles de contaminación en las diferentes zonas de suelo remediadas, lo cual permite evaluar su eficiencia y avance. La mayoría de los métodos estandarizados para el análisis de HAP en suelo, involucran extracción con disolventes, limpieza de la muestra y la inyección de los extractos por cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas, lo cual permite obtener la sensibilidad requerida para garantizar que los niveles encontrados de contaminantes en los suelos analizados cumplen los intervalos de concentración aceptables de acuerdo a la normatividad aplicable. De esta manera, el inyector de temperatura programada de vaporización (PTV), es una excelente alternativa para aumentar la sensibilidad de una determinación cromatográfica.

Esto es posible en el modo de operación de *venteo de disolvente*, en el cual el flujo y presión de venteo, durante un tiempo determinado, permite que el exceso de disolvente que acompaña la muestra se evapore del inyector y se elimine por la purga del split, mientras que los analitos son depositados en el inserto del inyector y, posteriormente, una vez terminado el venteo, son desorbidos del inserto térmicamente para ser introducidos a la columna analítica arrastrados por el gas portador [57,58]. En la Figura 7, se muestra un esquema general de la eliminación del disolvente en una inyección de volumen grande. Si bien estas opciones de funcionamiento del PTV ofrecen una gran ventaja y versatilidad de aplicaciones para la determinación de trazas, complican la operación del equipo, ya que deben optimizarse perfectamente los flujos, presiones y tiempos, para lograr la sincronía correcta de los pasos que realiza el inyector y así obtener resultados confiables y análisis reproducibles [58,59].

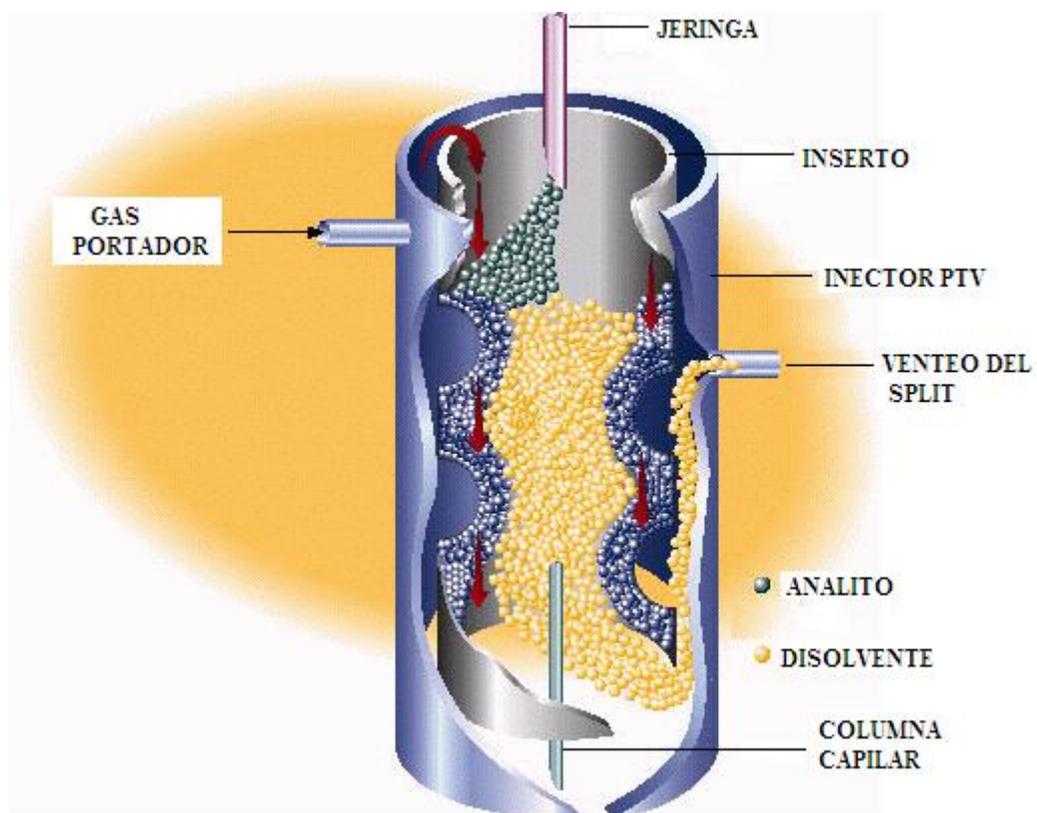


Figura 7. Esquema de operación del inyector PTV (Agilent Technologies) en modo de eliminación de disolvente.

3. DESARROLLO EXPERIMENTAL

3.1 *Materiales y reactivos*

Para la fortificación de las muestras de suelo se utilizaron estándares grado reactivo analítico de los siguientes compuestos: fenantreno (99.88 %), antraceno (99.8 %), 2-metil fenantreno (99.8%), 2,6- dimetil fenantreno (98.95%), fluoreno (99.7%), 1-metil fluoreno (98.9%), fluoranteno (99.5 %), criseno (99.8 %), pireno (98.5%), benzo [a] pireno (99.5 %), indeno [1,2,3-cd] pireno (97.5%), dibenzo [a,h] antraceno (98.0 %), carbazol (95.5%), 9-metil carbazol (97.8%) y dibenzotiofeno (98.5%), todos de Sigma-Aldrich. Como estándares surrogados para los análisis por CG-EM, se utilizaron los siguientes reactivos deuterados: naftaleno d-8 (99.5%) y criseno d-12 (98.4%), Sigma-Aldrich. Como estándar interno se utilizó 3,6-dibromo carbazol (98.5%) de Eurochem. Para el desarrollo experimental se utilizaron los siguientes disolventes: acetona, hexano, tolueno y diclorometano, todos de la línea suprasolv, proveídos por Merck Millipore International, Darmstadt, Alemania. Para la fortificación de las muestras de suelo con carbono orgánico, se utilizó un material de referencia de carbonilla (Diesel soot combustión SRM 2975), proveído por Eurochem (Alemania).

De cada estándar sólido se prepararon disoluciones madre de 1000 µg/mL en metanol a partir de las cuales se obtuvieron disoluciones de trabajo de 10 y 100 µg/mL en metanol. Para la fortificación de la solución del suelo sintética, se prepararon mezclas de estándares a una concentración de 100 µg/mL en metanol. Todas las disoluciones preparadas se mantuvieron aisladas de la luz solar y bajo condiciones de refrigeración.

3.2 *Equipos*

- Analizador de carbono orgánico total (TOC por sus siglas en inglés), Teledyne-Tekmar.
- Sistema de extracción Soxhlet manual de 25 mL.
- Rotaevaporador Büchi modelo R-600.
- Cromatógrafo de gases Agilent, modelo 6890N, equipado con inyector de temperatura de vaporización programada (PTV por sus siglas en inglés), automuestreador modelo 7683,

detector de ionización de flama (FID, por sus siglas en inglés) y una columna capilar marca Zebron ZB-5 (5% fenil, 95% dimetil-polisiloxano) de 30 m de longitud, 0.25 mm de diámetro interno y 0.25 μm de espesor de película. Software de Agilent Technologies “Chemstation”, versión A.10.01.

- Sistema de extracción con líquidos presurizados, One-PSE 100.
- Cromatógrafo de líquidos Shimadzu modelo LC-100, equipado con automuestreador y colector de fracciones automatizado para cromatografía preparativa, detector UV-visible ($\lambda = 254 \text{ nm}$) y fluorescencia ($\lambda_{\text{excitación, emisión}} = 250, 400 \text{ nm}$). Software Shimadzu Open lab, versión V.02. Columna preparativa (45 x 1 cm), con fase polimérica BioRad, Bio-Beads SX-12, con tamaño de exclusión molecular de 400 Da.
- Cromatógrafo de gases Thermo-electron Cooperation, con detector FID, modelo Trace Ultra, equipado con automuestreador y columna capilar Zebron ZB-5 (5% fenil, 95% dimetil-polisiloxano) de 30 m de longitud, 0.25 mm de diámetro interno y 0.25 μm de espesor de película.
- Cromatografo de gases acoplado a espectrómetro de masas Thermo-electron Cooperation, modelo Trace Ultra, equipado con auto muestreador y columna capilar marca Zebron ZB-5/MS (5% fenil, 95% dimetil-polisiloxano) de 30 m de longitud, 0.25 mm de diámetro interno y 0.25 μm de espesor de película. Software “Xcalibur” de la marca Thermo, versión B01.

3.3 Estrategia experimental

La realización de los experimentos y análisis de las muestras de suelo se llevó a cabo como se enlista a continuación:

- a) Caracterización de muestras de suelo
- b) Elección de los compuestos de fortificación
- c) Desarrollo y optimización de una metodología por PTV-LVI-GC para el análisis de HAP
 - c.1) Optimización de flujo en el inyector PTV
 - c.2) Optimización de presión en el inyector PTV
 - c.3) Validación del método desarrollado
- d) Diseño de los experimentos cinéticos
 - d.1) Experimentos en los suelos S1 y S3
 - d.2) Experimentos en los suelos S2 y S4 + carbonilla
- e) Experimentos para la determinación de K_d y $\log K_{oc}$
 - e.1) Experimentos en los suelos S1 y S3
 - e.2) Experimentos en los suelos S2 y S4 + carbonilla
- f) Análisis de HAP en las muestras de suelo
 - f.1) Extracción de HAP en S1 y S3
 - f.2) Identificación y cuantificación de HAP en S1 y S3 por PTV-LVI-GC
 - f.3) Extracción de HAP en S2 y S4 + carbonilla
 - f.4) Identificación y cuantificación de HAP en S2 y S4 + carbonilla por CG-EM

3.4 Caracterización de las muestras de suelo

Los análisis se llevaron a cabo utilizando cuatro suelos no perturbados con diferente contenido de MO, provenientes de zonas con actividad industrial y petrolera del sureste de la República Mexicana (Veracruz y Tabasco), los suelos estudiados se enumeran en el Cuadro 2.

Cuadro 2. Identificación de las muestras de suelo estudiadas.

Muestra de suelo	% Materia Orgánica
S1	1.9
S2	4.6
S3	25
S4	40
S2 + 0.05 % de Carbonilla*	4.6
S4 + 0.2 % de Carbonilla*	40

* Muestras de suelo enriquecidas con carbonilla (% p/p)

En todos los casos, las muestras fueron obtenidas de la capa superficial del suelo (Ah), es decir los primeros 20 cm y tamizadas con una malla de acero inoxidable de 2 mm de tamaño de poro. Las muestras de suelo fueron caracterizadas previo a su fortificación, determinándose los siguientes parámetros: pH, conductividad eléctrica, porcentaje de arcilla, limo y arena, contenido de materia orgánica (MO), carbono orgánico disuelto (COD) y capacidad de intercambio catiónico (CIC). La determinación de pH y conductividad se realizó con extractos acuosos de las muestras de suelo utilizando agua desionizada en una relación 1 a 3, bajo agitación continua por 4 h y posteriormente utilizando un electrodo combinado de vidrio y una celda conductométrica respectivamente, ambos previamente calibrados. El porcentaje de arcillas, limo y arena, se obtuvo por el método de Bouyoucos [60, 61]. El contenido de MO y COD se realizó con un equipo TOC para determinación de carbono orgánico total en muestras sólidas y líquidas, y dado que no se trata de suelos carbonatados (carbonatos < 1%), el contenido de MO se determinó utilizando el siguiente

factor: % MO = 1.724 * % CO [49]. Se analizaron tres muestras “blanco” de cada suelo estudiado para verificar que no contenían los compuestos utilizados para la fortificación. También, se realizaron blancos metodológicos con los materiales y reactivos utilizados, incluyendo la carbonilla, para evaluar las interferencias de matriz en las muestras de suelo enriquecidas con este material, así como el posible aporte de HAP del mismo, el cual no fue significativo (< LD del método utilizado) para los niveles de enriquecimiento de la carbonilla y la fortificación de los HAP en las muestras de suelo.

3.5 Elección de compuestos para la fortificación de las muestras de suelo

La fortificación de las muestras de suelo, se llevó a cabo utilizando diferentes compuestos representativos del grupo de los HAP, así como algunos de sus derivados metilados y compuestos análogos azufrados (tiofenos, S-PAC, por sus siglas en inglés) y nitrogenados (carbazoles, N-PAC, por sus siglas en inglés), con objeto de evaluar la presencia de heteroátomos en la sorción de los compuestos aromáticos policíclicos en la MO del suelo. La elección de los compuestos pretendió evaluar un panorama amplio en cuanto a sus diferentes propiedades fisicoquímicas, como: peso molecular, polaridad, tipo de estructura (para el caso de los pericondensados y catacondensados) e hidrofobicidad, tomando en cuenta sus coeficientes de reparto octanol-agua. Los compuestos utilizados para la fortificación se enumeran en el Cuadro 3. Dado que para los experimentos en los suelos S1 y S3, la fortificación se realizó únicamente con seis HAP nativos, para dichos experimentos y resultados se hará referencia al acrónimo HAP (hidrocarburos aromáticos policíclicos). Por otra parte, debido a que en los experimentos con los suelos S2 y S4 además de HAP nativos, se evaluaron Alquil-HAP y compuestos polícíclicos análogos con héteroátomos como azufre (tiofenos) y nitrógeno (carbazoles)ados, para estos experimentos y sus resultados se hará referencia indistinta entre los acrónimos HAP y PAC (compuestos aromáticos policíclicos, por sus siglas en inglés), lo anterior para evitar confusiones al respecto.

Cuadro 3. Compuestos seleccionados para los experimentos cinéticos y la determinación de K_d y K_{oc} .

Tipo de compuesto	No. de Anillos	Tipo de Condensación	Tipo de compuesto	No. de Anillos	Tipo de Condensación
HAP:			N-PAC:		
Fluoreno	3	Catacondensado	9-Metilcarbazol	3	Catacondensado
Fenantreno	3	Catacondensado	Carbazol	3	Catacondensado
Pireno	4	Pericondensado			
Benzo (a) pireno	5	Pericondensado			
Dibenzo (a,h) antraceno	6	Catacondensado			
Indeno (1,2,3-cd) pireno	6	Pericondensado			
Alquil-HAP:			Estándares surrogados:		
1-Metilfluoreno	3	Catacondensado	Naftaleno d-8	2	Catacondensado
2-Metilfenantreno	3	Catacondensado	Criseno d-12	4	Catacondensado
3,6-Dimetil fenantreno	3	Catacondensado			
S-PAC:			Estándar Interno:		
Dibenzotiofeno	3	Catacondensado	3,6-Dibromo carbazol	3	Catacondensado

S-PAC = Compuestos aromáticos policíclicos con azufre.

N-PAC = Compuestos aromáticos policíclicos con nitrógeno.

3.6 Desarrollo y optimización de la metodología por PTV-LVI-GC

Para la cuantificación de los HAP en las muestras de suelo se desarrolló una metodología analítica por cromatografía de gases con inyector PTV para la inyección de grandes volúmenes, la cual abarcó la optimización de: i) condiciones cromatográficas (utilizando disoluciones estándar), ii) procedimiento de preparación de muestras y iii) análisis cromatográfico de los HAP en los extractos de los diferentes suelos.

3.6.1 Preparación de muestras

Los extractos orgánicos de matrices complejas como el suelo, presentan un gran número de interferencias que dificultan la identificación y la cuantificación de los compuestos de interés, por

esta razón es importante realizar procedimientos de limpieza de muestra eficientes con objeto de eliminar el mayor número de interferencias para los análisis. Se analizaron blancos de los suelos S1 y S3 para verificar que las muestras no contenían HAP. Posteriormente, a 10 g de suelo se agregaron 10 ml de una disolución acuosa que contenía cloruro de calcio 0.01 M, cloruro de mercurio a 200 g L^{-1} (como inhibidor microbiano) seis HAP (fenantreno, antraceno, fluoranteno, criseno, pireno y benzo [a] pireno) a una concentración de $25 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$. La extracción y la limpieza de muestra se realizó como se describe a continuación: 1) Los componentes sólidos se separaron por filtración (0,45 micras membranas de nylon). 2) Se transfirieron a un extractor Soxhlet en un cartucho de celulosa y se extrajeron durante 16 h con 20 ml de una mezcla de tolueno-metanol (6:1 v / v) [22] y 10 ml de disolución de KOH al 10% en metanol. 3) La fase acuosa se separó para eliminar la fracción saponificada (esteroles y ácidos grasos principalmente) y por lo tanto para reducir las interferencias de la matriz, el extracto orgánico se lavó con agua destilada para eliminar el exceso de KOH y se secó con sulfato de sodio anhidro; 4) a continuación, se evaporó bajo una corriente suave de nitrógeno y se redujo a 5 ml en un matraz aforado. El extracto final se inyectó al GC (PTV) en el modo de venteo de disolvente [62].

3.6.2 Optimización de la neumática del PTV

Se realizó la optimización de las condiciones neumáticas del inyector PTV como son el flujo de venteo y la presión de venteo, para obtener la mayor respuesta de los compuestos de interés. Para la optimización de las condiciones cromatográficas se utilizaron disoluciones estándar de los analitos de interés a una concentración de 500 ng mL^{-1} . La presión de venteo se varió en un intervalo entre 7 y 55 kPa y el flujo de venteo se varió entre 20 y 200 mL min^{-1} . Los datos fueron recolectados en el software Chemstation de Agilent versión A.10.01. Las condiciones cromatográficas utilizadas fueron las siguientes:

La temperatura inicial de la columna se mantuvo a $60 \text{ } ^\circ\text{C}$ durante 2 min, a continuación, programado a $10 \text{ } ^\circ\text{C min}^{-1}$ a $90 \text{ } ^\circ\text{C}$ y finalmente a $20 \text{ } ^\circ\text{C min}^{-1}$ a $320 \text{ } ^\circ\text{C}$, que se mantuvo durante 8

min. Se utilizó hidrógeno (99,98%) a 1.4 ml min^{-1} como gas portador. Se inyectaron $50 \mu\text{L}$ de extracto utilizando una secuencia de inyecciones múltiples. Para cada muestra, se realizaron diez inyecciones múltiples de $5 \mu\text{L}$ cada una utilizando un automuestreador automático equipado con una jeringa de $10 \mu\text{L}$ y un retardo entre las inyecciones de 1s. La temperatura inicial del PTV fue de $60 \text{ }^\circ\text{C}$ durante 1.5 minutos [62].

3.7 Diseño de los experimentos cinéticos

Con objeto de estudiar el efecto de la carbonilla en los procesos cinéticos y de sorción al equilibrio los suelos S2 y S4 fueron fortificados con un material de referencia de carbonilla (soot) obtenida de la combustión de diesel, la cual presenta elevada porosidad y bajo tamaño de partícula y por lo tanto afinidad elevada por compuestos orgánicos hidrofóbicos, la fortificación con carbonilla fue del orden de 0.05 y 0.2 % (p/p), respectivamente para S2 y S4, se realizaron análisis blanco de los suelos fortificados con la carbonilla, observando que el contenido de HAP aportado por este material fue menor a los límites de detección del método. Dado que la carbonilla es un material muy poroso, de bajo tamaño de partícula y de alta afinidad por compuestos orgánicos hidrofóbicos, las bajas cantidades de carbonilla agregadas a cada suelo ($< 1\% \text{ p/p}$), pretendieron evaluar la influencia de esta fracción de CO en la sorción de los HAP, sin predominar sobre la sorción en el CO presente en la MO nativa de cada uno. Las muestras S1 y S3 no fueron enriquecidas con este material, por lo que en estos casos sólo se estudió el efecto de la MO natural de cada suelo.

3.7.1 Experimentos en suelos S1 y S3

Los experimentos cinéticos para los suelos S1 y S3 se realizaron por medio de lotes de experimentos independientes (batch); se prepararon doce puntos cinéticos para cada suelo en viales independientes de 40 mL y los tiempos de contacto variaron en un intervalo entre 0 y 880 h. En cada vial se colocaron 10 g de suelo base seca, con aproximadamente 30 mL de solución del suelo sintética, preparada en el laboratorio, la cual contenía CaCl_2 0.01M y HgCl_2 a $200 \mu\text{g mL}^{-1}$ como

inhibidor microbiano [63]. Para estos experimentos, se adicionaron los seis HAP mencionados a ambos suelos. Los compuestos de fortificación se adicionaron por medio de la solución del suelo sintética antes descrita, a una concentración de $1.5 \mu\text{g mL}^{-1}$ y los viales fueron llenados en su totalidad para evitar pérdidas por volatilización en el espacio de cabeza, permaneciendo en un baño termostático, aislados de la luz (para evitar fotodescomposición de los analitos) a presión y temperatura constantes (585 mm Hg y 25°C). Para evaluar la precisión y asegurar la calidad de los resultados, se realizaron análisis por triplicado de tres puntos cinéticos por cada lote de experimentos.

3.7.2 Experimentos en suelos S2 y S4 con carbonilla

Los experimentos cinéticos para las muestras S2 y S4 se llevaron a cabo con y sin adición de carbonilla, con objeto de evaluar el efecto de esta fracción orgánica sobre la sorción de los compuestos en suelo. Los compuestos utilizados para la fortificación de estos suelos fueron los siguientes PAC: fenantreno, 2-metil fenantreno, 2,6- dimetil fenantreno, fluoreno, 1-metil fluoreno, pireno, dibenzo [a,h] antraceno, indeno [1,2,3-c,d] pireno, carbazol, 9-metil carbazol y dibenzotiofeno. Los experimentos se llevaron a cabo de forma independiente, para lo cual se montaron siete puntos cinéticos. En cada caso, dependiendo del contenido de materia orgánica, se optimizó la relación suelo-solución del suelo para lograr aproximadamente un 80 % de sorción al equilibrio [63]. Con base en lo anterior, para el caso del suelo S2 con y sin carbonilla se colocaron 3 g de suelo base seca y 20 mL de solución del suelo sintética que contenía CaCl_2 0.01M y NaN_3 a $200 \mu\text{g mL}^{-1}$ como inhibidor microbiano, para el suelo S4 con y sin carbonilla, se colocó en cada vial 2 g de suelo base seca y 40 mL de la solución del suelo sintética, en todos los casos los analitos de fortificación se adicionaron por medio de la solución del suelo sintética antes descrita, a niveles de $1 \mu\text{g mL}^{-1}$ y los viales fueron llenados en su totalidad para evitar pérdidas por volatilización en el espacio de cabeza. Los tiempos de contacto fueron de 0, 4, 10 24, 48, 72 y 120 h para cada tipo de

muestra de suelo con y sin carbonilla. Se realizaron triplicados de los experimentos con tiempo de equilibrio de 24 h para S2 y de 48 h para S4. Durante los experimentos cinéticos, los viales permanecieron en un baño termostatzado, aislados de la luz (para evitar fotodescomposición de los analítos) a presión y temperatura constantes (1090 mbar y 30 °C) [63].

3.8 Determinación de K_d y K_{oc} : isothermas de sorción

3.8.1 Experimentos en suelos S1 y S3

Para los suelos S1 y S3, los coeficientes de partición K_d y K_{oc} , fueron calculados a partir de las concentraciones al equilibrio de los HAP en el suelo y en la solución del suelo, determinadas una vez alcanzado el equilibrio en los experimentos cinéticos antes descritos (concentraciones del último punto de la cinética de sorción).

3.8.2 Experimentos en suelos S2 y S4 con carbonilla

De la misma manera que para los experimentos cinéticos, se realizaron experimentos independientes para la obtención de las isothermas de sorción y la determinación de los parámetros K_d y K_{oc} . Para cada muestra de suelo con y sin carbonilla, se realizó la fortificación con los PAC por medio de la solución del suelo sintética antes descrita, a cinco niveles de concentración en viales independientes, manteniéndose todos al mismo tiempo de equilibrio (120 h). Las relaciones *suelo:solución del suelo* fueron las mismas que las utilizadas en los experimentos cinéticos y las concentraciones de fortificación utilizadas fueron 0.2, 0.5, 1, 2.5 y 5 $\mu\text{g mL}^{-1}$ [63].

3.9 Análisis de los HAP

3.9.1 Extracción de HAP en las muestras S1 y S3

Una vez transcurridos los diferentes tiempos de equilibrio, se realizó la extracción de los HAP en el suelo y la solución del suelo bajo las siguientes condiciones experimentales:

i) Suelo: Una vez transcurrido el tiempo de equilibrio para cada vial, las muestras fueron centrifugadas a 3000 rpm y filtradas a través de membranas de celulosa de 0.45 μm para separar el suelo de la solución. Posteriormente, la fase sólida se transfirió a un cartucho de celulosa y se colocó en un extractor Soxhlet, utilizando 30 mL de una mezcla 6:1 de tolueno/metanol y adicionando 10 mL de una solución de hidróxido de potasio en metanol al 10%, con objeto de saponificar los lípidos presentes en la MO del suelo y reducir las interferencias para el análisis, el tiempo de extracción fue de 16 h. Posteriormente, el extracto fue lavado con agua destilada hasta neutralizar el exceso de hidróxido de potasio y secado con sulfato de sodio anhidro. Finalmente, se concentró hasta un volumen final de 5 mL, utilizando un rotaevaporador y se inyectaron 50 μL al cromatógrafo de gases con inyector PTV, en modo de eliminación de disolvente.

ii) Solución del suelo: La fase acuosa fue transferida a un embudo de separación y se realizaron tres extracciones líquido-líquido con agitación vigorosa, con porciones de 5 mL de cloruro de metileno. Posteriormente, el extracto fue secado utilizando sulfato de sodio anhidro y se evaporó en un sistema Kuderna-Danish, al cual se agregaron 0.5 mL de tolueno para evitar pérdidas de los HAP de menor número de anillos, la evaporación se realizó hasta la eliminación completa del cloruro de metileno y se llevó a un volumen final de 1 mL con tolueno. Se inyectaron 50 μL al cromatógrafo de gases.

3.9.2 Identificación y cuantificación de HAP en las muestras S1 y S3

La identificación de los HAP se realizó por la comparación del tiempo de retención determinado con inyecciones de disoluciones estándar de cada uno de los compuestos de interés. La

cuantificación se realizó por el método de calibración absoluta, realizando curvas de calibración para cada compuesto, e interpolando el área de cada compuesto en las muestras de suelo. Los análisis cromatográficos se realizaron en un cromatógrafo de gases Agilent modelo 6890N, equipado con inyector PTV. El gas portador fue hidrógeno, a un flujo de 1.4 mL min^{-1} . El programa de temperatura del horno inició a $50 \text{ }^\circ\text{C}$ durante 1 min, con un incremento de $10 \text{ }^\circ\text{C min}^{-1}$ hasta $90 \text{ }^\circ\text{C}$, seguido de un segundo incremento de $20 \text{ }^\circ\text{C min}^{-1}$ hasta $320 \text{ }^\circ\text{C}$ durante 8 min. La temperatura del detector fue de $360 \text{ }^\circ\text{C}$. Las condiciones de trabajo para el inyector PTV fueron las siguientes:

El PTV se utilizó en modo de venteo de disolvente y por cada muestra se realizó una secuencia de 10 inyecciones sucesivas de $5 \text{ } \mu\text{L}$ cada una, con un tiempo de retardo entre cada inyección de 1 s (el volumen total por inyección fue de $50 \text{ } \mu\text{L}$); durante la eliminación del disolvente, el flujo de venteo fue de 50 mL min^{-1} , la presión de venteo fue de 10 kPa (1.5 psi aprox.) y el flujo del split fue de 50 mL min^{-1} . El programa de temperatura del inyector inició a $60 \text{ }^\circ\text{C}$ durante 1.5 min, seguido de un incremento de $8.3 \text{ }^\circ\text{C}\cdot\text{s}^{-1}$ hasta $350 \text{ }^\circ\text{C}$, donde permaneció 3 min, con objeto de transferir eficientemente los compuestos de alto peso molecular a la columna cromatográfica y purgar el inyector para el siguiente análisis y evitar así efectos de memoria entre cada inyección [62].

3.9.3 Extracción de PAC en las muestras S2 y S4 con carbonilla

Para la extracción de los PAC en las muestras S2 y S4 con y sin carbonilla, se utilizó la técnica de extracción con líquidos presurizados, bajo las siguientes condiciones: 2 a 3 g de muestra de suelo para los casos con y sin carbonilla, 3 ciclos de extracción de 10 minutos cada uno, utilizando una mezcla hexano:acetona (1:1), a 140 bares y $110 \text{ }^\circ\text{C}$ [64 - 66]. Los extractos fueron concentrados en rotavapor hasta un volumen de 1 mL. Se probó de manera inicial la limpieza de los mismos pásandolos a través de columnas empacadas con 3 g de silica gel desactivada con agua al 5 %, sin embargo, dado que el grado de limpieza de muestra alcanzado no fue suficiente para el análisis por CG-EM, se modificó el procedimiento de limpieza de los extractos orgánicos de los suelos. Los extractos fueron tratados por Cromatografía de Permeación en Gel preparativa (GPC).

Se utilizó una columna empacada con fase estacionaria polimérica Bio-Beads SX-12 de la marca Biorad de 45 x 1.0 cm, con un límite de exclusión molecular de 400 Da; la fase móvil fue diclorometano (Suprasolv marca Merck, filtrado a 0.45 μm), a un flujo de 3 mL/min. Se inyectaron 500 μL de cada extracto de suelo utilizando un automuestreador. La detección se realizó por UV-visible a dos longitudes de onda (220 y 254 nm) y por fluorescencia ($\lambda_{\text{excitación, emisión}} = 250, 400 \text{ nm}$), en todos los casos se colectó la fracción comprendida del minuto 4 al minuto 8 del cromatograma, que es donde eluyeron los compuestos de interés. Posteriormente, fueron agregados 0.5 mL de tolueno a los extractos colectados por GPC para evitar pérdidas de los compuestos más volátiles y se concentraron hasta la eliminación completa del diclorometano bajo una corriente suave de nitrógeno [64-66]. Por último, se adicionó a cada extracto el estándar interno, se llevaron a un aforo de 1 mL en tolueno.

3.9.4 Identificación y cuantificación de los PAC en las muestras S2 y S4 con carbonilla

La identificación de los PAC se realizó por la comparación del tiempo de retención (GC-EM) determinado con inyecciones de disoluciones estándar de cada uno de los compuestos de interés y por la comparación de las abundancias de los iones diagnósticos elegidos para cada compuesto. La cuantificación se realizó por el método de estándar interno, realizando las curvas de calibraciones relativas, correspondientes a cada compuesto, las cuales fueron preparadas en un intervalo de 0.5 a 10 $\mu\text{g g}^{-1}$ de suelo, se utilizó 3,6-dibromo carbazol como estándar interno a una concentración de 4 $\mu\text{g g}^{-1}$. El análisis cromatográfico se realizó en un sistema acoplado CG-EM. Las condiciones cromatográficas fueron las siguientes: temperatura del inyector: 280 °C, temperatura de la línea de transferencia 300 °C, programa de temperatura del horno: 60 °C durante 1 minuto, posteriormente 5 °C min^{-1} hasta 150 °C durante 0 min y finalmente 10 °C min^{-1} hasta 320 °C durante 15 min. Para la evaluación de los porcentajes de recuperación se utilizaron los siguientes estándares deuterados: naftaleno-d8 y criseno-d12. El equipo se utilizó en modo de electroionización a 70 eV y la adquisición de datos fue por SIM (monitoreo selectivo de iones); para

cada compuesto se utilizó un ión diagnóstico de cuantificación (ión molecular) y dos de confirmación (M+1 y M-1), excepto en el caso del dibenzotiofeno para el cual se utilizó el M+2 de confirmación.

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 Caracterización de las muestras de suelo

Se realizó la caracterización de las muestras de suelo, mediante la determinación de los siguientes parámetros: conductividad eléctrica, pH, porcentaje de materia orgánica (% MO) y carbono orgánico (% CO), concentración de carbono orgánico disuelto (COD), capacidad de intercambio catiónico (CIC) y textura (porcentaje de arena, limo y arcilla). Los resultados de la caracterización de los suelos estudiados se incluyen en el Cuadro 4.

Cuadro 4. Resultados de la caracterización de las muestras de suelo.

Origen	Nanchital, Veracruz	Frontera, Tabasco	Tabasco	Blasillo, Tabasco
Muestra de suelo	S1	S2	S3	S4
Profundidad del muestreo	Ah (20 cm)	Ah (20 cm)	Ah (20 cm)	Ah (20 cm)
Conductividad ($\mu\text{S}/\text{cm}$)*	107	95	185	486
pH*	6.71	6.50	5.9	5.4
% Arena	49.2	33.5	35	25.5
% Limo	30.0	32.0	51.5	46.5
% Arcillas	20.8	34.5	23.5	28.0
% MO**	1.9	4.6	25.0	40.0
% CO**	1.1	2.7	14.7	27.0
COD** (mg/L)	40	119	250	290
CIC (meq/100g)	ND	45	ND	105

* 25 °C.

** Determinados en equipo TOC (% MO = % CO * 1.7, suelos no carbonatados).

ND = No determinado

Adicionalmente, se estimó el contenido aproximado de carbonatos en las muestras de suelo, por reacción con ácido clorhídrico [39], y dado que ninguna presentó un porcentaje de carbonatos

mayor al 1 % (p/p), el contenido de MO se determinó a partir del porcentaje de CO, utilizando el siguiente factor: % MO = 1.724 * % CO [49].

De acuerdo con los parámetros determinados a las muestras de suelo, se observa que conforme aumenta el contenido de MO, disminuye el pH y se incrementa la concentración de COD y la CIC, lo cual es debido a la mayor cantidad de grupos funcionales orgánicos (ácidos húmicos, ácidos fúlvicos y humínicos) que componen la MO nativa de los suelos estudiados [21]. Esta caracterización de las muestras permitió conocer su contenido de MO, siendo éste parámetro el de principal interés, ya que los resultados de la sorción de los HAP se evaluarán en función del contenido de MO de cada suelo.

4.2 Metodología para la determinación de HAP por PTV-LVI-GC

4.2.1 Preparación de las muestras

Si bien la cromatografía de gases es una técnica con un alto poder de separación, la introducción de muestras muy complejas a los equipos de CG, afecta directamente la estabilidad del sistema, llegando incluso, en algunos casos a deteriorar o acortar la vida de algunos de sus componentes, además de las dificultades implicadas en el análisis de los compuestos de interés. Por lo tanto, los extractos orgánicos de las muestras de suelo fueron sometidos a un proceso de limpieza que consistió en una saponificación de los extractos orgánicos con hidróxido de potasio, para eliminar las interferencias de la fracción saponificable de la matriz, que consisten principalmente en triglicéridos, ácidos grasos y compuestos polares de alto peso molecular y que representan un problema para el análisis por cromatografía de gases. El uso de un detector no específico, como lo es el detector de ionización de llama (FID por sus siglas en inglés) en el análisis de contaminantes en matrices complejas, ha sido criticado debido a la posibilidad de realizar una identificación incorrecta de los analitos, por lo que es imprescindible contar con los estándares de los compuestos que se desean identificar, así como con una correcta separación cromatográfica de todos los componentes de la muestra, para minimizar dicha condición y de éste modo hacer válido su uso

[62]. El procedimiento de limpieza implementado generó buenos resultados, ya que permitió la disminución de un buen número de interferencias para las determinaciones, lo cual se observa a partir de los cromatogramas de los extractos de suelo, los cuales tuvieron una línea base más estable y un menor número de picos interferentes. La detección y cuantificación de los HAP para los experimentos con los suelos S1 y S3, se realizó con un cromatografo de gases equipado con un detector FID, dada la adecuada limpieza de los extractos orgánicos de los suelos, con lo que fue posible obtener una separación completa (Resolución mayor a 2 en todos los casos) entre los analitos y las interferencias de la matriz, derivando en una adecuada identificación y cuantificación de los HAP. Adicionalmente, como confirmación de los resultados, se realizó el análisis de algunos extractos por cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas, a efecto de identificar de manera inequívoca a cada uno de los compuestos adicionados a las muestras de suelo. En la Figura 8 se muestra una comparación de los cromatogramas de la muestra de suelo S1 fortificada, para: a) un análisis por CG-LVI-PTV sin limpieza del extracto, b) un análisis CG-LVI-PTV de un extracto saponificado y c) un análisis por CG-EM de un extracto saponificado en un inyector split/splitless, en los cuales se observa la eficacia del procedimiento de limpieza de muestras arriba discutido. La escala de tiempo del cromatograma c) es diferente a los cromatogramas a) y b), ya que el programa de temperatura utilizado con el equipo CG-EM fue diferente al CG-FID.

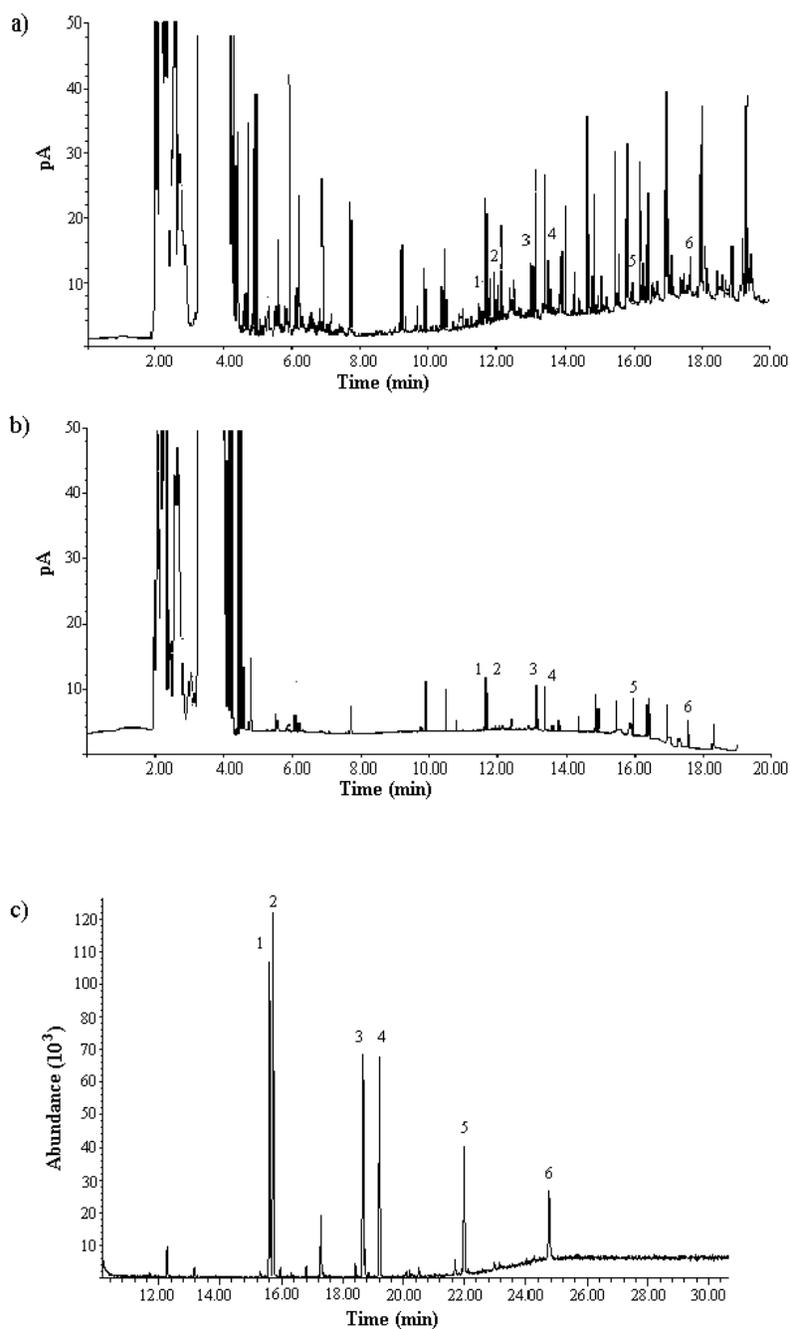


Figura 8. Cromatogramas: a) análisis por CG-LVI-PTV sin limpieza del extracto de suelo, b) análisis por CG-LVI-PTV de un extracto de suelo saponificado y c) análisis por CG-EM- splitless de un extracto de suelo saponificado. 1. Fenantreno, 2. Antraceno, 3. Fluoranteno, 4. Pireno, 5. Criseno y 6. Benzo (a) pireno a $50 \mu\text{g L}^{-1}$, las recuperaciones del método por por CG-LVI-PTV, se mantuvieron entre 76 y 96 % (Cuadro 5).

4.2.2 Optimización de Flujo y presión del PTV

La elección de las condiciones óptimas para el venteo o eliminación del disolvente, sin ocasionar pérdida significativa en la respuesta de los analitos de interés, se realizó mediante la variación de los parámetros: flujo de venteo y presión de venteo en el inyector PTV. Se buscó obtener la mejor combinación de ambos para eliminar la mayor cantidad de disolvente posible del inyector (con objeto de que no ingresara a la columna y pudiera saturar el sistema cromatográfico), sin disminuir de manera significativa la respuesta de los analitos. La optimización del flujo de venteo, se realizó manteniendo fija una presión de 10 kPa en el inyector. De manera análoga, la optimización de la presión de venteo, se llevó a cabo manteniendo un flujo constante de 100 mL min⁻¹. En la Figura 9, se muestra el gráfico de flujo de venteo vs área de pico, en el cual se observa que el flujo óptimo fue de 100 mL min⁻¹. Sin embargo, también puede apreciarse que la respuesta de los HAP de menor peso molecular (fenantreno y antraceno) disminuye con respecto a los mas pesados, ya que estos últimos son menos volátiles y por lo tanto, menos susceptibles de ser arrastrados por el venteo del split aún a flujos elevados.

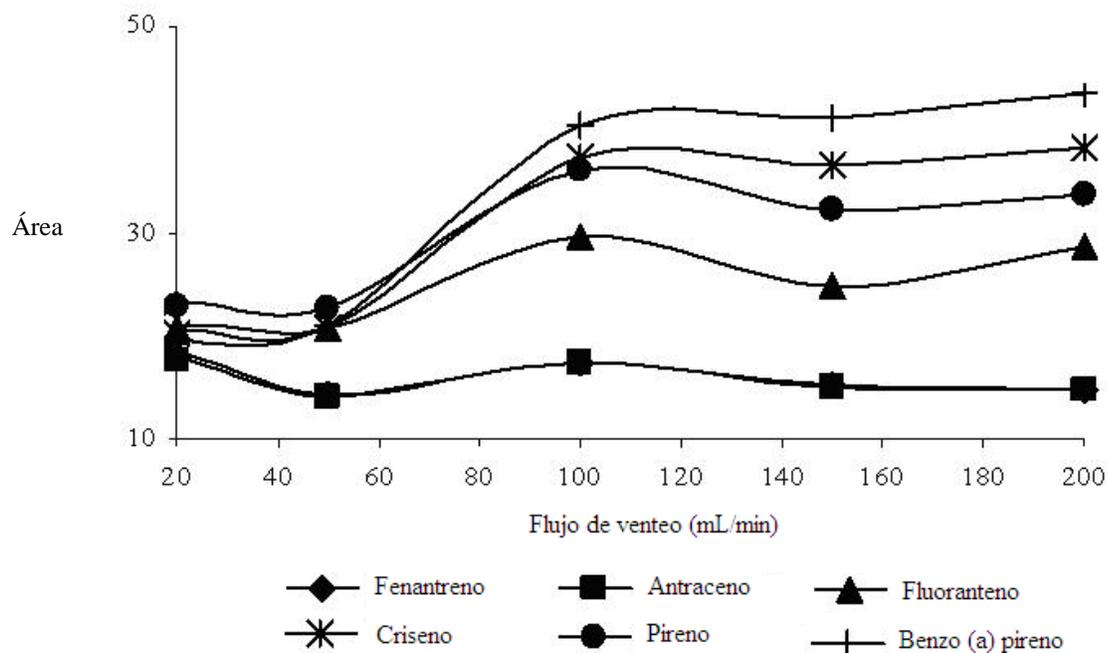


Figura 9. Optimización del flujo de venteo para PTV-LVI.

La presión de venteo, se refiere a la presión en cabeza de columna, es decir la presión del inyector durante el proceso de eliminación de disolvente y es la variable de mayor influencia en la eliminación del exceso de disolvente. Considerando que durante la eliminación del disolvente en el inyector, la temperatura debe permanecer por debajo de su punto de ebullición (para evitar pérdidas considerables de analitos) y que la presión tiene una relación directa con el punto de ebullición de un líquido, entonces, una mayor presión en el inyector, dificulta la eliminación del disolvente. De manera contraria la disminución de la presión en el inyector favorece la eliminación del disolvente. En ambos casos, debe tomarse en cuenta la presión de vapor de los analitos y así, determinar el valor de presión óptimo para el inyector PTV, donde se obtenga la mayor eliminación posible de disolvente, sin ocasionar pérdidas considerables en la respuesta de los compuestos de interés. Los resultados obtenidos para la optimización de la metodología por LVI, son congruentes con lo reportado en estudios donde incluso se han determinado compuestos más volátiles que los HAP, comprobando así, la confiabilidad del método desarrollado [58,68]. La Figura 10 muestra el gráfico de presión de venteo vs área de pico, en ella se observa, que la presión óptima para lograr la mayor eliminación de disolvente sin disminuir de manera importante la respuesta de los analitos, fue de 10 Kpa. En conclusión, la combinación óptima de las condiciones de flujo y presión de venteo en un método por cromatografía de gases, mediante el uso de volúmenes grandes de inyección (LVI, por sus siglas en inglés), deberá ser obtenida en función de las propiedades fisicoquímicas de los analitos y del disolvente, como: polaridad, solubilidad, presión de vapor y peso molecular. De esta forma, el aumento en la sensibilidad del método es considerable [58,68].

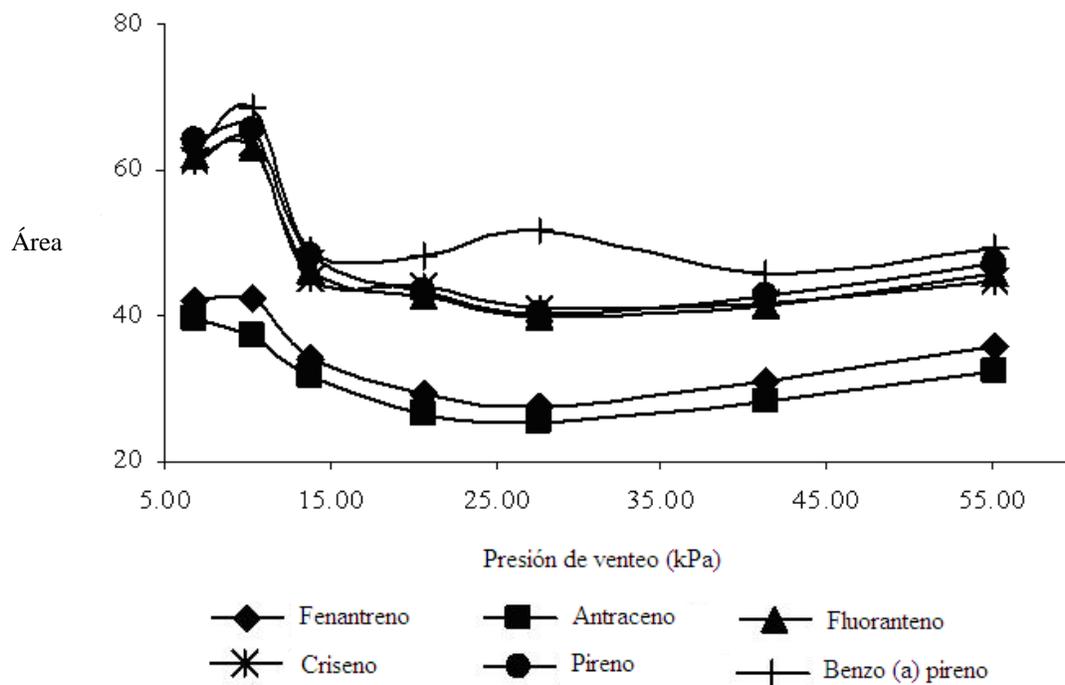


Figura 10. Optimización del flujo de venteo para PTV - LVI.

4.2.3 Precisión de la inyección de grandes volúmenes de muestra (LVI)

Se determinó la precisión de la inyección de grandes volúmenes, ya que debido a la secuencia neumática compleja del modo de venteo de disolvente, la variación entre inyecciones puede ser elevada si no se trabaja bajo condiciones óptimas y más aún cuando los analitos se encuentran en concentraciones a niveles de trazas. Como se ha discutido por varios autores, el proceso de eliminación de disolvente se ve influenciado por una serie de variables experimentales, como son: la presión, el flujo y el tiempo de venteo, así como la temperatura del inyector [58, 59, 67 - 69]. En suma, estas variables junto con la presión de vapor de los analitos y el punto de ebullición del disolvente son determinantes para lograr resultados satisfactorios y repetibles. Si bien, es deseable eliminar la mayor cantidad de disolvente del inserto del inyector, también es cierto que una pequeña cantidad de disolvente residual en el inserto puede ayudar a disminuir pérdidas de los analitos más volátiles y lograr así inyecciones más repetibles, ya que tal residuo actúa momentáneamente a manera de “fase estacionaria” en el inyector, reteniendo los compuestos y reduciendo la pérdida de

analitos. Otra opción para evitar ésta pérdida, es el uso de insertos empacados con materiales adsorbentes; sin embargo, esta alternativa puede llegar a impactar en la recuperación de algunos compuestos de mayor peso molecular. Por otra parte, el inyector PTV también cuenta con un modo de trabajo criogénico, el cual emplea nitrógeno líquido o dióxido de carbono como gas enfriador y es recomendado para el análisis de compuestos de alta volatilidad a temperatura ambiente [58]. Para el presente estudio, fue suficiente la optimización de las condiciones antes mencionadas para el PTV sin necesidad de utilizar el modo criogénico, ya que los compuestos analizados no son de elevada volatilidad. Una vez obtenidas las mejores condiciones de trabajo del inyector, se estimó la precisión de las inyecciones de grandes volúmenes (LVI, por sus siglas en inglés), a través del coeficiente de variación porcentual (CV %) de acuerdo con la repetibilidad de siete inyecciones de gran volumen. En el Cuadro 5 se muestran los CV % para las pruebas de repetibilidad de las inyecciones LVI (50 μL), utilizando una disolución estándar de HAP de 50 $\mu\text{g L}^{-1}$, así mismo, se muestran los límites de detección (LD) y límites de cuantificación (LC) instrumentales, calculados como 3 y 10 veces la desviación estándar de los septuplicados respectivamente. De esta manera, se observa que el CV % se mantuvo por debajo de 19 % para todos los analitos, lo cual es aceptable, tomando en cuenta los bajos niveles de concentración de los compuestos y la compleja neumática del inyector PTV. Por lo que la inyección LVI, es una excelente alternativa para incrementar la sensibilidad, a través de una preconcentración en línea, lo cual a su vez disminuye las variaciones experimentales en la cuantificación de los analitos.

Cuadro 5. Precisión de la metodología desarrollada por PTV-LVI, utilizando una disolución estándar de HAP de $50 \mu\text{g L}^{-1}$ * (n = 7).

Compuesto	CV** (%)	DE*** ($\mu\text{g L}^{-1}$)	LD# ($\mu\text{g L}^{-1}$)	LC† ($\mu\text{g L}^{-1}$)
Fenantreno	8.7	4.35	13	44
Antraceno	15.8	7.9	24	79
Fluoranteno	14.7	7.35	22	74
Pireno	13.3	6.65	20	66
Criseno	16.8	8.4	25	84
Benzo [a] pireno	18.3	9.15	27	92

* Para 7 inyecciones de $50 \mu\text{L}$.

** Coeficiente de variación porcentual, n = 7.

*** Desviación estándar, n = 7.

Límite de detección, calculado a partir de tres veces la desviación estándar.

† Límite de cuantificación, calculado a partir de diez veces la desviación estándar.

4.2.4 Eficiencia del sistema cromatográfico con inyector PTV

Adicionalmente, se evaluó la eficiencia del sistema cromatográfico con inyector PTV, tomando en cuenta que una vez terminada la etapa de eliminación del disolvente, el PTV funciona como un inyector splitless convencional, dirigiendo a los analitos hacia la columna cromatográfica para su separación, mediante el aumento súbito de la temperatura del inyector (con velocidades de calentamiento de hasta $600\text{-}700 \text{ }^\circ\text{C min}^{-1}$), lo cual produce un interesante fenómeno de enfoque de los analitos a la entrada de la columna capilar con lo cual se incrementa la eficiencia del proceso cromatográfico, ya que la muestra ingresa como una banda aún más fina a la columna analítica. Lo anterior se corroboró mediante el cálculo y comparación de parámetros cromatográficos como: el número de platos teóricos (N), la altura equivalente a un plato teórico (H) y el ancho de pico a la base (Wb) para cada uno de los analitos en tres inyecciones splitless de $1 \mu\text{L}$ y tres inyecciones LVI

de 50 μ L, utilizando una disolución estandar de HAP de 500 μ g L⁻¹ en tolueno, inyectadas en la misma columna cromatográfica (ver desarrollo experimental). La inyección LVI mostró un valor mayor de N y en consecuencia un menor valor para H, en comparación con la inyección splitless, así como también menor Wb para todos los HAP. Lo cual es indicativo del incremento en la eficiencia del sistema, mejorando con ello la separación de los compuestos en matrices complejas como son los extractos orgánicos de un suelo. Adicional a la mejora en el proceso de separación, también hay un aumento en la sensibilidad (respuesta de los analitos), debido a la inyección de mayor volumen de muestra (LVI), como se muestra en el Cuadro 6, donde se presenta la comparación entre los parámetros Cromatográficos mencionados, la respuesta de los compuestos y el coeficiente de variación porcentual (CV %, n = 3), para ambos modos de inyección. Se observa que la precisión (estimada como CV %) de la inyección splitless es mayor que para la inyección LVI, lo cual, es consecuencia de la neumática compleja del inyector PTV y de las múltiples inyecciones requeridas para introducir los 50 μ L de muestra, sin embargo, para todos los casos el CV % fue menor al 10 %, lo cual se considera adecuado, tomando en cuenta la mejoría en los LD y LC del método por LVI [62].

Cuadro 6. Comparación de H (eficiencia) entre una inyección LVI y una inyección Splitless.

Compuesto	Inyección Splitless (1 μ L)				Inyección LVI (50 μ L)			
	Área	% CV	H(μ m)	W _b	Área	% CV	H(μ m)	W _b
Fenantreno	11.7 \pm 0.3	2.3	52	0.038	196 \pm 16.5	8.4	12	0.017
Antraceno	11.2 \pm 0.3	2.2	44	0.035	214.2 \pm 18.8	8.8	12	0.018
Fluoranteno	10.7 \pm 0.4	3.4	33	0.034	213.3 \pm 16.2	7.6	9.4	0.017
Pireno	11.0 \pm 0.3	2.9	36	0.036	252.7 \pm 22	8.7	9.1	0.017
Criseno	9.6 \pm 0.3	3.4	26	0.032	221.7 \pm 18.6	8.4	6.9	0.017
Benzo [a] pireno	8.2 \pm 0.3	3.2	15	0.029	199.7 \pm 16.3	8.1	8.9	0.021

En relación a lo expuesto en el párrafo anterior, en la Figura 11, se muestra una comparación entre los cromatogramas de una inyección splitless (a) y una inyección LVI (b) para un extracto de suelo fortificado con HAP a una concentración de 500 μ g L⁻¹, en ella se observa claramente el incremento en la eficiencia y en la sensibilidad del método desarrollado, ya que a pesar de que también aumentan los picos interferentes provenientes de la matriz, el menor ancho de pico de los analitos permite una mejor separación, lo cual para aspectos cuantitativos es importante, ya que de esta manera la cuantificación de los compuestos de interés se lleva a cabo con una menor incertidumbre.

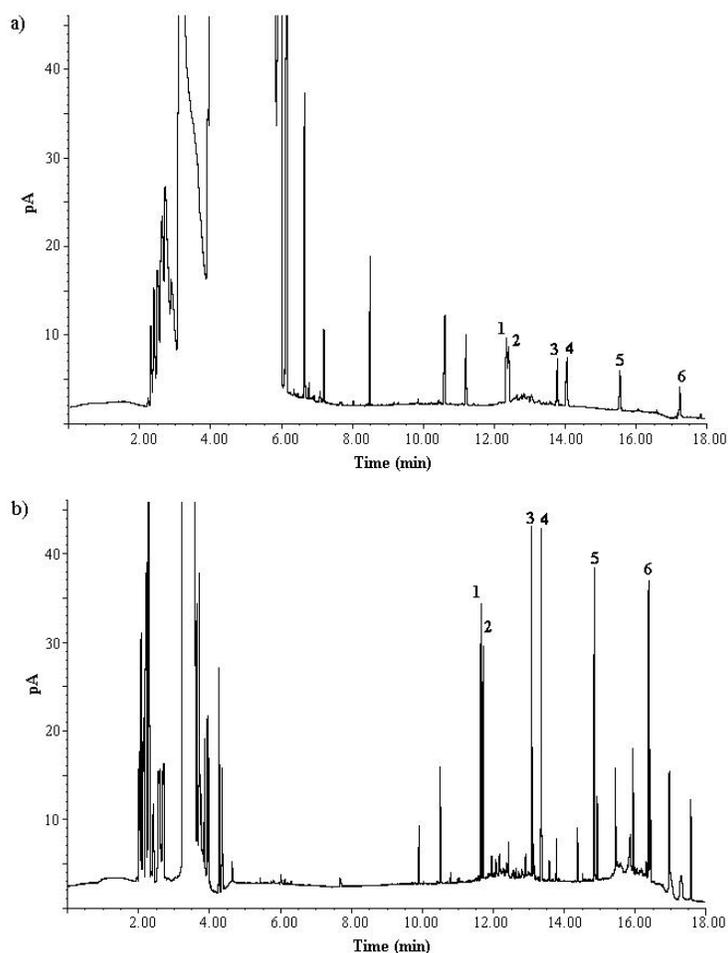


Figura 11. Cromatogramas del análisis de HAP en suelo fortificado: a) inyección splitless, b) inyección LVI. 1. Fenanteno, 2. Antraceno, 3. Fluoranteno, 4. Pireno, 5. Criseno y 6. Benzo [a] pireno.

4.2.5 Validación de la metodología por PTV-LVI-GC.

Una vez optimizada la metodología analítica desarrollada para la determinación de HAP en suelos por PTV-LVI-GC, se realizó la validación de la misma. Se analizaron septuplicados de la muestra de suelo S1 fortificado con seis HAP a razón de 50 ng g^{-1} y se determinaron los límites de detección (LD) y de cuantificación (LC), como tres y diez veces respectivamente la desviación estándar de las replicas. Las recuperaciones se calcularon tomando como 100 % las áreas absolutas de la disolución estándar usada para la fortificación de los HAP, sin ser sometida al procedimiento

de preparación de muestra. Las recuperaciones fueron entre 76 y 96 %, siendo la mas baja para pireno y la mayor para antraceno. Los LD obtenidos fueron entre 9 y 12 ng g⁻¹, y los LC entre 30 y 40 ng g⁻¹ para todos los analítos, demostrando que el método desarrollado, cumple con los requerimientos de sensibilidad y repetibilidad para el análisis de HAP en suelos, como se muestra en el Cuadro 7. Si bien la inyección de volúmenes grandes de muestra puede incrementar las interferencias en los análisis en extractos de matrices complejas, un adecuado procedimiento de preparación y limpieza de las muestras, así como un correcto programa de temperatura en el inyector PTV, puede disminuir considerablemente éste efecto, permitiendo obtener en consecuencia, mejores LD en comparación con un inyector convencional split/splitless.

Cuadro 7. Cuantificación de HAP en el suelo tipo S1 (n=7), con el método por PTV-LVI-GC.

Compuesto	Concentración (ng g ⁻¹ suelo)	Recuperación (%)	LD* (ng g ⁻¹ suelo)	LC# (ng g ⁻¹ suelo)
Fenantreno	46 ± 3	92	9	30
Antraceno	48 ± 4	96	12	40
Fluoranteno	44 ± 3	88	9	30
Pireno	38 ± 4	76	12	40
Criseno	43 ± 3	86	9	30
Benzo [a] pireno	41 ± 4	82	12	40

* Límite de detección, estimado como 3 veces la desviación estándar.

Límite de cuantificación, estimado como 10 veces la desviación estándar.

Adicionalmente, para evaluar el desempeño del método, se determinaron las recuperaciones a dos niveles de concentración diferentes, utilizando dos muestras con fiterente contenido de MO (S2 y S3), fortificadas con los seis HAP antes mencionados, a niveles de 100 y 1000 ng g⁻¹ respectivamente, obtenidéndo recuperaciones entre 61 y 93 % para los seis HAP, en ambas muestras de suelo, excepto para el criseno en el suelo S3, donde la recuperación fue de 36 %, lo cual puede se debido a interacciones específicas entre éste compuesto y la MO del suelo S3, lo cual ocasionó una menor extracción del compuesto, como se muestra a continuación en el Cuadro 8.

Adicionalmente, se puede observar que en general, las recuperaciones del método no se ven afectadas por el mayor contenido de MO de la muestra S3 ni por la variación de los niveles de fortificación, ya que los valores se mantienen en su mayoría por arriba del 70 %, considerándose adecuados recuperaciones obtenidas en análisis con matrices complejas.

Cuadro 8. Cuantificación de HAP en los suelos S2 y S3 (n=3), con el método por PTV-LVI-GC.

Compuesto	S2*		S3 [#]	
	Concentración (ng g ⁻¹ suelo)	Recuperación (%)	Concentración (ng g ⁻¹ suelo)	Recuperación (%)
Fenantreno	84 ± 23	84	926 ± 108	93
Antraceno	71 ± 17	71	813 ± 15	81
Fluoranteno	73 ± 19	73	750 ± 20	75
Pireno	61 ± 16	61	609 ± 5	61
Criseno	68 ± 20	68	364 ± 36	36
Benzo [a] pireno	76 ± 24	76	732 ± 76	73

* Muestra S2 fortificada con HAP a razón de 100 ng g⁻¹, tiempo de equilibrio 5 días.

[#] Muestra S3 fortificada con HAP a razón de 1000 ng g⁻¹, tiempo de equilibrio 7 días.

A partir de los resultados obtenidos para la validación, se observa la buena sensibilidad, repetibilidad y robustez del método desarrollado, convirtiéndolo en una excelente alternativa para el análisis de HAP a niveles de trazas en suelos con diferente contenido de MO.

4.3 Preparación de las muestras de suelo S2 y S4

La extracción de los HAP en los experimentos con las muestras S2 y S4 con y sin adición de carbonilla, se llevó a cabo mediante un sistema de extracción con líquidos presurizados (ELP), para después ser analizadas en el sistema acoplado CG-EM. A pesar de que la técnica de ELP no es tan exhaustiva como la extracción soxhlet, la cantidad de interferencias extraídas de la matriz es considerable, sobre todo para el suelo con mayor contenido de MO (S4), lo cual puede ocasionar saturación del sistema cromatográfico y problemas en el espectrómetro de masas. Por lo tanto, se

probó inicialmente un procedimiento de limpieza de los extractos orgánicos, mediante columnas empacadas con sílica gel desactivada al 5 % con agua.

Previo a la fortificación de las muestras, se analizaron blancos de suelo, para determinar el nivel de interferencias de matriz remanentes después de pasar los extractos por las columnas de sílice. Las Figuras 12 y 13 ilustran los cromatogramas obtenidos para los dos suelos analizados después de ser sometidos al procedimiento de limpieza por columna.

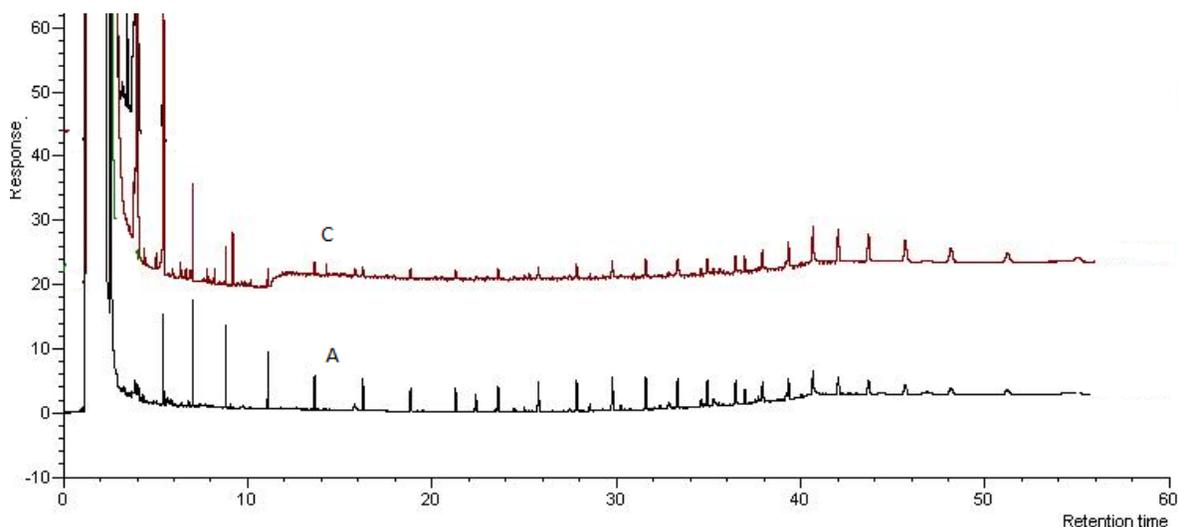


Figura 12. Cromatogramas de las muestras “blanco” del suelo S2; A) muestra el cromatograma del extracto previo a la limpieza por columna de sílice; C) muestra el cromatograma del extracto de la fracción aromática después de realizar la limpieza a través de la columna de sílice.

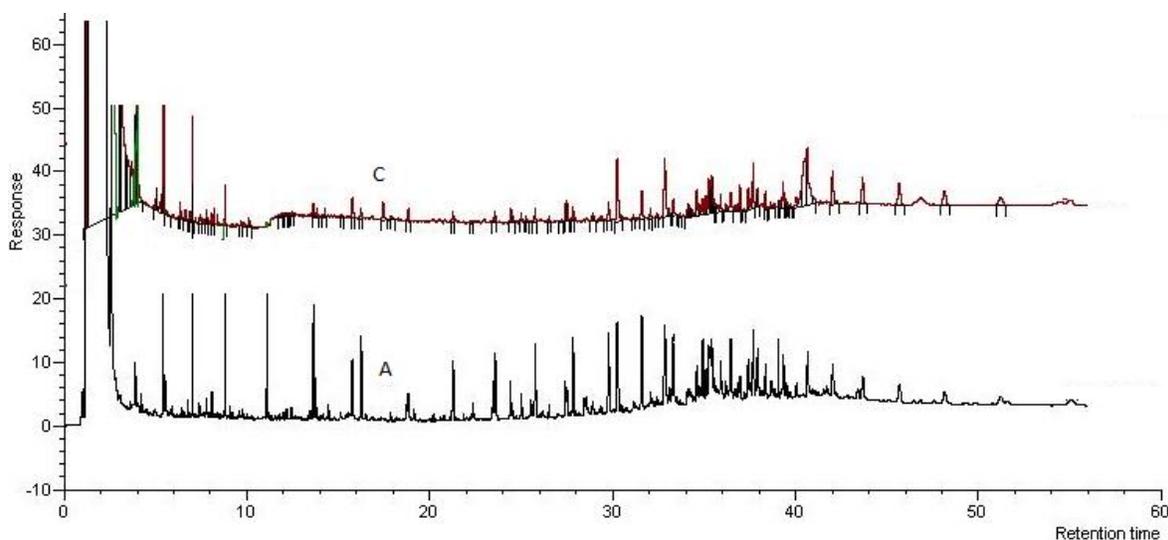


Figura 13. Cromatogramas de suelo blanco S4; A) muestra el cromatograma del extracto previo a la limpieza por columna de sílice; C) muestra el cromatograma del extracto de la fracción aromática después de realizar la limpieza a través de la columna de sílice.

Como puede apreciarse en los cromatogramas anteriores, el paso de los extractos orgánicos de los suelos a través de las columnas de sílice, disminuyó la cantidad de interferencias en el análisis de los HAP, sin embargo, el grado de limpieza no fue suficiente, sobre todo para el suelo S4, tomando en cuenta la elevada sensibilidad del sistema acoplado CG-EM y por lo tanto el riesgo de saturación y/o daño del mismo. Por lo que se utilizó la cromatografía de permeación en gel (GPC, por sus siglas en inglés), como técnica de limpieza de muestra, utilizando una columna con límite de exclusión molecular de 400 Da, lo cual garantizó la eliminación de interferencias de alto peso molecular y con ello evitar daños al sistema cromatográfico.

Debido a que en el estudio cinético y la determinación de K_d y K_{oc} en los suelos S2 y S4 se realizaron experimentos con adición de una cantidad fija de carbonilla a cada muestra, se realizó un blanco del material de carbonilla para determinar el posible contenido de HAP u otras interferencias que pudiera introducir dicho material. Se analizó 1 g de carbonilla, bajo las condiciones de extracción descritas para las muestras de suelo, lo cual permitió verificar que el contenido de HAP y otras interferencias no fue significativo, como se observa en la Figura 14, donde se muestra la

comparación entre los cromatogramas del análisis de la carbonilla y de una mezcla de estándares de los once compuestos utilizados para la fortificación de las muestras S2 y S4.

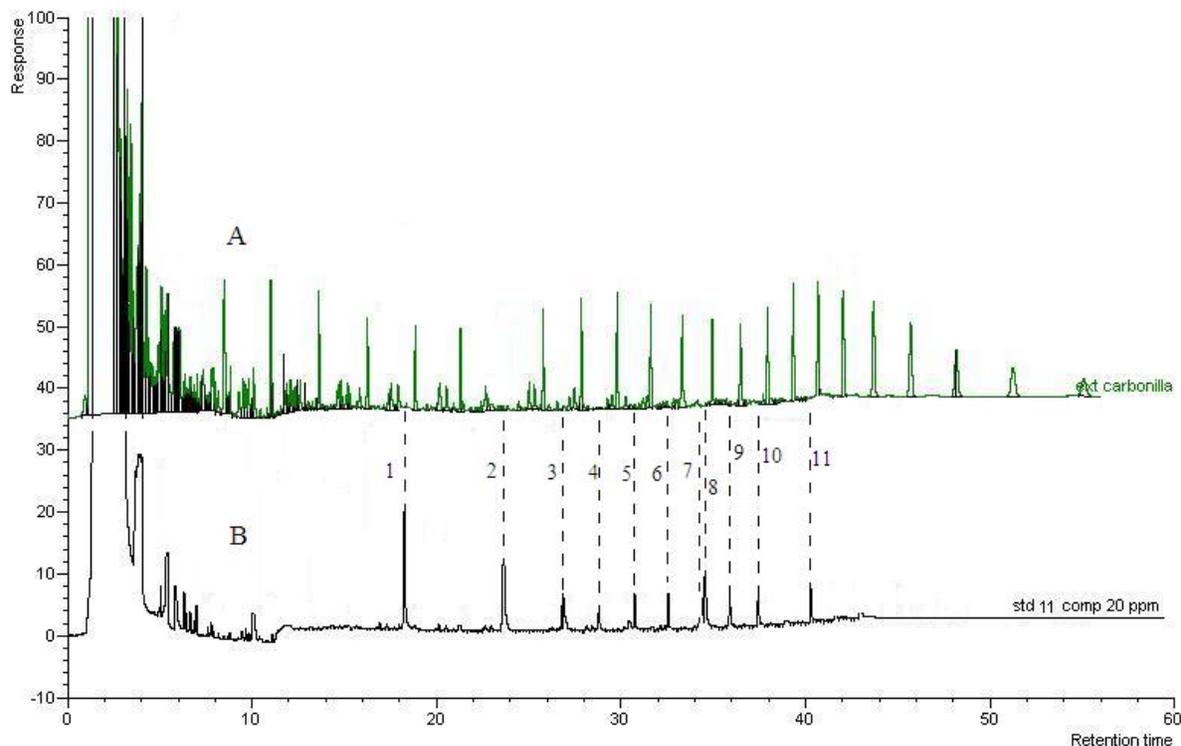


Figura 14. Análisis de carbonilla. A) cromatograma del extracto de la carbonilla. B) cromatograma de una mezcla de los compuestos de fortificación (PAC); 1) fluoreno, 2) 1-metil-fluoreno, 3) dibenzotiofeno, 4) fenantreno, 5) 9-metil-carbazol, 6) carbazol, 7) 2-metil fenantreno, 8) 3,6-dimetil-fenantreno, 9) pireno, 10) dibenzo [a,h] antraceno, 11) indeno [1,2,3-c,d] pireno.

Dado que la carbonilla es un material carbonáceo muy afín hacia los compuestos aromáticos policíclicos, debido a su elevada porosidad y bajo tamaño de partícula, los niveles de adición de carbonilla a las muestras de suelo fueron bajos, ya que se buscaba evaluar la influencia de éste material en la sorción de los PAC en el suelo, y no que dicho material dominara el proceso [44, 70, 71]. La adición de carbonilla a los suelos S2 y S4 fue de 0.05 y 0.2 % (p/p) respectivamente. Pevio a la fortificación de los suelos con los PAC, se analizaron blancos de los las muestras de suelo S2 y S4 adicionados con carbonilla, para evaluar las interferencias en la identificación y cuantificación de los de los analitos, observando que la cantidad de carbonilla adicionada a cada suelo no ocasionó un incremento en las interferencias de la matriz, como se

observa en la Figura 15, donde se muestran los cromatogramas de los blancos de suelos adicionados con carbonilla para las muestras S2 y S4 y limpiados por el procedimiento de GPC, observándose además, que la línea base de ambos cromatogramas es estable y no presenta interferencias significativas para el análisis de los PAC, demostrando así la eficacia del procedimiento de limpieza de las muestras.

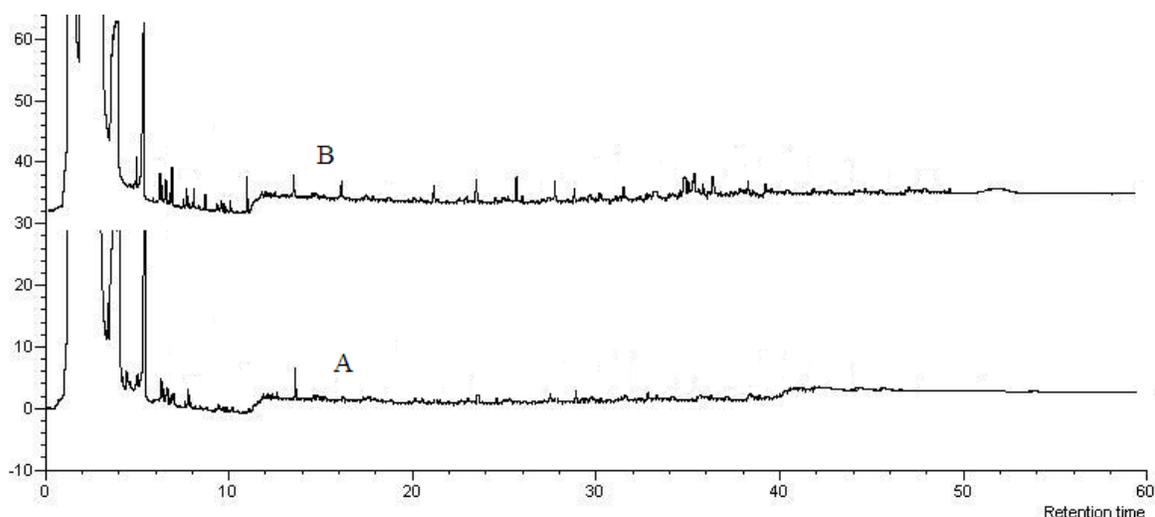


Figura 15. Cromatogramas de los extractos de suelos blancos adicionados con carbonilla y limpiados, por GPC. A) y B) muestran los cromatogramas de los blancos de suelo S2 y S4 respectivamente, ambos adicionados con carbonilla.

Para la limpieza de los extractos por GPC, se inyectó un volumen de 500 μL de cada extracto de suelo por medio de un automuestreador y se realizó la detección de la fracción aromática que es donde se encontraban los compuestos de interés por medio de dos detectores, UV-visible a dos longitudes de onda, $\lambda_{1,2} = 220, 254 \text{ nm}$ y fluorescencia, $\lambda_{\text{excitación, emisión}} = 250, 400 \text{ nm}$, el tiempo de duración de la corrida fue de 15 minutos y se recolectaron de manera automática las fracciones de interés, separando así, los compuestos interferentes de mayor peso molecular provenientes de la matriz.

Para seleccionar el intervalo de recolección de la fracción aromática, se inyectó una mezcla de estándares de fortificación en el HPLC con la columna de GPC (descritos en la parte experimental), a una concentración de $10 \mu\text{g mL}^{-1}$ en tolueno, determinándose que la fracción aromática de interés eluía entre los 4 y 8 minutos, por lo que en cada muestra se procedió a recolectar dicho intervalo, para posteriormente evaporarlo a sequedad, agregar el estándar interno y reconstituirlo en 1 mL de tolueno suprasolv para ser inyectado en el sistema acoplado CG-EM, para la identificación y cuantificación de los PAC. En la Figura 16 se muestran los cromatogramas obtenidos en ambos detectores (UV-visible y fluorescencia) para la mezcla de estándares de PAC, a partir de los cuales se determinó la programación del intervalo de recolección en el colector de fracciones.

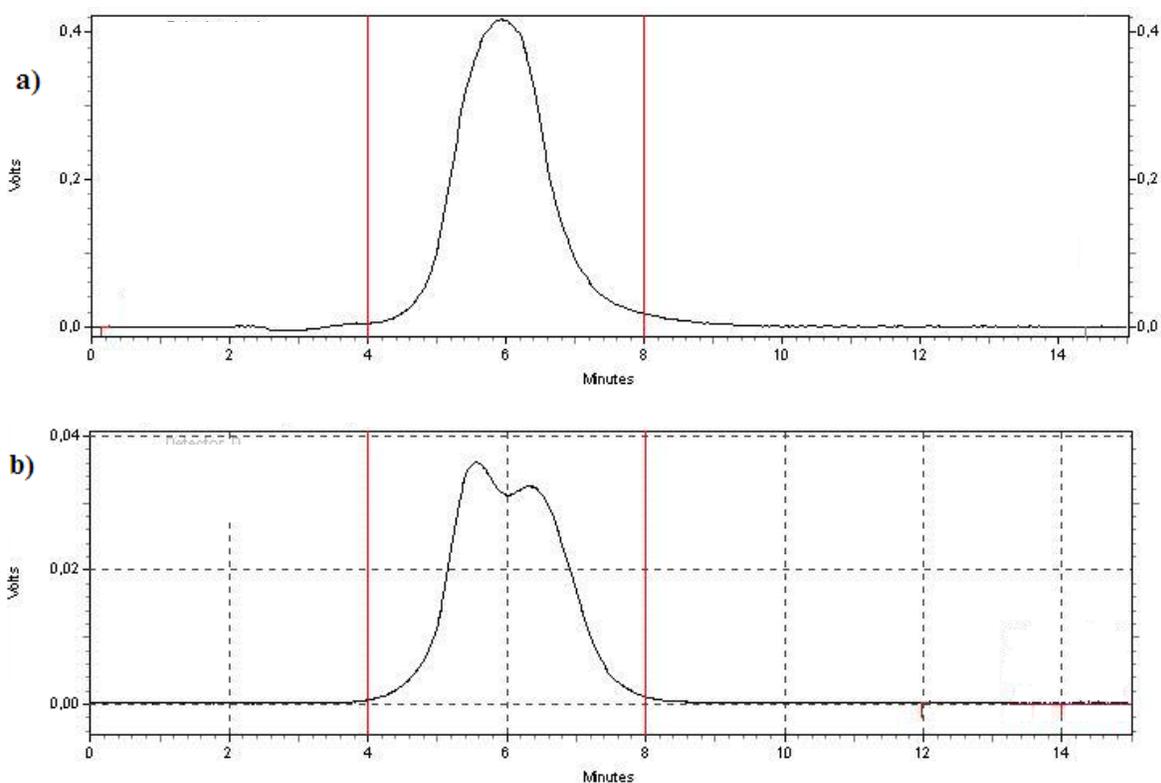


Figura 16. Cromatogramas por GPC, a) detector UV-visible, b) detector de fluorescencia, para una inyección de la mezcla de estándares de fortificación a una concentración de $10 \mu\text{g mL}^{-1}$.

Posteriormente, una vez seleccionado el intervalo del fraccionamiento del extracto de cada suelo de acuerdo con el procedimiento de GPC, se limpiaron los extractos de suelos blancos para S2 y S4 con y sin adición de carbonilla por éste método, logrando un nivel de limpieza de muestras muy adecuado, ya que gran parte de las interferencias de alto peso molecular provenientes de la matriz fueron eliminadas. En las Figuras 17 y 18, se muestran respectivamente, los cromatogramas de la limpieza por GPC para los blancos de los suelos S2 y S4 adicionados con carbonilla, donde se puede corroborar el mayor grado de limpieza por la técnica de GPC, ya que como puede observarse, una parte importante de las interferencias queda fuera del intervalo de recolección de la fracción aromática de interés (del minuto 4 al 8).

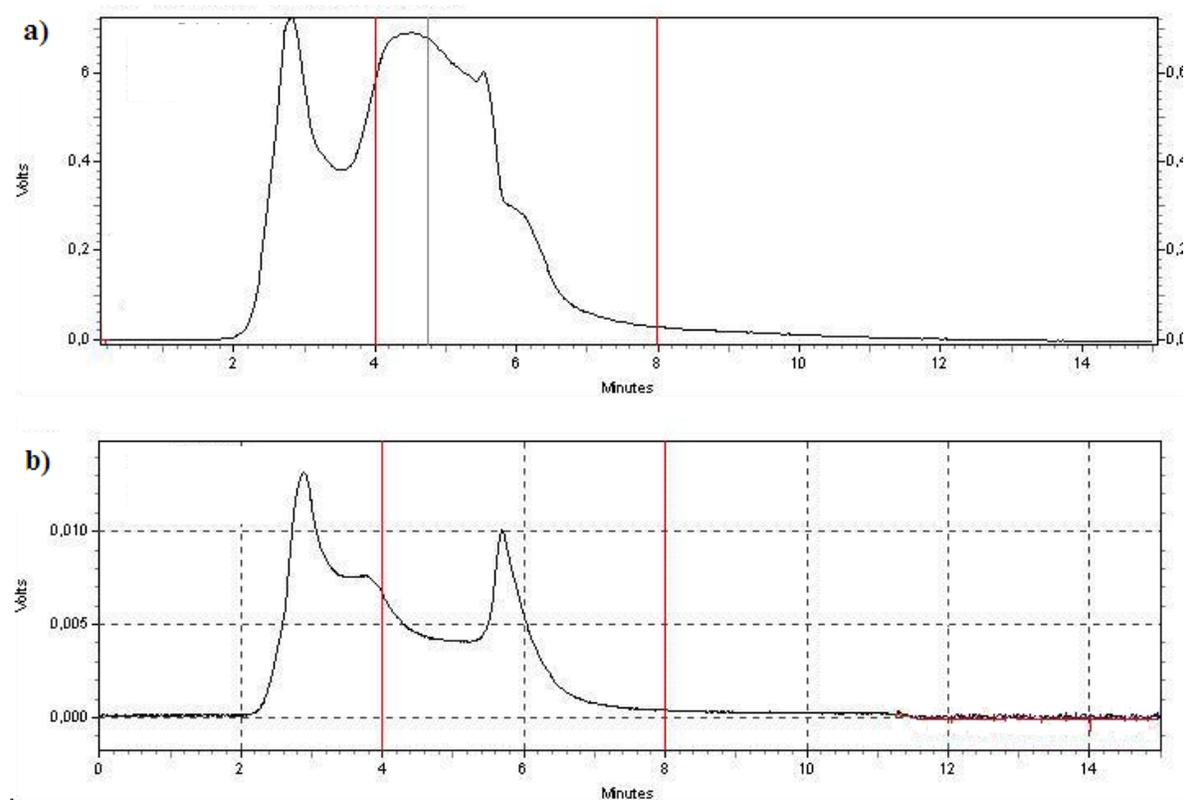


Figura 17. Cromatogramas por GPC, a) detector UV-visible, b) detector de fluorescencia, para el extracto de suelo blanco S2 adicionado con carbonilla a razón de 0.05 % (p/p).

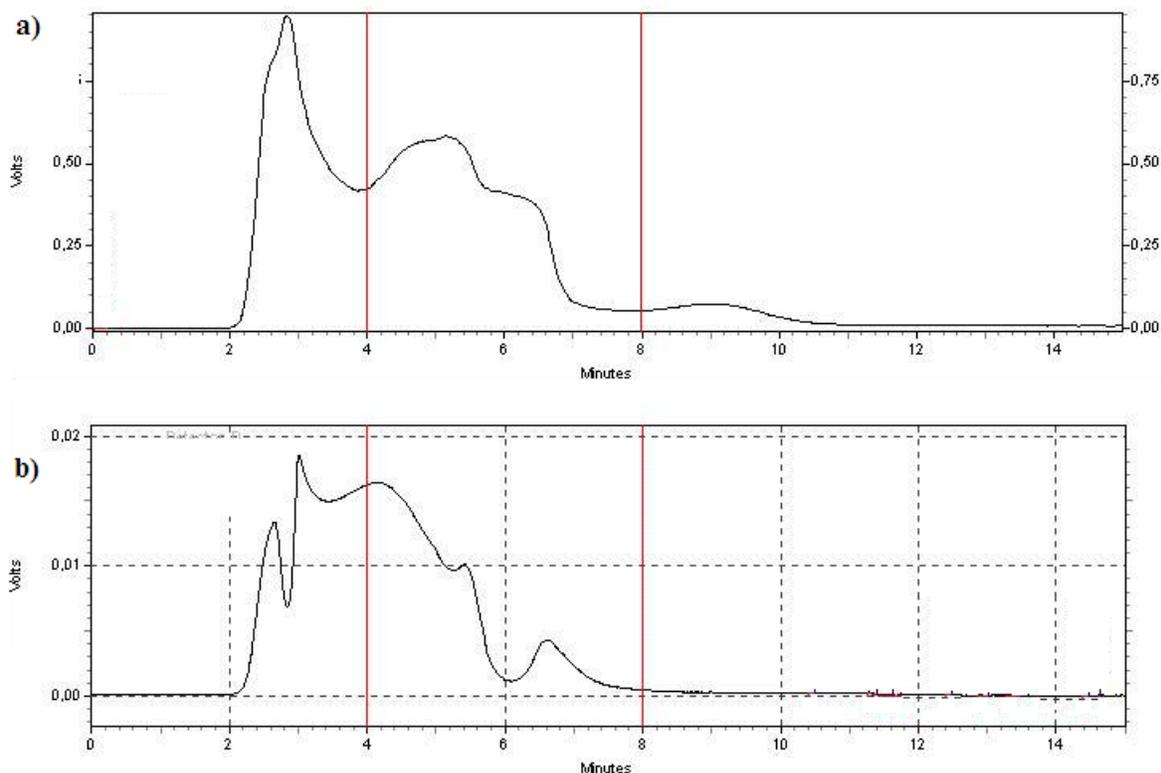


Figura 18. Cromatogramas por GPC, a) detector UV-visible, b) detector de fluorescencia, para el extracto de suelo blanco S4 adicionado con carbonilla a razón de 0.2 % (p/p).

A continuación, se analizaron muestras de los suelos S2 y S4 con y sin adición de carbonilla, las cuales fueron fortificadas con los compuestos aromáticos de interés, para estimar sus recuperaciones. Las muestras de suelo S2 y S4 se fortificaron respectivamente a razón de 10 y 15 $\mu\text{g g}^{-1}$ de cada uno de los PAC, descritos en la sección 3.5 de la parte experimental. En las Figuras 19 y 20 se muestran los cromatogramas obtenidos por GPC de las fracciones aromáticas para los suelo S2 y S4 adicionados con carbonilla y fortificados con los PAC, en ambas figuras, se observa que la respuesta de la fracción aromática (4-8 min) aumenta de forma considerable debido a la presencia de los compuestos de fortificación, los cuales generan buena respuesta en los detectores UV-Visible y fluorescencia. Demostrándose nuevamente que la técnica de limpieza de muestras por GPC es muy recomendable cuando se busca identificar y cuantificar compuestos a niveles de trazas en matrices complejas, como lo recomiendan diversos autores en trabajos publicados para este tipo de análisis en matrices complejas [64 - 66].

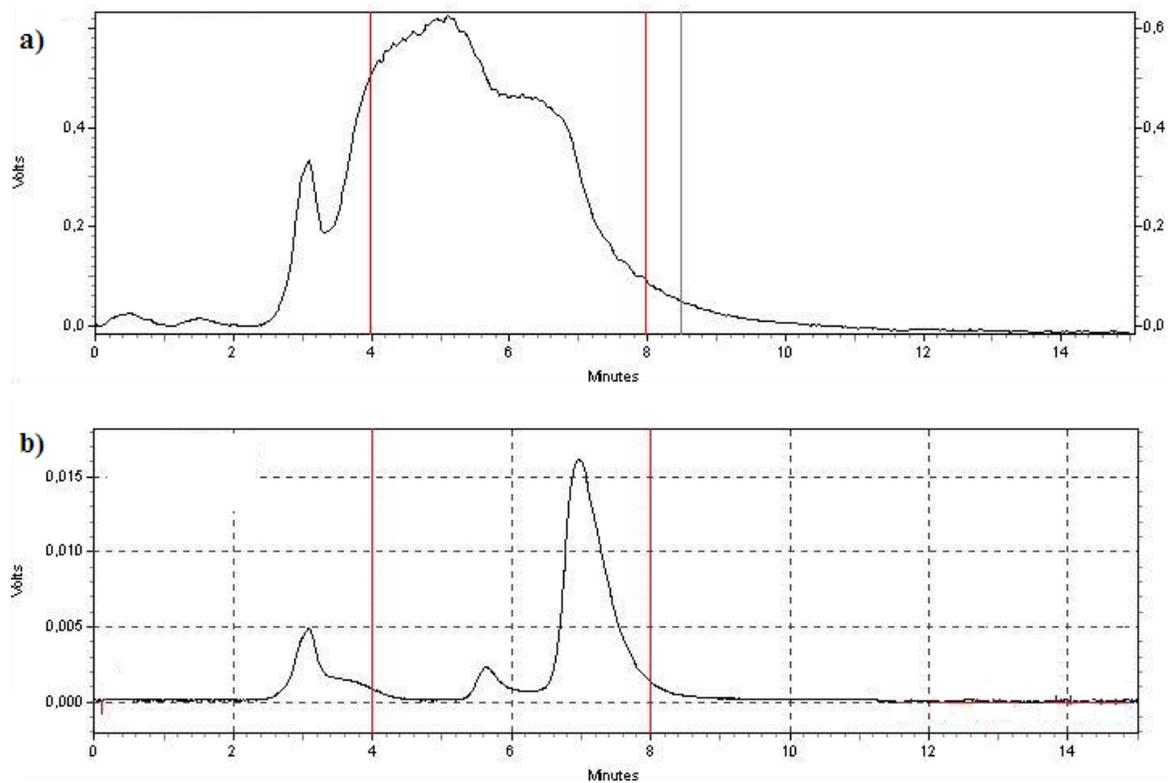


Figura 19. Cromatogramas por GPC, a) detector UV-visible, b) detector de fluorescencia, para el extracto de suelo S2 adicionado con carbonilla y fortificado con los PAC.

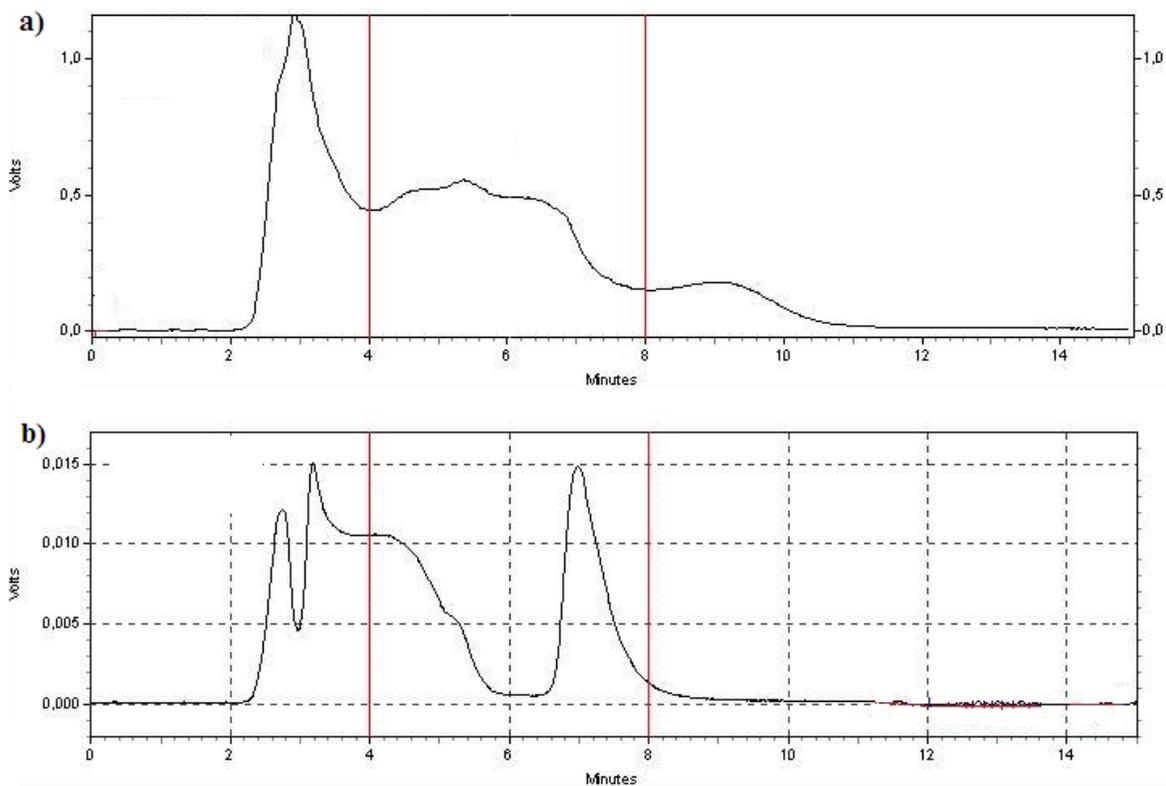


Figura 20. Cromatogramas por GPC, a) detector UV-visible, b) detector de fluorescencia, para el extracto de suelo S4 adicionado con carbonilla y fortificado con los PAC.

Una vez optimizado el proceso de preparación y limpieza de las muestras, se determinaron los porcentajes de recuperación de todos los analitos tomando en cuenta el escenario donde la sorción de los PAC pudiera ser mas intensa e interferir con las recuperaciones de los compuestos, tal caso se evaluó con el suelo S4, el cual es el que presenta mayor contenido de MO. Se analizó un extracto de suelo S4 fortificado con los PAC, a razón de $15 \mu\text{g g}^{-1}$, por triplicado. De manera análoga al método por GC-PTV-LVI, las recuperaciones de los analitos se obtuvieron por comparación entre las áreas de los extractos analizados y las áreas de la inyección de la mezcla de estándares de fortificación sin ser sometida al procedimiento de preparación de muestra, las cuales se tomaron como el 100 %. Los porcentajes de recuperación y los CV % obtenidos, se muestran en el Cuadro 9. Las recuperaciones para todos los compuestos se mantuvieron entre 66 y 76 % (para carbazol e indeno [1,2,3-cd] pireno, respectivamente), a pesar de haber sido estimadas utilizando el

suelo con mayor contenido de MO, donde en consecuencia, las interacciones analito – matriz son más intensas, por lo que dichos valores se consideraron adecuados, ya que se esperaba que este suelo ofreciera mayor retención de los HAP y por lo tanto, los valores de recuperación fueran menores. Adicionalmente, se observa que los CV % fueron menores a 15 %, para todos los compuestos, demostrando junto con las recuperaciones, la eficacia del procedimiento implementado y por lo tanto un nivel de confianza significativo de los resultados de identificación y cuantificación de los PAC en las diferentes muestras de suelo.

Cuadro 9. Porcentaje de recuperación de los analitos de fortificación en el suelo S4, n= 3.

Compuesto	% Recuperación	% CV
Fluoreno	72.7	14.4
1-Metilfluoreno	70.6	10.1
Dibenzotiofeno	71.4	12.8
Fenantreno	68.8	11.9
9-Metilcarbazol	67.1	15.5
Carbazol	66.4	15.1
2-Metilfenantreno	71.1	13.5
3,6-Dimetilfenantreno	72.6	10.7
Pireno	74.5	8.85
Dibenzo (a,h) antraceno	74.8	12.4
Indeno (1,2,3-cd) pireno	76.9	8.7

4.4 Validación de la metodología por CG-EM

Posterior a la optimización de la metodología para el análisis de PAC por CG-EM, se realizó su validación mediante la cuantificación de los compuestos de interés en el suelo S4 adicionado con carbonilla, el cual debido al elevado contenido de MO, representa la mayor sorción de los compuestos de interés así como las mayores fuentes de variación para el análisis dada la complejidad de la matriz. La cuantificación de los PAC se realizó mediante el método de

calibración relativa. El estándar interno (3,6-dibromo carbazol) fue agregando a los extractos de suelo justo antes de su inyección en el sistema CG-EM. Las recuperaciones relativas fueron estimadas utilizando los siguientes estándares deuterados: naftaleno-d₈ y criseno-d₁₂, los cuales fueron adicionados a las muestras de suelo, desde el inicio de la preparación de muestras, con objeto de evaluar las posibles pérdidas de compuestos en las diversas operaciones analíticas realizadas (extracción, evaporación, recolección de fracciones, etc). Así mismo, se prepararon curvas de calibración relativas para la cuantificación de los PAC, a partir de las cuales se determinó la linealidad y los LD y LC del método implementado. En la Cuadro 10, se muestran los resultados de la validación para la metodología implementada por CG-EM.

De los resultados de la validación, se observa que la linealidad fue adecuada para todos los compuestos estudiados a las concentraciones de trabajo, los coeficientes de correlación R² fueron superiores a 0.9900, excepto para el indeno [1,2,3-cd] pireno, para el que fue de 0.9863, lo cual demuestra la buena linealidad del método en el intervalo evaluado (0.5 a 10 µg g⁻¹). Los límites de detección se estimaron como 3 veces la desviación estándar de la inyección por triplicado de la menor concentración de la curva de calibración, obteniéndose valores entre 0.005 - 0.071 µg g⁻¹, los límites de cuantificación se estimaron como 10 veces la desviación estándar bajo las mismas condiciones, obteniéndose valores entre 0.018 - 0.238 µg g⁻¹ para todos los compuestos. Los CV % de las determinaciones se mantuvieron por debajo de 16 % para todos los casos. En general, los límites de detección y cuantificación fueron adecuados para las determinaciones realizadas, así como las recuperaciones y los coeficientes de variación, lo cual demuestra confiabilidad de los resultados experimentales.

Cuadro 10. Validación del método por CG-EM, realizada con el suelo S4 adicionado con carbonilla.

Compuesto	R ² (0.5-10 µg g ⁻¹)	LD ^a (µg g ⁻¹)	LC ^b (µg g ⁻¹)	% Recuperación	% CV
Fluoreno	0.9985	0.005	0.018	88.1	14.4
1-Metil fluoreno	0.9983	0.032	0.107	87.4	10.1
Dibenzotiofeno	0.9990	0.017	0.057	80.9	12.8
Fenantreno	0.9977	0.037	0.124	78.2	11.9
9-Metil Carbazol	0.9976	0.071	0.238	76.6	15.5
Carbazol	0.9964	0.053	0.178	74.9	15.1
2-Metil fenantreno	0.9982	0.035	0.116	81.4	13.5
3,6-Dimetil fenantreno	0.9988	0.007	0.022	74.7	10.7
Pireno	0.9982	0.017	0.058	76.9	8.85
Dibenzo (a,h) antraceno	0.9901	0.006	0.020	79.4	15.8
Indeno (1,2,3-cd) Pireno	0.9863	0.030	0.098	75.7	12.4

^a Estimado como 3 veces la desviación estándar para una concentración de 0.5 µg g⁻¹.

^b Estimado como 10 veces la desviación estándar para una concentración de 0.5 µg g⁻¹.

4.5 Curvas cinéticas de sorción para los suelos S1 y S3.

Posterior a la optimización del método desarrollado para la extracción, limpieza y análisis de las muestras de suelo, se realizó el estudio cinético de sorción de HAP en las muestras de suelo S1 y S3. Una vez transcurridos los diferentes tiempos de contacto para cada punto cinético, se realizó la cuantificación de los HAP en las muestras de suelo y se obtuvieron para cada compuesto, los perfiles cinéticos de sorción, a partir de la elaboración de los gráficos de concentración de HAP en el suelo (µg g⁻¹) vs tiempo (h). En la Figura 21, se muestran los perfiles cinéticos de sorción para seis los HAP fortificados en el suelo S1, observándose cómo la concentración de HAP en el suelo

aumenta hasta alcanzar un aparente estado de equilibrio en un tiempo de contacto de 9 h aproximadamente, lo cual puede explicarse debido al bajo contenido de MO del suelo (1.9 %) y por lo tanto, la rápida saturación de los sitios activos para la sorción. Como se puede observar, la magnitud de la sorción aumenta, conforme al peso molecular, número de anillos de los HAP y carácter hidrofóbico, ya que presentan mayor afinidad por la MO nativa del suelo, de tal forma que la sorción es mayor para el benzo [a] pireno (5 anillos), que para el fenantreno (3 anillos), lo cual es congruente con lo reportado por diversos autores en estudios de sorción de compuestos orgánicos hidrofóbicos sobre la fracción orgánica del suelo [9 – 16, 20,21, 41,44].

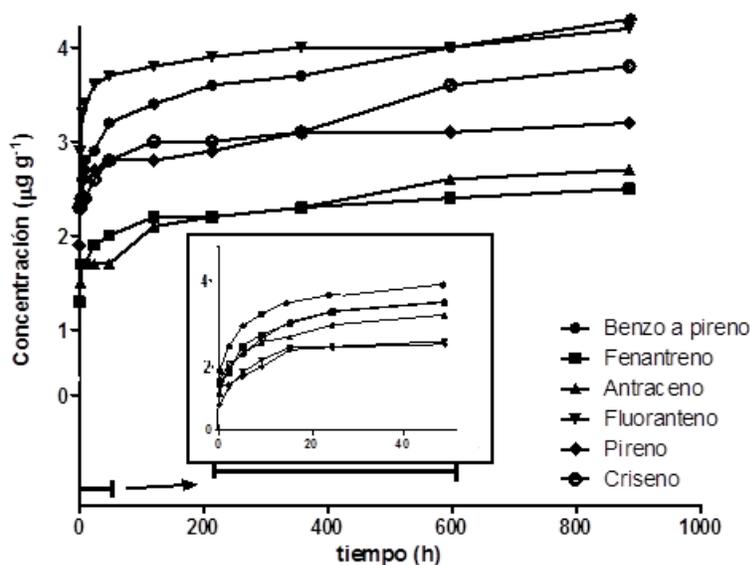


Figura 21. Perfiles cinéticos de sorción de HAP en el suelo S1.

De forma análoga, en la Figura 22, se muestra el perfil cinético de desaparición de los HAP de la solución del suelo para la muestra S1. Las curvas obtenidas corroboran que la concentración de los HAP disminuyó en la solución del suelo conforme fueron sorbidos por la fase sólida, hasta alcanzar el equilibrio.

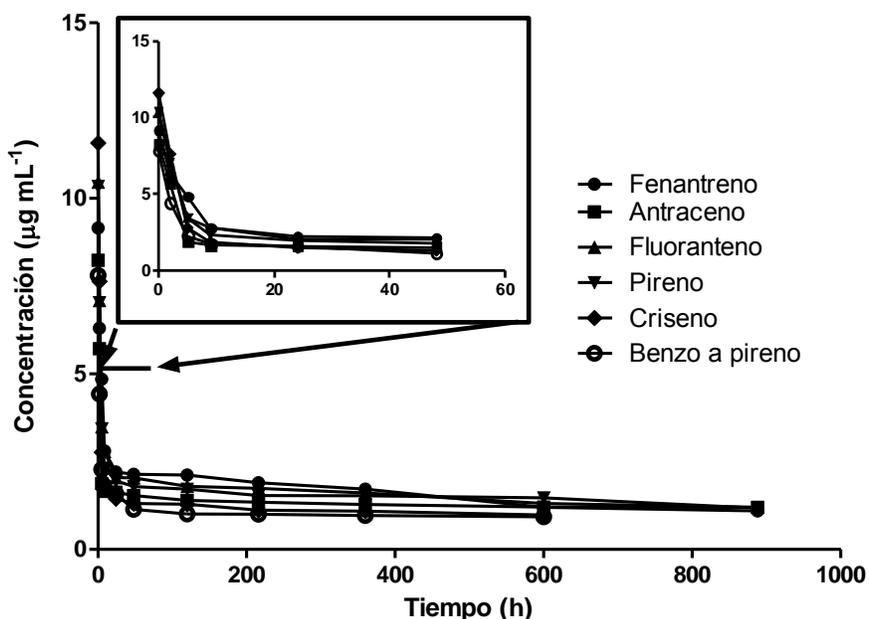


Figura 22. Perfiles cinéticos de desaparición de HAP en la solución del suelo S1.

Como se observa en la Figura 22, a partir de las 9 h de contacto, la sorción de los HAP en el suelo permaneció prácticamente constante, ya que no se presentan cambios significativos de concentración de los compuestos en la solución del suelo. Lo anterior es indicativo de que la mayoría de los sitios activos para la sorción de los compuestos orgánicos en los agregados de MO fueron ocupados, sin embargo es muy probable que existan sitios activos libres para la retención de los HAP en los nanoporos del carbono orgánico (CO) presente en la MO, los cuales podrían ser ocupados en función de la difusión de los analitos a través de ellos, lo cual conllevaría a un aumento de la sorción muy lento, como lo sugieren [44,72-74]. Por otra parte, el perfil cinético de sorción de los HAP en el suelo S1, mostró una tendencia homogénea en el aumento de la concentración de los compuestos en el suelo, correspondiente a una sorción molecular no competitiva (la cual a diferencia de la sorción iónica, no requiere un estricto intercambio de partículas por efecto de cargas eléctricas), ya que la sorción ocurrió de manera progresiva con respecto al tiempo, es decir, no se observaron grandes cambios en la pendiente de la curva cinética en el intervalo de sorción de los

HAP (entre 0 y 9 h), sino que ésta presenta forma asintótica al eje x (tiempo) una vez que alcanza el equilibrio. El hecho de que la sorción de los HAP sobre el suelo tipo luvisol siga la tendencia descrita indica que la MO nativa de este suelo no presenta una heterogeneidad elevada, como por ejemplo un elevado contenido de lípidos o de carbón negro, los cuales de manera individual o en conjunto favorecen la sorción no lineal de compuestos orgánicos, ya que aumenta la competencia por la sorción de los analitos [44, 72, 75].

En el estudio realizado con el suelo S3, el perfil cinético de sorción no fue tan homogéneo como para el suelo S1, ya que presentó un perfil característico para una sorción competitiva debido al mayor contenido de MO (25 % p/p) y por lo tanto también un mayor contenido de carbón negro dentro de la fracción de carbono orgánico, el cual como se mencionó presenta una elevada afinidad por los compuestos orgánicos hidrofóbicos, debido a sus características fisicoquímicas. Lo anterior en virtud de que los perfiles cinéticos muestran cambios de pendiente importantes, es decir, la sorción ocurrió en dos etapas, una sorción rápida seguida de una sorción lenta hasta alcanzar el equilibrio, como se muestra en la Figura 23.

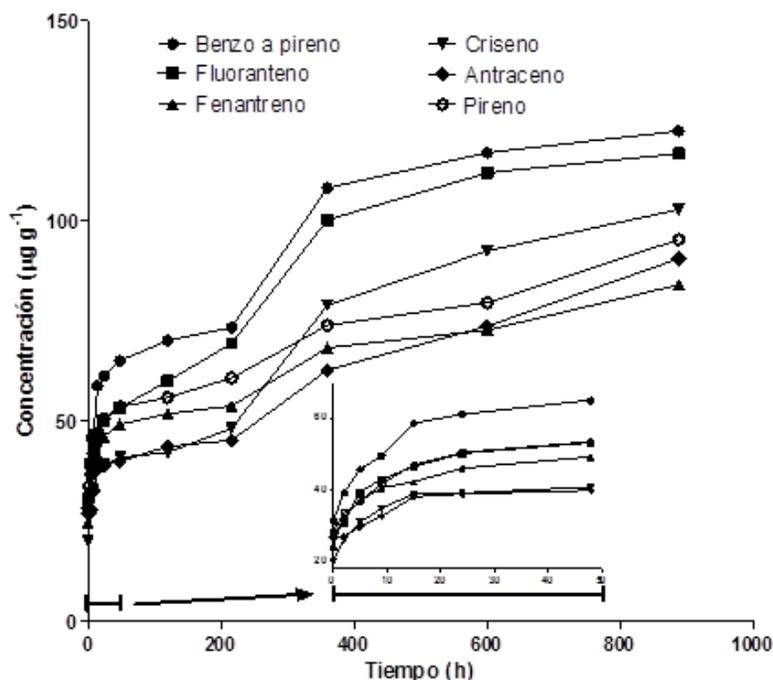


Figura 23. Perfiles cinéticos de sorción de HAP en el suelo S3.

De la misma manera que para el suelo S1, la intensidad de la sorción de los HAP aumentó conforme a su número de anillos e hidrofobicidad. Sin embargo, el perfil de la cinética de sorción se comportó de manera distinta, ya que se presentaron dos etapas de sorción en el suelo S3, lo cual es debido al elevado contenido de MO (25 % p/p) y por lo tanto un mayor contenido de carbón negro dentro de la fracción de carbono orgánico, es decir, la heterogeneidad de la MO es mayor que para S1. De tal forma que no solo existen una mayor cantidad de sitios activos para la sorción, sino que estos sitios de sorción presentan diferentes características en función de las propiedades de la MO y del carbón negro para la sorción de los HAP. De esta manera, en la primera etapa de sorción (sorción rápida), son ocupados los sitios más expuestos, es decir aquellos que se encuentran en las superficies de los agregados moleculares de MO y que presentan mayor tamaño de poro y son más disponibles para la sorción. En cambio la segunda etapa de sorción se debe a la difusión lenta de los analitos en la red intrincada de nanoporos de diferentes tamaños, asociados principalmente a partículas de carbón negro en la fracción de carbono orgánico. Aunque el elevado contenido de MO, también implica una mayor fracción lipídica, así como otras fracciones orgánicas heterogéneas del suelo, las cuales también favorecen la sorción de los compuestos hidrofóbicos de manera no lineal [75]. En general el comportamiento presentado por el suelo S3 indica necesariamente una sorción competitiva de los HAP.

4.6 Cinéticas de sorción para los suelos S1 y S3

La influencia de la MO en la cinética de sorción fue evaluada por medio de la comparación de las constantes de velocidad de sorción (k_r) de los HAP en cada suelo. Los datos cinéticos experimentales fueron tratados utilizando un modelo cinético de sorción de primer orden. Este modelo se planteó para una sorción molecular, no disociativa, ya que los HAP permanecen en estado molecular durante los experimentos, debido a sus propiedades fisicoquímicas. El modelo cinético de primer orden utilizado se describe a continuación:

Ley de velocidad: $C_{ss} \xrightleftharpoons[v_2]{v_1} C_s$

Donde:

C_{ss} : concentración de HAP en la solución del suelo ($\mu\text{g mL}^{-1}$)

C_s : concentración de HAP en el suelo ($\mu\text{g g}^{-1}$)

v_1 y v_2 : velocidades de sorción y de desorción

A partir de la cual, el cambio en la concentración de HAP en el suelo en función del tiempo puede expresarse como [76]:

$$dC_s / dt = -kr C_{s_0} \dots \dots \dots \text{ecuación 1}$$

Integrando la ecuación 1, entre $t = 0$ y $t = t$, se obtiene:

$$\ln C_s = -kr t + \ln C_{s_0} \dots \dots \dots \text{ecuación 2}$$

Donde:

C_s : Concentración de HAP en suelo ($\mu\text{g g}^{-1}$), al tiempo $t = t$.

C_{s_0} : Concentración de HAP en suelo ($\mu\text{g g}^{-1}$), al tiempo $t = 0$.

kr : constante de velocidad para el proceso cinético (h^{-1})

t : tiempo (h)

En su mayoría, la cinética de los procesos de sorción de especies moleculares sobre sólidos porosos, suele estar determinada por la difusión de las moléculas de analito en el sistema poroso (MO y carbón negro) [76]. El sorbato debe moverse desde el seno de la disolución hasta los sitios activos del sólido, donde se produce la sorción, por lo que pueden ocurrir varias etapas de transporte en serie [77,78]:

- a) Transporte externo del soluto que se desplaza desde el seno de la fase líquida hacia la interfase líquida que rodea el sólido poroso.
- b) Transferencia del soluto a través de la película líquida hacia la superficie del sólido.
- c) Transporte interno en el interior del sólido.
- d) Sorción sobre los sitios activos de la superficie.

Algunos autores afirman que para sistemas con agitación adecuada, las limitaciones de la transferencia del soluto a través de la interfase líquida son despreciables, e incluso sitúan esta etapa

dentro del transporte externo de soluto, es decir en la primera etapa de sorción y generalmente la más rápida [78, 51].

En procesos cinéticos donde la heterogeneidad del sólido poroso es elevada, como en suelos con elevado contenido de MO, se presenta una sorción competitiva en mas de una etapa, ya que la sorción sobre los sitios activos de la superficie del sólido se desarrolla a una velocidad mayor que al interior de los poros, en función de la difusión de los analítos a través de ellos, es decir, se presentan diferentes velocidades en el proceso de sorción de los compuestos, como se observa para el caso del suelo S3, el cual tiene un elevado contenido de MO. Lo habitual, es que la constante cinética disminuya conforme aumenta la concentración en fase sólida [81]. Lo anterior hace suponer que se alcanza el equilibrio rápidamente, reduciendo el proceso cinético a un problema de difusio de los solutos, alargando el tiempo en que el sistema alcance el equilibrio. En sistemas con más de una etapa de sorción, la velocidad global del proceso cinético es determinada por la etapa más lenta, que se denomina etapa de control [81]. Sin embargo, en ocasiones una de las etapas es mucho más rápida que la(s) otra(s), por lo que, en estos casos es conveniente tratar cada etapa de forma independiente.

Las constantes de velocidad de sorción y los coeficientes de coorelación (R^2) del modelo cinético de primer orden para los seis HAP en las muestras de suelo, se obtuvieron a través del análisis por regresión lineal del gráfico de $\ln C_s/C_0 = f(t)$, utilizando los puntos cinéticos comprendidos entre 0 y 120 h para el suelo S1, y los intervalos de 0 a 120 h para la primera etapa de sorción del suelo S3 y de 216 a 880 h para la segunda [76, 81]. Los resultados de la regresión lineal mostraron un ajuste adecuado para una cinética de sorción de primer orden en los intervalos de tiempo mencionados para los suelos S1 y S3 (en dos etapas), ya que entodos los casos los coeficientes de correlación fueron mayores a 0.90, como se muestra en el Cuadro 11, donde adicionalmente se reportan las constantes de velocidad obtenidas a partir del valor de la pendiente de la recta del grafico arriba mencionado. También se presentan los CV % correspondientes a la variación de los experimentos cinéticos de los suelos S1 y S3, mismos que fueron realizados por

triplicado, observando que en todos los casos fueron menores al 20 %, lo cual brinda confiabilidad a los resultados cinéticos obtenidos.

Cuadro 11. Parámetros cinéticos calculados con el modelo cinético de sorción de primer orden.

Compuesto	S1			S3 ^a				
	R ²	Kr(h ⁻¹)	%CV ^b	R ²	Kr(h ⁻¹)	R ²	Kr(h ⁻¹)	%CV ^b
Fenantreno	0.9843	7.02	10.46	0.8342	206.32	0.9129	8.34	8.85
Antraceno	0.9864	2.55	19.27	0.9271	281.56	0.9831	12.06	9.75
Fluoranteno	0.9731	4.81	8.92	0.8390	234.54	0.9337	12.10	3.52
Pireno	0.9867	3.15	5.45	0.8151	280.64	0.9278	8.86	8.56
Criseno	0.9209	3.17	12.75	0.7443	224.63	0.9007	8.88	15.23
Benzo a pireno	0.9844	11.8	13.76	0.8842	210.42	0.9315	10.90	15.56

^a Se muestran las dos etapas de la cinética de sorción de los analitos en S3.

^b CV % correspondientes a la variación de los experimentos cinéticos (n = 3).

A partir de los resultados experimentales, se observa que el contenido de MO de los suelos presenta una importante influencia en la cinética de sorción de los HAP. Las constantes de velocidad de sorción (kr), son en realidad constantes aparentes, ya que se estiman en función de la concentración del sorbato, además de estimarse en condiciones de pseudoequilibrio para cada etapa cinética del proceso de sorción, en las cuales se asume hipotéticamente que el sistema alcanzó el equilibrio, lo cual en la mayoría de los casos no es así. A partir de la comparación entre las constantes de velocidad para los seis compuestos en los suelos S1 y S3, se observó que las kr del

suelo S1, se encuentran en el mismo orden de magnitud que las k_r de la etapa de sorción lenta del suelo S3, así mismo, las constantes de velocidad para la etapa de sorción rápida en S3, se encuentran un orden de magnitud por arriba de los dos grupos antes mencionados. Lo anterior confirma el cambio en la velocidad de sorción, ocasionado por el mayor contenido y heterogeneidad de la MO, favoreciendo de esta modo una sorción competitiva, lo cual es congruente con lo reportado en trabajos similares de sorción de compuestos orgánicos hidrofóbicos sobre materiales carbonáceos porosos [76 - 79, 81].

4.7 Curvas cinéticas de sorción para los suelos S2 y S4 con carbonilla

Para los experimentos cinéticos con los suelos S2 y S4, se realizó el enriquecimiento de la fracción orgánica de los suelos con un material de referencia de carbonilla (soot), con objeto de evaluar la influencia del carbón negro en la cinética de sorción de los PAC y en las cantidades sorbidas al equilibrio. De manera análoga a los experimentos con los suelos S1 y S3, una vez optimizadas las metodologías de extracción, limpieza y análisis de muestras para la determinación de los PAC en suelos por CG-EM, se realizó la identificación y cuantificación de los PAC en las muestras de suelo de los experimentos cinéticos con y sin adición de carbonilla. El tratamiento de los datos experimentales se llevó a cabo de la forma antes descrita para los suelos S1 y S3, aplicando el modelo cinético de primer orden antes citado, a partir del cual se determinaron las constantes de velocidad k_r para los PAC en S2 y S4, así como los CV % correspondientes a los triplicados de los experimentos cinéticos y de esta forma, dar mayor validez a los resultados experimentales. Las Figuras 24 y 25 muestran las curvas cinéticas de sorción para los once PAC estudiados en el suelo S2 con y sin adición de carbonilla. En dichas figuras, se observa que la sorción ocurre de manera homogénea, es decir en una sola etapa, dado el bajo contenido de MO de la muestra S2 (4.6 % p/p) y en consecuencia un menor contenido de carbón negro.

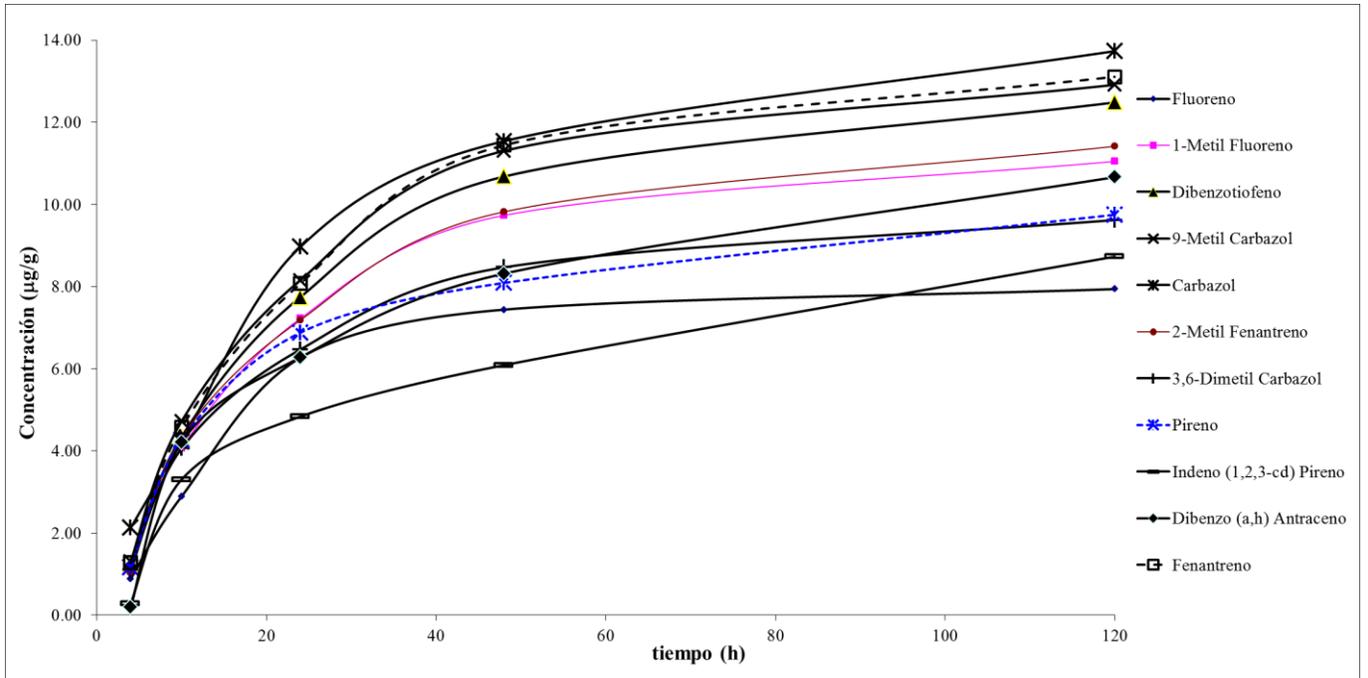


Figura 24. Perfiles cinéticos de sorción de HAP en el suelo S2.

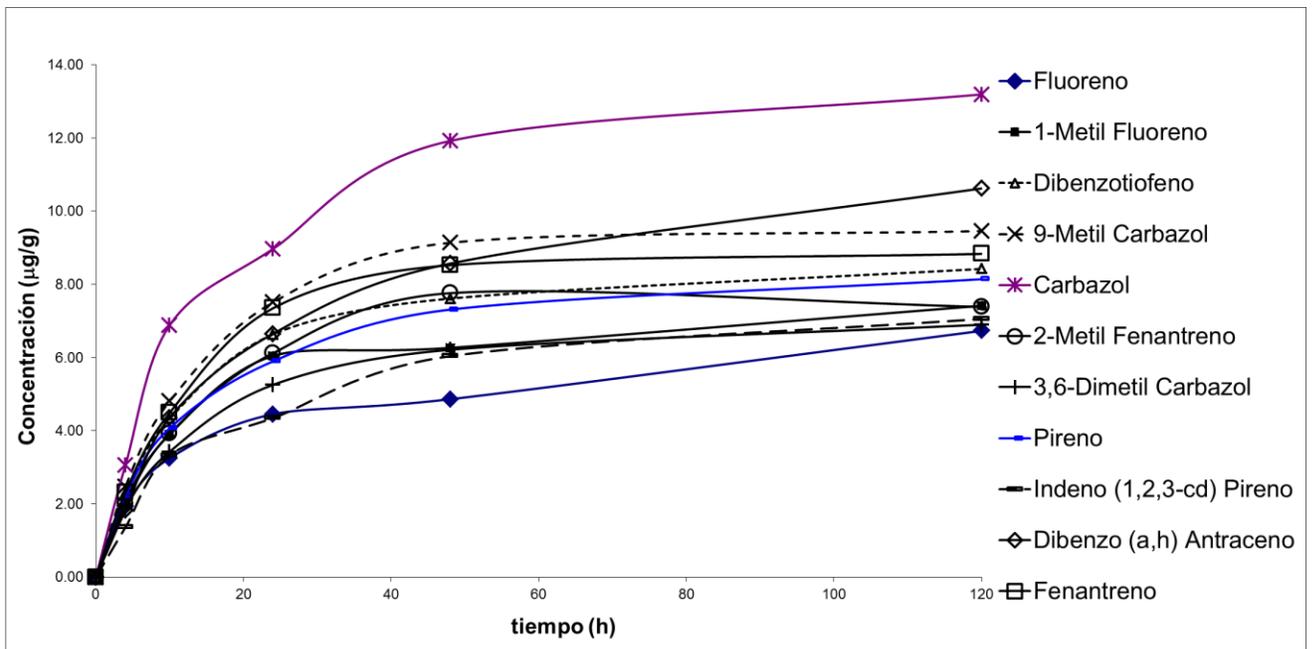


Figura 25. Perfiles cinéticos de sorción de HAP en el suelo S2 adicionado con carbonilla.

Sin embargo, en la muestra adicionada con carbonilla, se observa que hay más cambios de pendiente en el gráfico, ya que si bien, la adición de carbonilla no domina el proceso de sorción (debido al bajo porcentaje de carbonilla adicionada al suelo) de los compuestos aromáticos en el suelo, ocasiona cambios en el perfil cinético. Estos cambios son especialmente notorios para el carbazol, ya que se observa claramente, que para éste compuesto la cinética ocurre en dos etapas, a pesar de que el suelo S2 no presenta un contenido elevado de MO (4.6 %), es decir, el proceso de sorción se ve influenciado por el número elevado de nanoporos que contiene la carbonilla adicionada al suelo. El comportamiento anterior es acorde con el bajo contenido de MO del suelo, ya que para el resto de los compuestos la sorción ocurre de manera más homogénea. El comportamiento del carbazol se debe muy probablemente a interacciones específicas de éste compuesto con las diferentes fracciones del suelo (orgánica e inorgánica), por la presencia del heteroátomo de nitrógeno en su estructura, lo cual le confiere la posibilidad de establecer interacciones tipo dipolo-dipolo, ión-dipolo, e incluso actuar como ligante con especies metálicas electrodeficientes presentes en el suelo, además de las interacciones de tipo hidrofóbico que establece con las superficies carbonáceas de la MO nativa del suelo [21, 82 - 84]. Por otra parte, se observa que para estos experimentos, la intensidad de la sorción no varía de manera significativa con respecto al número de anillos de los PAC, ya que incluso las constantes de velocidad (k_r) son del mismo orden de magnitud para los compuestos estudiados. En las Figuras 24 y 25, se observa que el equilibrio se alcanza en un tiempo de aproximadamente a las 48 h.

Como se ha discutido en las páginas anteriores, el contenido elevado de MO y de carbón negro, ocasiona que exista sorción competitiva por los sitios activos, ocasionando que el proceso cinético presente más de una etapa de sorción, debido a la mayor heterogeneidad de la MO. Este comportamiento se confirma con los perfiles cinéticos del suelo S4 con y sin adición de carbonilla, ya que éste suelo, presenta el mayor contenido de MO de las muestras estudiadas (40 % p/p). En las figuras 26 y 27, se muestran los perfiles cinéticos para el suelo S4 con y sin carbonilla, a partir de los cuales se observa el comportamiento arriba descrito, referente a la existencia de dos etapas de

sorción, una primera sorción rápida, seguida de una segunda sorción más lenta hasta alcanzar el equilibrio. Así mismo, se puede observar un ligero aumento en las cantidades de PAC retenidas por las muestras con carbonilla, siendo más significativo para el carbazol, ya que para el resto de los compuestos no se observa un aumento importante en la cantidad de PAC sorbida a lo largo de la curva cinética de sorción. Así mismo, en estos experimentos la intensidad de la sorción no presenta cambios importantes en función del número de anillos e hidrofobicidad de los compuestos estudiados.

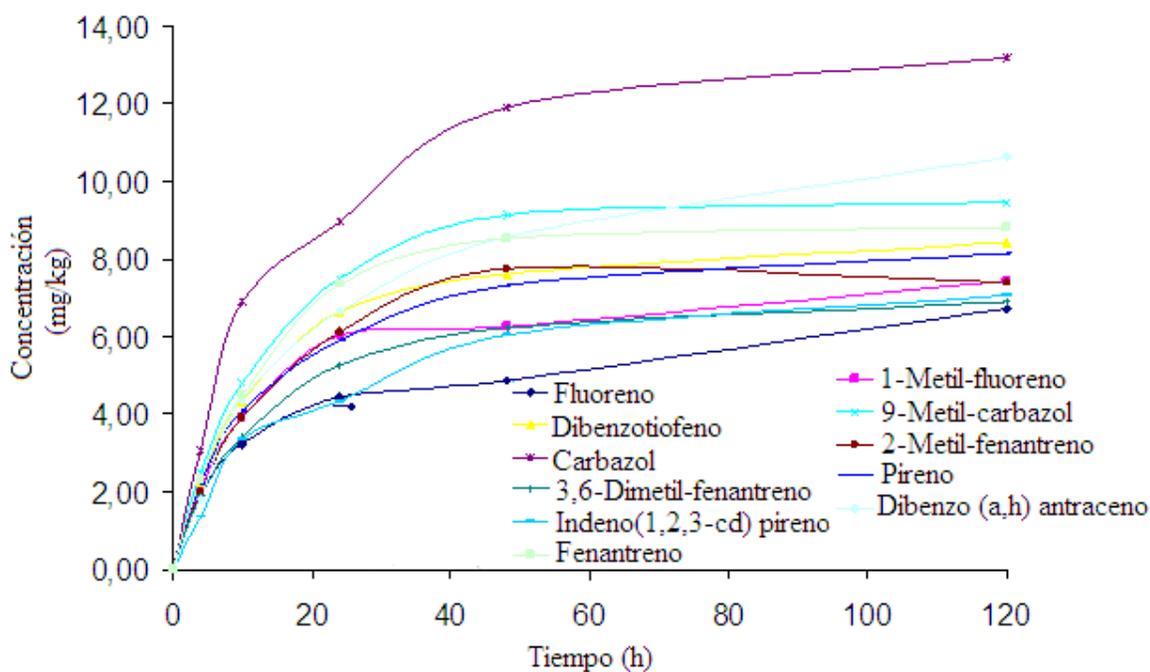


Figura 26. Perfiles cinéticos de sorción de HAP en el suelo S4.

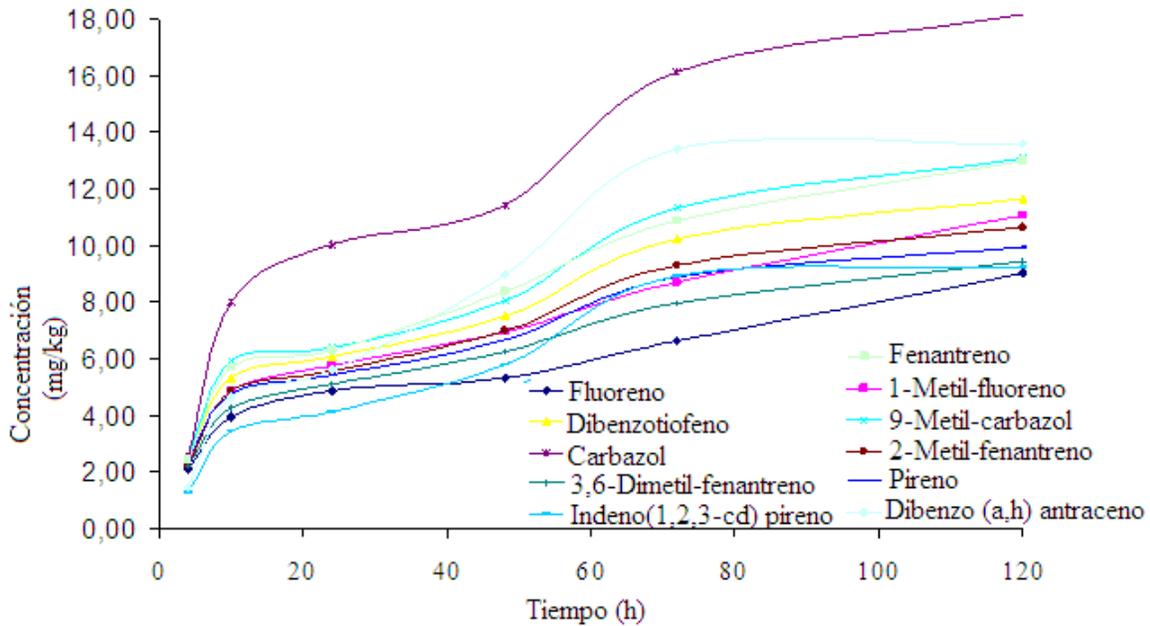


Figura 27 Perfiles cinéticos de sorción de HAP en el suelo S4 adicionado con carbonilla.

De acuerdo con las curvas cinéticas para el suelo S4 (Figuras 26 y 27), se observa que la primera etapa de sorción alcanza un primer estado de equilibrio a las 48 h y posteriormente, continúa la sorción de los compuestos de manera más lenta, hasta las 120 h que fue el tiempo final estudiado para ésta serie de experimentos cinéticos, sin embargo se observa que para algunos compuestos no se ha alcanzado el equilibrio, es decir el proceso de sorción continúa durante mayor tiempo, que dado el elevado contenido de MO del suelo puede ser prolongado.

4.8 Cinética de sorción para los suelos S2 y S4 con carbonilla

El tratamiento de los datos cinéticos experimentales para los suelos S2 y S4, se llevó a cabo como se dicutió en la sección 4.6 para los suelos S1 y S3, mediante la aplicación del modelo cinético de primer orden, a partir del cual, se determinaron las constantes de velocidad (k_r) para los experimentos cinéticos con y sin adición de carbonilla para cada suelo, los cuales se muestran a continuación en el Cuadro 12.

Cuadro 12. Coeficientes de correlación (R^2) para el modelo cinético de sorción de primer orden y constantes de velocidad (k_r) para los suelos S2 y S4 con y sin adición de carbonilla.

Compuesto	Suelo S2		Suelo S2 c/carbonilla		Suelo S4		Suelo S4 c/carbonilla	
	R^2	K_r (h^{-1})	R^2	K_r (h^{-1})	R^2	K_r (h^{-1})	R^2	K_r (h^{-1})
Fluoreno	0.9950	6.65	0.9824	11.37	0.8780	5.71	0.9932	6.90
1-Metil fluoreno	0.9945	8.10	0.9946	10.93	0.9728	6.47	0.9950	6.65
Dibenzotiofeno	0.9961	8.29	0.9906	11.43	0.9996	6.93	0.9865	7.21
Fenantreno	0.9964	8.76	0.9877	11.51	0.9891	7.54	0.9774	7.64
9-Metil Carbazol	0.9846	9.22	0.9887	10.96	0.9934	7.54	0.9827	7.64
Carbazol	0.9822	9.73	0.9998	12.82	0.9385	2.99	0.9820	7.00
2-Metil fenantreno	0.9921	8.42	0.9849	10.47	0.9638	6.83	0.9707	7.51
3,6-Dimetil Fenantreno	0.9824	5.73	0.9889	9.34	0.9993	6.35	0.9530	7.58
Pireno	0.9460	5.05	0.9907	8.67	0.9880	6.51	0.9422	7.48
Dibenzo (a,h) antraceno	0.9906	10.40	0.9021	9.54	0.9127	9.05	0.9408	7.91
Indeno (1,2,3- cd) Pireno	0.9875	11.31	0.9467	9.56	0.9671	10.09	0.9317	7.27

A partir de los coeficientes de correlación, se observa que el ajuste de los datos experimentales con el modelo cinético de primer orden es adecuado, ya que los coeficientes de correlación (R^2), fueron mayores a 0.90 para todos los PAC en ambas muestras de suelo con y sin carbonilla, únicamente el fluoreno presentó una R^2 de 0.878 en el suelo S4. A partir de los resultados

anteriores, se puede asumir que la cinética de sorción de los PAC en los suelos S2 y S4 correspondió a una cinética de primer orden, como ocurrió para los suelos S1 y S3

Las constantes de velocidad (k_r) para los compuestos en los suelos S2 y S4 con y sin carbonilla, no presentaron una dependencia significativa con respecto al diferente contenido de MO de S2 y S4 (4 y 40 % p/p, respectivamente), ya que tanto para las muestras de suelo con y sin carbonilla, se mantuvieron dentro de un mismo orden de magnitud, este comportamiento es consistente con lo reportado por estudios cinéticos de sorción de HAP sobre materiales carbonáceos, en los cuales el proceso cinético está principalmente determinado por el tamaño de partícula y tamaño de poros del material sorbente [76, 78]. Sin embargo, la adición de carbonilla a las muestras de suelo presenta un incremento notorio en las constantes de velocidad para el suelo S2, ya que al contener menos MO que S4, la poca carbonilla adicionada al suelo es suficiente para ocasionar un cambio en la velocidad de sorción de los compuestos, ya que aumentó el número de sitios activos superficiales del carbón negro, el cual es de alta afinidad por los CAP y por lo tanto aumenta la velocidad de la sorción.

Con objeto de brindar confiabilidad a los resultados experimentales, se realizaron análisis por triplicado de los puntos cinéticos de 24 h para S2 y de 48 h para S4. La precisión de los experimentos se estimó por medio del cálculo del CV % para los PAC en los triplicados antes mencionados. Observando que los CV %, se mantuvieron dentro del intervalo de 0.77 a 18.74 % para todos los PAC en las diferentes muestras de suelo, lo cual indica que a pesar de la complejidad de la matriz analizada y de las dificultades experimentales, los resultados obtenidos son confiables. En la Cuadro 13, se muestran los resultados de la evaluación de la precisión de los experimentos cinéticos para los suelos S2 y S4 con y sin carbonilla.

Cuadro 13. Precisión de experimentos cinéticos estimada como CV % (n=3), para los suelos S2 y S4 con y sin carbonilla.

Compuesto	S2 % CV	S2 c/carbonilla % CV	S4 % CV	S4 c/carbonilla % CV
Fluoreno	4.16	11.02	0.87	9.62
1-Metil fluoreno	0.77	13.84	4.71	12.70
Dibenzotiofeno	1.30	15.76	2.24	13.60
Fenantreno	0.69	15.51	2.64	14.44
9-Metil Carbazol	2.90	16.07	0.04	13.80
Carbazol	10.51	12.41	1.18	12.31
2-Metil Fenantreno	0.08	16.54	6.22	14.77
3,6-Dimetil fenantreno	2.26	14.45	8.83	15.48
Pireno	5.48	17.59	4.58	17.70
Dibenzo (a,h) antraceno	16.15	16.99	11.71	13.84
Indeno (1,2,3- cd) Pireno	17.8	17,61	16.29	18.74

4.9 Isotermas de sorción de Freundlich y obtención de K_d y K_{oc}

Si bien existen varios modelos para evaluar la sorción de compuestos orgánicos hidrofóbicos en suelos, como se abordó en la sección 2.7, de acuerdo con trabajos reportados sobre isotermas de sorción de compuestos orgánicos hidrofóbicos en suelos, donde para la mayoría de los casos el proceso de sorción se ajusta adecuadamente con el modelo de Freundlich [21, 41, 73 – 75] y tomando en cuenta que éste modelo no requiere de la estimación de parámetros físicos como tamaño de partícula y tamaño de poros del material sorbente, los cuales no son fáciles de determinar en un suelo debido a la elevada heterogeneidad de la matriz, se determinaron las isotermas de sorción de acuerdo con el modelo de Freundlich, mediante la fortificación de los suelos S2 y S4 con

y sin carbonilla con los PAC. En el Cuadro 14, se muestran los parámetros K_F y $1/n$ del modelo de Freundlich para los PAC en las diferentes muestras de suelo, así como los coeficientes de correlación (R^2) correspondientes al ajuste de los datos experimentales con el modelo propuesto. Los datos experimentales mostraron un ajuste adecuado con el modelo de Freundlich para la mayoría de los compuestos de fortificación en los diferentes tipos de suelo estudiados. A continuación se muestra el modelo de Freundlich y la forma lineal del mismo:

$$CAs = K_F \cdot CAss^{1/n}$$

y en su forma lineal :

$$\log CAs = \log K_F + 1/n \log CAss \dots \dots \dots \text{ecuación 2}$$

Donde:

CAs: concentración de analito sorbida en el suelo ($\mu\text{g g}^{-1}$)

Cass: concentración de analito en la solución del suelo ($\mu\text{g mL}^{-1}$)

K_F: coeficiente de sorción de Freundlich ($\text{cm}^3 \cdot \text{g}^{-1}$, solo para $n=1$, en caso contrario sus unidades son $\mu\text{g}^{1-1/n} (\text{cm}^3)^{1/n} \text{g}^{-1}$).

n : Constante de regresión

K_F y *1/n*, fueron obtenidas a partir de los gráficos de $\log CAs$ vs $\log CAss$

Los coeficientes de correlación (R^2) de los datos experimentales ajustados al modelo lineal de Freundlich mostraron que para las muestras S2 y S4 el ajuste es aceptable, ya que el intervalo de R^2 se mantuvo en su mayoría entre 0.83 y 0.99. Sin embargo, para el caso de la muestra S2 con carbonilla, los valores de R^2 en general disminuyeron, mostrando mayores desviaciones de la linealidad por tratarse de una matriz más compleja y heterogénea [75, 85 – 87], la cual muestra mecanismos de competencia en los sitios activos superficies de la MO disponibles para llevar a cabo la sorción de los compuestos estudiados [85 – 87,]. Esta complejidad de la matriz analizada también indica un mayor tipo y número de interacciones moleculares entre los analitos y los diferentes componentes de la MO del suelo. Este tipo de sorción, también se refuerza con el hecho de que el valor de $1/n$ se mantuvo por debajo del intervalo de 0.7 a 1.0, lo cual corrobora que los compuestos en su mayoría presentan una sorción competitiva sobre todo en la muestra S4. Se ha

reportado que existen diversos factores que afectan la sorción lineal de compuestos orgánicos en suelos, como un elevado contenido de lípidos y altos contenidos de carbón negro en el suelo [75], lo cual es consistente con estos resultados, ya que la muestra de suelo S4, al contener una cantidad elevada de MO (40%) con seguridad presenta un contenido importante de lípidos y de carbón negro, lo cual favorece la sorción en varias etapas. Así mismo, la muestra S4 fortificada con carbonilla presentó aún mas desviaciones del modelo de Freundlich, lo cual refuerza las hipótesis planteadas sobre la influencia del carbón negro (carbonilla) en la sorción de compuestos orgánicos en suelos. Por otra parte, se ha reportado que un contenido elevado de carbono orgánico disuelto (COD) también puede modificar la sorción de compuestos aromáticos hidrofóbicos, al establecer una competencia adicional entre la sorción de los compuestos en la fase sólida precipitada y el COD, el cual también puede retener los PAC de manera importante [88 - 91]. En la sección 8 (anexos), se presentan a manera de ejemplo las isotermas de sorción para fenantreno en los suelos S2 y S4 con y sin carbonilla, a partir de las cuales se observa el comportamiento antes mencionado.

Cuadro 14. Parámetros del modelo de Freundlich K_F y $1/n$, y coeficientes de ajuste (R^2), para los PAC, en las muestras S2 y S4 con y sin carbonilla.

Compuesto	S2			S2 c/carbonilla			S4			S4 c/carbonilla		
	1/n	K_r	R^2	1/n	K_r	R^2	1/n	K_r	R^2	1/n	K_r	R^2
Fluoreno	0.2198	1.13	0.8758	0.3565	1.11	0.8771	0.4378	13.01	0.9298	0.2531	11.17	0.9691
1-Metil fluoreno	0.3519	0.95	0.9509	0.4202	0.80	0.8335	0.6492	15.34	0.9453	0.1246	8.44	0.7175
Dibenzotiofeno	0.3707	1.39	0.9644	0.7577	2.12	0.9643	0.5730	17.65	0.9253	0.1507	10.04	0.6651
Fenantreno	0.2363	1.65	0.9874	0.2260	1.47	0.8824	0.4241	17.77	0.9169	0.1847	12.41	0.6668
9-Metil Carbazol	0.3280	1.62	0.9822	0.2547	4.36	0.8626	0.4455	18.39	0.9745	0.1803	12.68	0.7372
Carbazol	0.6936	4.58	0.8836	0.2655	4.06	0.8721	0.5689	26.51	0.8769	0.1691	15.45	0.9710
2-Metil Fenantreno	0.3617	1.11	0.8438	0.2492	0.92	0.9665	0.5083	16.45	0.9360	0.2258	11.22	0.6099
3,6-Dimetil Fen.	0.4107	3.09	0.8631	0.3685	0.89	0.9494	0.4271	13.64	0.9523	0.1904	11.39	0.8161
Pireno	0.3652	1.43	0.9744	0.2558	1.33	0.9083	0.2887	13.91	0.7510	0.1611	13.59	0.9517
Dibenzo (a,h) Antraceno	0.4954	0.86	0.9695	0.2607	0.63	0.8904	0.4073	18.45	0.9741	0.0986	12.71	0.9903
Indeno(1,2,3- cd) Pireno	0.4814	1.03	0.9512	0.2723	0.66	0.7355	0.1915	12.17	0.7867	0.0971	13.08	0.9853

Adicionalmente, a partir de las isotermas de sorción expresadas en forma lineal con cinco niveles de concentración (ver parte experimental), se obtuvieron los valores de los coeficientes de reparto K_d , para los PAC en las muestras S2 y S4 con y sin adición de carbonilla, posteriormente, por medio de los coeficiente de reparto K_d obtenidos para cada compuesto y a partir del contenido de carbono orgánico de cada suelo (f_{oc}), se calcularon los coeficientes del carbono orgánico K_{oc} ,

observando que tanto K_d como K_{oc} aumentan gradualmente conforme aumenta el número de anillos, es decir aumentan conforme aumenta la hidrofobicidad de los PAC. En los Cuadros 15 y 16, se muestran los valores obtenidos de K_d y K_{oc} respectivamente, para todos los compuestos evaluados en las diferentes muestras de suelo con y sin carbonilla. Así mismo, se observa que los valores de K_d y K_{oc} son de mayor magnitud para las muestras S2 y S4 adicionadas con carbonilla en comparación con las no adicionadas, lo cual demuestra que la influencia en la sorción debida al carbono orgánico es importante. En ese sentido, para el caso del carbazol se observan valores de K_d y K_{oc} muy superiores a los demás compuestos en todos los tipos de muestras de suelo evaluadas, lo cual como se discutió anteriormente, se debe probablemente a interacciones específicas del carbazol con las diferentes fracciones del suelo, o bien, a su capacidad para protonarse sobre el heteroátomo de nitrógeno, estableciendo así no solo interacciones moleculares con la materia orgánica del suelo, sino también interacciones de tipo iónico al participar en la esfera de intercambio catiónico de las muestras de suelo estudiadas [21, 92]. El comportamiento anterior, también pone de manifiesto la complejidad en el tipo y número de interacciones que pueden presentar diversos compuestos orgánicos en función de su naturaleza y estructura, una vez que entran en contacto con la materia orgánica del suelo, lo cual determina de manera importante su retención y destino final en el medio ambiente.

Cuadro 15. Valores de K_d calculados a partir de los datos experimentales en los distintos tipos de suelo.

Compuesto	K_d			
	S2	S2 c/carbonilla	S4	S4 c/carbonilla
Fluoreno	0.96	1.97	14.76	30.38
1-Metil fluoreno	2.01	2.34	23.35	52.98
Dibenzotiofeno	1.26	2.51	22.59	38.54
Fenantreno	1.25	2.27	13.26	25.66
9-Metil Carbazol	1.21	1.76	17.31	29.56
Carbazol	4.98	8.46	46.61	74.02
2-Metil Fenantreno	1.44	2.82	16.25	33.53
3,6-Dimetil Fenantreno	1.30	2.70	22.23	35.97
Pireno	1.63	3.20	16.27	37.99
Dibenzo (a,h) antraceno	3.24	6.7	27.61	51.88
Indeno (1,2,3-cd) Pireno	2.22	4.3	16.27	28.88

Cuadro 16. Valores de $\log K_{oc}$ calculados a partir de los datos experimentales en los distintos tipos de suelo.

Compuesto	$\log K_{oc}$			
	S2	S2 c/carbonilla	S4	S4 c/carbonilla
Fluoreno	1.55	1.86	2.74	3.05
1-Metil fluoreno	1.87	1.94	2.94	3.29
Dibenzotiofeno	1.67	1.97	2.92	3.15
Fenantreno	1.67	1.92	2.69	2.98
9-Metil Carbazol	1.65	1.81	2.81	3.04
Carbazol	2.27	2.50	3.24	3.44
2-Metil Fenantreno	1.73	2.02	2.78	3.09
3,6-Dimetil Fenantreno	1.68	2.00	2.92	3.12
Pireno	1.78	2.07	2.85	3.15
Dibenzo (a,h) antraceno	2.08	2.39	3.01	3.28
Indeno (1,2,3-cd) Pireno	1.91	2.20	2.78	3.03

4.10 Correlación entre $\log K_{oc}$ vs $\log K_{ow}$

Por otra parte, con objeto de observar la correlación los valores de $\log K_{oc}$ estimados a partir de los datos experimentales y la hidrofobicidad de los PAC, expresada como $\log K_{ow}$, se realizó un gráfico de $\log K_{oc}$ vs $\log K_{ow}$ para los HAP nativos presentes en el grupo de PAC estudiados, con los resultados de la muestra de suelo S2 (Figura 28), a partir del cual, se observó que la correlación es aceptable, además de conducir a una expresión de la forma:

$\text{Log Koc} = 0.3381 \text{ Log Kow} + 0.183$, la cual corresponde en magnitud a correlaciones de este tipo reportadas en la literatura [41, 85].

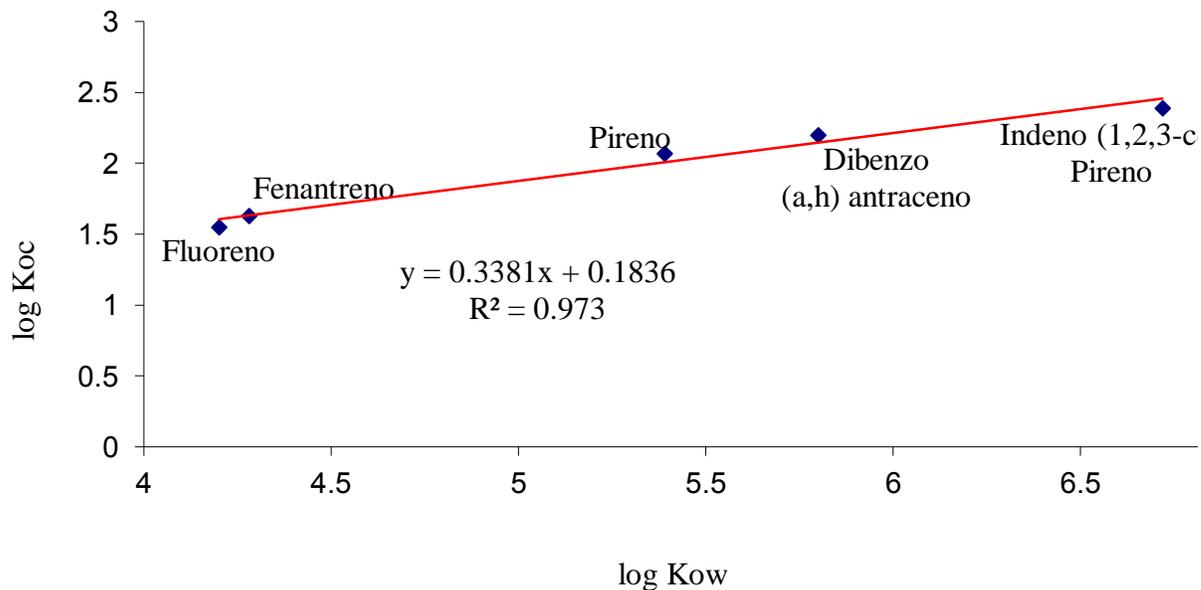


Figura 28. Correlación entre Log Koc y Log Kow, con los datos experimentales de los experimentos de sorción en S2.

5. CONCLUSIONES

1. Se desarrolló, optimizó y validó una metodología analítica por cromatografía de gases con temperatura de vaporización programada para la inyección de grandes volúmenes de muestra (GC-PTV-LVI, por sus siglas en inglés), para el análisis de HAP en suelos contaminados, demostrando ser una excelente alternativa para el análisis de contaminantes a niveles de trazas en matrices complejas como lo es el suelo.
2. Se determinó que los valores de K_d y $\log K_{oc}$ obtenidos para los HAP en los suelos estudiados muestran una tendencia creciente conforme aumenta la masa molecular y por tanto la hidrofobicidad de estos contaminantes.
3. El contenido de MO y la composición del suelo influyen directamente sobre la cinética de sorción y la retención de HAP y, en general, de compuestos orgánicos de carácter hidrofóbico.
4. El modelo cinético de pseudo-primer orden fue adecuado para el ajuste de los datos cinéticos experimentales de los HAP en los diferentes tipos de suelo estudiados con y sin adición de CO, como lo mostraron los coeficientes de correlación (R^2) obtenidos, los cuales en su mayoría son superiores a 0.90.
5. Los datos experimentales obtenidos para todos los once analitos evaluados en los suelos S2 y S4 con y sin adición de CO se ajustaron una cinética de sorción de pseudo-primer orden y no mostraron diferencias significativas en los valores de las constantes de velocidad, por lo que se observó que la adición de CO no presentó influencia directa sobre la cinética de sorción.
6. Con relación a los coeficientes K_d y $\log K_{oc}$ determinados los HAP en las muestras con carbonilla, se observó que el suelo S4 con mayor contenido de materia orgánica presentó mayor retención para los once compuestos evaluados en comparación con el suelo S2 con menor contenido de materia orgánica y que en ambos casos los coeficientes de reparto

aumentaron conforme aumentó el peso molecular de los analitos. En ese sentido, la influencia del carbono orgánico sobre la retención de los compuestos en las distintas muestras de suelo se hizo evidente, ya que las muestras de suelo S2 y S4 fortificadas con carbonilla mostraron valores significativamente mayores de K_d y $\log K_{oc}$ en comparación a las muestras de suelo sin fortificar.

7. Diez compuestos evaluados presentaron un comportamiento similar en cuanto a su sorción en las muestras de suelo. Sin embargo, el carbazol presentó una mayor retención con respecto a sus análogos metilados y azufrados.
8. En el caso de las isothermas de sorción de Freundlich, algunos compuestos, principalmente los de mayor peso molecular en la muestra de suelo S4, mostraron desviaciones importantes en la linealidad de la sorción, lo cual es muestra de la complejidad de los mecanismos de retención involucrados y de la existencia de mecanismos de competencia en la retención de los compuestos.
9. Se correlacionaron los valores de $\log K_{oc}$ vs $\log K_{ow}$ para establecer como influye el grado de hidrofobicidad de los compuestos en la sorción de los mismos en las diferentes fracciones del suelo.

6. PERSPECTIVAS

Como continuidad de la presente investigación, se recomienda extender el estudio a un mayor número de suelos de la República Mexicana, en virtud de existir poca o nula información al respecto de los fenómenos de sorción de contaminantes orgánicos. En ese sentido, la ampliación del tipo de compuestos estudiados también sería importante, ya que no sólo los HAP son contaminantes persistentes en el medio ambiente, sino que existe una gran cantidad de contaminantes orgánicos que representan un riesgo para el equilibrio ecológico, como los plaguicidas órganoclorados y órganofosforados, los bifenilos policlorados, etc.

Adicionalmente, se sugiere realizar una caracterización profunda y detallada de la materia orgánica y carbono orgánico contenida en suelos susceptibles a ser contaminados por diversas actividades antropogénicas, a efecto de predecir el comportamiento de los contaminantes orgánicos en caso de ser vertidos en el medio ambiente.

La información generada por este tipo de investigaciones debe ser tomada en cuenta en el diseño de estrategias de remediación de suelos contaminados, a efecto de mejorar la eficiencia de estos procesos.

7. REFERENCIAS

1. Baird Colin. Química Ambiental. Editorial Reverté. Segunda Edición. España 2001.
2. Bohn Hinrich L., McNeal Brian L, O'Connor George A. Química del suelo. Grupo Noriega-Limusa Editores. Primera Edición. México 1993.
3. Cepeda D. Juan Manuel. Química de los suelos. Editorial Trillas. Segunda edición. México 1991.
4. Cram, S., Siebe, C., Ortíz, R. and Herre, A. Mobility and persistence of petroleum hydrocarbons in peat soils of Southeastern Mexico. *Soil and Sediment Contamination*, 2004. 13.
5. Jonker, T.O., Michiel, K., Koelmans, A. Extracción of polycyclic Aromatic Hydrocarbons from soot and sediment: solvent evaluation and implications for sorption mechanism. *Environmental Science Technology*, 2002. 36: 4107- 4113.
6. Enell, A., Reichenberg, F., Ewald, G., Warfinge, P. Desorption Kinetics study on PAH-contaminated soil under varying temperatures. *Chemosphere*, 2005. 61: 1529-1538.
7. Cornelissen, G., Van Noort, P.M., Parsons, J.R., Govers, H.J. Temperature dependence of slow adsorption and desorption kinetics of organic compounds in sediments. *Environmental Science Technology*, 1997. 31: 454 - 460.
8. Weigand, H., Totsche, K.U., Kiigel-Knabner, I., Annweiler, E., Richnow, H. and Michaelis, W. Desorption Controlled Mobility and Intrinsic Biodegradation of Anthracene in Unsaturated Soil. *Physical Chemistry Earth B*, 1999. 24 (6): 549-555.
9. Krauss, M., Wilcke, W. Persistent organic pollutants in soil density fractions: distribution and sorption strength. *Chemosphere*, 2005. 59: 1507-1515.
10. Prince R.G. and Drake, E.N. Transformation and fate of polycyclic aromatic hydrocarbons in soil. In: *Bioremediation of contaminated soils*. Agronomy Series no. 37, ASA, CSSA, SSSA Madison, Wisconsin USA. 1999.

11. Xavier Martínez-Lladó, X., Oriol, G., Martí, V., Díez, S., Romo, J., Bayona, J.M., De Pablo, J. Distribution of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) and tributyltin (TBT) in Barcelona harbour sediments and their impact on benthic communities. *Environmental Pollution*, 2007. 149: 104 – 113.
12. Wilcke, W. Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs) in soil: a review. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*, 2000, 163: 229 - 248.
13. Wilcke, W., W. Amelung, C. Martius, M. Garcia and W. Zech. Biological sources of polycyclic aromatic hydrocarbons in the Amazonian rain forest. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*, 2000. 163: 27 - 30.
14. Thiele, S. and Brummer, G. Bioformation of polycyclic aromatic hydrocarbons in soil under oxygen deficient conditions. *Soil Biology and Biochemistry*, 2002. 34: 733 - 735.
15. Jones, K.C. and de Voogt, P. Persistent organic pollutants (POPs): state of the science. *Environmental Pollution*, 1999. 100: 209 - 221.
16. Krauss, M., Wilcke, W., Zech, W. Polycyclic Aromatic Hydrocarbons and polychlorinated biphenyls in forest soils: depth distribution as indicator of different fate. *Environmental Pollution*, 2000. 110: 79-88.
17. Nadal, M., Schuhmacher, M. and Domingo, J. L. Levels of PAHs in soil and vegetation samples from Tarragona Country, Spain. *Environmental Pollution*, 2004. 132: 1 - 11.
18. Yu, H. Environmental carcinogenic polycyclic aromatic hydrocarbons: photochemistry and phototoxicity. *Journal of Environmental Science and Health*, 2002. 20 (2): 149-183.
19. Ney R. Fate and transport of organic chemicals in the environment. Government Institutes, Maryland, USA. 1990.

-
20. McBride, M. B. Environmental Chemistry of Soils. New York Oxford. USA. 1994.
 21. Schwarzenbach, R.P., Gschwend, P.M., Imboden, D.M. Environmental Organic Chemistry. Wiley-Interscience. Segunda edición. New York, USA. 2002.
 22. Sangchul, H., Cutright, T.J. Preliminary evaluation of PAH sorptive changes in soil by Soxhlet extraction. Environment Internacional, 2004. 30: 151 - 158.
 23. Coates, J.D., Woodward J., Allen J., Philip P. and Lovley D.R. Anaerobic degradation of polycyclic aromatic hydrocarbons and alkanes in petroleum-contaminated marine flarbor sediments. Applied Environmental Microbiology, 1997. 63: 3589 - 3593.
 24. Menka, M., Karl, J.R. Naphtalene and phenantrene sorption to very low organic content diatomaceous earth: Modeling implication of microbial bioavalilability. Chemosphere, 2009. 74: 1134 - 1144.
 25. Luc T.C., Bonten, T., Grotenhuis, W. I. Enhancement of PAH biodegradation in soil by physicochemical pretreatment. Chemosphere, 1999. 38: 3627 - 3636.
 26. Bouchez, M., Bkanchet, D., and Vandecasteele, J-P. Degradation of polycyclic aromatic hydrocarbons by pure strains and by defined strains associations: inhibition phenomena and cometabolism. Applied Microbiology Biothechnology, 1995. 43: 156 - 164.
 27. Thiele, S. and Brummer, G. Bioformation of polycyclic aromatic hydrocarbons in soil under oxigen deficient conditions. Soil Biology and Biochemistry, 2002. 34: 733 - 735.
 28. Potin, O., Rafin, C., Veignie, E. Biorremediation of an aged polycyclic aromatic hydrocarbon (PAHs)-contaminated soil by filamentous fungi isolated from the soil. International Biodeterioration and Biodegradation, 2004. 54: 45 – 52.
 29. Grifoll, M., Casellas, M., Bayona, J.M. and Solanas, A.M. Isolation and characterization of a Fluorene-degrading bacterium: identification of ring oxidation and ring fission products. Applied Environmental Microbiology, 1992. 58: 2910 – 2917.

30. Zhang, X., Cheng, S., Zhu, C-J., Sun, S. Microbial PAH-Degradation in soil degradation pathways and contributing factors. *Pedosphere*, 2006. 16 (5): 555 – 565.
31. Meyer, S., Steinhart, H. Effects of heterocyclic PAH (N, S, O) on the biodegradation of typical tar oil PAH in a soil compost mixture. *Chemosphere*, 2000. 40: 359 - 367.
32. Sobisch, T., Heb, H., Niebelschutz, H., Schmidt, U. Effect of additives on biodegradation of PAH in soils. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 2000. 162: 1 - 14.
33. Weigand, H., Totsche, K.U., Kiigel-Knabner, I., Annweiler, E., Richnow, H. and Michaelis, W. Desorption Controlled Mobility and Intrinsic Biodegradation of Anthracene in Unsaturated Soil. *Physical Chemistry Earth (B)*, 1999, 24 (6): 549 - 555.
34. Alexander, M. 2000. Aging, bioavailability and overestimation of risk from environmental pollutants. *Environmental Science and Technology*, 2000. 34 (20): 4259 - 4265.
35. Kelsey J.W., B.S. Kottler y M. Alexander. “Selective chemical extractants to predict bioavailability of soil-aged organic chemicals”. *Environmental Science and Technology*, 1997. 31: 214 - 217.
36. Guerin F.W. y S.A. Boyd. “Differential bioavailability of soil-sorbed naphthalene to two bacterial species”. *Applied Environmental Microbiology*, 1992. 58: 1142 - 1152.
37. Pravesek, T.L., Christman, R.F., Pfaender, F.K. Microbial bioavailability of pyrene in three laboratory-contaminated soils under aerobic and anaerobic conditios. *Contaminant Hydrology*, 2002. 86: 72 - 86.
38. Jonge de H, Freijer J.I., Verstraten J.M. y Westerveld J. “Relation between bioavailability and fuel oil hydrocarbon composition in contaminated soils. *Environmental ScienceTechnology*, 1997. 31: 771-775.
39. Foth D.H. *Fundamentos de la ciencia del suelo*. CECSA, México, 1985.
40. Fitz Patrick A.E. *Suelos: su formación, clasificación y distribución*. CECSA, México, 1985.

-
41. Karickhoff, S.W., Brown, D.S., Scott, T.A. Sorption of hydrophobic pollutants on natural sediments. *Water Research*, 1979. 13: 241 - 248.
 42. Schwarzenbach, R.P., Westall, J. Transport of nonpolar organic compounds from surface water to groundwater: laboratory sorption studies. *Environmental Science and Technology*, 1981. 15: 1360 – 1367.
 43. Patty L., Réal B., Gril J. The use of grassed buffer strips to remove pesticides, nitrate and soluble phosphorus compounds from runoff water. *Pesticides Science*, 1997. 49: 243 - 251.
 44. Choi, H., R.Al-Abed, S. PCB congener sorption to carbonaceous sediments component: Macroscopic comparison and characterization of sorption kinetic and mechanism, 2009. 165: 860 - 866.
 45. S. Hwang, T. J. Cutright. The impact of contact time on pyrene sorptive behavior by a sandy-loam soil. *Environmental Pollution*, 2002. 117: 371 - 378.
 46. Kanazawa, J. Relationship between the soil sorption constants for pesticides and their physicochemical properties. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 1989. 7: 474 - 484.
 47. Lafrance, P., AIT-SSI, L., Banton, O., Campbell, P.G.C. and Villeneuve, J.P. Sorption of the pesticide aldicarb in soil: its mobility through a saturated medium in the presence of dissolved organic matter. *Journal of Water Pollution Research*, 1998. 23(2): 253 - 269.
 48. Santos-Buelga, M.D., Sánchez-Martín, M.J. and Sánchez-Camazano, M. Effect of dissolved organic matter on the adsorption of ethofumestane by soil and their components, *Chemosphere*, 1992. 25(5): 727 - 734.
 49. Green, R.E. and Karickhoff, S.W. Sorption estimates for modeling. *The soil environment*, SSSA Book series, no. 2, Soil Science Society of America, Madison, USA, 1990.
 50. Giles C. H., MacEwan T. H., Nakhwa S. N., Smith D., Studies in adsorption. Part XI. A system of classification of solutions adsorption isothermes, and its use in diagnosis of adsorption mechanisms and measurement of specific surface of solids. *Journal of American Chemical Society*, 1960, 3: 3973 - 3993.

51. Yuh-Shan, H., Citation review of Lagergren kinetic rate equation on adsorption reactions. *Scientometrics*, 2004. 59(1): 171 - 177.
52. Yang, X. and Al-Duri, B. Kinetic modeling of liquid-phase adsorption of reactive dyes on activated carbon. *Journal of Colloid and Interface Science*, 2005. 287(1): 25 - 34.
53. Pignatello J.J. y B. Xing. Mechanisms of slow sorption of organic chemicals to natural particles. *Environmental Science Technology*, 1996. 30.
54. http://iupac.org/publications/analytical_compendium, consultada en junio 2013.
55. Rouessac F. "Modern Analytical Methods", Addison-Wiley, USA, 1998.
56. Mc Nair, Harold; Miller, James. *Basic gas chromatography*. Segunda edición. Wiley, USA, 2009.
57. Richard J, Laub, Robert L. *Physicochemical applications of gas chromatography*. John Wiley and Sons, New York, USA, 1978.
58. Ramos, L., Vreuls, J.J., Brinkman, U.A. Programmed temperature vaporization-large volume injection, review. *Journal of Chromatography A*, 2000. 891: 275 - 285.
59. Hoh, E., Mastovska, K., J. "Large volume injection in analysis of PCBs in sediments" *J, Chromatogr. A*, 2, 2008, 1186-1192.
60. Bouyoucos, G.J. Hydrometer improved method for making particles size analysis of soil. *Journal of Agronomy*, 1965. 54: 464 - 465.
61. Villegas, S., Aguilera, H. Método simplificado de análisis para la clasificación granulométrica de los suelos. *Revista del Instituto de Geología, UNAM*, 1978. 2: 2 - 5.
62. Delgadillo, M.A., Peña-Alvarez, A., Villalobos, M. Application of Programmed Temperature Vaporization Large Volume Injection Gas chromatography (PTV-LVI-GC) to the Analysis of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs) in Soils. *Journal of Mexican Chemical Society*, 2013. 57 (2): 85 -91.
63. OECD. Guideline for the testing of chemicals, TG 106, January 2000.

-
64. Salas, N., Ortiz, L., Gilcoto, M., Varela, M., Bayona, J.M., Groom, S., Álvarez-Salgado, X.A., Albaigés, J. Fingerprinting petroleum hydrocarbons in plankton and surface sediments during the spring and early summer blooms in the Galician coast (NW Spain) after the Prestige oil spill. *Marine Environmental Research*, 2006. 62: 388 – 413.
65. Gonzalez, J.J., Viñas, L., Franco, M.A., Fumega, J., Soriano, J.A., Grueiro, G., Muniategui, S., Lopez-Mahía, P., Prada, D., Bayona, J.M., Alzaga, R., Albaigés, J. Spatial and temporal distribution of dissolved / dispersed aromatic hydrocarbons in seawater in the area affected by the Prestige oil spill. *Marine Pollution Bulletin*, 2006, 53: 250 - 259.
66. M.A. Franco a, L. Viñas a, J.A. Soriano a, D. de Armas b, J.J. González a, R. Beiras c, N. Salas d, J.M. Bayona d, J. Albaigés. Spatial distribution and ecotoxicity of petroleum hydrocarbons in sediments from the Galicia continental shelf (NW Spain) after the Prestige oil spill. *Marine Pollution Bulletin*, 2006. 53: 260–271.
67. Szekeres, Z., Volk, G., Ekec, Z. Development of split–splitless PTV large-volume injection for analytes covering a wide boiling point range. *International Journal of Environmental Analytical Chemistry*, 2009, 89 (6): 461 – 471.
68. Teske, J., Engewald, W. Methods for, and applications of, large-volume injection in capillary gas chromatography. *Trends in Analytical Chemistry*, 2002. 21: 584 - 593.
69. Villen, J., Herraiz, T., Reglero, G., Herraiz, M. Experiments with the PTV in the solvent split mode for concentration of volatiles. *Journal of High Resolution Chromatography*, 1989. 12: 633 - 635.
70. Gustafsson, O., Haghseta, F., Chan, C., Macfarlane, H., Gschwend, P. Quantification of the dilute sedimentary soot phase: implication for PAH speciation and bioavailability. *Environmental Science and Technology*, 1997. 31: 203 – 209.
71. Im, J., Lee, M. C., Coates, J.T. Comparison of two reference black carbons using planar PCB as a model sorbate. *Chemosphere*, 2008. 71: 621 - 628.

72. Bucheli, T., Gustafsson, O. Soot sorption of non-ortho and ortho substituted PCBs. *Chemosphere*, 2003. 53: 515 – 522.
73. Krauss, M., Wilcke, W. Persistent organic pollutants in soil density fractions: distribution and sorption strength. *Chemosphere*, 2005. 59: 1507 – 1515.
74. Chiou, C.T., McGroddy, S.E., Kile, D.E. Partition characteristics of polycyclic aromatic hydrocarbons on soils and sediments. *Environmental Science and Technology*, 1998. 32: 264 – 269.
75. Tremblay, L., D. Kohl, S., Rice, J.A., Gagne, J-P. Effects of lipids on the sorption of hydrophobic organic compounds on geosorbents: a case study using phenanthrene. *Chemosphere*, 2005. 58: 1609 - 1620.
76. Valderrama, C., Cortin, J.L., Farran, A., Gamisans, X., Laoa, C. Kinetics of sorption of polyaromatic hydrocarbons onto granular activated carbon and Macronet hyper-cross-linked polymers (MN200). *Journal of Colloid and Interface Science*, 2007. 310: 35 – 46.
77. Rugner, H., Sybille, K., Grathwohl, P. Long Term Sorption Kinetics of Phenanthrene in Aquifer Materials. *Environmental Science and Technology*, 1999. 33: 1645 – 1651.
78. Walker, G.M. Kinetics of a reactive dye adsorption onto dolomitic sorbents. *Water Research*, 2003. 37 (9): 2081 - 2089.
79. Dogan, M. Adsorption kinetics of maxilon blue GRL onto sepiolite from aqueous solutions. *Chemical Engineering Journal*, 2006. 124 (1-3): 89 - 101.
80. Cornelissen, G., Van Noort, P.M., Parsons, J.R., Govers, H.J. Temperature dependence of slow adsorption and desorption kinetics of organic compounds in sediments. *Environmental Science Technology*, 1997. 31: 454 - 460.
81. Yang, X., B. Al-Duri. Kinetic modeling of liquid-phase adsorption of reactive dyes on activated carbon. *Journal of Colloid and Interface Science*, 2005. 287 (1): 25 - 34.
82. Saison, C., Perrin-Ganier, C., Amellal, S. Effect of metals on the adsorption and extractability of ¹⁴C-phenanthrene in soils. *Chemosphere*, 2004. 55: 477 - 485.

-
83. Jonker, T.O., Koelmans, A. Extracción of polycyclic Aromatic Hydrocarbons from soot and sediment: solvent evaluation and implications for sorption mechanism. *Environmental Science Technology*, 2002. 36: 4107 - 4113.
84. Allen-King, R.M., Grathwohl, P., Ball, W.P. New modeling paradigms for the sorption of hydrophobic organic chemicals to heterogeneous carbonaceous matter in soils, sediments, and rocks. *Advanced Water Research*, 2002. 25: 985 - 1016.
85. Chiou, C.T., Peters, L.J., Freed, V.H. A physical concept of soil - water equilibria for nonionic organic compounds. *Science*, 1979. 206: 831 - 832.
86. Kan A.T., G. Fu, M.A., Hunter, M.B. Irreversible adsorption of naphthalene and tetrachlorobiphenyl to Lula and Surrogate sediments. *Environmental Science and Technology*, 1997. 31: 214 - 217.
87. Alexander, M. How toxic are toxic chemicals in soil? *Environmental Science and Technology*, 1995. 29: 2713 - 2717.
88. Grasso, D., Subramaniam, K., Pignatello, J.J., Yang, Y., Ratte, D. Micellar desorption of Polynuclear Aromatic Hydrocarbons from contaminated soil. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 2001. 194: 65-74.
89. Lüers, F., Hulscher, T.E. Temperature effect on the partitioning of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons between natural organic carbon and water. *Chemosphere*, 1996. 33(4): 643 - 657.
90. Moon, J-W., Mark, N., Goltz, M., Kyu-Hong, A. Dissolved organic matter effects on the performance of a barrier to Polycyclic Aromatic hydrocarbon transport by groundwater. *Journal of Contaminant Hydrology*, 2003. 60: 307 - 326.
91. Morehead, N., Eadie, B. J., Lake, B., Landrum, P. F. and Berner D. The sorption of PAH onto dissolved organic matter in Lake Michigan waters. *Chemosphere*, 1986. 15(4): 403 - 412.

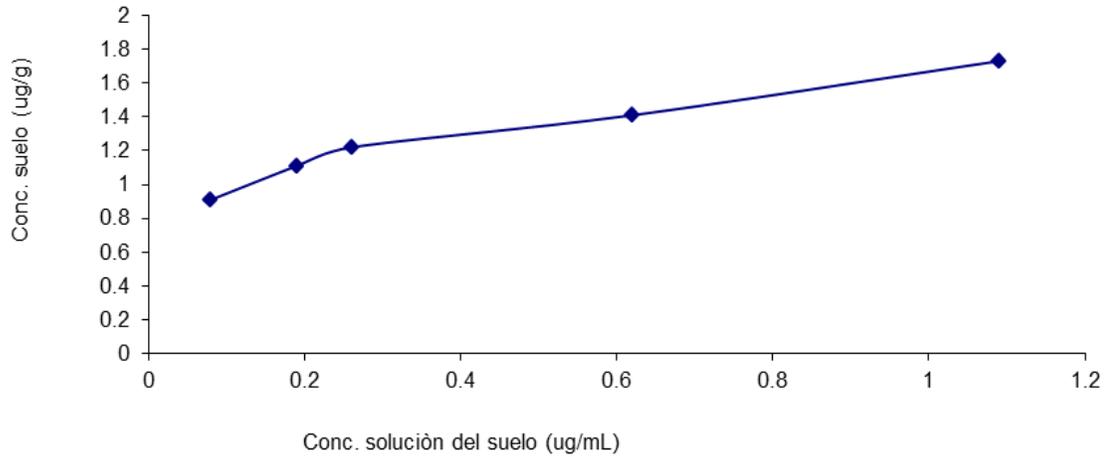
92. Koelmans, A., Gillissen F. Organic Carbon normalisation of PCB, PAH and pesticide concentration in suspended solids. *Water Research*, 1997. 31 (03): 461 - 470.

8. ANEXO

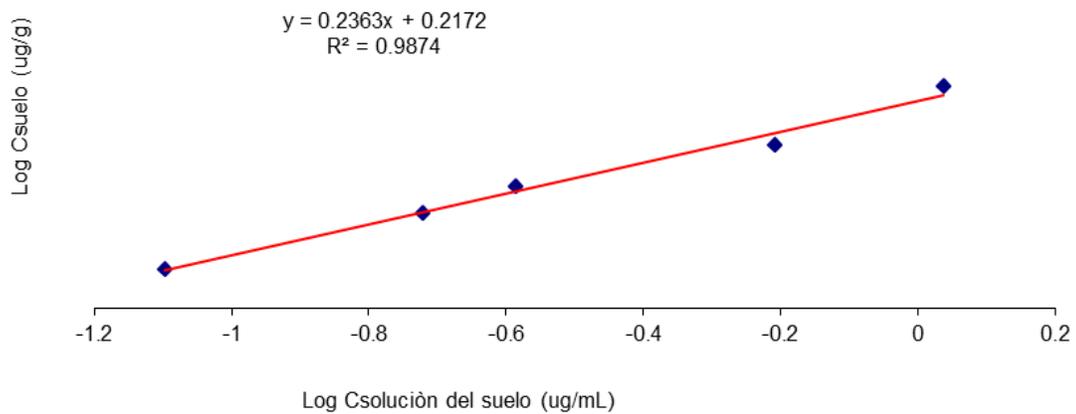
8.1 Isotermas de muestra para Fenantreno en S2

8.1.1 Isotérmicas de Freundlich para fenantreno en S2

Isoterma de sorción para Fenantreno

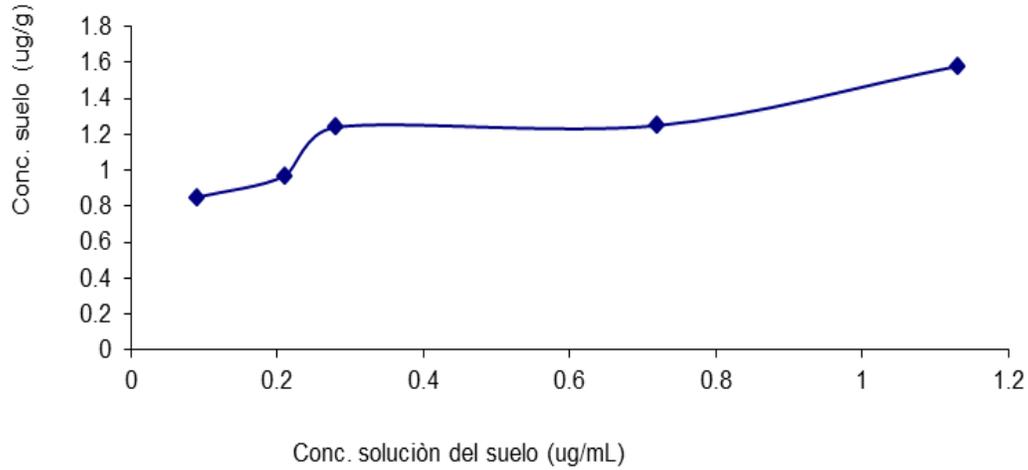


Isoterma de Freundlich para fenantreno

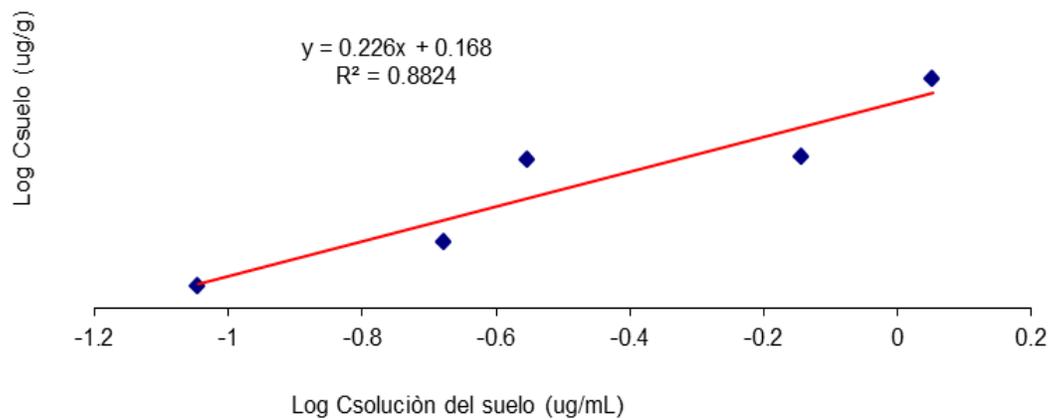


8.1.2 Isotérmicas de Freundlich para fenantreno en S2 adicionado con carbonilla

Isoterma de sorción para Fenantreno



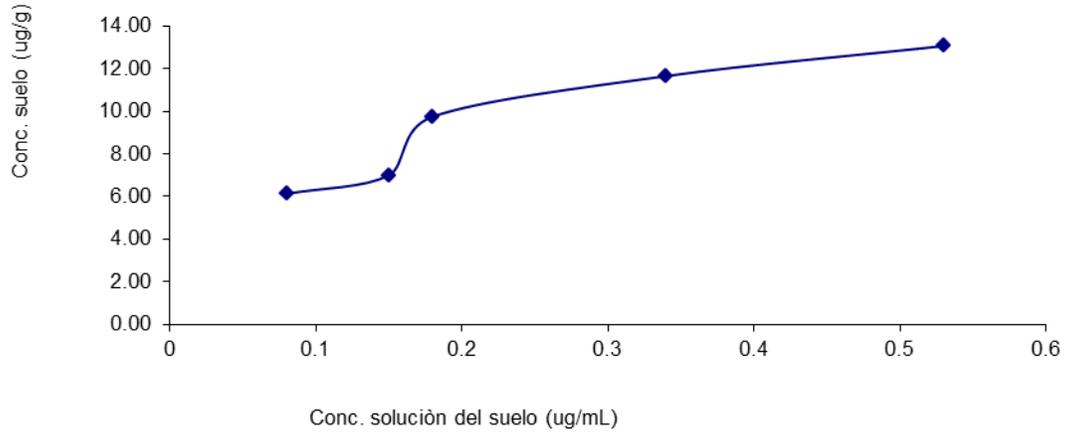
Isoterma de Freundlich para fenantreno



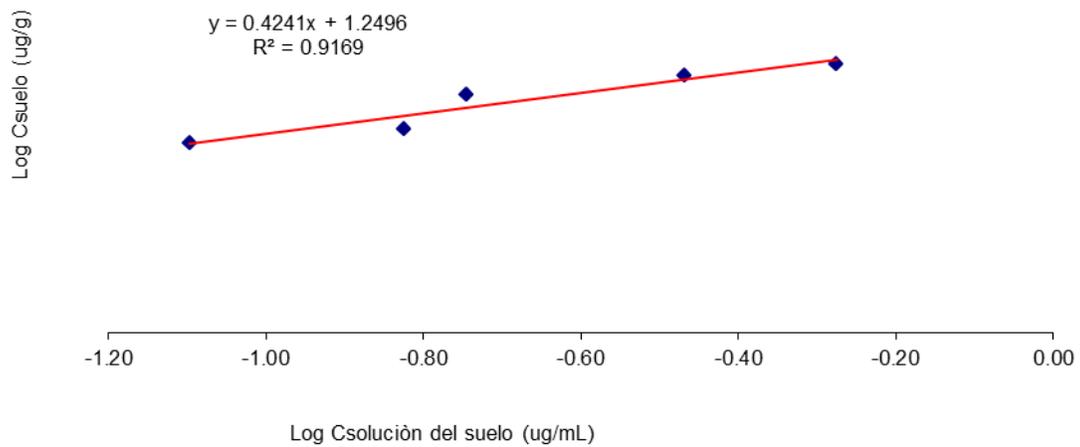
8.2 Isotermas de muestra para Fenantreno en S4

8.2.1 Isotermas de Freundlich para fenantreno en S4

Isoterma de sorción para Fenantreno

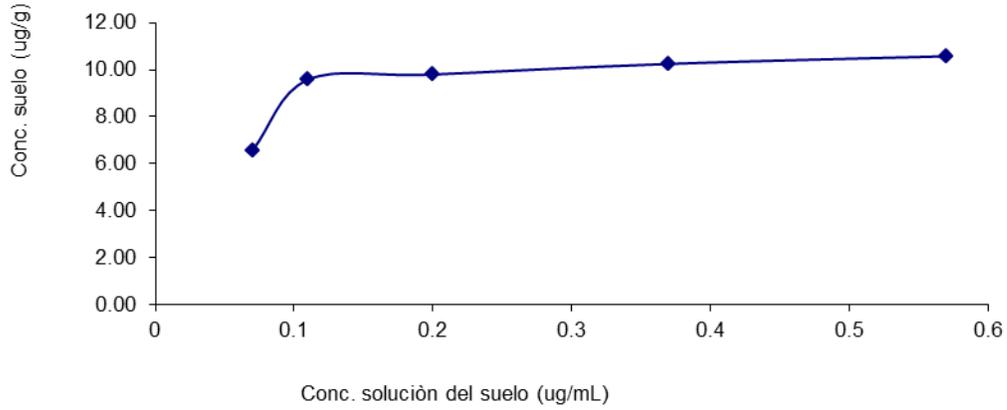


Isoterma de Freundlich para fenantreno

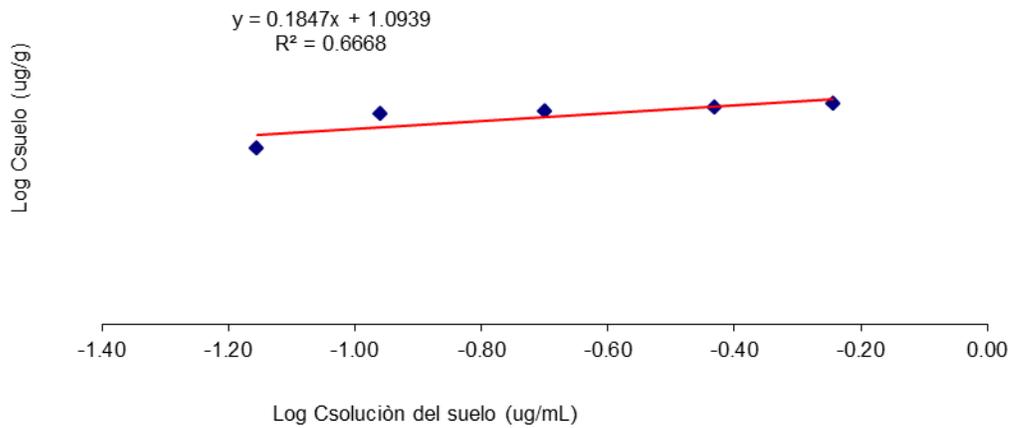


8.2.2 Isotérmicas de Freundlich para fenantreno en S4 adicionado con carbonilla

Isoterma de sorción para Fenantreno



Isoterma de Freundlich para fenantreno



Application of Programmed Temperature Vaporization Large Volume Injection Gas Chromatography (PTV-LVI-GC) to the Analysis of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs) in Soils

Miguel Ángel Delgadillo-Marín,¹ Araceli Peña-Álvarez,^{1*} and Mario Villalobos²

¹ Facultad de Química, Departamento de Química Analítica, Universidad Nacional Autónoma de México, México D.F. 04510, México. arpeal@unam.mx

² Instituto de Geología, Departamento de Geoquímica, Universidad Nacional Autónoma de México, 04510 México D.F., México.

Received September 7, 2012; accepted April 11, 2013

Abstract. A sensitive, selective and robust method was developed to quantify low levels of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in soils by means of Programmed Temperature Vaporization - Large Volume Injection (PTV-LVI) coupled to gas chromatography with flame ionization detection. Optimal vent pressure and flux at the PTV inlet of the GC system were determined by comparison of peak areas obtained from injection of a standard PAHs mixture at different conditions. Assessment of method performance was carried out with home-made standards prepared by spiking three non-PAH contaminated soils that contained 1.8%, 4.6% and 25% natural organic matter (NOM), with mixtures of six different PAHs at low concentration levels. Detection limits between 9 and 12 ng g⁻¹ and variation coefficients below 11% were determined from analysis of spiked samples of the soil with lowest NOM content. PAHs recoveries typically ranged from 61% to 96% for the three studied soils.

Key words: polycyclic aromatic hydrocarbons, PAH; large volume injection, programmed temperature vaporization, solvent vent, soil analysis.

Resumen. Se realizó la determinación de Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos (HAPs) en suelos a niveles de trazas, utilizando cromatografía de gases con detector de ionización de llama por medio de la inyección de grandes volúmenes con temperatura de vaporización programada (IGV-TVP). Las condiciones óptimas de flujo y presión del inyector TVP se determinaron por comparación de las áreas de pico obtenidas al inyectar una mezcla estándar de HAPs variando estos parámetros. La evaluación del método desarrollado se realizó usando tres diferentes muestras de suelo con contenidos de 1.8%, 4.6% y 25% de materia orgánica (MO), las cuales fueron fortificadas con mezclas de seis HAPs a bajos niveles de concentración. Se determinaron límites de detección entre 9 y 12 ng g⁻¹ y coeficientes de variación menores a 11% en el análisis de muestras fortificadas del suelo con menor contenido de MO. Las recuperaciones de los HAPs en los tres tipos de suelo estudiados estuvieron en general comprendidas en el intervalo de 61 a 96%.

Palabras clave: Hidrocarburos aromáticos policíclicos, HAPs, inyección de grandes volúmenes, temperatura de vaporización programada, venteo de disolvente, análisis de suelo.

Introduction

Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs) are enlisted as priority environmental pollutants by the United States Environmental Protection Agency (USEPA), due to their high toxicity and proven carcinogenic effects to humans [1]. These compounds are widely spread in the environment and mainly arise from incomplete fuel combustion, associated with vehicular traffic and diverse industrial processes, and from activities related to petroleum extraction and transport, as well as energy generation industries [1, 2]. Thus, contamination of soil with PAHs may occur via atmospheric deposition of PAH-associated particulate matter in air, or due to oil spills at petroleum activity sites [1-3].

Routine analysis is required for assessment of the progress and efficiency of soil remediation strategies and methods. For this, very high sensitivities and low detection limits are desired when applied to PAHs trace analysis. These are often achieved by means of gas chromatography (GC) using splitless injection coupled with mass spectrometry (MS) detection because it provides low detection limits [*ca.* 0.7-28 ng mL⁻¹ in full scan mode and 0.8-18 ng mL⁻¹ in selected ion monitoring (SIM) mode for a group of 26 PAHs], and allows differentiation of the matrix interferences and a simultaneous identification and

quantification of the analytes [4]. However, the costs associated with the acquisition and operations of a CG-MS system and its maintenance are considerably higher than those of the simpler GC with Flame Ionization Detection (FID).

Large volume injection (LVI) is an excellent alternative for use of the latter technique, and in fact may become a prerequisite for determination of trace components because it increases sensitivity and reduces the need to pre-concentrate the extract for analysis [5-9]. Programmed temperature vaporization (PTV) in solvent split mode is one of the most commonly applied LVI methods when the analyte is present in complex matrices because the PTV inlet allows a solvent elimination step and pre-concentration of analytes in the liner, and the transfer of compounds to the analytical column is performed by a vaporizer program [5]. Thus, after an appropriate clean up procedure of the sample, remaining matrix interferences can be readily eliminated. The injector temperature program decreases loss from volatilization of low molecular weight compounds and the discrimination of high molecular weight compounds, also improving focusing at the entrance of the analytical column.

The PTV injector is similar to a conventional split/splitless injector because in both systems the sample is injected to a liner placed inside a thermal device. However, the PTV injector is equipped with a very sophisticated temperature control function

and can be rapidly heated or cooled during injection, while the conventional split/splitless injector is isothermal. In LVI, the PTV inlet must be used in solvent vent mode, which allows the solvent excess to be vented out through the PTV split purge, after setting the optimal vent flow, pressure, and time parameters.

A brief principle of the solvent vent injection is as follows: first, the sample is introduced at low temperature (below solvent boiling point); then, solvent is eliminated (at optimal conditions) via split purge while the analytes are retained in the liner; then, the PTV inlet is quickly heated (up to 12 °C s⁻¹) and the retained analytes are transferred to the analytical column in splitless mode, keeping the oven temperature below solvent boiling temperature to refocus the analytes at the front of the analytical column; finally, after the splitless transfer, the split purge is reopened to remove residual solvent vapor and low-volatile matrix compounds from the inlet. This improvement could lead to the complete elimination of pre-concentration steps in the analysis of samples containing trace compounds. Although these options of the PTV inlet offer a great advantage and versatility in applications for the trace determination of pollutants, the optimization of parameters is not easy, since the vent flow, vent pressure and vent time must be carefully adjusted in order to obtain reliable and reproducible results in the analysis.

The PTV-LVI-GC method has been applied to a wide range of analytes, including PAHs, in a large number of matrices [5], but to our knowledge only one application of PAH analysis in soils has been previously published using PTV-LVI [6]. However, the GC effluent analysis in that investigation was performed via MS detection, so explicit optimization of the PTV conditions was not required and the work focused more on evaluating the efficiency of the miniature pressurized soil extraction procedure proposed by the authors.

The goal of the present work was to identify and carefully optimize the crucial parameters related to the solvent vent mode in the PTV-LVI method, which is required for its application in the routine analysis of trace concentrations of PAHs in soil extracts using GC-FID. Three non-contaminated soils with different organic matter content, spiked with mixtures of low concentrations of PAHs and allowed to reach sorption equilibrium were employed for the assessment of method performance. Two remediated soil samples were additionally tested with the developed method, which may be applicable as well to other trace organic soil contaminants.

Results and Discussion

Soil characterization and clean up

Results of soils characterization are listed in Table 1. The most important soil parameter for retention of PAHs and organic contaminants in general is the natural organic matter (NOM) content, and as such the three chosen soils span over a wide range representative of low, medium and high NOM contents (1.8%, 4.6% and 25%).

Table 1. Identification and physico-chemical properties of spiked soils

Property	Soil type		
	Luvisol	Acrisol	Histosol ^b
pH ^a	6.7	6.0	Nd
Conductivity (μS/cm) ^a	107	95	Nd
Organic carbon (%)	1.1	2.7	14.7
Organic matter (%)	1.8	4.6	25
Clay (%)	20.8	34.5	Nd
Sand (%)	30.0	29.0	Nd
Silt (%)	49.2	32.0	Nd

^a25 °C.

^bNd = not determined. The crucial property of this histosol for the purposes of our work was its extremely high humic matter content. Other properties were not determined.

Removal of the saponified fraction of the soil during the extraction procedure considerably reduced the background matrix signals in chromatograms (Figs. 1a,b). This procedure only removes saponifiable compounds, such as lipids present in soil, which can be co-extracted with PAHs. Recovery of PAHs after the saponification procedure was evaluated at *ca.* 10-100 times quantification limit levels and showed no negative effects, as compared to recoveries obtained when excluding this step. The procedure was nevertheless required to decrease noise levels and thus detection limits.

A total ion chromatogram (TIC) of a PAH-spiked soil after the clean up procedure (Fig 1c) showed that the proper resolution had been attained between the analytes and the matrix interferences, and thus that FID could indeed be used instead for quantitative analysis. The clean up step was evaluated further as part of the complete procedure by computing the final PAHs recoveries (below).

Optimization of PTV conditions and efficiency comparison

LVI in solvent vent mode involves preconcentration of the sample inside the PTV inlet, thus, the solvent excess should be evaporated to avoid liner flooding but taking care of not losing the analytes. In the solvent elimination step, the injector temperature must be below the solvent boiling point [7-11]. The temperature of solvent elimination is important since it must prevent the analytes to be mixed with the solvent vapour. The success of the solvent elimination and analyte preconcentration steps in the PTV inlet depends on the solvent evaporation temperature, vent flow, vent pressure and vent time (solvent evaporation time).

Parameters of the PTV inlet were optimized for use of LVI (50 μL). Considering the boiling point of the solvent used for soil extraction (toluene b.p. 110 °C), the temperature during solvent vent was set to 60 °C (initial inlet temperature), and vent pressure and vent flow were varied at this fixed temperature with a solvent vent time of 1.4 min (time of multiple injection sequence). Figure 2 shows that the GC peak areas

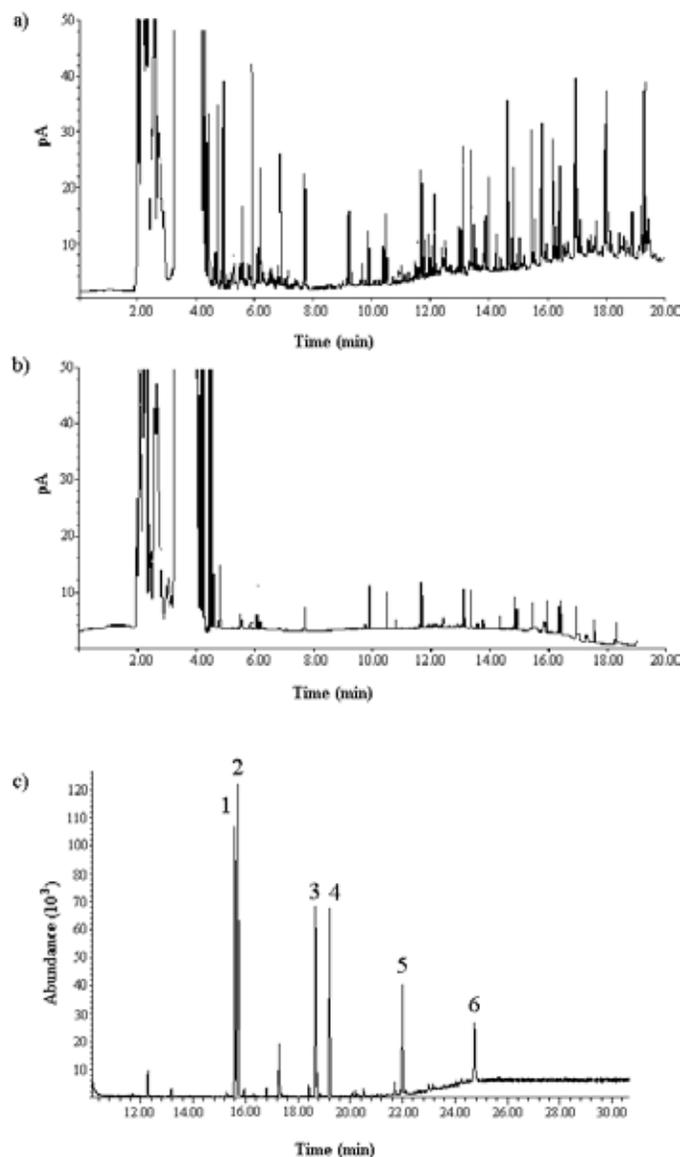


Fig. 1. PTV-LVI-FID chromatogram (50 μL) of blank soil extract (a) before, and (b) after the cleanup procedure; c) total ion chromatogram with splitless injection (1 μL) of spiked soil extract (1 $\mu\text{g mL}^{-1}$) after the clean up step. The number assignments refer to: 1. Phenanthrene, 2. Anthracene, 3. Fluoranthene, 4. Pyrene, 5. Chrysene and 6. Benzo(a)pyrene.

of analyzed PAHs were highly sensitive to the vent pressure imposed, except for phenanthrene and anthracene. An optimal pressure of 10.3 kPa was selected, in accordance with the largest peak area obtained for all PAHs. Peak areas were also highly sensitive to vent flow but only when transitioning from a region below 60 mL min^{-1} to *ca.* 100 mL min^{-1} , again except for phenanthrene and anthracene (Fig. 3). Optimal vent flow was considered at 100 mL min^{-1} for all analyzed PAHs. These conditions were thus used henceforth to analyze PAHs at trace levels.

Figure 4 shows a comparison of chromatograms obtained from analysis of a 500 ng mL^{-1} mixed PAHs standard solution

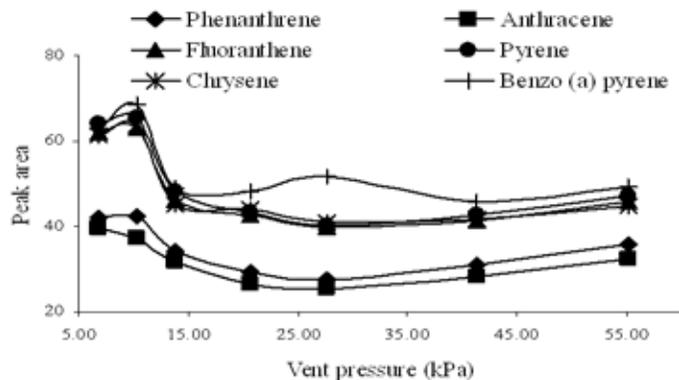


Fig. 2. Optimization of vent pressure in PTV-LVI for 1 $\mu\text{g mL}^{-1}$ mixed PAHs standard solution in toluene. The vent flow was set to 50 mL min^{-1} .

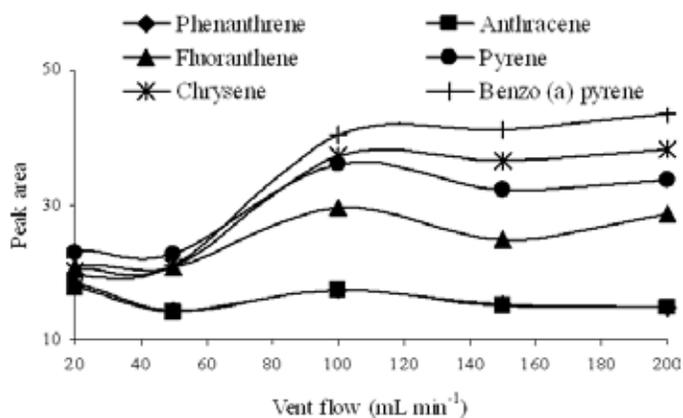


Fig. 3. Optimization of vent flow in PTV-LVI for 500 ng mL^{-1} mixed PAHs standard solution in toluene. The vent pressure was set to 10.3 kPa.

using splitless injection of 1.0 μL (Fig 4.a) and PTV-LVI of 50 μL (Fig. 4.b), both under the same chromatographic conditions. The increase in sensitivity with LVI, as compared to splitless injection, is evident from the larger peak heights and areas, as well as a decrease in the height of the solvent peak. Thus, adequate preconcentration of the compounds of interest in the liner before being transferred to the analytical column and a decrease in analyte discrimination may be inferred.

PTV injection in solvent vent mode allows large volume injections without flooding the chromatographic system since the solvent vapour volume that transfers to the analytical column is smaller than in splitless injection. Furthermore, the PTV inlet is quickly heated and analytes are transferred to the analytical column, while keeping the oven temperature below solvent boiling temperature to refocus the compounds of interest at the beginning of the analytical column. Overall chromatographic efficiency was improved with PTV-LVI as shown in Table 2, since peak areas were larger for all six compounds and their calculated plate heights (H) and peak widths were smaller than for splitless injection. Finally, reproducibility for PTV-LVI despite being lower than for splitless injection, was

Table 2. Chromatographic efficiency comparison of PTV-LVI and splitless injection for a mixed PAHs standard solution of 500 ng mL⁻¹*

Compound	Splitless				PTV-LVI			
	Peak Area (±SD)	RSD (%)	H (μm)	Peak width (min)	Peak Area (±SD)	RSD (%)	H (μm)	Peak width (min)
Phenanthrene	11.7 ± 0.27	2.3	52	0.038	196 ± 16.5	8.4	12	0.017
Anthracene	11.2 ± 0.25	2.2	44	0.035	214 ± 18.8	8.8	12	0.018
Fluoranthene	10.7 ± 0.36	3.4	33	0.034	213 ± 16.2	7.6	9.4	0.017
Pyrene	11.0 ± 0.32	2.9	36	0.036	253 ± 22	8.7	9.1	0.017
Chrysene	9.6 ± 0.33	3.4	23	0.032	222 ± 18.6	8.4	6.9	0.017
Benzo a pyrene	8.2 ± 0.26	3.2	15	0.029	200 ± 16.2	8.1	8.9	0.021

*10 injections of 5 μL each for PTV-LVI and 1 injection of 1 μL for splitless were performed ($n = 3$).

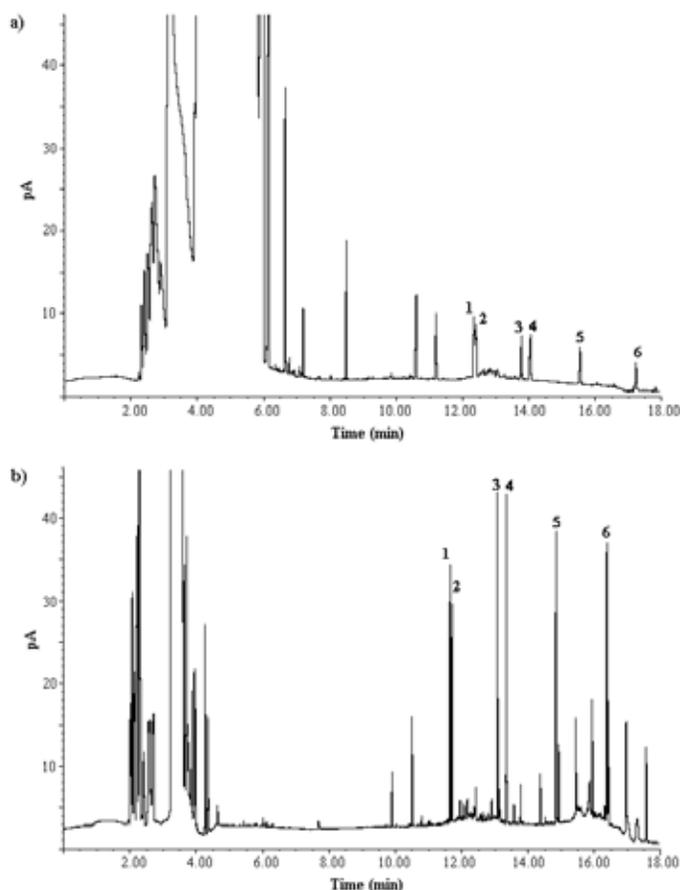


Fig. 4. Chromatograms of 500 ng mL⁻¹ mixed PAHs standard solution in toluene by (a) splitless injection (1 μL), and (b) solvent vent mode (50 μL). Peak assignments as shown in Figure 1.

quite acceptable (% RSD < 10% for all compounds), given the many variables involved in PTV performance.

Detection limits of PTV-LVI-GC/FID system

Precision of the developed PTV-LVI method was not greatly affected when diluting ten times the previous mixed PAHs solution (50 μg L⁻¹). RSD values obtained from seven replicate injections in the GC system (peak area variability) and standard

deviation (SD) in concentration units are reported in Table 3. Calculated detection and quantification limits for each investigated PAH were quite favourable and ranged from 13-27 μg L⁻¹ and from 44-92 μg L⁻¹, respectively, in the GC analysis only. The overall detection limits for PAH soil analysis will be discussed in the following section.

Quantification of PAHs in soils

Quantification of PAHs in the spiked soil samples and in the remediated soil samples was carried out with the optimal conditions for PTV-LVI. The Luvisol sample spiked at 50 ng g⁻¹ of each PAH was used to determine the method detection limits. Table 4 shows recoveries and detection limits for each PAH in a seven-replicate experiment at this soil-spike level. Recovery was lowest for pyrene (76%) and highest for anthracene and phenanthrene (96% and 92%, respectively), and the detection limits were quite satisfying, in some cases reaching levels down to <10 ng g⁻¹.

Table 5 shows the precision and recovery values for the other two soils at different spike levels. The relative standard deviation of concentration measurements in the Acrisol soil was higher than in the Luvisol sample, despite a twice-fold spike level for the former. On the contrary, precision was simi-

Table 3. Precision and sensitivity of the optimized PTV-LVI method using a 50 μg L⁻¹ mixed PAHs standard solution.*

Compound	RSD (%)	SD (μg L ⁻¹)	LOD [#] (μg L ⁻¹)	LOQ [†] (μg L ⁻¹)
Phenanthrene	8.7	4.35	13	44
Anthracene	15.8	7.9	24	79
Fluoranthene	14.7	7.35	22	74
Pyrene	13.3	6.65	20	66
Chrysene	16.8	8.4	25	84
Benzo a pyrene	18.3	9.15	27	92

*From 7 injections of 50 μL.

[#]Limit of detection, calculated from three times the absolute standard deviation.

[†]Limit of quantification, calculated from ten times the absolute standard deviation.

Table 4. Quantification of PAHs in 50 ng g⁻¹-spiked Luvisol soil samples equilibrated for 9 days using PTV-LVI-GC (*n* = 7).

Compound	Concentration (ng g ⁻¹ soil)	Recovery (%)	LOD* (ng g ⁻¹ soil)	LOQ# (ng g ⁻¹ soil)
Phenanthrene	46 ± 3	92	9	30
Anthracene	48 ± 4	96	12	40
Fluoranthene	44 ± 3	88	9	30
Pyrene	38 ± 4	76	12	40
Chrysene	43 ± 3	86	9	30
Benzo a pyrene	41 ± 4	82	12	40

*Limit of detection.

#Limit of quantification.

Table 5. Quantification of PAHs in spiked Acrisol and Histosol soil samples using PTV-LVI-GC (*n* = 3).

Compound	Acrisol*		Histosol#	
	Concentration (ng g ⁻¹ soil)	Recovery (%)	Concentration (ng g ⁻¹ soil)	Recovery (%)
Phenanthrene	84 ± 23	84	926 ± 108	93
Anthracene	71 ± 17	71	813 ± 15	81
Fluoranthene	73 ± 19	73	750 ± 20	75
Pyrene	61 ± 16	61	609 ± 5	61
Chrysene	68 ± 20	68	364 ± 36	36
Benzo(a)pyrene	76 ± 24	76	732 ± 76	73

*100 ng g⁻¹ mixed PAH spike, equilibrated for 5 days.#1000 ng g⁻¹ mixed PAH spike, equilibrated for 7 days.

lar or even better for Histosol as compared to Luvisol which is certainly due to the twenty times higher spike concentration in the former. PAH recoveries from both, Acrisol and Histosol samples, were somewhat lower than those from Luvisol (excepting phenanthrene in Histosol). Pyrene recovery was again lowest in Acrisol and second lowest in Histosol (61% for both), whereas phenanthrene recovery was highest in these soils. A particular case was that of chrysene, whose recovery from Histosol decreased to a low 36%, probably due to specific interactions with some components of the soil matrix. In general, recovery trends seem to be more or less dependent on PAH's hydrophobicity, however, a relation with the carbon content of soils is not apparent.

From independent experiments separating the different steps of the procedure it is safe to state that the lack of 100% recoveries of PAHs in soils was almost exclusively due to incomplete extraction, and not to problems associated with subsequent steps of the procedure.

Analyses of remediated soils

The analytical method developed and tested with standards made from artificially-contaminated soils of different NOM content, was applied to the analysis of two remediated soil samples originally contaminated from oil spills. Table 6 shows

that levels approaching quantification limits were found for fluoranthene, pyrene and benzo(a)pyrene in one soil, and for fluoranthene and chrysene in the other soil. These results bear proof that the proposed method can be successfully applied to and made to be effective in real contaminated soil scenarios.

Concluding remarks

Routine analysis of low levels of PAHs sorbed to the complex organic matrices of soils poses an analytical challenge if cost reduction is desired. In the present work it was shown that it is possible to analyze PAHs in soils down to 40 ng g⁻¹ levels by using PTV-LVI coupled with GC-FID detection, but the extracted samples require a preliminary clean up step through a simultaneous saponification procedure. Proper PTV injection allows co-extracted interferents to remain in the liner and separate adequately from the analytes. Volumes of 50 µL final toluene extracts were injected at the PTV inlet and an optimal vent pressure of 10.3 kPa and vent flow of 100 mL min⁻¹ were found to yield the highest PAHs sensitivities. The proposed method showed recoveries from artificially PAH-contaminated soils (with different organic matter contents) that ranged from 61% to 96% depending on the particular PAH and soil investigated, except for one outlier of 36%.

Table 6. Quantification of PAHs in remediated soil samples using PTV-LVI-GC (n = 3)*

Compound	RS 1 (ng g ⁻¹ soil)	RS 2 (ng g ⁻¹ soil)
Phenanthrene	N.D.	N.D.
Anthracene	N.D.	N.D.
Fluoranthene	54 ± 4	63 ± 6
Pyrene	65 ± 3	N.D.
Chrysene	N.D.	56 ± 5
Benzo(a)pyrene	60 ± 5	N.D.

*N.D. = Not detected.

As such, automated injection of large volume samples using solvent vent mode in PTV proved to be a robust technique in GC-FID analysis of PAHs in soils, and may be applicable to the analysis of trace pollutants in dirty matrices of environmental samples in general, and thus aide in the assessment of environmental remediation efforts for organic contaminants.

Experimental

Chemicals

The following six PAHs were chosen for development of a PTV-LVI-GC method with application to soil analysis: Phenanthrene, Anthracene, Fluoranthene, Pyrene, Chrysene and Benzo(a)pyrene. These were selected to represent PAHs composed of a range of 3-5 rings and of high toxicity, notably benzo(a)pyrene. Standard solutions of individual PAHs, at 500 ng mL⁻¹ and 50 ng mL⁻¹ each, were prepared in toluene for determination of analytical parameters. Mixed solutions composed of identical concentrations of the six PAHs were additionally prepared to spike soil samples at different ratios. All standard reagents were supplied by Sigma-Aldrich (USA). Toluene 99.98% and methanol 99.99%, and calcium chloride 99.5% and anhydrous sodium sulphate 99.4 % were supplied by J.T. Baker (USA). Toluene was distilled three times in order to reduce impurities that could interfere in the analysis. Potassium hydroxide 87.9% was supplied by Mallinckrodt Baker (Mexico).

Sample preparation and general soil analyses

Three non PAH-contaminated soil samples were used as home-made standard materials to evaluate method performance. These soils were spiked with accurate concentrations of mixed PAH solutions and left to reach sorption equilibrium to the soil humic material. One of the soils (Luvisol) was collected from Nanchital, Veracruz, Mexico, a near-coastal region on the Gulf of Mexico with an important industrial and oil activity; the other two sampled soils (Acrisol and Histosol) were collected from the State of Tabasco, East of Veracruz and also on the Gulf of Mexico Coast. The soil samples were air-dried, disaggregated, and sieved through a 2-mm mesh, and stored dry until analysis.

The soil samples were characterized by type of soil, pH, electrical conductivity (EC), organic matter (OM) content, and size fractions of clay, silt and sand. The pH and EC measurements were performed in 5:1 (v/m) water-soil suspensions using deionized water and the appropriate electrode for each determination. The size fractions of clays, silt and sand were obtained by the Bouyoucos method [12, 13], which is based on their differential sedimentations rates in aqueous suspension columns. The OM content was determined with a total organic carbon analyzer for solids (TOC, Teledyne-Tekmar, USA).

The soil samples were analyzed to verify that they did not contain PAHs. Then, they were prepared for use as standard materials according to the following procedure: 10 g of soil were spiked with 5 mL of the next aqueous solutions, 0.01 M calcium chloride [14-17], 200 µg mL⁻¹ mercury chloride (as microbial inhibitor) and 100 µg L⁻¹, 200 µg L⁻¹, or 2000 µg L⁻¹ of mixed PAH solutions in replicates of seven, three, and three for the Luvisol, Acrisol, and Histosol, respectively. All soil samples were maintained at constant temperature and pressure (23 °C and 78 kPa) for a period of time in large excess of that determined in previous preliminary experiments to reach sorption equilibrium. The times were nine, five and seven days for the Luvisol, Acrisol and Histosol, respectively.

After equilibration of the spiked sample replicates, extraction and clean up of samples were performed as follows: 1) the solid components were separated by filtration (0.45 µm nylon membranes), 2) they were transferred to the Soxhlet apparatus in a cellulose thimble and extracted for 16 h with 20 mL of a toluene-methanol mixture (6:1 v/v) [18] and 10 mL of KOH solution in 10% methanol-water, 3) the aqueous phase was separated to remove the saponified fraction, thus, reducing interferences from the soil matrix, the organic extract was washed with distilled water to eliminate excess KOH, and dried with anhydrous sodium sulphate, 4) the extract was then evaporated under a low nitrogen stream and reduced to 5 mL in a volumetric flask. The final extract was injected in solvent vent mode in the PTV-GC at optimal conditions. Quantification of target compounds in soil extracts was carried out by external standardization, using calibration curves obtained from analysis of standard PAHs mixtures directly injected (50 µL) in the PTV-GC/FID system. Regression analysis of calibration data confirmed linear behaviour in the concentration range 50-2500 ng mL⁻¹ for all PAHs, with r² values higher than 0.990.

Two additional PAH-contaminated soil samples that had been previously remediated by a thermal procedure were obtained from Veracruz, Mexico, and prepared for analysis as described for the non-contaminated soils. The remediated soil samples were analyzed in triplicate using the external standard calibration method for quantification.

Gas chromatography

GC analyses were performed with an Agilent Technologies 6890N gas chromatograph equipped with an Agilent 7683B Series autosampler, FID detector and PTV inlet. The chromatograph was fitted with a Zebron ZB-5, 30 m × 0.25 mm I.D. × 0.25 µm F.T. fused silica capillary column. Data were collected

in an Agilent Chem Station A.10.01. The initial column temperature was held at 60 °C for 2 min, then programmed at 10 °C min⁻¹ to 90 °C, and finally at 20 °C min⁻¹ to 320 °C, which was held for 8 min. Hydrogen (99.98%) at 1.4 mL min⁻¹ was used as carrier gas.

GC-MS analyses were performed with a Hewlett Packard 5890 gas chromatograph equipped with a Hewlett Packard 5971 mass selective detector and split/splitless injector. The acquisition of MS data was done in scan mode by electron impact at 70 eV (50-550 m/z). The chromatograph was fitted with a Zebron ZB-5, 30 m × 0.25 mm I.D. × 0.25 µm F.T. fused silica capillary column. The oven temperature program was the same as the one used in GC-FID, previously described. Helium (99.999 %) at 1.3 mL min⁻¹ was used as carrier gas. Splitless mode (2 min) at 280 °C was used for injection of samples. The interface temperature was maintained at 280 °C.

PTV inlet conditions and efficiency evaluation

PTV-LVI was performed with an Agilent PTV inlet equipped with a deactivated liner multi baffles. The sample (50 µL) was introduced in the injector using a multiple injections sequence. Ten replicate 5 µL injections of each extract were carried out with an auto sampler equipped with a 10 µL syringe and delay between injections of 1 s. The PTV inlet initial temperature was 60 °C for 1.5 min. The vent flow was varied from 10 mL min⁻¹ to 210 mL min⁻¹, and the vent pressure from 7 to 55 kPa to evaluate the GC detection response. The vent flow and pressure were held for 1.4 min, and the flow split purge was held at 50 mL min⁻¹ for 1.5 min; afterwards, the split valve was closed and the liner was flash heated at 8.3 °C s⁻¹ to 350 °C, which was held for 3 min. The chromatographic efficiency of PTV-LVI and traditional splitless injection was compared by calculating the plate height count (H) for each analyte peak; a standard solution of PAHs (500 ng mL⁻¹) was injected in both injection modes using the same chromatographic conditions (gas carrier, flow in analytical column, oven temperature program and FID temperature).

Acknowledgments

The authors would like to thank Lucy Mora from the Edaphology Laboratory of the Geology Institute at UNAM for her help in characterizing the soils; also Rutilio Ortiz from LAFQA, Geography Institute at UNAM for providing two of the soil samples used in the study. Finally we acknowledge funding from UNAM PAPIIT project number IN-204808, and CONA-CyT doctoral fellowship number 195813 for M.A.D.M.

References

- Schwarzenbach, P.R.; Gschwend, P.; Imboden, D. *Environmental organic chemistry*. John Wiley & Sons, New Jersey, **2003**.
- Baird, C. *Environmental chemistry*. Ed. Reverte, Madrid, **2001**.
- Cepeda, J. *Química del suelo*. Ed. Trillas, México, **1991**.
- Fernández-González, V.; Concha-Graña, E.; Muniategui-Lorenzo, S.; López-Mahía, P.; Prada-Rodríguez, D. *Talanta*. **2008**, *74*, 1096-1103.
- Hoh, E.; Mastovska, K. *J. Chromatogr. A* **2008**, *1186*, 2-15.
- Ramos, L.; Vreuls, J. J.; Brinkman, U. A. Th. *J. Chromatogr. A* **2000**, *891*, 275-286.
- Hans, J.; Manfred, L. *J. Chromatogr. A* **1996**, *727*, 275-284.
- Tesque, J.; Engewald, W. *Trends Anal. Chem.* **2002**, *21*, 584-593.
- Jeroen, C. B.; Hans, G. J. *J. Chromatogr. A* **1996**, *724*, 384-391.
- Laub, R. J.; Pecsok, R. L. *Physicochemical applications of gas chromatography*. John Wiley & Sons, New York, **1978**.
- Krauss, M.; Wilcke, W. *Chemosphere* **2005**, *59*, 1507-1516.
- Villegas, S.; Aerie, H. *Método simplificado para análisis granulométrico y clasificación de suelos*. Ed. Universidad Nacional Autónoma de México, México, **1978**.
- Rouessac, F. *Modern Analytical Methods*. Addison-Wiley, California, **1998**.
- Krauss, M.; Wilcke, W.; Zech, W. *Environ. Pollut.* **2000**, *110*, 79-88.
- Jonker, T. O.; Koelmans, A. *Environ. Sci. Technol.* **2002**, *36*, 4107-4115.
- Tollbäck, P.; Björklund, J.; Stman, C. O. *J. Chromatogr. A* **2003**, *991*, 241-249.
- Yusa, V.; Quintas, G.; Pardo, O. *Talanta* **2006**, *69*, 807-815.
- Hwang, S.; Cutright, T. J. *Environ. Int.* **2004**, *30*, 151-158.