

00578



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA  
DE MEXICO

FACULTAD DE QUIMICA

ESTUDIOS DE ESPECTROSCOPIAS DE  
FLUORESCENCIA Y MASAS EN SUELOS  
CONTAMINADOS

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE:  
MAESTRO EN CIENCIAS QUIMICAS  
QUIMICO AMBIENTAL  
P R E S E N T A :  
Q. A. ROLANDO SALVADOR GARCIA GOMEZ



MEXICO, D. F.

2000



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.

**Jurado asignado:**

<b>Presidente</b>	Dra. Guillermina Burillo Amezcua <sup>(1)</sup>
<b>Vocal</b>	Dra. María Leticia T. Rosales Hoz <sup>(2)</sup>
<b>Secretario</b>	M. en C. Francisco Rojo Callejas <sup>(3)</sup>
<b>Primer suplente</b>	Dra. Carmen Durán de Bazúa <sup>(3)</sup>
<b>Segundo suplente</b>	Dr. Plinio Sosa Fernández <sup>(3)</sup>
<b>Asesor del tema</b>	Dr. Pandiyan Thangarasu <sup>(3)</sup>
<b>Supervisión Técnica</b>	Q. Victoria E. Aguilar Iris <sup>(4)</sup>

**Lugar donde se realizó la investigación:**

- (I) Laboratorio Central del Instituto Mexicano del Petróleo (IMP)  
Laboratorio 112 de Espectrometrías y Química Ambiental
- (II) Laboratorios E-301 a 303 del Programa de Ingeniería Química Ambiental y  
Química Ambiental (PIQAYQA) de la Facultad de Química de la UNAM
- (III) Laboratorio B-201 del Grupo de Investigación de Tecnologías más Limpias de la  
Facultad de Química de la UNAM

**Sustentante**

Q. A. Rolando Salvador García Gómez

---

(1) Instituto de Ciencias Nucleares, UNAM  
(2) Instituto de Ciencias del Mar y Limnología, UNAM  
(3) Facultad de Química, UNAM  
(4) Laboratorio Central del Instituto Mexicano del Petróleo

## Agradecimientos

- ♦ Al *Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología* (CONACYT), por el apoyo económico otorgado durante la realización de los estudios de Maestría
- ♦ Al *Instituto Mexicano del Petróleo* (IMP), por el apoyo otorgado para la culminación de esta tesis mediante el proyecto FIES-96F48-VI
- ♦ Al apoyo recibido por la *Dirección General de Asuntos del Personal Académico* mediante el proyecto DGAPA IN205398
- ♦ Al Ing. *Lino Comroy Paz* por las facilidades brindadas en todo momento y por permitirme realizar tanto la parte experimental, como la escrita en el laboratorio de espectrometrías del IMP
- ♦ Al Dr *Pandiyán Thangarasu*, por el tiempo dedicado para la dirección y asesoría de esta tesis, así como por la amistad brindada
- ♦ Un especial agradecimiento a la Q *Victoria Aguilar Iris*, por la asesoría recibida durante la realización experimental, así como por el tiempo dedicado durante la escritura de la misma y sus acertados comentarios en todo momento
- ♦ Al *jurado revisor* por la colaboración, tiempo y esmero dedicado para la rápida revisión de la tesis
- ♦ A la Dra *Carmen Durán de Bazúa*, por su amistad, apoyo, y por la rápida revisión del escrito final
- ♦ A la Biol *Marcela R. F. Q. Francisco M. G. Tec Jorge Z. A.* y "*Don Rafa*", por su amistad, ayuda y compañerismo recibido en el laboratorio de espectrometrías del IMP
- ♦ A mis compañeros de generación de Maestría, Personal Académico., Técnico y Administrativo del Lab B-201 y E-301, en especial a *Mari, Miriam y Rosaura* por su ayuda en el cromatógrafo de gases
- ♦ A mis amigos: *Adri, Angel, Coni, Gabby "Vida mía", Gabriel, Ger, Male, Marcos, Moni, Tere y Raúl* por su amistad y la exclusividad de que en sus corazones gozo. Gracias.
- ♦ A *Dios* que me permitió terminar nuevamente una meta mas en mi vida, y a *mi familia* por su comprensión y apoyo incondicional

*Rolando S. García Gómez*

## ÍNDICE

	página
RESUMEN	1
ABSTRACT	2
CAPÍTULO I. PROBLEMÁTICA	3
1.1 El suelo como componente del ambiente	3
1.2 Problemática	3
1.3 El petróleo y sus derivados	4
1.3.1 Clasificación de los hidrocarburos	5
1.3.2 Contaminación por hidrocarburos aromáticos policíclicos	7
1.3.3 Reacciones que presentan este tipo de compuestos	7
1.3.4 Reacciones bioquímicas involucradas en la eliminación de estos compuestos	8
1.4 OBJETIVOS	11
1.4.1 Objetivo general	11
1.4.2 Objetivos particulares	11
CAPÍTULO II. FUNDAMENTOS ANALÍTICOS	12
2.1 Técnicas principales para medir contaminación en suelo	12
2.2 Técnicas espectroscópicas y cromatográficas	13
2.2.1 Espectroscopía infrarroja	13
2.2.2 Cromatografía de gases	13
2.2.3 Espectrometría de masas	14
2.2.3.1 Cromatografía de gases – espectrometría de masas	15
2.2.4 Espectroscopía de fluorescencia	15

2.2.4.1	Importancia de esta técnica	15
2.2.4.2	Fundamento y obtención de espectros de fluorescencia	15
2.2.4.3	Requisitos que deben de cumplir los compuestos para analizarse por esta técnica	16
2.2.3.4	Variantes en la obtención de espectros de fluorescencia	18
2.3	Análisis de los hidrocarburos aromáticos policíclicos	19
2.3.1	Propiedades fisicoquímicas y toxicológicas de estos compuestos	19
<b>CAPÍTULO III. METODOLOGÍA</b>		23
3.1	Obtención y caracterización del suelo	23
3.1.1	Análisis fisicoquímico del suelo	23
3.2	Análisis del contenido de hidrocarburos totales de petróleo (total petroleum hydrocarbons, TPH, en inglés) por espectroscopía infrarroja	24
3.2.1	Preparación de la muestra	24
3.3	Determinación de los hidrocarburos aromáticos policíclicos por espectroscopía de fluorescencia	24
3.3.1	Análisis de la muestra	25
3.4	Extracción de los hidrocarburos aromáticos policíclicos	26
3.5	Análisis de los hidrocarburos aromáticos policíclicos	27
3.5.1	Determinación de los compuestos empleando síncronos de excitación	27
3.5.2	Análisis empleando cromatografía de gases	29
3.5.3	Análisis de los compuestos por cromatografía de gases-espectrometría de masas	31

CAPÍTULO IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	33
4.1 Análisis fisicoquímico del suelo en estudio	33
4.2 Determinación de los hidrocarburos totales de petróleo en suelos HTP	34
4.3 Espectros de IR de las fracciones cromatográficas	36
4.4 Realización de las curvas de calibración de los hidrocarburos aromáticos policíclicos empleando cromatografía de gases	38
4.5 Determinación de la precisión de las inyecciones realizadas en el cromatógrafo de gases	38
4.6 Evaluación de la recuperación de la mezcla de estándares de nueve hidrocarburos aromáticos policíclicos	40
4.7 Hidrocarburos aromáticos policíclicos encontrados en las fracciones cromatográficas	41
4.8 Cromatogramas obtenidos de las pruebas realizadas al suelo de Minatitlán	43
4.9 Espectros de gases-masas del estándar de hidrocarburos aromáticos policíclicos	45
4.9.1 Espectros de gases-masas del suelo testigo y contaminado	46
4.10 Espectros de fluorescencia	50
4.10.1 Obtención de sincronos de excitación de los estándares y del suelo contaminado	52
4.11 Resumen de los métodos analíticos empleados en la muestra de suelo de Minatitlán, Ver.	55
CAPÍTULO V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	56
ANEXOS	
ANEXO I Fundamentos de los métodos empleados en la caracterización edafológica	59

ANEXO 2	Espectros de IR en fase vapor y condensada	67
ANEXO 3.	Datos para obtener la curva de calibración de los nueve hidrocarburos aromáticos policíclicos	71
ANEXO 4	Espectros de masas de los estándares empleados y de gases- masas de las cinco fracciones cromatográficas de Minatitlán, Ver.	73
ANEXO 5	Obtención de espectros de emisión por fluorescencia	83
ANEXO 6	Espectros de síncronos de excitación de nueve hidrocarburos aromáticos policíclicos y de las mezclas óptimas entre ellos	88
	BIBLIOGRAFÍA	92
	LISTADO DE FIGURAS	
Figura 1.	Ejemplo de la hidroxilación de compuestos aromáticos	9
Figura 2.	Conjunto de rutas metabólicas de la fase II del metabolismo del benceno	10
Figura 3.	Diagrama de los niveles energéticos de una molécula diatómica y las distintas emisiones que se presentan en fluorescencia y fosforescencia	18
Figura 4.	Espectros de IR de las fracciones del suelo de Minatitlán	37
Figura 5.	Curva de calibración de nueve HAP empleando cromatografía de gases	38
Figura 6.	Cromatogramas del suelo testigo, contaminado y de las cinco fracciones cromatográficas	43
Figura 7.	Espectros de gases-masas de nueve HAP y de la fracción 3 del suelo contaminado de Minatitlán	47
Figura 8.	Espectros de emisión con los cuales se realizaron la curva de calibración de la mezcla de HAP a diferentes concentraciones	51



Figura 9. Espectros de emisión de las fracciones cromatográficas del suelo de Minatitlán obtenidas en hexano	52
--	----

Figura 10. Síncronos de excitación en hexano de las fracciones del suelo contaminado	54
--	----

#### LISTADO DE TABLAS

Tabla 1. Principales refinерías del país	5
Tabla 2. Solubilidad de algunos de los HAP más persistentes en el ambiente	20
Tabla 3. Fracciones que deben obtenerse según la UNEP/IOC/IAEA	27
Tabla 4. Fracciones obtenidas empleando diferentes polaridades	27
Tabla 5. Parámetros empleados en cromatografía de gases	30
Tabla 6. Parámetros fisicoquímicos de los suelos del área de Minatitlán	34
Tabla 7. Curvas de calibración de estándares para hidrocarburos totales de Petróleo, HTP	35
Tabla 8. Reproducibilidad de inyección empleando una mezcla de estándares de 30 ppm cada uno	39
Tabla 9. Recuperación de la mezcla de hidrocarburos aromáticos policíclicos	41
Tabla 10. Fracciones obtenidas con diferentes disolventes de muestras de Minatitlán	42
Tabla 11. Iones moleculares encontrados en el estándar de los hidrocarburos aromáticos policíclicos	46
Tabla 12. Iones moleculares encontrados en las fracciones cromatográficas	50
Tabla 13. Intervalos en que se encontraron los hidrocarburos aromáticos policíclicos por espectroscopía de fluorescencia	54

Tabla 14. Resumen de los métodos analíticos empleados en la muestra de suelo de Minatitlán, Ver.	55
---	----

Tabla A. Resultados del análisis fisicoquímico	66
--	----

Tabla B. Parámetros requeridos para la obtención de espectros de IR en fase gaseosa	68
--	----

#### LISTADO DE ESQUEMAS

Esquema 1. Clasificación de los hidrocarburos	5
---	---

Esquema 2. Caracterización y extracción de suelos contaminados con hidrocarburos del petróleo	31
--	----

Esquema 3. Resumen de las metodologías empleadas en la caracterización y cuantificación de HAP	32
---	----

### Abreviaciones empleadas

ASTM	American Society for Testing and Materials
CG	Cromatógrafo de gases
CAS	Chemical Abstracts Service
EPA	Environmental Protection Agency
FID	Flame Ionization Detector
HAP	Hidrocarburos aromáticos policíclicos
HTP	Hidrocarburos totales de petróleo
HPLC	High Performance Liquid Chromatography
IMP	Instituto Mexicano del Petróleo
IR	Infrarrojo
nm	nanómetros
NAD	Dinucleótido de Niacina - Adenina
NADP	Dinucleótido de Niacina - Adenina - fosfato
NADH	Dinucleótido de Niacina - Adenina reducido
NADPH	Dinucleótido de Niacina - Adenina - fosfato reducido
ppm	Parte por millón (mg/kg de suelo)
PAH	Polycyclic Aromatic Hydrocarbons
PÉMEX	Petróleos Mexicanos
UNEP	United Nations Environment Programme
UDPGA	Ácido Uridin Difosfoglucurónico
Ver	Veracruz

## RESUMEN

Los efluentes residuales provenientes de las industrias petroleras y petroquímicas del país han contribuido en gran medida a la contaminación de la biosfera. El objetivo de este trabajo se encuentra encaminado a la determinación y cuantificación de nueve hidrocarburos aromáticos policíclicos (polycyclic aromatic hydrocarbons, PAH, en inglés) como naftaleno, acenafteno, fluoreno, fluoranteno, fenantreno, pireno, criseno, benzo(a)antraceno y dibenzo(a, h)antraceno en una muestra de suelo contaminado proveniente del pantano de Santa Alejandrina en Minatitlán, Veracruz, México, ya que los estudios toxicológicos de estos compuestos han revelado que pueden ser fuertes mutágenos y carcinógenos. En este estudio se empleó espectroscopia de fluorescencia con la variante de síncronos de excitación para caracterizar a estos contaminantes poliaromáticos, apoyados en técnicas espectroscópicas y cromatográficas para su verificación. Antes de proceder a la extracción, tanto del suelo testigo como del contaminado fueron caracterizados mediante un análisis edafológico y cuantificados de manera general como hidrocarburos totales de petróleo (total petroleum hydrocarbons, TPH, en inglés) para determinar la forma de separación de los compuestos a analizar. Los resultados preliminares indican que el suelo contaminado y testigo contienen 30,809 y 30 ppm, respectivamente, de hidrocarburos totales de petróleo. Los HAP fueron extraídos en equipo soxhlet durante 24 h. empleando una mezcla de disolventes hexano:diclorometano (1:1) y concentrados en rotavapor. El aislamiento de los compuestos se realizó en columnas de separación cromatográfica empleando disolventes de diferente polaridad, para ser analizados por metodologías establecidas por la Agencia de Protección Ambiental de los EEUA (Environmental Protection Agency, EPA, en inglés) y los expertos en contaminación del Programa de las Naciones Unidas para el Ambiente (United Nations Environment Programme UNEP, en inglés). La elución de las fracciones fue evaluada por espectroscopia infrarroja, los hidrocarburos aromáticos fueron cuantificados empleando espectroscopia de fluorescencia y la confirmación de los compuestos obtenidos mediante la técnica de síncronos de excitación se llevó a cabo empleando cromatografía de gases con un detector de masas. Los resultados experimentales demuestran que el uso de hexano (100%) resultó el menos eficiente para la recuperación de los contaminantes aromáticos, mientras que la fracción obtenida con la mezcla de disolventes (hexano:diclorometano 1:1), fue la que favoreció la extracción de los mismos al analizarse las fracciones por las técnicas mencionadas. La cuantificación de la fracción aromática llevada a cabo empleando espectroscopia de fluorescencia demostró que prácticamente la cuarta parte de los 30,809 ppm son hidrocarburos aromáticos y alquilbencenos. Con la técnica de síncronos de excitación establecida para 5 estándares (naftaleno, fluoreno, fenantreno, criseno y dibenzo (a,h) antraceno) fue posible la identificación de tres de ellos (fenantreno, benzo(a)pireno y dibenzo(a,h)antraceno). Quedó confirmada la presencia de estos tres compuestos por cromatografía de gases-espectrometría de masas. Se encontró una concentración de pireno (5.26 ppm) y de dibenzo (a, h) antraceno (2.84 ppm) relativamente alta. Los resultados anteriores demuestran que la muestra de suelo en estudio no contiene exclusivamente a la mezcla de HAP analizados, sino una amplia variedad de compuestos aromáticos productos del constante vertido de residuos de las empresas aledañas al área.

## ABSTRACT

Effluents from petroleum and petrochemical industries in Mexico seriously contribute to the biosphere environmental pollution. The objective of the present research is to analyze and quantify nine polycyclic aromatic hydrocarbons, PAH, likes naphthalene, acenaphthene, fluorene, fluoranthene, phenanthrene, pyrene, benzo(a)pyrene, chrysene, and dibenzo(a,h)anthracene in samples of contaminated soil. The samples were taken from the Santa Alejandrina swamps in Minatitlán, Veracruz, Mexico. The reason to study those compounds is that toxicological studies have revealed that the presence of these PAH cause mutagenic and carcinogenic damages. This study employs fluorescence techniques (synchronous luminescence spectrometry) for characterizing these polyaromatic pollutants, followed by spectroscopy and chromatographic techniques for corroborating them. Non contaminated soil from a neighboring area was used as a blank. Both samples were characterized by edaphological methods. A general extraction was carried out to quantify total petroleum hydrocarbons (TPH), and to determine the best separation techniques for the analysis of the specific compounds in study. Preliminary results indicate that contaminated and test soils contain 30,809 and 30 ppm, respectively. The polluted chemical compounds were separated from the mixture by a column separation method using mixtures of hexane:dichloromethane with different polarities. They were analyzed following the techniques proposed by the Environment Protection Agency (EPA, USA) and the United Nations Environmental Programme (UNEP). Fractions elutions were evaluated using infrared spectroscopy. Aromatic hydrocarbons were quantified using fluorescence spectroscopy. The corroboration of the compounds extracted using the synchronous excitation technique was done by gas chromatography and a mass spectrometry detector. Experimental results demonstrated that hexane (100%) was not as efficient for extracting the aromatic chemical pollutants as the mixture of hexane:dichloromethane (1:1). The quantification of the aromatic fraction, carried out by fluorescence demonstrated that almost one fourth of the 30,809 ppm were aromatic hydrocarbons and alkylbenzenes. The use of the synchronous excitation technique established for five standards (naphthalene, fluorene, phenanthrene, chrysene, and dibenzo(a,h)anthracene), three of them were identified (phenanthrene, benzo(a)pyrene and dibenzo(a,h)anthracene). These three compounds presents was confirmed by gas chromatography-mass spectrometry. Relatively high pyrene (5.26 ppm) and dibenzo(a, h)anthracene (2.84 ppm) concentrations were found. These results demonstrate that the studied soil samples do not only contain the analyzed PAH but a wide variety of aromatic compounds spilled during the constant release of residues from the neighboring industries located in the area.

## CAPÍTULO I. PROBLEMÁTICA

### 1.1 El suelo como componente del ambiente

Se considera al suelo como el tercer componente más importante del ambiente. su formación se centra en una mezcla de sólidos orgánicos e inorgánicos, aire, agua y microorganismos que, en su conjunto, interactúan con el resto de los componentes atmosféricos y contaminantes de una manera dinámica (Bohn y McNeal, 1993; Odum, 1993). Debido a su complejidad, es difícil caracterizar y cuantificar a todos los componentes que se encuentran inmiscuidos en él, por lo que es indispensable seguir técnicas apropiadas en su determinación, caracterización y cuantificación (Jackson y Lesage, 1976; Bohn y McNeal, 1993). La fracción mineral de los suelos procede de la transformación de la roca madre, que sufre un doble proceso: 1) La desagregación física y mecánica, sin modificación química de los minerales y 2) La alteración química, que provoca una transformación de los minerales primarios, dando lugar a minerales secundarios (principalmente arcillas) que, en conjunto, constituyen el complejo de alteración. Los restos vegetales de cualquier naturaleza que caen al suelo constituyen la fuente principal de la materia orgánica conocida como "hojarasca", la cual sufre una transformación biológica llamada humificación, dando lugar al *humus*, constituido principalmente por un conjunto de compuestos orgánicos coloidales de color oscuro que, en general, procede de neoformaciones microbianas y contraen enlaces con los elementos minerales del suelo (arcillas,  $\text{FeOH}_2$  y  $\text{AlOH}_3$ ). Los microorganismos representan del 1 al 2% de la materia orgánica de los suelos y su papel es determinante para la descomposición de los constituyentes vegetales y su transformación (Duchaufour y Soucheier, 1984).

### 1.2 Problemática

El empleo de suelos como depósitos de desechos industriales y municipales es una práctica grave que se tiene que abatir. El empleo de técnicas analíticas encaminadas hacia la detección y cuantificación de contaminantes en suelo, ha constituido un reto científico encaminado hacia la solución rápida y confiable de los problemas derivados de los derrames "accidentales" sobre esta matriz ambiental. En este estudio se pretende identificar a nueve de los hidrocarburos aromáticos policíclicos, HAP, establecidos por la Agencia de Protección Ambiental de los EEUU (EPA, en inglés) como los principales compuestos carcinógenos y mutágenos en el ambiente, empleando para ello espectroscopia de fluorescencia con la variante de síncronos de excitación (Synchronous excitation spectroscopy, en inglés) debido a la gran selectividad con que cuenta al emplearse en mezclas complejas (sin la necesidad de recurrir a métodos de separación y purificación selectivos como ocurriría al tener al equipo de fluorescencia acoplado a un cromatógrafo de

gases), a la rapidez en la obtención de datos y a la alta sensibilidad del equipo de observar trazas hasta en partes por billón (ppb). Antes de emplear esta metodología analítica, se identifican los grupos funcionales de las fracciones cromatográficas (previa elución en las columnas cromatográficas) mediante espectroscopia IR, para que posteriormente se cuantifiquen los compuestos por cromatografía de gases y su acoplamiento a masas. Las muestras de suelos (testigo y contaminado) provenientes del pantano de Santa Alejandrina, ubicado en Minatitlán, Ver., fue muestreada al azar en el mes de mayo de 1999 y donada al Programa de Ingeniería Química Ambiental y Química Ambiental (PIQAYQA) de la Facultad de Química de la UNAM para realizar los análisis pertinentes, ya que uno de los problemas con que cuenta el pantano es que debido a la instalación de la refinería de Minatitlán, "Lázaro Cárdenas", a principios de siglo, ocasionó que se empleara una vasta extensión del pantano como depósito de desechos y pese a que en la década pasada se iniciaron obras de restauración, la ecofisiología del lugar se ha visto seriamente dañada. Por ello, en este estudio, una vez que se haya cuantificado el grado de contaminación inicial en este suelo, se procederá a caracterizar los compuestos de interés por la técnica de sincros de excitación y finalmente verificar y cuantificar la presencia o ausencia de HAP por medio de técnicas analíticas establecidas por la agencia de protección ambiental de los EEUUA (Environmental Protection Agency, EPA, en inglés) y los expertos en contaminación del Programa de las Naciones Unidas para el Ambiente (United Nations Environment Programme, UNEP en inglés), sirviendo de plataforma hacia otros estudios encaminados a la descontaminación y recuperación del suelo (IMP, PEMEX, IMTA, 1997).

### 1.3 El petróleo y sus derivados

Entre los principales países productores de petróleo, México en 1997 ocupó el 8º lugar en el ámbito mundial, con la producción de 3,022.0 barriles diarios de crudo. Lo anterior generó \$7,946.00 millones de pesos netos, colocándose como el principal producto generador de divisas para el país (PEMEX, 1998). En la actualidad, Petróleos Mexicanos (PEMEX) cuenta con 6 refinerías de crudo, 61 plantas petroquímicas, 10 complejos petroquímicos y 10 centros procesadores de gas. Todas las instalaciones obtienen diversos productos a partir del petróleo crudo y de líquidos del gas natural. En la Tabla 1 se observan las principales refinerías del país, así como los principales productos de su actividad industrial. El petróleo y sus derivados son considerados como la principal fuente generadora de energía para las actividades industriales de todos los países. Su composición se basa en una mezcla de hidrocarburos que se encuentran en fase sólida, líquida y gaseosa y, en pequeñas cantidades, de elementos que no son hidrocarburos como oxígeno, azufre, nitrógeno, vanadio, níquel y cromo que se encuentran en el subsuelo, inmersos en los yacimientos de hidrocarburos (Gary, 1984). Dependiendo de su densidad es clasificado en México como dos tipos de crudo: El ligero y el pesado, considerándose pesado cuando posee una

densidad API (la cual es un parámetro internacional del Instituto Americano del Petróleo, que diferencia las calidades del crudo) igual o inferior a 27 grados, y ligero cuando su densidad API es superior a los 27 grados. Para exportarlo son preparadas tres variedades de crudo: 1) Istmo, petróleo ligero con densidad API de 33.6 grados y con 1.3 % de azufre. 2) Maya, petróleo pesado y con densidad API de 22 grados y 3.3 % de azufre y 3) Olmeca, petróleo ligero con una densidad de 39.3 grados API y 0.8 % de azufre en peso (Gary y Handwork, 1984).

### 1.3.1 Clasificación de los hidrocarburos

Se llaman hidrocarburos a los compuestos orgánicos que contienen únicamente carbono e hidrógeno y dependiendo de la cantidad de carbono y de su conformación espacial son clasificados como se observa en el Esquema 1.

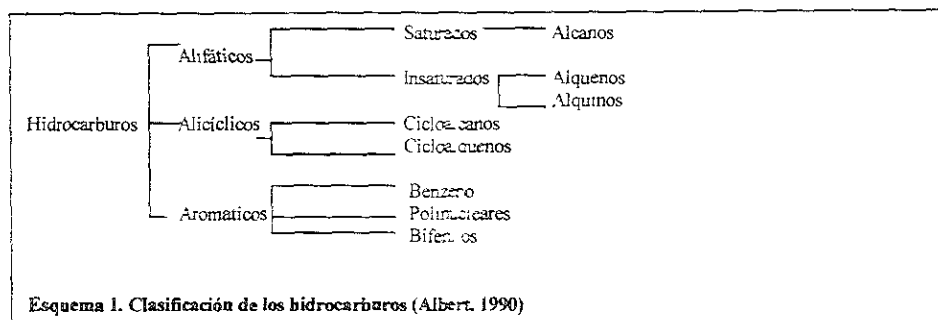


Tabla 1. Principales refinerías del país (PEMEX, 1982, 1983, 1986, 1990)

Refinería	Ubicación	Principales productos generados
Cadereyta	Nuevo León	Gasolina, turbosina, kerosina, diesel, gasóleo
Madero	Tampico, Tamaulipas	Aceites crudos, gasolina, diesel, combustóleo, grasas, etilbenceno, estireno, alquil-benceno, etc.
Lázaro Cárdenas del Río	Minatitlán, Veracruz	Gas licuado, gasolinas, querosina, diesel, lubricantes, disolventes y aromáticos
Salamanca	Salamanca, Guanajuato	Naftas, gasolinas de alto octanaje, lubricantes, amoníaco, alcohol isopropílico
Salina Cruz	Salina Cruz, Oaxaca	Gasolina, turbosina, kerosina, diesel, gasóleo, plantas de destilación de petróleo y naftas
Tula	Tula de Allende, Hidalgo	Gases licuados del petróleo, gasolinas, turbosina, dáfano, diesel, combustóleo, azúfre, hexano, etc.



*Hidrocarburos alifáticos.*- Comprenden a los compuestos saturados y no saturados. Los primeros son llamados comúnmente parafinas o alcanos y su fórmula general es:  $C_nH_{2n+2}$ . Como ejemplos de estos compuestos se tienen al propano, butano, hexano y pentano. Los compuestos no saturados se clasifican en alquenos y alquinos dependiendo si contienen dobles o triples ligaduras en la cadena. Cada uno de estos a su vez es subdividido en diversas series homólogas, dependiendo del número de dobles o triples ligaduras entre los carbonos.

*Alquenos.*- Son compuestos que presentan una o varias dobles ligaduras. A estos compuestos se les conoce como olefinas y presentan una doble ligadura, su fórmula es  $C_nH_{2n}$ . Generalmente, las olefinas como el etileno, 1-buteno, 3-propeno son indeseables en los productos acabados de la refinación del crudo debido a que las dobles ligaduras son reactivas y los compuestos tienden a oxidarse y polimerizarse más fácilmente.

*Alquinos.*- Se les conoce como acetilenos, y son hidrocarburos que pueden presentar uno o varios triples enlaces. Cuando presentan una triple ligadura su fórmula general es  $C_nH_{2n-2}$ . Cuando poseen más de una triple ligadura, son llamados diacetilenos y triacetilenos. Como ejemplos se pueden mencionar al acetileno, al 2-butino y al etino.

*Hidrocarburos alicíclicos.*- Son compuestos cíclicos alifáticos. Los compuestos monocíclicos se agrupan en series análogas a las de los alcanos alifáticos. Análogamente, los compuestos monocíclicos saturados se conocen como cicloparafinas, cicloalcanos o naftenos, siendo su fórmula general  $C_nH_{2n}$ . Entre estos compuestos se encuentran el ciclopropano, ciclohexano, metilciclohexano, etc. La serie no saturada se conoce como ciclo-olefinas o ciclo-alquenos, siendo su fórmula general cuando presentan un solo doble enlace  $C_nH_{2n-2}$ . Ejemplo de estos compuestos son el 1,3 ciclopentadieno y el ciclohexeno.

*Hidrocarburos aromáticos.*- Esta clase de compuestos contienen por lo menos una estructura resonante de benceno, subdividiéndose esta clase en tres series: La primera es la del benceno, que comprende a los derivados alifáticos y alicíclicos, entre los que pueden mencionarse al tolueno y al estireno. La segunda serie es conocida como polifenilica y comprende a los compuestos con dos o más anillos bencénicos en su molécula, como el bifenilo y el trifenilo. La tercera serie se denomina como los compuestos aromáticos polinucleares o hidrocarburos aromáticos policíclicos, HAP (PAH, en inglés). Estos compuestos poseen en su estructura dos o más anillos fusionados de los cuales por lo menos uno es un anillo bencénico en su estructura. Algunos compuestos pertenecientes a este grupo son el naftaleno, antraceno, benzantraceno y benzopireno (Gary y Handwork, 1984; Morrison y Boyd, 1987; Albert, 1990).

### 1.3.2 Contaminación por hidrocarburos aromáticos policíclicos

Los HAP, son compuestos aromáticos de 2 a 7 anillos fusionados entre sí que se encuentran en la biosfera. Las concentraciones en que se han encontrado varían desde 1.0 ppm hasta 1000 ppm (Larson y Weber, 1994; Díaz y col., 1995). Estos compuestos son sintetizados a partir de la combustión incompleta de hidrocarburos saturados debido a las actividades antropogénicas tales como "cracking" de polímeros orgánicos (celulosa, olefinas, ácidos grasos de cadenas largas y proteínas), incineración comercial e industrial y el humo generado por los automotores (Harrison y col., 1996; Carmichael y col., 1997). Algunos hidrocarburos que presentan pesos moleculares bajos como el metano, pueden actuar como precursores de estos compuestos a través de fenómenos como la pirosíntesis a temperaturas que exceden los 500°C en donde las ligaduras entre carbono-hidrógeno y carbono-carbono de los compuestos saturados son fracturadas induciendo a la formación de radicales libres. Estos radicales se desplazan en el ambiente deshidrogenándose y sufriendo reacciones de rearrreglo, formando estructuras anulares aromáticas más resistentes a la degradación térmica, logrando una mayor estabilidad. La tendencia de formar hidrocarburos aromáticos policíclicos por pirosíntesis varía con el tipo de hidrocarburo, esto es en orden de prioridad: Aromáticos > cicloolefinas > olefinas > parafinas. Los HAP también se forman a partir de alcanos de alto peso molecular presentes en aceites y plantas de combustión por medio de pirólisis o "cracking" de compuestos orgánicos, para posteriormente formar moléculas inestables de menor peso y radicales libres, que reaccionan en el ambiente formando los HAP (Albert, 1990; Manahan, 1992). Una vez formados pueden trasladarse por la acción del aire de sitios urbanos a rurales, o simplemente depositarse en el suelo donde son fuertemente retenidos y lixiviados a los mantos freáticos. La capacidad de adsorción de estos contaminantes en el suelo se encuentra influenciada por uniones de tipo covalente con la materia orgánica, la composición mineral, el contenido de humedad y la presencia de disolventes (Lotfabad-Karimi y col., 1996; Harrison y col., 1996).

### 1.3.3 Reacciones que presentan este tipo de compuestos

Las reacciones en las que intervienen los HAP son generalmente reacciones de oxidación, reducción y fotólisis. La oxidación se lleva a cabo generando radicales hidroxilo para, posteriormente, originar una conversión de estos a quinonas o fenoles y puedan reaccionar con óxidos de nitrógeno produciendo los nitro-HAP menos dañinos al metabolismo. Entre los ejemplos de oxidación y reducción de estos compuestos se encuentran el antraceno y el fenantreno que son oxidados a sus respectivas 9,10-quinonas y son reducidos a los 8,10-dihidrocompuestos. Las reacciones fotoquímicas llevadas a cabo en la fotólisis radican en la absorción energética de radiación electromagnética en la región UV por los electrones deslocalizados de los anillos bencénicos, para en el momento de ceder esta energía a otras

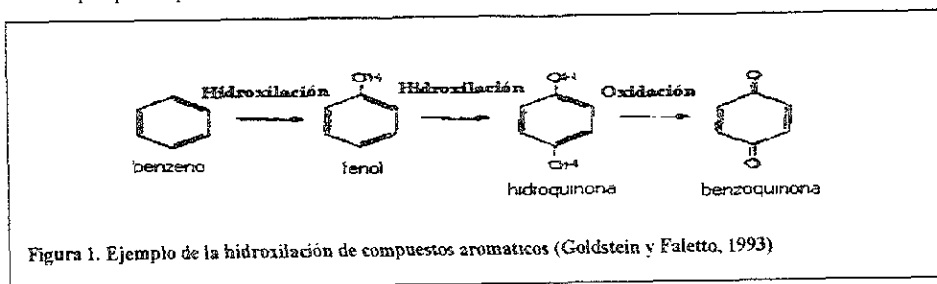
moléculas aceptoras como el oxígeno, generar su desestabilización, obteniéndose compuestos con una mayor reactividad en el ambiente (Larson y Weber, 1994; Voon y Hites, 1994).

### 1.3.4 Reacciones bioquímicas involucradas en la eliminación de estos compuestos

Los compuestos orgánicos tóxicos, o sus precursores metabólicos actúan en el metabolismo de diferentes maneras, ya sea absorbiéndose, metabolizándose, almacenándose en forma temporal o simplemente distribuyéndose y excretándose a través de diferentes rutas. La mayoría de las sustancias químicas, encontradas en el ambiente, son de carácter predominantemente lipofílico, lo cual coadyuva en una resistencia hacia su excreción, por lo que antes de someterse a su eliminación deben transformarse en moléculas más hidrofílicas y solubles. La reacción inicial denominada Fase I del metabolismo, actúa introduciendo oxígeno al compuesto xenobiótico como un primer paso entre la desintoxicación y la eliminación de la sustancia extraña. La enzima principal responsable de esta fase es la citocromo P-450s, aunque otros sistemas enzimáticos tales como el grupo flavin-monooxigenasa, alcohol-deshidrogenasa y prostaglandina sintetasa sirven específicamente en la desintoxicación sobre ciertos compuestos. La hidrofobicidad del metabolito puede entonces promover el aumento de las reacciones en la Fase II. Durante la Fase II varios enlaces entre las membranas y enzimas citosólicas que incluyen a la epóxido hidrolasa, la glutatión-s-transferasa, la UDP-glucuronosiltransferasa, la acetiltransferasa y la sulfotransferasa, atacan a las moléculas que ya han sido transformadas a moléculas con una mayor polaridad en la Fase I. El resultado total de la combinación entre las reacciones de la Fase I y la Fase II, es la desintoxicación y eliminación de los compuestos xenobióticos del cuerpo, sin embargo, se ha observado que estas mismas rutas pueden acarrear la activación de compuestos químicos con una mayor toxicidad y carcinogenicidad, convirtiéndolos a sus formas electrofílicas, que pueden reaccionar irreversiblemente con proteínas y ácidos nucleicos (Goldstein y Faletto, 1993).

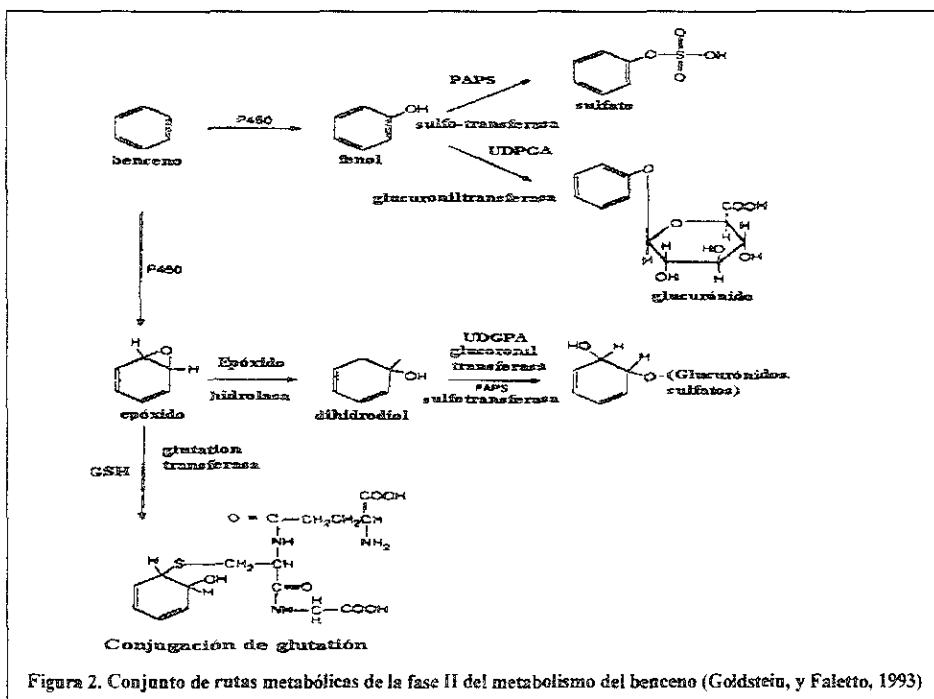
*Reacciones involucradas en la Fase I.*- Las reacciones de la Fase I, se conocen como sistema monooxigenasa, la cual presenta tres sistemas: Citocromo P-450: NADPH-citocromo-P-450 reductasa y lípidos. La función de la molécula citocromo P-450 es la de actuar en la oxidación final dentro de este sistema, además de catalizar la inserción de un átomo de oxígeno molecular dentro del sustrato para convertirlo en un compuesto con una mayor polaridad, mientras que el otro átomo de oxígeno reacciona convirtiéndose en agua. Lo descrito con anterioridad es posible debido a los compuestos que donan sus electrones como lo son los compuestos NADH vía NADPH-citocromo y P-450 reductasa. En la reacción general de oxidación de citocromo P-450, primero se da la interacción de la forma oxidada del hierro de P-450, con un sustrato específico, para que después ocurra la

transferencia de un electrón del compuesto NADPH por medio de una reductasa, produciéndose el complejo (hierro-P-450), el cual liga oxígeno molecular. Una vez que se lleva a cabo la oxidación del citocromo ferroso, éste vuelve a su forma férrica y el oxígeno ligado queda disponible en su forma activa. Posteriormente, otro electrón es transferido de la forma NADPH vía reducción, dando como resultado una oxidación estereoespecífica del sustrato, dando una molécula de agua y la regeneración de la forma férrica del citocromo P-450 para que finalmente vuelva a introducirse en el ciclo catalítico comenzando la reacción nuevamente. Dentro de las reacciones oxidativas que se llevan a cabo con la ayuda del sistema monooxigenasa, se cuenta con las reacciones de hidroxilación. Las reacciones de hidroxilación de grupos aromáticos como el benceno (Figura 1) son de primordial importancia ya que estos compuestos, además de ser hidroxilados pueden ser epoxidados, dando como resultado productos más tóxicos como los benzopirenos que pueden convertirse en sus respectivas formas epoxidadas. Estos productos indudablemente, tienen que pasar por las reacciones involucradas en la Fase II (Goldstein y Faletto, 1993).



*Reacciones involucradas de la Fase II.*- Los epóxidos son metabolitos reactivos generados principalmente por el sistema citocromo P-450 de la Fase I, por lo que tienden a ser eliminados con la ayuda de enzimas epóxido hidrolasas que evitan la formación de los mismos, transformándolos en trans-1,2-dihidrodiolés, que poseen una menor reactividad y tienden a conjugarse con otros compuestos como son el ácido glucurónico, sulfatos y glutatión, para su excreción final. Un ejemplo de esto, se puede observar en el mecanismo de degradación del benceno (Figura 2). Sin embargo, la actividad de la enzima epóxido hidrolasa puede resultar nuevamente perjudicial en la producción de especies más reactivas, para lo cual existen enzimas involucradas en la eliminación de cloruros de vinilo, epóxidos, derivados de herbicidas e insecticidas y, posiblemente, de los hidrocarburos aromáticos policíclicos, siendo estas enzimas la epóxido hidrolasa microsomal y la epóxido hidrolasa citosólica. Estas enzimas se han encontrado en el hígado de mamíferos superiores y, gracias a ellas, se pueden transformar los epóxidos nocivos en sustancias menos dañinas y con una mayor metabolización. Cabe mencionar que estas enzimas no se encuentran en organismos inferiores y, por consiguiente, afectan el metabolismo de los mismos. Otra enzima importante involucrada en las reacciones de la Fase II, es la glutatión-s-transferasa, que

transfiere glutatión (tripéptido  $\gamma$ -glutamilcisteinil glicina) a compuestos electrofilicos y que también son generados en las reacciones de la fase I, siendo el papel de esta enzima el de "proteger" al unirse covalentemente sobre sitios específicos de sustancias xenobióticas removiendo reactivos electrofilicos. La glucuronidación es la mayor ruta de desintoxicación de la mayoría de las sustancias xenobióticas, siendo la enzima involucrada en esta vía la UDD-Glucuronosiltransferasa. La cual emplea al cofactor ácido uridin difosfoglucurónico (UDPGA), para conjugar al ácido glucurónico con un gran número de compuestos reactivos, incluyendo bencenos, fenoles, clorofenoles, dihidrodioles, quinonas, etc. La adición del ácido glucurónico hace a los compuestos más hidrofílicos y, por ende, que aumenta su excreción por el cuerpo (Goldstein y Faletto, 1993).



Como se mencionó al inicio, una vez planteada la problemática que presentan los hidrocarburos aromáticos policíclicos, HAP (polycyclic aromatic hydrocarbons, PAH, en inglés) en el ambiente y específicamente en el suelo del pantano de Santa Alejandrina en Minatitlán, Ver., se recurrirá al empleo de metodologías analíticas capaces de identificar y cuantificar a nueve de los dieciséis HAP establecidos previamente por la Agencia de Protección Ambiental de los EEUA (Environmental Protection Agency, EPA, en inglés) como los principales compuestos carcinógenos y mutágenos en el ambiente. Para llevar a cabo este propósito se expondrán a continuación los objetivos particulares de la investigación en el marco de un objetivo general.

## 1.4 OBJETIVOS

### 1.4.1 Objetivo general

- \* Establecer las mejores condiciones de análisis de nueve hidrocarburos aromáticos policíclicos en una muestra de suelo, por medio de la técnica de síncronos de excitación apoyados en técnicas espectroscópicas y cromatográficas para su cuantificación y confirmación.

### 1.4.2 Objetivos particulares

- \* Realizar un análisis fisicoquímico que permita conocer las características de la muestra dada.
- \* Determinar el contenido de hidrocarburos totales de petróleo tanto en la muestra de suelo contaminado como del testigo.
- \* Cuantificar el contenido de hidrocarburos aromáticos totales provenientes de los suelos testigo y contaminado de Minatitlán, Ver.
- \* Determinar las mejores condiciones de extracción y separación de los hidrocarburos aromáticos policíclicos a evaluar.
- \* Caracterizar de manera rápida y eficiente a los compuestos separados por cromatografía en columna empleando espectroscopía infrarroja.
- \* Encontrar las mejores condiciones para la obtención de los síncronos de excitación tanto de los compuestos estándares como de las fracciones cromatográficas en estudio.
- \* Cuantificar a los compuestos identificados por la técnica de síncronos de excitación mediante cromatografía de gases y cromatografía de gases- espectrometría de masas.

## CAPÍTULO II. FUNDAMENTOS ANALÍTICOS

### 2.1 Técnicas principales para medir contaminación en suelo

Debido a la complejidad que presenta el análisis de un suelo, es necesario tener un cuidado especial sobre la composición, caracterización y cuantificación del mismo, para obtener resultados confiables (Jackson y Lesage, 1976; Tapia y Rosas, 1991). Cuando se trabaja con suelos contaminados con hidrocarburos, el proceso de extracción a seguir es determinante en relación a las características del suelo (contenido de humedad, textura, tiempo de contaminación de la muestra, etc) (Dwijen y Murray, 1997). En un experimento realizado por Yeung y col. (1994) se determinaron varias variables (método de extracción, porcentaje de humedad, tiempo de extracción y de agitación de la muestra) encaminadas a aumentar la recuperación de crudo en dos tipos de suelos, llegando a la conclusión de que el contenido de humedad en las muestras es determinante en los porcentajes de recuperación, ya que como comentan, el agua puede causar emulsiones de aceite en agua lo cual repercute en bajos rendimientos. Los métodos de extracción empleados por ellos, fueron el de Dean y Stark y el soxhlet, obteniéndose en el primero una eficiencia mayor en muestras con contenidos de humedad mayores al 30%; sin embargo, al emplear el método soxhlet con muestras con porcentajes menores al 30%, la recuperación aumentó al 96%. También se obtuvieron mejores rendimientos al aumentarse el tiempo de extracción y de agitación en ambos métodos de extracción, siendo nuevamente determinante el contenido de humedad de la muestra. En cuanto al secado por aire o estufa se observó una mejora en la recuperación, pero con el inconveniente de pérdidas de compuestos volátiles. Finalmente, no hubo diferencias significativas en cuanto al porcentaje de recuperación de crudo en suelos arenosos al compararlos con aquellos provenientes de la capa superficial del suelo. Entre los métodos tradicionales para la cuantificación de los hidrocarburos totales de petróleo se encuentra el método EPA 418.1 (1983), el cual ha provocado controversia en la comunidad científica debido al uso del disolvente fluorocarbonado 1, 1, 2-tricloro1, 2, 2-trifluoroetano, por ser considerado como dañino para la capa de ozono (Yeung y col., 1994); por lo que en la actualidad se utiliza este método con la variante de la sustitución del disolvente por  $\text{CCl}_4$  para la extracción. Para la obtención y separación de las fracciones de hidrocarburos del crudo, se han reportado el uso de extracciones líquido-líquido y cromatografía de fluidos supercríticos, con excelentes recuperaciones, sin embargo, por razones de costo y de eficiencia se prefiere el uso de cromatografía en columna empleando adsorbentes como gel de sílice, alúmina ó mezclas de ambas. Las fracciones obtenidas son cuantificadas comúnmente en cromatografía de gases con un detector de ionización de flama (Flame Ionization Detector FID, en inglés), cromatografía de gases/masas u otras técnicas alternas como cromatografía de gases/extracción térmica (Grimmer, 1984; Pollard y col, 1992; Dwijen y Murray, 1997).

## 2.2 Técnicas espectroscópicas y cromatográficas

### 2.2.1 Espectroscopía infrarroja

La espectroscopia IR proporciona una vasta información sobre los grupos funcionales de las moléculas orgánicas. La región empleada comúnmente se extiende desde los  $0.8$  hasta  $1000\mu$  ( $12,500 - 10\text{.cm}^{-1}$ ), dividiéndose la escala en IR cercano  $0.8 - 2.5\mu$  ( $12,500 - 4000\text{ cm}^{-1}$ ), medio  $2.5 - 25\mu$  ( $4000 - 400\text{ cm}^{-1}$ ) y lejano  $25 - 400\mu$  ( $400 - 25\text{ cm}^{-1}$ ). Debido a que la radiación del infrarrojo medio corresponde a las frecuencias vibracionales de las moléculas, es ahí donde se realizan las mediciones de absorción. Cuando la luz infrarroja de la misma frecuencia incide en la molécula se produce absorción de energía, aumentando la amplitud de la vibración y cuando la molécula pasa de un estado excitado a uno basal, la energía absorbida es liberada en forma de calor. Por lo que para que una determinada vibración resulte en absorción de energía infrarroja debe causar una variación en el momento dipolar de la molécula. Los espectros de absorción infrarroja son obtenidos comúnmente, colocando la muestra en un espectrofotómetro infrarrojo de doble haz y midiendo la intensidad relativa de la energía luminosa transmitida (o absorbida) en contra de la longitud de onda o número de onda. El haz de luz empleado para obtener las radiaciones infrarrojas proviene de una lámpara de Nernst, la cual consta de una varilla de óxido de circonio, óxido de itrio y óxido de erbio, calentada por medio eléctrico alrededor de  $1500^{\circ}\text{C}$ . Para la obtención de luz monocromática se emplean tanto prismas ópticos como rejillas. El vidrio y el cuarzo absorben fuertemente en la región infrarroja por lo que no se emplean como prismas ni celdas; por el contrario, las placas de halogenuros de metales como NaCl o KBr son muy utilizadas debido a la absorción mínima en el IR. En un espectro pueden determinarse muestras sólidas, líquidas y gaseosas, teniéndose como única condición que las muestras deben de ser anhidras, y los disolventes empleados no deben presentar absorciones en la región de interés, por lo que generalmente se emplean para tal finalidad al tetracloruro de carbono y cloroformo (Dyer, 1973; Smith, 1979; Skoog, 1994).

### 2.2.2 Cromatografía de gases

En la cromatografía de gases, la muestra es volatilizada e inyectada al inicio de una columna cromatográfica. La elución se produce por el flujo de un gas inerte que circula de manera continua a lo largo de la columna durante la corrida (fase móvil), no interactuando con las moléculas del analito. En la fase estacionaria de la columna se llevará a cabo la retención selectiva de los componentes de la mezcla a separar debido a fenómenos consecutivos de adsorción y desorción, si se trata de un adsorbente sólido o también puede ser un líquido depositado sobre un soporte sólido, en cuyo caso los fenómenos son de reparto. Como resultado de los procedimientos anteriores, los componentes migran a lo



largo de la columna a velocidades diferentes, por lo cual, dado que teóricamente deberán recorrer la misma distancia (longitud de la columna), se separarán, dependiendo del peso y afinidad que presenten hacia el adsorbente: finalmente, serán detectadas a la salida del sistema, empleando para ello mecanismos llamados detectores, los cuales generarán una señal que será integrada y enviada a un sistema de captura y análisis de datos (Storch, 1982; Skoog, 1994).

### 2.2.3 Espectrometría de masas

La espectroscopía de masas, es una técnica analítica rápida y sensible que proporciona información sobre la composición, cualitativa y cuantitativa, de analitos orgánicos e inorgánicos a partir de mezclas complejas, pudiendo determinarse la estructura de una amplia variedad de especies moleculares y dar información real sobre las relaciones isotópicas de los átomos en las muestras (Silverstein, 1981; Skoog, 1994). La muestra a analizar es introducida en una cámara donde la presión es normalmente inferior a los  $10^{-6}$  mbar ( $1.45 \times 10^{-8}$  psi) y es vaporizada pasando directamente a la fuente de ionización donde puede ser ionizada por diferentes fuentes, siendo el más común el de impacto electrónico, (Electron Impact, en inglés) el cual bombardea la molécula con electrones de una cierta energía, capaces de provocar la emisión estimulada de un electrón de la molécula, ionizándola, formando iones moleculares ( $M^+$ ), así como fragmentos de iones debido a la descomposición de iones moleculares con exceso de energía. Una vez ionizadas las moléculas, son aceleradas mediante campos eléctricos que confieren una misma energía cinética a todos los iones formados, siendo la velocidad adquirida por cada ión dependiente de su masa. Posteriormente, los iones seguirán una trayectoria atravesando el analizador, en donde sufrirán una mayor o menor desviación, para un mismo valor de la fuerza aplicada, en función de su masa o velocidad, por lo que variando el valor del campo aplicado entre determinados límites, es posible dirigir de modo consecutivo los iones de diferentes masas, en orden creciente o decreciente, hacia el sistema colector. La detección consecutiva de los iones formados a partir de las moléculas de la muestra, produce el espectro de masas de esa sustancia y la colección de los iones en el detector producirá una señal eléctrica que, convenientemente amplificada, es registrada y representada gráficamente, a través de una pantalla de "ordenador" (computadora) y una impresora. El espectro de masas así obtenido puede almacenarse en la memoria del ordenador, puede compararse con los espectros de una colección de espectros para su identificación o puede estudiarse para averiguar la naturaleza de la molécula que le dio origen (Esteban, 1993).

### **2.2.3.1 Cromatografía de gases – espectrometría de masas**

La combinación de estas herramientas analíticas permite la separación e identificación de mezclas complejas. A continuación se expondrá brevemente su funcionamiento. Los compuestos inyectados en el cromatógrafo de gases son separados en la columna cromatográfica obteniendo la elución sucesiva de los componentes individuales aislados que pasan inmediatamente al espectrómetro de masas. Cada uno de estos componentes es registrado en forma de pico cromatográfico e identificado por el espectrómetro mediante sus respectivos espectros de masas. En este proceso, el espectrómetro de masas, además de proporcionar los espectros, actúa como detector cromatográfico al registrar la corriente iónica total generada en la fuente iónica, cuya representación gráfica constituye el cromatograma o corriente del ión total (Total Ion Current, TIC, en inglés). Cuando una sustancia separada llega a la fuente, ésta comienza a producir abundantes iones que son inmediatamente expulsados y dirigidos hacia la zona del analizador. La corriente iónica así generada producirá un pico de altura proporcional a la concentración máxima alcanzada, cuya área será una medida de la cantidad total del compuesto detectado (Esteban, 1993).

### **2.2.4 Espectroscopía de fluorescencia**

#### **2.2.4.1 Importancia de esta técnica**

La espectroscopía de fluorescencia es una técnica sensible y selectiva que permite la detección de trazas en diversos compuestos orgánicos (Rután y Tood, 1990). Dada la importancia de esta técnica se han realizado numerosas investigaciones encaminadas hacia la detección de compuestos que posean propiedades fluorescentes. Como ejemplo del vasto campo de aplicación tenemos a las caracterizaciones y cuantificaciones en sistemas biológicos como son las proteínas, lectinas, ácidos nucleicos y contaminantes adheridos al DNA. Otro empleo de esta técnica es en la caracterización y cuantificación de hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAP) y en la determinación de los coeficientes de unión entre contaminantes hidrofóbicos orgánicos y compuestos húmicos del suelo (McGown y Warner, 1990; Tiller y Jones, 1997).

#### **2.2.4.2 Fundamento y obtención de espectros de fluorescencia**

Cuando una molécula absorbe una cantidad específica de energía electromagnética, ocurren cambios energéticos característicos en la conformación estructural de la misma, los que se reflejan en la intensidad y forma de la emisión. Se dice que estos cambios energéticos de bajo nivel, son los que se observan cotidianamente en las moléculas que absorben en el espectro visible y ultravioleta. Un claro ejemplo de ello se puede encontrar en la coloración

azul de la gasolina debida a la fluorescencia emitida por el antraceno y perileno encontrados en ella. La fluorescencia es una herramienta analítica que, a diferencia de las técnicas espectroscópicas descritas con anterioridad, cuantifica la emisión de energía electromagnética que pierde una molécula en forma de luz cuando ésta absorbe energía (estado excitado) pasando, posteriormente, a su estado basal. Por esto, la energía emitida o fluorescencia será de una mayor longitud de onda (menor energía) que la energía absorbida. De manera general, puede resumirse su fundamento: La energía absorbida (energía de excitación) por la muestra, y proporcionada por una lámpara de xenón (cuyo intervalo de generación de energía es de 270 a 700 nm), pasa a través de un primer monocromador donde es seleccionada la longitud de onda de excitación para que, posteriormente, la muestra disipe esta energía en forma de luz (energía de emisión) la cual es de menor longitud de onda y pase hacia un segundo monocromador donde será seleccionada la longitud de onda de emisión, para que finalmente dicha energía sea cuantificada con la ayuda de un detector de alta sensibilidad (fotomultiplicador), el cual envía una señal eléctrica a un registrador. Cabe mencionar que la señal de fluorescencia es leída a  $90^\circ$  con respecto al ángulo de excitación. La diferencia básica entre esta técnica y otras, como la fosforescencia, son los diferentes niveles energéticos por los que pasan los electrones antes de llegar a su estado basal. En la Figura 3 se aprecia que ambos fenómenos absorben energía a una determinada longitud de onda. Sin embargo, la emisión de ambas es muy diferente, ya que en la fluorescencia el paso de un nivel energético excitado a uno basal es efectuado en una sola etapa (los electrones pasan del estado excitado al basal con su correspondiente emisión de energía). Por el contrario, en la fosforescencia ocurre la transición del estado excitado al basal en varias etapas, esto es, de un estado singulete (cuando ambos electrones se encuentran apareados y la multiplicidad es igual a 1) a uno triplete (cuando ambos electrones se encuentran desapareados y la multiplicidad es igual a tres). Los espectros de fluorescencia se obtienen al relacionar la intensidad presentada por el analito (previa  $\lambda$  de excitación, la cual es proporcional a su concentración), con el intervalo de  $\lambda$  establecido (Guilbault, 1973; Lakowicz, 1994).

#### **2.2.4.3 Requisitos que deben de cumplir los compuestos para analizarse por esta técnica**

Uno de los requisitos que deben cumplir los compuestos para que produzcan el fenómeno de fluorescencia es que deben poseer electrones deslocalizados los cuales son comúnmente encontrados en las ligaduras conjugadas. La fluorescencia más intensa es obtenida en los compuestos rígidos que contienen grupos funcionales aromáticos con transiciones  $\pi \rightarrow \pi^*$  de baja energía y una fluorescencia menos intensa se presenta en compuestos con estructuras alifáticas y alicíclicas con grupos carbonilo o estructuras con dobles enlaces

muy conjugados. La intensidad de la fluorescencia en los compuestos a ser analizados se encuentra alterada por los siguientes factores:

*a) Sustancias ó compuestos adheridos sobre el analito de estudio.*- La unión de sustancias orgánicas con compuestos húmicos y fúlvicos aumentan hidrofobicidad hacia los solutos, creando sistemas micelares o microambientes. Autores como Rután y Tood (1990) y Tiller y Jones (1997) han coincidido en que el oxígeno y la presencia de haluros disminuyen la intensidad de la fluorescencia en los compuestos aromáticos, sugiriendo realizar más estudios sobre la obtención de los coeficientes de unión en el momento de someter específicamente a los HAP con la luz UV

*b) Efectos de disolventes.*- Las diversas polaridades de los disolventes pueden causar el fenómeno denominado "efecto electrostático del disolvente" en donde hay una gran influencia entre las interacciones del disolvente con los solutos causando distorsiones espectrales. Los autores mencionados anteriormente también coinciden en que durante la extracción de HAP con disolventes polares, la energía de estabilización causada por el proceso de relajación del disolvente es mas grande que la estabilización encontrada para solventes no polares, dando como resultado una intensidad "falsa" en la fluorescencia de los HAP. Otra factor de importancia es el empleo de disolventes con coeficientes de solubilidades elevados o muy bajos lo cual repercute en las variaciones de lecturas espectrales (Guilbault, 1973; Rután y Tood, 1990; Tiller y Jones 1997).

*c) Temperatura.*- Temperaturas altas (300K) producen picos anchos difícilmente reconocibles en el espectro, mientras que a bajas temperaturas (20K) los picos se tornan más delgados logrando obtener un espectro más fino. A este fenómeno se le conoce como efecto Shpolskii (Guilbault, 1973; Wehry, 1981).

*e) Ligantes.*- Con este término se describe a los compuestos de menor estado energético que son introducidos en una mezcla o que forman parte de algún sistema, en donde puede ocurrir una transferencia electrónica entre ellos dando como resultado una intensidad menor a la esperada. Entre los compuestos que pueden actuar como ligantes se tiene al oxígeno, algunos iones metálicos e impurezas del disolvente (Guilbault, 1973; Wehry, 1981; Chen y col., 1994., Puchalski y col., 1992).

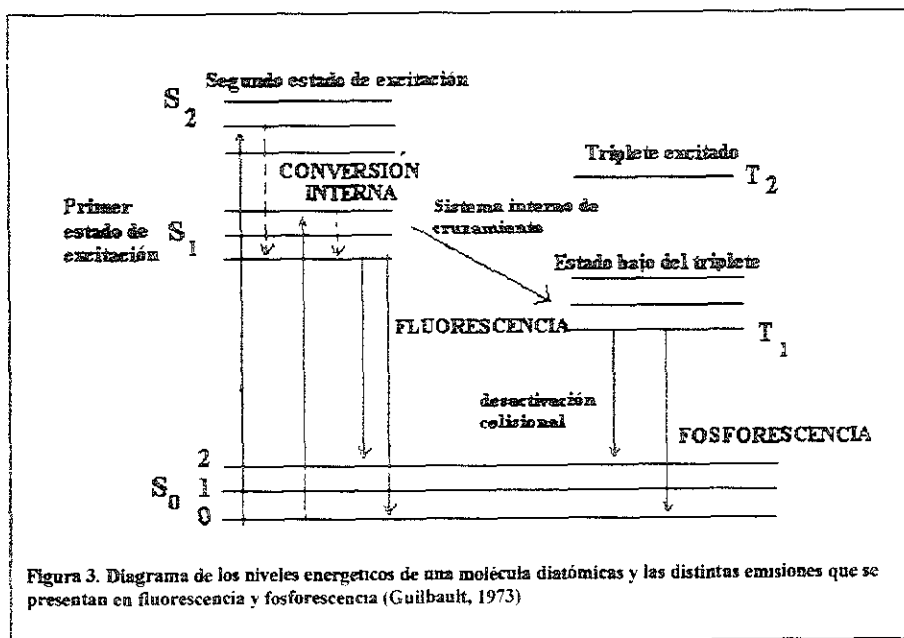


Figura 3. Diagrama de los niveles energéticos de una molécula diatómica y las distintas emisiones que se presentan en fluorescencia y fosforescencia (Guilbault, 1973)

#### 2.2.3.4 Variantes en la obtención de espectros de fluorescencia

En un espectrómetro convencional de fluorescencia, pueden obtenerse espectros de emisión realizando barridos (o "scanning", en inglés) de la longitud de onda de emisión ( $\lambda_{em}$ ) mientras el compuesto luminescente es excitado a una longitud de onda de excitación fija ( $\lambda_{exc}$ ). También es posible obtener espectros de excitación realizando barridos de la longitud de onda de excitación ( $\lambda_{exc}$ ) mientras que la longitud de onda de emisión es evaluada a una ( $\lambda_{em}$ ) determinada. Se ha sugerido una tercera posibilidad de obtención de espectros, a la cual se le denomina espectroscopía de sincronización ("Synchronous excitation spectroscopy", en inglés), donde se varía simultáneamente o en forma sincrónica ambas longitudes de onda, mientras se mantiene constante el intervalo de  $\Delta\lambda$  entre ellas (Vo-Dinh, 1978). La ventaja de esta variante con respecto a las otras mencionadas, es que ofrece una gran selectividad, lo cual permite el análisis de muestras complejas o de numerosos componentes, permitiendo minimizar la superposición de numerosas bandas y confiriendo una simplificación espectral al observar únicamente una o dos bandas características para cada compuesto. El intervalo espectral de una sustancia se puede modificar en un experimento sincrónico con la  $\Delta\lambda$ , basado en los cambios de Stokes  $\delta\lambda_s$ , los cuales son una constante física de las moléculas que presentan fluorescencia y es indicativa de la pérdida de energía ocurrida entre la excitación y la emisión de la misma. En general, estos cambios son mayores en cationes que presentan estados de ionización elevados que

aquellos que presentan especies iónicas neutras o sufren poca ionización. Debido a que los cambios de Stokes son la consecuencia de la diferencia entre las configuraciones en la molécula de los estados basales y excitados en un medio dado, una variación en la polaridad del disolvente puede provocar cambios en el  $\delta\lambda_s$  y, por lo tanto, cambios espectrales de suma importancia. La determinación de  $\Delta\lambda$  por lo general es empírica y debe ser determinada para cada aplicación. Las moléculas que poseen por lo general de 2 a 5 anillos, como es el caso de los HAP, exhiben fluorescencia en la región de los 300-500 nm y tienen valores de  $\delta\lambda_s$  entre 3 a 5 nm, por lo que experimentalmente se ha sugerido que la  $\Delta\lambda$  para estos compuestos sea de 3 nm, debido a las excelentes definiciones espectrales que han sido obtenidas. Cabe mencionar que cuando se requiere realizar un análisis de varios componentes en una mezcla, hay diferencias entre el par  $\Delta\lambda$  y  $\delta\lambda_s$  de cada compuesto, por lo que los espectros sincrónicos para este tipo de compuestos son, de manera general, un doblete. Entre las limitaciones que presenta esta técnica con respecto a las otras ya mencionadas, se encuentran las ocasionadas por el fenómeno de post-filtro, en donde con un incremento en cuanto al número de componentes en la mezcla, ocurre una sobreposición de las señales ocasionando que se obtengan valores altos de fluorescencia, pérdida de linealidad en la curva de calibración y una notable disminución de la intensidad de bandas. Por ello, es recomendable para este tipo de análisis, que se empleen concentraciones bajas, debido a que, conforme se aumenta ésta, ocurren fenómenos a los que se denominan de "ligamiento" y de transferencia energética, lo cual conlleva a distorsiones espectrales. Los procesos de transferencia energética producen la migración energética de los compuestos que poseen un mayor nivel energético a otro de un nivel energético menor, observándose un cambio del perfil espectral al aumentarse las longitudes de onda. En lo concerniente a estos procesos de intercambio energético el empleo de una  $\Delta\lambda$  pequeña entre la excitación y las longitudes de onda observadas pueden disminuir este efecto empleando sincrónicos de excitación (Wehry, 1981).

## **2.3 Análisis de los hidrocarburos aromáticos policíclicos**

### **2.3.1 Propiedades fisicoquímicas y toxicológicas de estos compuestos**

Los nueve compuestos a evaluar fueron seleccionados sobre la base de su persistencia y toxicidad en el ambiente, al número de casos reportados referente a la carcinogenicidad, a los cambios en cuanto a sus propiedades físicas con respecto al incremento de anillos en su estructura y a que la mayoría de ellos se encuentran considerados por la Agencia de Protección Ambiental de los EEUA (Environmental Protection Agency, EPA, en inglés) como los principales compuestos carcinógenos y mutágenos en el ambiente. En la tabla 2 se mencionan las propiedades físicas más representativas de estos compuestos.

Tabla 2. Solubilidad de algunos HAP más persistentes en el ambiente (Harrison y col., 1996; Wise y Tarantolo, 1996)

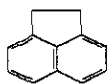
HAP	CAS*	Número de anillos	Solubilidad en agua (mg/L)	Cantidades de HAP encontrados en suelos contaminados (ppm)
Naftaleno	91-20-3	2	30.00	202.0
Acenafteno	83-32-9	3	3.47	267.0
Fenantreno	85-01-8	3	1.29	774.0
Fluoreno	86-73-7	3	1.98	243.0
Fluoranteno	206-44-0	4	0.26	406.0
Pireno	129-00-0	4	0.14	298.0
Criseno	218-01-9	4	0.002	67.0
Benzo(a)pireno	50-32-8	5	0.004	30.0
dibenzo(a,h)antraceno	53-70-3	5	0.0005	84.0

\*Chemical Abstracts Service

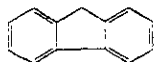
A continuación se describen las propiedades fisicoquímicas y toxicológicas de los nueve hidrocarburos aromáticos policíclicos a evaluar, así como también, los síntomas ocasionados por su ingestión, inhalación y absorción cutánea.



**Naftaleno.**  $C_{10}H_8$  P. M. = 128.17, P. eb. = 145.5°C, P. f. = 79°C. Insoluble en agua. Un gramo se disuelve en 13 mL de metanol o etanol, en 3.5 mL de tolueno, en 2 mL de cloroformo o tetracloruro de carbono. Muy soluble en éter. El envenenamiento ocurre por ingestión de grandes dosis, por inhalación y por absorción cutánea. Entre los síntomas que se suscitan por la ingestión de este compuesto se encuentran: Náuseas, vómito, dolor de cabeza, hematuria, anemia hemolítica, fiebre, necrosis, convulsiones, coma y muerte (Budavarg, 1996).

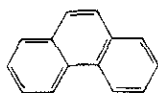


**Acenafteno.**  $C_{12}H_8$  P. M. = 154.21, P. eb. 279, P. f. = 93 - 95°C, cristales blancos. Se encuentra catalogado como un hidrocarburo aromático policíclico. Este compuesto es producido en la combustión del alquitrán del carbón. La concentración máxima permisible en agua es de 0.03  $\mu\text{g/L}$ . Soluble en etanol. Irritante en piel y en membranas, puede causar vómito si se ingiere en grandes cantidades. Es mutágeno. Ataca directamente al riñón, hígado y piel (Marshall, 1991).



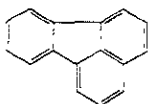
**Fluoreno.**  $C_{13}H_{10}$  P. M. = 166.22, P. eb. = 295°C, P. f. = 116 - 117°C.

Producido en la combustión del alquitrán de carbón. Soluble en ácido acético glacial, soluble en disulfuro de carbón, éter, benceno, alcohol caliente. Es considerado como un potente carcinógeno (Budavarg, 1996).



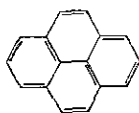
**Fenantreno.**  $C_{14}H_{10}$  P. M. = 178.23, P. eb. = 340°C, P. f = 100°C.

Procedente del alquitrán de carbón. Prácticamente insoluble en agua, soluble en solventes orgánicos, especialmente en hidrocarburos aromáticos. Un gramo se disuelve en 10 mL de alcohol del 95% hirviente, 25 mL en alcohol absoluto, 2.4 mL en tolueno, 2 mL en benceno, 3.3 mL en éter anhídrido. Soluble en ácido acético glacial. Al solubilizarse exhibe un azul fluorescente. Su  $LD_{50}$  en ratas es de 700 mg/kg. Causa fotosensibilización en piel y en membranas. Es considerado como mutagénico (Budavarg, 1996).



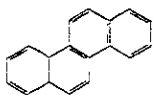
**Fluoranteno.**  $C_{16}H_{10}$  P. M. = 202.26, P. eb. = 367°C, P. f = 120°C.

Catalogado como un hidrocarburo aromático policíclico producido de la pirólisis del carbón. Se encuentra formando parte en el humo del tabaco prácticamente siendo ubicuo en el ambiente. Soluble en etanol y hexano. Es un potente carcinógeno, venenoso en ruta intravenosa. Su concentración máxima permitida en agua va de 44 - 0.29  $\mu\text{g/L}$ , variando en la región en que se encuentre (Reinhold, 1992; Marshall, 1991).

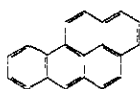


**Pireno.**  $C_{16}H_{10}$  P. M. = 202.26, P. eb. = 404°C, P. f = 156°C. Es soluble en disolventes orgánicos e insoluble en inorgánicos. Este compuesto es producido durante la elaboración del alquitrán del carbón. También se le encuentra en el humo del tabaco. Es considerado como un potente cancerígeno (Budavarg, 1996).

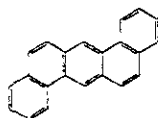




**Criseno.**  $C_{18}H_{22}$  P. M. = 228. P. f. = 254°C. Es considerado como un Hidrocarburo Aromático Policíclico que forma cristales fluorescentes de color rojo y azul. Se encuentra en gasolina, alquitrán del carbón, humo de cigarrillos y es usado en síntesis orgánicas. Soluble en tolueno y ligeramente en etanol y hexano. Los límites máximos permisibles en aire varían en cada estado de los Estados Unidos de Norte América, variando de 0 - 3.0  $\mu\text{g}/\text{m}^3$  y en agua 0.029  $\mu\text{g}/\text{L}$ . En contacto con la piel, causa irritación y quemaduras. Se han reportado casos de cáncer de pulmón (Marshall, 1991).



**Benzo(a)pireno.**  $C_{20}H_{12}$  P. M. = 252. P. f. = 179°C. Es catalogado como un hidrocarburo aromático policíclico, producido en la combustión de hidrocarburos. Su producción química es únicamente para fines de investigación, por lo que no se produce comercialmente. Las exposiciones humanas son debido a la exposición en aeropuertos o en lugares muy transitados. Soluble en etanol caliente. Los límites máximos permisibles en aire son variables de cada estado y en cada lugar siendo de 0.0-0.0007  $\mu\text{g}/\text{m}^3$  y en agua es de 0.01 - 0.10  $\mu\text{g}/\text{L}$ . Este compuesto produce tumores. Es un carcinógeno en ratas y probablemente en humanos. Provoca coloración en piel y verrugas (Marshall, 1991).



**Dibenzo(a, h)antraceno.**  $C_{22}H_{14}$  P. M. = 278.33. P. f. = 266°C. También se le conoce como 1,2,5,6-dibenzoantraceno. Se forma durante la combustión incompleta de hidrocarburos fósiles, basura, materia orgánica y humo. Es un componente de la creosota empleado para conservar la madera. Es soluble en éter, benceno, tolueno, xileno, aceites y otros disolventes orgánicos, es ligeramente soluble en alcohol y éter. EL límite máximo permisible en el estado de Kansas es de 0.029  $\mu\text{g}/\text{m}^3$  Esta sustancia es considerada como un potente carcinógeno (Marshall, 1991).

## CAPÍTULO III. METODOLOGÍA

Los materiales y equipos empleados durante el desarrollo experimental fueron los siguientes:

**Reactivos:** Placas para cromatografía en capa fina de sílica gel ("Kiesel DC-alufolien" con indicador fluorescente) (Merck), hexano, diclorometano, metanol, acetona (Sigma-Aldrich).  
**Estándares comerciales importados:** Naftaleno 99% (ICN) acenafteno 99%, fluoreno 99%, fenantreno 99.5%, benzo(a)pireno 99%, fluoranteno 99%, pireno 99%, criseno 98% dibenzo(a, h)antraceno 99% (Aldrich).

**Equipos:** Cromatógrafo de gases GC-9000. (Perkin Elmer); Espectrómetro de infrarrojo con transformadas de Fourier-710 (Nicolet); Espectrómetro de gases-masas con ionización de impacto electrónico (EI, en inglés) y analizador cuadrupolar (HP-5971); Espectrómetro de luminiscencia LS-50B (Perkin Elmer).

### 3.1 Obtención y caracterización del suelo

Una fracción del suelo proveniente del pantano de Santa Alejandrina ubicado en Minatitlán (Ver.) fue donado por personal del IMP al Programa de Ingeniería Química y Química Ambiental (PIQA y QA) de la Facultad de Química de la UNAM para realizar los análisis pertinentes. Cabe mencionar que también se donó suelo testigo adquirido de una zona dentro del mismo sitio, donde no existían indicios de derrame petrolero y que pudiera servir como un patrón de comparación del mismo sitio. No se tiene información sobre la forma de muestreo ni sobre su representatividad de las características de la zona. Los suelos fueron homogeneizados, tamizados con malla No. 40 (tamaño de partícula de 0.042 mm) y depositados en frascos color ámbar de 1.0 L con la finalidad de evitar reacciones de fotooxidación. La temperatura a la que se mantuvieron las muestras almacenadas fue de 4°C.

#### 3.1.1 Análisis fisicoquímico del suelo

El objetivo de este análisis se realiza con la finalidad de determinar los parámetros fisicoquímicos del suelo testigo y contaminado de Minatitlán, Ver., y de esta forma, poder evaluar el grado de contaminación de dicho suelo. Las determinaciones que se realizaron fueron las de humedad, densidad, textura, pH y porcentajes de materia orgánica, carbono, fósforo y nitrógeno, para lo cual, se emplearon técnicas establecidas en el Instituto Mexicano del Petróleo y en manuales de calidad del suelo las cuales se aprecian en el Anexo 1.

### 3.2 Análisis del contenido de hidrocarburos totales de petróleo ( total petroleum hydrocarbons, TPH, en inglés) en suelos por espectroscopia infrarroja

La determinación del contenido de hidrocarburos totales de petróleo es realizada con la metodología IMP-QA-620, (Ruiz e Iris,1997).. establecida y montada en el Departamento de Espectrometrías del Laboratorio Central del Instituto Mexicano del Petróleo. La sensibilidad del método es de 10 mg/kg de suelo. La curva de calibración se realiza empleando un estándar preparado con 15.0 mL de n-hexadecano, 15.0 mL de isooctano y 10.0 mL de clorobenceno, con lo cual se prepara una solución estándar de 15.000 mg/kg. Se realizan diluciones del estándar para tener por lo menos cuatro concentraciones en la curva de calibración, se corren los espectros de los estándares utilizados usando como referencia tetracloruro puro. Los cálculos son realizados aplicando la ley de Lambert-Beer empleando la absorbancia a  $2930\text{ cm}^{-1}$  contra la concentración.

#### 3.2.1 Preparación de la muestra

A 10.0 g de suelo homogéneo y seco a  $110^{\circ}\text{C}$ , se le adicionan 1.0 g de sulfato de sodio anhidro, 1.0 g de gel de sílice y 50 mL de tetracloruro de carbono. La mezcla es agitada durante 30 min a 150 rpm. El sobrenadante (fase orgánica) es separado y filtrado a través de papel filtro Whatman No. 1 realizando varios lavados con  $\text{CCl}_4$ . El extracto se lleva a un volumen de 100.0 mL. La concentración total de hidrocarburos totales de petróleo se determina empleando la siguiente ecuación:

$$\text{Hidrocarburos totales de petróleo (ppm)} = \frac{C^* \times V \times F}{PM}$$

$C^*$  = Concentración, en caso de ser determinada la absorbancia se calcula ésta como absorbancia entre la pendiente (m)

V = Volumen del aforo

PM = Peso de la muestra en gramos

F = Factor de dilución obtenido al dividir el volumen de dilución entre la alicuota.

#### 3.3. Determinación de hidrocarburos aromáticos policíclicos por espectroscopia de fluorescencia

La determinación de los compuestos aromáticos del contenido de hidrocarburos totales de petróleo en los suelos, se lleva a cabo con ayuda de un espectrómetro de luminiscencia LS - 50B (Perkin Elmer) y empleando la técnica IMP - QA -610 (Ruiz e Iris,1997).. montada en el laboratorio de espectrometrías del IMP. La sensibilidad del método es de 0.002 mg/L o mg/kg y el límite máximo de medición es de 1000 mg/L. Dicha técnica se encuentra basada

en la extracción con  $\text{CCl}_4$  del material orgánico, el cual es evaporado y el extracto es nuevamente suspendido en hexano. La cantidad de hidrocarburos aromáticos se da como una medida proporcional a la fluorescencia en un intervalo de longitud de onda de 300 a 400 nm con fuente de excitación a 310 nm.

### 3.3.1 Análisis de la muestra

*Preparación de la curva de calibración.*- La curva de calibración se prepara con estándares del mismo material que se va a analizar, o si lo que se pretende es analizar una concentración de hidrocarburos del petróleo se puede emplear algún crudo que se considere como estándar internacional como es el criseno. Para el caso de interés, la curva estándar es preparada con el estándar de nueve hidrocarburos aromáticos policíclicos pesando 0.025 g de cada compuesto en matraces volumétricos de 10.0 mL, hasta su aforo con tolueno. Este procedimiento se realiza para cada uno de los nueve estándares obteniéndose una concentración final de 2500 mg/L de cada uno. Posteriormente se toma 1.0 mL de c/u y se trasvasa en un matraz de 25 mL para contar con una solución final de 100 ppm de c/u (900 ppm en total). De esta solución final se toma 1.0 mL y es evaporado el disolvente con  $\text{N}_2$  hasta llevar a sequedad. Por último la muestra es resuspendida en hexano realizando las diluciones pertinentes para obtener el intervalo adecuado en la escala de fluorescencia. Los espectros de cada uno de los estándares son obtenidos ajustando a cero con hexano y la curva de calibración es obtenida graficando la fluorescencia contra la concentración en mg/L, calculándose la pendiente con la siguiente ecuación.

$$m = \frac{Y_2 - Y_1}{X_2 - X_1}$$

*Análisis de las muestras.*- Una vez obtenida la curva de calibración se procede a la cuantificación de los compuestos aromáticos provenientes de las fracciones cromatográficas, previa evaporación del disolvente con  $\text{N}_2$  y resuspendidos con hexano grado HPLC. La fluorescencia es cuantificada por medio de un espectro de emisión en un intervalo de 300 a 500 nm. Cabe añadir que, tanto para la curva de calibración como para las muestras, la excitación se llevó a cabo a 310 nm tomando la lectura a una longitud de onda de emisión de 400 nm. La concentración final es calculada empleando la fórmula indicada a continuación.

$$\text{mg/kg de hidrocarburos aromáticos} = \frac{F_x V_x f}{M_x V_1}$$

F = Fluorescencia de la muestra  
V = Volumen de hexano  
f = Factor de dilución  
M = Pendiente  
V<sub>1</sub> = Volumen del agua o peso de suelo

### 3.4 Extracción de los hidrocarburos aromáticos policíclicos

La extracción de los compuestos de interés se lleva a cabo empleando el método No. 20 del UNEP (UNEP/IOC/IAEA, 1992) y el 3540 de la EPA (USEPA, 1986), realizando algunas modificaciones. Como primer paso, la muestra es secada a 40-50°C, macerada en un mortero de porcelana y tamizada en una malla de 250 µm. La extracción se lleva a cabo tomando una muestra de 5.0 g en base seca del sedimento tamizado y es colocada en equipo soxhlet, empleando papel Whatman No 2, previamente lavado con hexano. Se agregan 250 mL de una mezcla de hexano:diclorometano (1:1) al matraz de balón de 500 mL. La muestra es extraída durante 12 / 24 h, con ciclos de sifón de 10 min, y el extracto obtenido se concentra en un rotavapor hasta un volumen de 5 - 10 mL, evitando que la temperatura del baño de agua exceda los 40°C y la presión del vacío no sobrepase los 2.75 bar (40 psi). Cabe señalar que si queda mucho sedimento en el matraz de balón de 500 mL, es recomendable centrifugar a 2500 rpm durante 5 min para, posteriormente, trasvasar a un matraz de balón de 50 mL, donde la muestra es concentrada hasta obtener un volumen entre 2.0 - 5.0 mL. El sobrenadante se fracciona en columnas de vidrio de 2 cm de diámetro interno x 30 cm de longitud. El orden de acomodo de los adsorbentes en húmedo es el siguiente: Hexano, fibra de vidrio, 5.0 g de sílice (en hexano), 5.0 g de alúmina (en hexano) y 1.0 g de sulfato de sodio anhidro. Cabe mencionar que durante la separación es recomendable no dejar secar la columna y activar los adsorbentes previamente a 200°C durante 4 h, para posteriormente desactivarse al 5% en peso/peso con agua tridestilada. La muestra se añade con ayuda de una pipeta Pasteur a la columna y se realizan varios enjuagues al matraz de bola (3 - 5 enjuagues con hexano). Las fracciones con distintas polaridades se obtienen empleando un gradiente de polaridad como es indicado en las Tablas 3 y 4. Cabe añadir que la información de la Tabla 4 se realizó con el objetivo de efectuar una extracción más selectiva empleando disolventes adicionales a los establecidos en la técnica descrita por el UNEP (UNEP/IOC/IAEA, 1992) y que son mencionados en la Tabla 3. Cada una de las fracciones obtenidas es concentrada en rotavapor hasta obtener un volumen de 2.0 - 5.0 mL, secadas por medio de burbujeo con nitrógeno, conservadas en frascos viales color ámbar de 5.0 mL y finalmente almacenadas a 4°C para realizar los análisis subsiguientes.

**Tabla 3. Fracciones que deben obtenerse según UNEP (UNEP/IOC/IAEA, 1992)**

Fracción	Disolventes empleados	Cantidad empleada (mL)
1	hexano (100 %)	20
2	hexano:diclorometano (9:1)	30
	hexano:diclorometano (5:5)	20

**Tabla 4. Fracciones obtenidas empleando diferentes polaridades**

Fracción	Disolventes empleados	Cantidad empleada (mL)
1	hexano (100 %)	20
2	hexano:diclorometano (9:1)	20
3	hexano:diclorometano (5:5)	40
4	metanol:acetona (5:5)	40
5	metanol (100 %)	20

*Identificación del extracto.*- La identificación rápida de cada fracción cromatográfica se realiza con la finalidad de conocer el orden de elución que presentan los compuestos frente a cada disolvente. Las fracciones fueron nuevamente suspendidas con 1.0 mL de metanol para aplicar 0.5  $\mu$ L de las fracciones a evaluar, sobre placas de gel de sílice ("Kiesel DC-alufolien" con indicador fluorescente) en cámara sobresaturada (hexano:diclorometano 7:3). La identificación se realiza empleando una lámpara UV con una  $\lambda$  de 254 y 366 nm. Posteriormente, cada fracción obtenida es analizada en un equipo de IR, colocando el extracto en una pastilla de NaCl y observando la intensidad de las bandas de vibración de cada compuesto. En el Esquema 2 se resume la técnica empleada en la extracción de suelos contaminados con hidrocarburos del petróleo.

### 3.5 Análisis de los hidrocarburos aromáticos policíclicos

#### 3.5.1 Determinación de los compuestos empleando síncronos de excitación

El empleo de esta nueva variante en la obtención de espectros de fluorescencia, se realizó con el propósito de identificar, tanto a los estándares de los nueve hidrocarburos aromáticos policíclicos, como a las fracciones cromatográficas obtenidas previa columna de separación, ya que gracias a las características estructurales de estos compuestos, se favorece su identificación en una región de longitud de onda de 300 - 500 nm determinada para cada compuesto o para cada grupo de compuestos estructuralmente similares.

Un sincrónico de excitación es una modalidad en la obtención de espectros por espectroscopía de fluorescencia orientada a mezclas que poseen varios componentes y que serían imposibles de identificar si solamente se contara con espectros de excitación o de emisión, debido al gran número de bandas obtenidas al emplear estas técnicas (capítulo II sección 2.2.3.4). Un requisito para obtener sincrónicos de excitación es sincronizar a ambos monocromadores a una determinada longitud de onda y con una sensibilidad característica a la cual se le denomina ranura (slits). Cabe mencionarse que el intervalo espectral seleccionado se encuentra definido por el intervalo de diferencias de longitudes de onda  $\Delta\lambda$  y los cambios de Stokes  $\delta\lambda_s$  del compuesto, por lo que algunas de ellas ya han sido obtenidas de manera experimental (Vo-Dinh, 1978). La obtención de sincrónicos de fluorescencia se realiza conforme lo establecido por Vo-Dinh (1978), en donde en un experimento similar, se identificaron por esta técnica a cinco hidrocarburos aromáticos policíclicos (naftaleno, fenantreno, antraceno, perileno y tetraceno), tanto de manera individual, como en una mezcla entre ellos, manejando tres diferentes intervalos de  $\Delta\lambda$  (3 nm, 30 nm, y 45 nm), con los cuales se concluyó que en un intervalo de longitud de onda de 3nm se obtuvieron buenas definiciones espectrales; además, se correlacionaron las señales sincrónicas obtenidas con las estructuras de estos compuestos en la literatura. Por lo que, sobre la base de este experimento, se empleó la misma metodología, efectuando las siguientes modificaciones: a) Para la obtención de lo sincrónicos de excitación de los estándares se preparan por separado nueve estándares de hidrocarburos aromáticos policíclicos en una concentración de 2500 ppm, pesando 0.025 g de cada uno de ellos en matraces volumétricos de 10.0 mL y aforando a 7 de ellos con etanol, y los 2 restantes (criseno y dibenzo(a, h)antraceno) con tolueno, ya que estos últimos compuestos son insolubles en disolventes polares. b) Se establecen las mejores condiciones encaminadas hacia la obtención de los compuestos a analizar en el equipo de fluorescencia, en este caso se comprobó que a una  $\Delta\lambda = 3$  nm y con ranura ("slits") = 5, se obtienen buenas señales espectrales específicamente para los compuestos de interés. c) Dependiendo de la fluorescencia o intensidad que presente cada uno de los estándares frente a su concentración se realizan las diluciones pertinentes hasta obtener la concentración ideal que permita visualizar la intensidad en una relación proporcional entre ellos. Cabe señalar que, en todos los casos, debe introducirse a la par un blanco del disolvente en el que fueron disueltas las muestras para restar la absorción del disolvente. d) Una vez obtenidos los sincrónicos de excitación de cada uno de los nueve estándares de manera proporcional a su fluorescencia se realizan mezclas entre ellos mediante pruebas de ensayo y error (dependiendo del número de anillos en su estructura) para visualizar si el comportamiento presentado en la mezcla es similar al que presentaron de manera individual. e) Se seleccionan las mezclas de compuestos en donde se hayan observado un número definido de sincrónicos dependiendo de la región de compuestos que se deseen abarcar

(monoaromáticos, diaromáticos, triaromáticos, etc). f) Para descartar si el disolvente sugerido en la literatura era el indicado se procedió a realizar un experimento similar pero con cambio del disolvente (etanol), de los siete estándares empleados, por hexano y procediendo como lo descrito en el inciso (b) de esta sección. g) Una vez que es conocida y determinada la mezcla óptima encaminada hacia la identificación de los estándares de interés se procede a evaporar el disolvente de cada fracción cromatográfica previa separación en columna, para ser suspendida en etanol y, posteriormente, proceder a la identificación de los hidrocarburos aromáticos policíclicos encontrados en el suelo de estudio. La identificación cualitativa de cada fracción se da por comparación espectral entre los síncronos obtenidos de cada uno de los estándares tanto individualmente como en las mezclas entre ellos y tomando en consideración los intervalos de longitud de onda en que aparecieron.

### 3.5.2 Análisis empleando cromatografía de gases

Para la identificación y cuantificación de los hidrocarburos aromáticos policíclicos en las muestras de suelo, se emplea un cromatógrafo de gases, con detector de ionización de flama ( Flame Ionization Detector, FID en inglés), en columna capilar recubierta con 5% fenil metil silicón y 95% de sílice fundida, con una longitud de 30 m x 250 mm de diámetro interno y con un espesor de capa de 0.25 mm. La identificación y cuantificación de los compuestos se realiza con la ayuda de una curva de calibración con cada uno de los nueve estándares comerciales (cuyas especificaciones fueron mencionadas en la sección de equipos y reactivos) y bajo 5 concentraciones diferentes (10, 20, 30, 40 y 50 ppm), determinándose el límite de detección para FID de 5.0 ppm. Las condiciones y parámetros cromatográficos encaminados hacia la detección y cuantificación de estos hidrocarburos aromáticos son mencionados en la Tabla 5. Una vez obtenida la curva de calibración, la concentración de la muestra problema se calcula interpolando el área bajo la curva de los compuestos sospechosos contra la concentración obtenida en la curva de calibración. La concentración se obtiene despejando la concentración (x) de la ecuación de la recta  $y = a + bx$ , quedando como sigue:

$$X = \frac{y - a}{b}$$

y = Área bajo la curva

a = Ordenada

b = Pendiente

X = Concentración



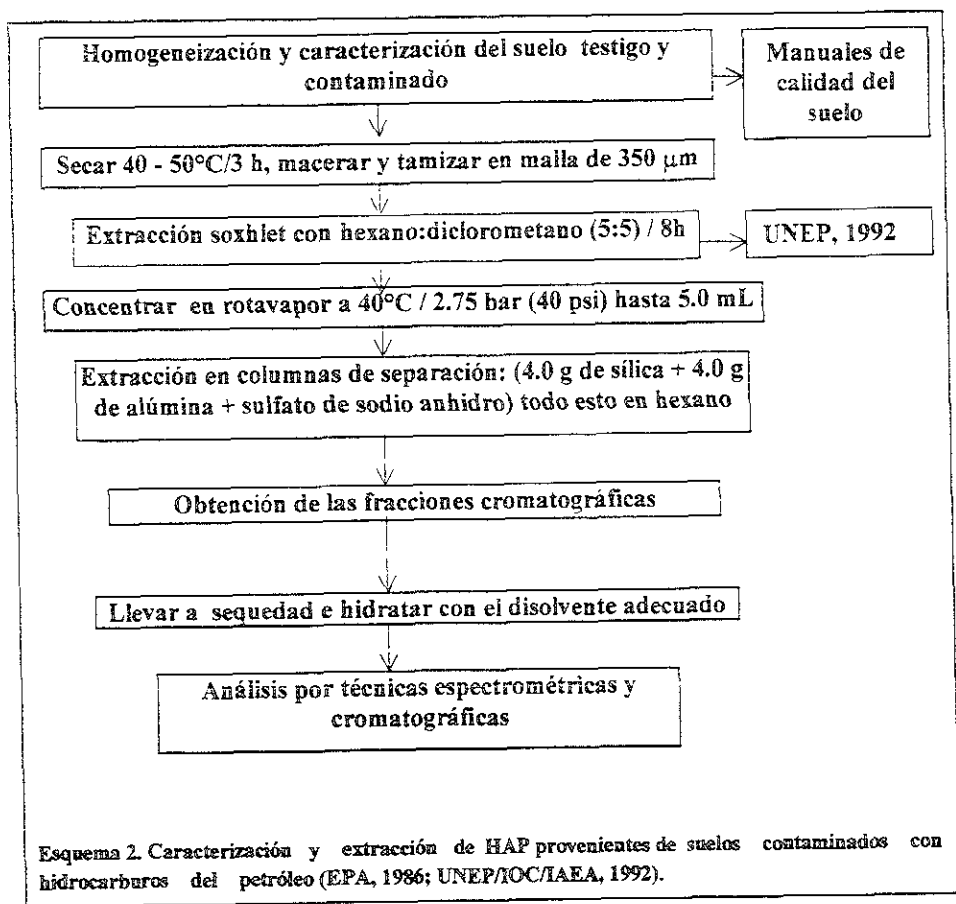
**Tabla 5. Parámetros empleados en cromatografía de gases**

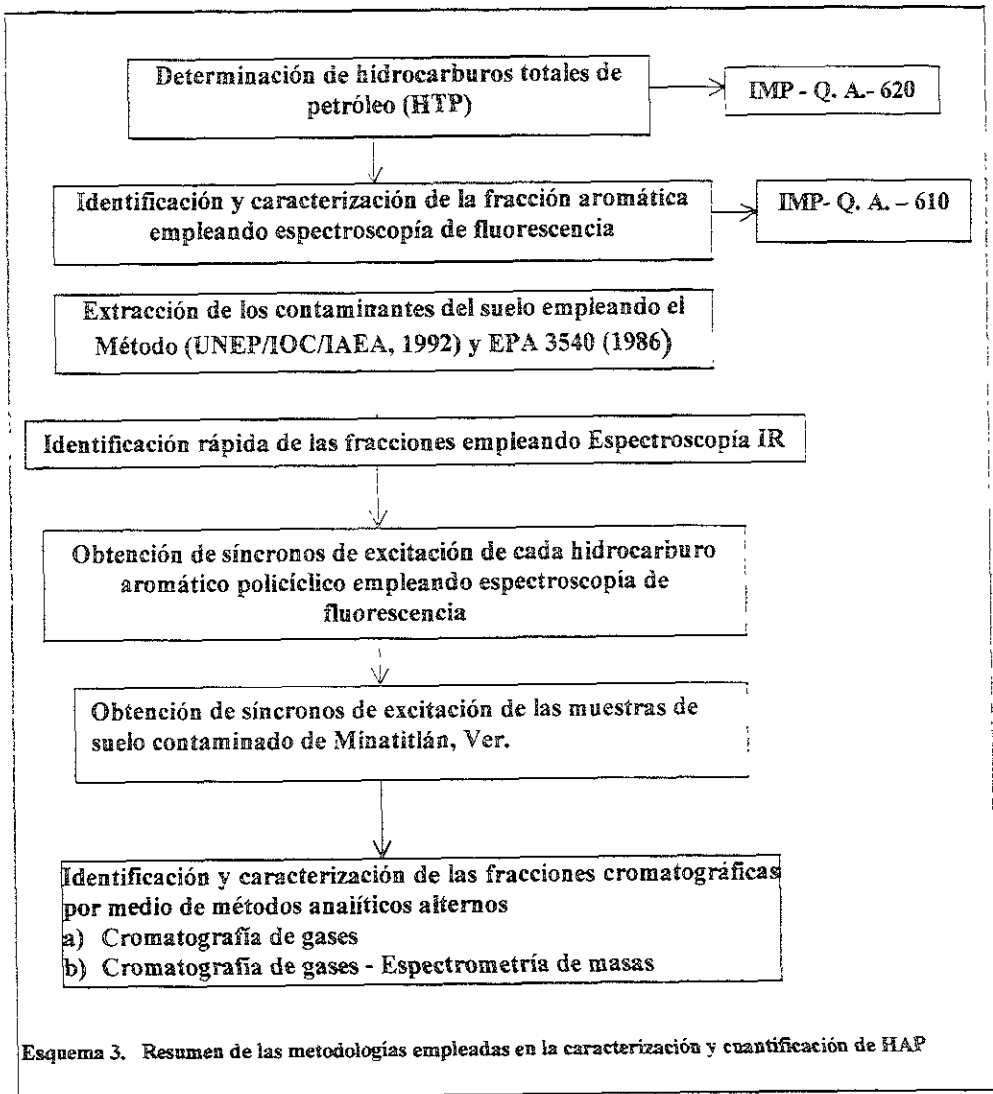
Parámetros	Valores
Temperatura 1:	90 °C
Tiempo:	0.5 min
Gradiente 1	8.0 °C/min
Temperatura 2:	180 °C
Tiempo:	0.0 min
Gradiente 2	5.0 °C/min.
Temperatura 3:	245 °C
Tiempo:	0.0 min
Gradiente 3	2.0 °C/min.
Temperatura final	300 °C
Tiempo:	6.0 min
Tiempo total de corrida:	58.3 min

Posteriormente, una vez obtenida la curva de calibración, son realizadas pruebas de recuperación del proceso de separación con los adsorbentes empleados y en el suelo testigo, como a continuación se describe 1) *Porcentaje de recuperación en columnas cromatográficas.*- Para conocer el porcentaje de retención en columnas cromatográficas se preparan columnas de vidrio como se menciona en el inciso 3.4, para lo cual se adiciona 1.0 mL de la mezcla de los nueve hidrocarburos aromáticos policíclicos en una concentración conocida, sobre las paredes de la columna cromatográfica, para quedar retenidas por los adsorbentes; posteriormente, se realizan varios lavados con los disolventes establecidos y se procede a su cuantificación por cromatografía de gases conforme lo indicado anteriormente. El propósito de esta prueba fue la de establecer el porcentaje de pérdida de producto al quedar retenidos los compuestos en los adsorbentes. 2) *Porcentaje de retención de los hidrocarburos en el suelo.*- Para conocer una aproximación acerca de cuántos compuestos se quedaban retenidos en el suelo testigo, se preparan columnas cromatográficas como se menciona en el inciso 3.4 de este mismo capítulo y se adiciona 1.0 mL de la mezcla de estándares de los nueve hidrocarburos aromáticos policíclicos, en una concentración conocida directamente sobre suelo testigo previamente caracterizado y mantenido a temperatura ambiente durante 24 h. con la finalidad de favorecer la adsorción de los compuestos en el suelo. Al término de este tiempo, el suelo es sometido conforme los pasos de extracción, separación y cuantificación de las secciones 3.4 y 3.5.2

### 3.5.3. Análisis de los compuestos por cromatografía de gases–espectrometría de masas

Tanto la mezcla de estándares como las fracciones separadas en cromatografía en columna, fueron analizadas y caracterizadas empleando un cromatógrafo de gases acoplado a un espectrómetro de masas, ubicado en el laboratorio de espectrometrías de masas del Laboratorio Central del IMP, en donde se obtuvieron, por un lado, las separaciones cromatográficas y, por el otro, las fragmentaciones correspondientes a cada fracción. La técnica encaminada hacia el análisis de estos compuestos fue la de impacto electrónico (electronic impact, EI, en inglés) y la búsqueda de los compuestos se realizó mediante la técnica de barrido completo (full scan, en inglés), en donde el equipo realiza varios barridos completos de manera simultánea, abarcando un amplio intervalo de pesos moleculares (de 33 a 650 UMA). En el Esquema 3 se resumen las metodologías encaminadas hacia la caracterización y cuantificación de los hidrocarburos aromáticos policíclicos, HAP.





## CAPÍTULO IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 4.1 Análisis fisicoquímico del suelo en estudio

Este análisis se realizó con la finalidad de conocer las características más representativas del suelo testigo y contaminado procedentes de Minatitlán, Ver. En la Tabla 6 se aprecian los resultados obtenidos por triplicado del análisis. Dichos valores corresponden al contenido de materia orgánica, carbono, nitrógeno, humedad (expresados en porcentaje), al pH, densidad aparente y textura. En cuanto al contenido de materia orgánica en el suelo testigo y el contaminado (8.55% y 14.39%, respectivamente) se observa un aumento del 5.84% en el último valor, debido a la presencia de compuestos petrogénicos. Dichos valores son comparables con los valores obtenidos en el estudio realizado por Díaz y col. (1995), en donde se estudió la contaminación de suelos hidromórficos con 16 hidrocarburos aromáticos policíclicos de tres regiones cercanas a los pantanos de Centla, en Tabasco. Estos suelos fueron muestreados, caracterizados y cuantificados apoyados en metodologías analíticas ya establecidas, por lo que respecto a los valores de materia orgánica de estos suelos, el valor mínimo reportado correspondió a un 4%, lográndose encontrar valores máximos hasta de 17% y la cuantificación promedio de hidrocarburos aromáticos policíclicos encontrados en ese estudio fue de 2.15  $\mu\text{g/g}$ , 1.84  $\mu\text{g/g}$ , y 1.64  $\mu\text{g/g}$  en las tres regiones, predominando los compuestos de mayor recalcitrancia. En el estudio de interés al observar los valores de carbono y nitrógeno en el suelo testigo (4.97 y 0.08% respectivamente) y compararlos con los valores del suelo contaminado (9.06 y 0.06%) se observa un incremento del 4% sobre el contenido de carbono; no obstante, al analizar el porcentaje de nitrógeno se nota que, en ambos casos, los suelos poseen un bajo porcentaje de este nutriente y que, posiblemente, se trate de suelos que nunca fueron empleados con finalidades agrícolas. La densidad real que mostró el suelo contaminado de 1.06  $\text{g/mL}$  comparada con el 2.05  $\text{g/mL}$  mostrada en el testigo da pruebas de que el suelo contaminado posee hidrocarburos más ligeros que el agua y, por consiguiente, presentan una densidad menor. Cabe mencionar que en la mayoría de los suelos minerales, el valor no debe sobrepasar los 2.65  $\text{g/mL}$  (Ortiz y Ortiz, 1984). El valor del pH del suelo es predominante en suelos ácidos provenientes del eje neovolcánico (andosoles); sin embargo, los resultados de pH se encuentran por debajo del intervalo normal de 6.0-6.5, lo cual podría repercutir en el empobrecimiento del suelo y en el tipo de vegetación regional. Santelises y col. (1987) han reportado factores intrínsecos que influyen en la disminución de pH de un sitio, entre los cuales se encuentran: Una alta concentración de aluminio intercambiable o en solución, la retención de fósforo, el

exceso de manganeso en la solución. las deficiencias de calcio, magnesio o molibdeno, reducida actividad microbiológica y reducida capacidad de intercambio catiónico. En cuanto al porcentaje de humedad del suelo testigo y contaminado se encontraron valores de 9.0 y 36.7 respectivamente, indicativo del grado de humedad existente en este suelo contaminado de tipo pantanoso en el posiblemente se haya formado una película, quedando en su interior micelas de agua, evitando así su evaporación; sin embargo, en el suelo testigo el porcentaje de humedad se encuentra dentro de los valores reportados por Yeung y col. (1994), en donde de manera experimental se determinó que el porcentaje mínimo de humedad que debían de contener los suelos contaminados con crudo para lograr un rendimiento de extracción del 95% o más, debía ser menor al 30%, ya que a porcentajes mayores de humedad se nota una disminución en los porcentajes de recuperación de crudo. En cuanto a los valores de textura, observamos un porcentaje mayor de arenas que de arcillas (81.84 y 15.16%, respectivamente) lo cual indica, que el suelo en estudio posee una escasa retención de material orgánico.

**Tabla 6. Parámetros fisicoquímicos de los suelos del área de Minatitlán**

PARÁMETRO	SUELO TESTIGO <sup>(a)</sup>	SUELO <sup>(a)</sup> CONTAMINADO <sup>(a)</sup>
Humedad relativa (%)	9.90 $\sigma \pm 0.27$	36.77 $\sigma \pm 0.49$
Valor de pH (activo)	5.00 $\sigma \pm 0.12$	4.20 $\sigma \pm 0.21$
Densidad real (g/mL)	2.05 $\sigma \pm 0.08$	1.06 $\sigma \pm 0.10$
Materia orgánica (%)	8.55 $\sigma \pm 0.43$	14.39 $\sigma \pm 0.04$
Carbono (%)	4.97 $\sigma \pm 0.09$	9.06 $\sigma \pm 0.01$
Nitrógeno (%)	0.08 $\sigma \pm 0.03$	0.06 $\sigma \pm 0.08$
Fósforo (mg/L)	0.51 $\sigma \pm 0.03$	0.48 $\sigma \pm 0.001$
Textura	81.84% de arena, 15.14% de arcilla, 3.0% de limo	

(a) Promedio de tres determinaciones:  $\sigma$  = Desviación estándar

#### 4.2 Determinación de hidrocarburos totales de petróleo en suelos HTP (Total Petroleum hydrocarbons, TPH, en inglés)

La determinación de HTP en suelos es un parámetro empleado por los países del primer mundo, con la finalidad de cuantificar el grado general de contaminación que presentan

los suelos antes y después de remediar la zona contaminada con productos petroleros. Los límites de descontaminación permitidos se encuentran establecidos por cada estado, abarcando intervalos que van de 10.0 hasta 10, 000 ppm de HTP dependiendo del grado de contaminación inicial que se haya cuantificado (Calabrese y Kostecki, 1991). En este estudio se realizó esta determinación con el objetivo de contar con un intervalo indicativo sobre el contenido de hidrocarburos totales de petróleo en el área de estudio, y de esta forma determinar la técnica de extracción a seguir. El método de determinación fue mencionado previamente en la sección 3.2 de Materiales y Métodos. Para cuantificar el contenido de HTP, fue necesario realizar dos curvas de calibración debido a la visible presencia y ausencia de contaminantes (diferencias entre las concentraciones que se manejaron) en los suelos contaminado y testigo, respectivamente (Tabla 7). La lectura se realizó en un IR-TF a una absorbancia de 2930  $\text{cm}^{-1}$  para, posteriormente, proceder a realizar los cálculos y conocer la concentración real de HTP en ambos suelos. Los resultados obtenidos presentaron valores de 30,809.15 y 30.00 miligramos de hidrocarburos totales de petróleo / kg de suelo, respectivamente, por lo que fue evidente el contenido de contaminantes totales de origen petrogénico en el área de estudio, lo cual sirvió de plataforma para realizar la extracción, separación y cuantificación de los contaminantes buscados.

Tabla 7. Curvas de calibración de estándares para hidrocarburos totales de petróleo, HTP

Empleando un ancho de celda de 5.0 cm		Empleando un ancho de celda de 1.0 cm	
Concentración (ppm)	Absorbancia	Concentración	Absorbancia
11.52	0.127	867.24	0.186
23.12	0.248	1734.50	0.365
46.25	0.487	2601.7	0.548
69.37	0.728	3468.9	0.727
92.50	0.969	4336.2	0.919

Para la celda de 5 cm:  $a = 0.00690$ ,  $b = 0.01044$ ,  $r = 0.9995$ ; para la celda de 1 cm  $a = 0.00097$ ,  $b = 0.00021$ ,  $r = 0.9998$ , donde de la ecuación  $y = a + bx$ ,  $a =$  Ordenada,  $b =$  Pendiente,  $r =$  Coef. de correlación

### 4.3 Espectros de IR de las fracciones cromatográficas

Dada la necesidad de conocer en forma general el grupo funcional que se encontraba eluyendo en cada fracción cromatográfica y para evaluar el grado de polaridad del disolvente empleado se procedió a caracterizar parte de estas fracciones en IR, por lo que 0.5 mL de cada fracción fue extendida sobre placas de KBr, formando una película, para posteriormente proceder a realizar la lectura en el equipo. En la Figura 4 se aprecian los espectros de IR de las 5 fracciones obtenidas previa extracción y separación en columnas. Se aprecia de manera general que conforme se incrementó la polaridad del disolvente, empezaron a denotarse bandas características de hidrocarburos aromáticos, y es así, que en las fracciones 1 y 2 (extraídas principalmente con hexano), se presentaron bandas correspondientes al stretching C - H de compuestos alifáticos, y bandas medianas y débiles características de metilos y metilenos de hidrocarburos lineales o parafinas en las regiones de  $2940 - 2980 \text{ cm}^{-1}$  y en  $1450 - 1380 \text{ cm}^{-1}$  respectivamente. También se aprecia que en la fracción 3 (extraída con una mezcla de hexano - diclorometano (1:1)), eluyó una banda débil en la región de  $3020$  y se observaron varias bandas de mediana intensidad en  $1600 - 1610 \text{ cm}^{-1}$  correspondientes al bending de compuestos aromáticos, acompañados de algunos sobretonos característicos de estos compuestos en la región de  $600 \text{ cm}^{-1}$ . En las fracciones 4 y 5 (obtenidas con la mayor polaridad), no se observaron las bandas características de los hidrocarburos aromáticos, sino que sobresalieron nuevamente las regiones de  $2940 - 2980 \text{ cm}^{-1}$  y  $1450 - 1380 \text{ cm}^{-1}$ , y una banda en  $1700 - 1750 \text{ cm}^{-1}$  correspondiente a los compuestos con grupos carbonilos, como ésteres, cetonas, aldehídos, ácidos carboxílicos, etc, por lo que se supone que el sitio en estudio es ocupado como depósito de residuos petroquímicos los cuales conllevan compuestos alquilados empleados para la obtención de diversos petroquímicos. En el Anexo 2 es posible apreciar las diferencias entre las bandas características existentes entre los espectros de IR de cada uno de los estándares analizados individualmente obtenidos en fase gaseosa al acoplar el IR al cromatógrafo de gases, y en fase condensada. Es posible distinguir que las bandas correspondientes al "stretching" C - H se tornan más finas y fuertes en fase gaseosa que en la condensada, donde escasamente se aprecia la banda de  $2940 - 2980$ . Una posible explicación de esto son los grados de libertad de los enlaces de las moléculas que se encuentran absorbiendo energía en la fase gaseosa, mientras que en la condensada se presenta el "efecto de red" en donde existe una mayor fricción entre los compuestos.

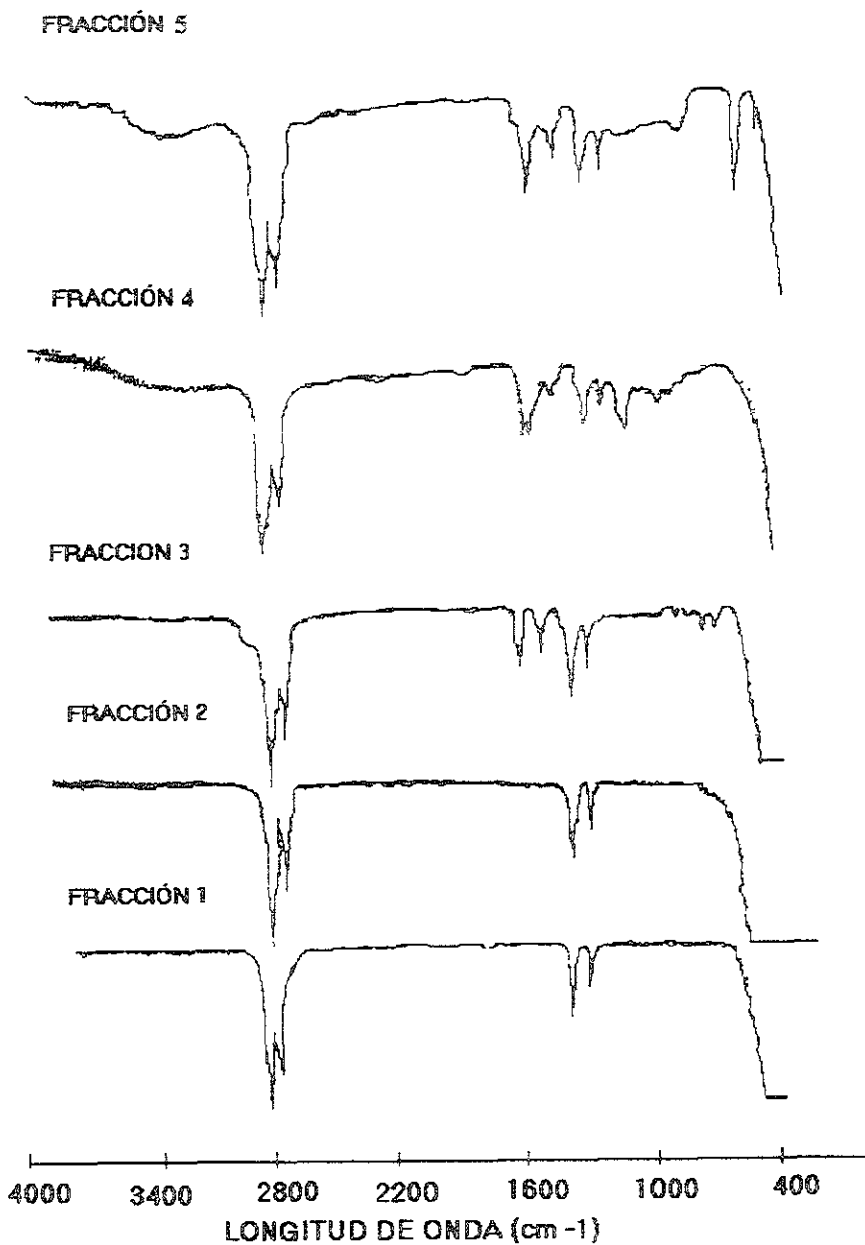


Figura 4. Espectros de IR de las fracciones del suelo de Milantón.



#### 4.4 Realización de curvas de calibración de los hidrocarburos aromáticos policíclicos empleando cromatografía de gases

La curva de calibración bajo 4 concentraciones diferentes del estándar (10.0, 20.0, 30.0, y 40.0 mg/L) se aprecia en la Figura 5. Los datos obtenidos para generarla se aprecian en el ANEXO 3. Dicha curva se realizó extrapolando el área determinada para cada compuesto contra su concentración en ppm. En ella se aprecia que todos los estándares presentaron diferentes áreas y concentraciones, por lo que compuestos que presumiblemente tienen el mismo peso molecular de 202 UMA como el fluoranteno y el pireno, presentan áreas muy semejantes. Quizás, la pequeña diferencia observada entre ellos se atribuya a sus diferencias estructurales. Lo mismo parece ocurrir con el acenafteño y el fluoreno en donde la conjugación existente entre sus enlaces y la interposición del anillo de 5 carbonos entre ambos bencenos confiere una mayor aromaticidad en la molécula. También se observa que, en el caso del criseno, benzo(a)pireno y dibenzo(a,h)antraceno, las áreas bajo la curva son diferentes debido a un incremento en su peso molecular y a una conformación estructural distinta a los compuestos anteriormente señalados, lo cual genera una mayor permanencia en la columna y un mayor tiempo de retención. Cabe señalar que en todos los casos fue posible notar una buena linealidad entre ellos.

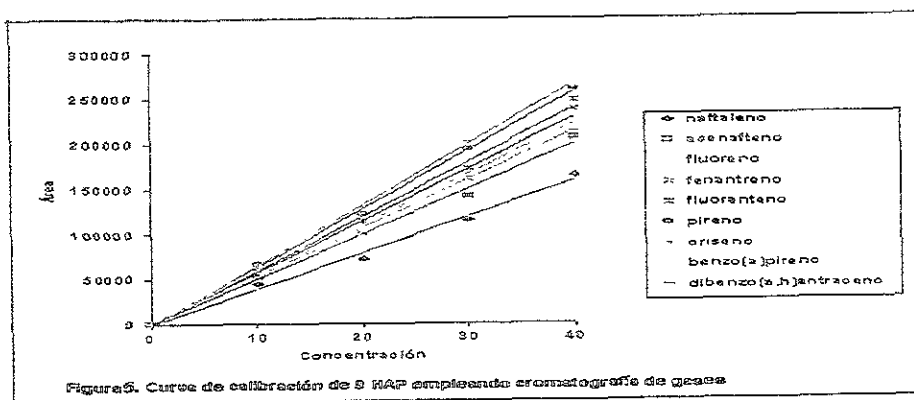


Figura 5. Curva de calibración de 9 HAP empleando cromatografía de gases

#### 4.5 Determinación de la precisión de las inyecciones realizadas en el cromatógrafo de gases

En la Tabla 8 se muestra la reproducibilidad del método establecido para la determinación de nueve hidrocarburos aromáticos policíclicos (polycyclic aromatic

hydrocarbons, PAH, en inglés) por cromatografía de gases referentes a la inyección del operario. Esta prueba se realizó inyectando 3 veces un estándar de nueve hidrocarburos aromáticos policíclicos en una concentración de 30.0 ppm y comparando, tanto los tiempos de retención de las diferentes inyecciones como de las medias entre ellos. También se aprecia que las principales diferencias entre las repeticiones fueron debidas a la imprecisión del operario y a las condiciones no controladas por el mismo; sin embargo, puede observarse que el coeficiente de variación de todos los compuestos fue menor a 0.15. Solo el naftaleno fue el compuesto que presentó un coeficiente de variación mayor de 0.25. Por otro lado, al reanar una comparación entre los 9 compuestos se observa que las desviaciones estandar de los tiempos de retención fueron menores a 0.049, mientras que para las áreas se observaron valores menores a 7.22, lo cual indica que los valores no se encuentran muy alejados de la media y que el equipo con que se trabaja presenta una excelente precisión.

Tabla 8. Reproducción de inyección empleando una mezcla de estándares a 30 ppm cada uno

Compuesto	t.r. <sub>1</sub> (área)	t.r. <sub>2</sub> (área)	t.r. <sub>3</sub> (área)	t.r. <sub>4</sub> (área)	m (m)	C. V. %
naftaleno	8.615 (114580)	8.58 (114584)	8.602 (114579)	8.636 (114582)	8.596 <sup>σ</sup> 0.012 (114581.250) ( <sup>σ</sup> 1.923)	0.145 (0.001)
acenafteno	14.018 (1403809)	14.006 (140375)	14.007 (140388)	14.035 (140377)	14.003 <sup>σ</sup> 0.012 (140380.001) ( <sup>σ</sup> 4.949)	0.087 (0.003)
fluoreno	15.837 (162444)	15.818 (162436)	15.808 (162429)	15.826 (162438)	15.823 <sup>σ</sup> 0.018 (162436.751) ( <sup>σ</sup> 5.408)	0.070 (0.003)
fenantreno	19.684 (159780)	19.665 (159770)	19.632 (159764)	19.651 (159769)	19.650 <sup>σ</sup> 0.0180 (159770.752) ( <sup>σ</sup> 5.809)	0.096 (0.003)
floranteno	25.158 (171977)	25.159 (171984)	25.105 (171980)	25.136 (171979)	25.132 <sup>σ</sup> 0.020 (171979.012) ( <sup>σ</sup> 2.549)	0.094 (0.001)
pireno	26.25 (192978)	26.20 (192984)	26.25 (192983)	26.23 (192987)	26.233 <sup>σ</sup> 0.020 (192983.021) ( <sup>σ</sup> 3.2403)	0.078 (0.005)
criseno	34.005 (201944)	33.934 (201957)	34.005 (201939)	33.995 (201950)	33.967 <sup>σ</sup> 0.032 (201947.532) ( <sup>σ</sup> 6.7268)	0.096 (0.003)
benzo(a)pireno	44.707 (161337)	44.758 (161335)	44.656 (161342)	44.705 (161338)	44.700 <sup>σ</sup> 0.035 (161338.021) ( <sup>σ</sup> 2.449)	0.079 (0.001)
dibenzo (a, b) antraceno	54.405 (161415)	54.456 (161422)	54.393 (161431)	54.378 (161425)	54.40 <sup>σ</sup> 0.029 (161423.255) ( <sup>σ</sup> 5.766)	0.054 (0.003)

t. r = Repeticiones del "tiempo de retención" que presentó cada componente bajo las mismas condiciones de corrida, C. V. = coeficiente de varianza, m = media,  $\sigma$  = desviación estandar. Los valores del paréntesis representan las áreas de cada compuesto

#### 4.6 Evaluación de la recuperación de la mezcla de estándares de hidrocarburos aromáticos policíclicos

El porcentaje de recuperación de la mezcla de nueve estándares se aprecia en la Tabla 9. El objetivo de esta determinación fue el de cuantificar los contaminantes de interés retenidos tanto en los adsorbentes empleados en las columnas cromatográficas (gel de sílice e hidróxido de aluminio) como en la matriz del suelo testigo. Para fines prácticos se realizaron 2 pruebas: La primera consistió en cuantificar los contaminantes retenidos en los adsorbentes empleados en la columna cromatográfica de separación, según lo establecido en la metodología de la UNEP/IOC/IAEA (1992). La segunda prueba consistió en adicionar una concentración conocida de la mezcla de estándares sobre el suelo previamente seco y mantenido a una humedad del 18% para, posteriormente, realizar su extracción y cuantificación como se menciona en la sección 3.4 y 3.5.2. Los resultados visualizados en dicha tabla determinaron una mayor retención de los contaminantes en el suelo testigo que en los adsorbentes de la columna empacada (81.01 y 25.46 ppm, respectivamente), debido a que el suelo como matriz natural compleja contiene en su estructuras numerosos compuestos polares tales como ácidos fúlvicos y húmicos en donde se ha comprobado la generación de microambientes micelares entre estos y los compuestos orgánicos, quedando prácticamente atrapados en su interior, repercutiendo en una separación entre ellos casi imposible, aún recurriendo a métodos de extracción más drásticos y con un mayor costo (Puchalski y col., 1992). También es posible apreciar que los compuestos que mostraron un mayor peso molecular, como el benzo(a)pireno y el dibenzo(a, h)antraceno fueron retenidos con una menor proporción en ambas matrices que el resto de ellos. Esto podría deberse al tamaño, estabilidad y facilidad de oxidación e interacción con los diferentes enlaces de tipo covalente polar o de atracciones electrostáticas e interacciones de menor polaridad como los puentes de hidrógeno. Cabe mencionar que compuestos como el naftaleno y el acenafeno no se lograron identificar usando el detector de ionización de flama (FID, en inglés), por su posible volatilización, mientras que compuestos como el benzo(a)pireno y el dibenzo(a, h)antraeno se recuperaron casi en su totalidad en adsorbentes (95 y 96% respectivamente). Este último compuesto también presentó una recuperación del 90% en el suelo. Por ello, con base en estos resultados puede suponerse que la recuperación global de los hidrocarburos aromático policíclicos en ambas matrices fue del 80%, sin tomar en cuenta a los compuestos volátiles, debido a los factores anteriormente expuestos.

**Tabla 9. Recuperación de la mezcla de hidrocarburos aromáticos policíclicos**

Compuesto	t. r.	Concentración inicial de la mezcla de 9 HAP (ppm)	Retención en adsorbentes de columna empacada (ppm)	Retención en suelo testigo (ppm)	Sumatoria del % de retención en columna y en suelo	Total de recuperación (%)
naftaleno	8.18	32.83	n d (n d)	n d (n d)	n d	n d
acenafteno	13.40	30.39	n d (n d)	n d (n d)	n d	n d
fluoreno	15.18	32.93	8.50 (24.43)	12.27 (20.66)	29.77	79.73
fenantreno	18.90	31.35	1.43 (29.92)	13.15 (18.20)	14.58	85.42
fluoranteno	24.26	29.12	5.32 (23.8)	16.56 (12.56)	21.88	79.03
pireno	25.30	29.18	6.45 (22.73)	12.25 (16.93)	18.70	81.3
criseno	32.65	29.18	1.35 (27.83)	14.98 (14.20)	16.33	83.67
benzo(a)pireno	42.95	31.45	1.43 (30.0)	9.36 (22.09)	10.79	89.21
dibenzo(a,h)antraceno	52.30	30.06	0.98 (29.08)	2.44 (27.62)	3.42	96.58
<b>Cantidades totales</b>	n.d	<b>276.49</b>	<b>25.46</b> (187.79)	<b>81.01</b> (132.26)	<b>106.47</b>	<b>61.49<sup>(a)</sup></b> <b>79.72<sup>(b)</sup></b>

tr = tiempo de retención; nd = Cantidad no detectable por FID; ppm = mg de contaminante por kg de suelo seco. El valor del paréntesis es la cantidad que pasa por la columna, ya sea por los adsorbentes en la columna o por el suelo testigo. (a) Es el % total de recuperación considerando todos los compuestos y (b) Es el % de recuperación sin tomar en cuenta los 2 primeros compuestos

#### 4.7 Hidrocarburos aromáticos policíclicos encontrados en las fracciones cromatográficas

En la Tabla 10 se observa a los compuestos identificados por FID correspondientes a las fracciones 2, 3, 4 y 5 logradas bajo distintas mezclas de disolventes y polaridades. Cabe mencionar que en la fracción 1 (la cual es la es la fracción obtenida con 100% de hexano) y la 2 obtenida con hexano-diclorometano (90:10), no se lograron identificar a ningún compuesto aromático de interés. Al comparar las fracciones obtenidas en cada columna de extracción, se observa que conforme la polaridad se fue incrementando, el número de compuestos identificados ascendió a 4 en la fracción 3 (extraída con una mezcla de hexano-diclorometano (50:50) y con una concentración de 8.22 ppm; a 2 compuestos en la fracción 4 con 4.07 ppm y a 1 compuesto en la fracción 5 con 0.717 ppm. Puede observarse que la fracción 3 que fue la que presentó la mayor afinidad hacia los compuestos de interés ya que presentó la mayor cantidad de contaminantes, lo cual corrobora que la mezcla de disolventes empleados fue la más eficiente en la extracción y cuantificación. Cabe añadir que esta fracción es comparable con la fracción

2 de la técnica UNEP/IOC/IAEA (1992), la cual emplea los disolventes de la fracción 3. Esto indica que la extracción con los disolventes adecuados es un factor crucial para la separación y recuperación de los hidrocarburos en estudio. El compuesto que se encontró que contenía la mayor concentración de todos fue el pireno con 4.43 ppm, lo cual es indicativo del tipo de productos vertidos en este sitio, como son los elaborados a partir del alquitrán del carbono o, en su defecto, de diversos productos petroquímicos vertidos intencionalmente en el área de estudio.

Tabla 10. Fracciones obtenidas con diferentes disolventes de muestras de suelo de Minatitlán

Fracciones en miligramos del compuesto/kg de suelo seco				
Fracciones	2	3	4	5
COMPUESTO	hexano:diclorometano (9:1)	hexano:diclorometano (5:5)	metanol:acetona (5:5)	metanol (100)
naftaleno	n.d	n.d	n.d	n.d
acenafteno	n.d	n.d	n.d	n.d
fluoreno	n.d	n.d	1.02 (1.236)	0.59 (0.717)
fenantreno	n.d	n.d	n.d	n.d
fluoranteno	n.d	0.043 (0.053)	n.d	n.d
pireno	n.d	4.43 (5.260)	n.d	n.d
criseno	n.d	1.63 (1.890)	n.d	n.d
benzo(a)pireno	n.d	n.d	n.d	n.d
dibenzo(ah)antraceno	n.d	0.99 (1.023)	2.75 (2.840)	n.d
Cantidad total en mg de contaminantes / kg de suelo	0	7.09 (8.22)	3.77 (4.07)	0.59 (0.71)

\*El valor en paréntesis es tomando en cuenta el porcentaje de pérdidas en adsorbentes y en el suelo testigo de la Tabla 9

#### 4.8 Cromatogramas obtenidos de las pruebas realizadas al suelo de Minatitlán (Veracruz)

Los cromatogramas obtenidos del suelo testigo y contaminado se visualizan en la Figura 6 (de la *a* la *f*). La figura (*a*) muestra que el suelo "limpio" no contuvo ninguno contaminante policíclico, ya que los tiempos de retención obtenidos no coincidieron con los del estándar. Quizás los picos apreciados sean diversos compuestos orgánicos, productos de la difícil separación de los componentes existentes en él. Las figuras (*b*) y (*c*) corresponden a las pruebas de retención en los adsorbentes de la columna de separación y en los adsorbentes naturales del suelo testigo. Se aprecia que de la mezcla de 9 estándares solo 7 de ellos pudieron ser detectados por FID, debido a que 2 de ellos (naftaleno y acenafteno) pudieron volatilizarse durante la etapa de extracción. Las (*d*), (*e*), (*f*) y (*g*) son los cromatogramas de las 5 fracciones obtenidas durante la extracción en columna de separación empleando diferentes polaridades en los disolventes. En la (*d*) (correspondiente a la fracción 2) no se obtuvo ningún compuesto comparable al estándar externo, sin embargo en la (*e*) (correspondiente a la fracción 3, extraída con una mezcla 1:1 de hexano-diclorometano) se aprecian numerosos picos, los cuales fueron comparables con el fluoranteno, pireno, criseno y dibenzo(a, h)antraceno del estándar. En las figuras (*f*) y (*g*) correspondientes a las fracciones 4 y 5, respectivamente, se nota que, a pesar de que el equipo logra una excelente separación de numerosos compuestos, solo se lograron identificar en la fracción 4 al fluoranteno y al pireno y en una concentración menor en la fracción 5 al fluoranteno. Las concentraciones en que se encontraron dichos compuestos pueden observarse en la Tabla 10. Para verificar si estos compuestos se encontraban en el suelo, fue necesario realizar pruebas confirmatorias con técnicas analíticas alternas como cromatografía de gases-masas para, de esta forma, corroborar la existencia de estos contaminantes. Cabe mencionar que, paralelamente, se analizaron estas 5 fracciones obtenidas durante la extracción en columna de separación por espectroscopia de fluorescencia.

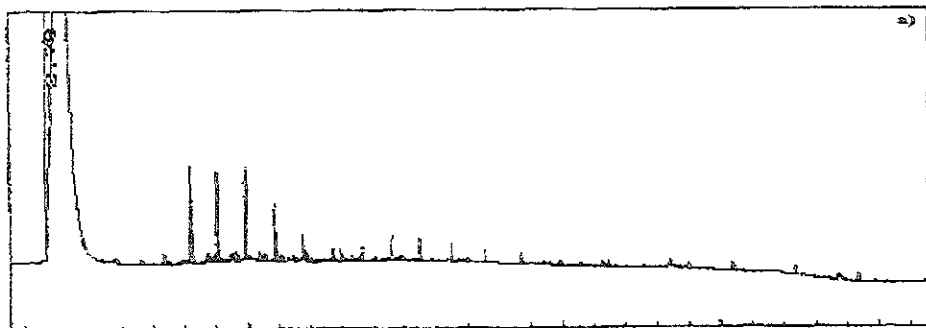
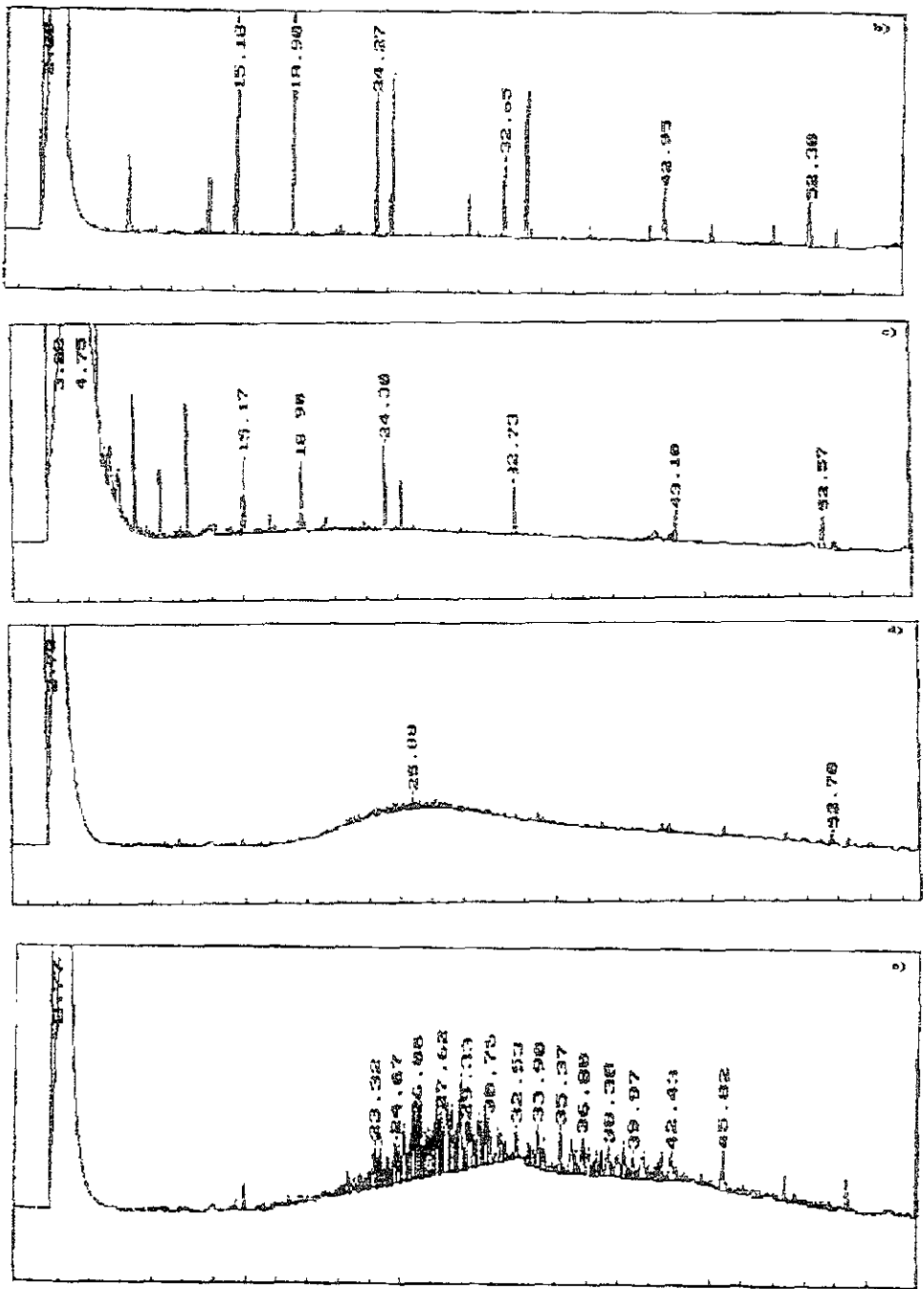
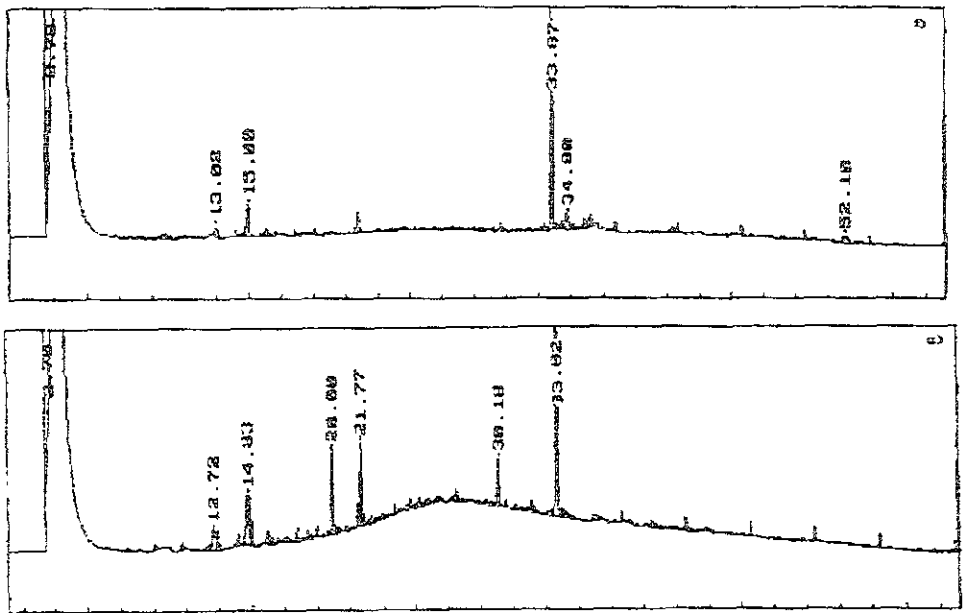


Figura 6 (a) Suelo limpio del área de Minatitlán



Cont. Figura 6 (b) Recuperación de la mezcla de HAP a 30 ppm pasada por los adsorbentes de la columna de separación; (c) Recuperación de la mezcla de HAP a 30 ppm pasada por el suelo testigo (d) Extracción del suelo contaminado (Fracción 2);(e) Extracción del suelo contaminado (Fracción 3)



Cont. de la Figura 6, (f) Extracción del suelo contaminado (Fracción 4); (g) Extracción del suelo contaminado (Fracción 5)

#### 4.9 Espectros de gases-masas del estándar de hidrocarburos aromáticos policíclicos

La obtención de estos espectros se realizó con la finalidad de comprobar e identificar a los HAP presentes en las fracciones cromatográficas, previo análisis por las dos técnicas descritas anteriormente. La identificación de cada compuesto se realizó identificando principalmente al ion molecular más intenso de cada compuesto estándar (Anexo 4), para posteriormente recurrir a la identificación de los HAP y comparar si los patrones de fragmentación en las muestras correspondían a los del estándar (Tabla 11). Los espectros de masas fueron realizados en el Laboratorio de Espectroscopia de Masas del Instituto Mexicano del Petróleo, según lo señalado en la sección 3.5.3 en el capítulo 3 de Materiales y Métodos. Al comparar los pesos moleculares de cada uno de los estándares calculados mediante su fórmula molecular y compararlos con las fragmentaciones obtenidas experimentalmente, se observa que los iones moleculares intensos de todos los compuestos aromáticos correspondieron a los picos base del espectro de masas, lo cual ocurre normalmente en compuestos que presentan aromaticidad en sus estructuras y, por ende, tiende a conferir estabilidad a la molécula por resonancia (Silverstein, 1981). Analizando el Anexo 4, se observa que los compuestos de menor peso molecular, como el naftaleno, acenafeno, fluoreno y fluoranteno, tienden a presentar patrones de fragmentación característicos de los compuestos aromáticos, lo cual se constata al observar picos de peso molecular de  $13$ ,  $14$ ,  $39$ ,  $52 \pm 1$ ,  $64 \pm 1$ ,  $78 \pm 1$ ,  $91 \pm 1$  y pérdidas de  $-25$ ,  $-26$ ,  $-77$



correspondientes a la eliminación de fragmentos de 2 carbonos (etilenos) y del benceno estabilizado como ion tropilio (compuesto cíclico de siete carbonos y electrones en resonancia) dando estructuras químicas con una mayor estabilidad. Las fragmentaciones observadas, son debidas a reacciones de deshidratación y, en el caso de los compuestos alquil-bencénicos a las del rearrreglo de tipo McLafferty, en donde ocurre una migración del doble enlace H<sub>2</sub> en la posición  $\chi$  con ruptura en  $\beta$ . Por otro lado, conforme las estructuras aumentan su complejidad estructural, los patrones de fragmentación varían.

**Tabla 11. Iones moleculares encontrados en el estándar de los hidrocarburos aromáticos policíclicos**

Nombre del compuesto	ión molecular	Peso molecular calculado
Naftaleno	128	128
Acenafteno	154	154
Fluoreno	166	166
Fenantreno	178	178
Fluoranteno	202	202
Pireno	202	202
Criseno	228	228
benzo(a)pireno	252	252
dibenzo(ah)antraceno	278	278

#### 4.9.1 Espectros de gases-masas del suelo testigo y contaminado

La confirmación de los compuestos obtenidos de las fracciones cromatográficas del sitio en estudio se realizó basándose en los pesos moleculares y tiempos de retención obtenidos de la mezcla estándar. En el Anexo 4 es posible apreciar los espectros de gases-masas del estándar y de la fracción 3 ya que en las otras fracciones se visualizaron algunos compuestos pero a nivel del ruido del equipo y sería dudoso confirmar su existencia. Además, se encontraron algunos picos identificados por espectrometría de masas como parafinas lineales y ftalatos, los cuales son contaminantes provenientes de materiales plásticos. En la Figura 7 se aprecia el cromatograma de gases y el espectro de masas de la fracción 3, en donde los tiempos de retención de 14.75, 19.15, 25.39 y 32.35 concordaron con los iones 178, 202, 228 y 252, correspondientes a los picos bases del estándar del fenantreno, fluoranteno, criseno, y benzo(a)pireno, respectivamente, y con una abundancia mayor de 500. Cabe mencionar que dos de los compuestos (fluoranteno y criseno) identificados únicamente por cromatografía de gases (Tabla 10) fueron confirmados por espectrometría de masas; sin embargo, se identificaron dos compuestos adicionales por esta última técnica mencionada, el fenantreno y el benzo(a)pireno, con una abundancia menor a 500, lo cual es indicativo de la baja concentración en que se encuentran estos contaminantes en el suelo. Los resultados tanto de los estándares como de la fracción 3 obtenidos por gases-masas se resumen en la Tabla 12.

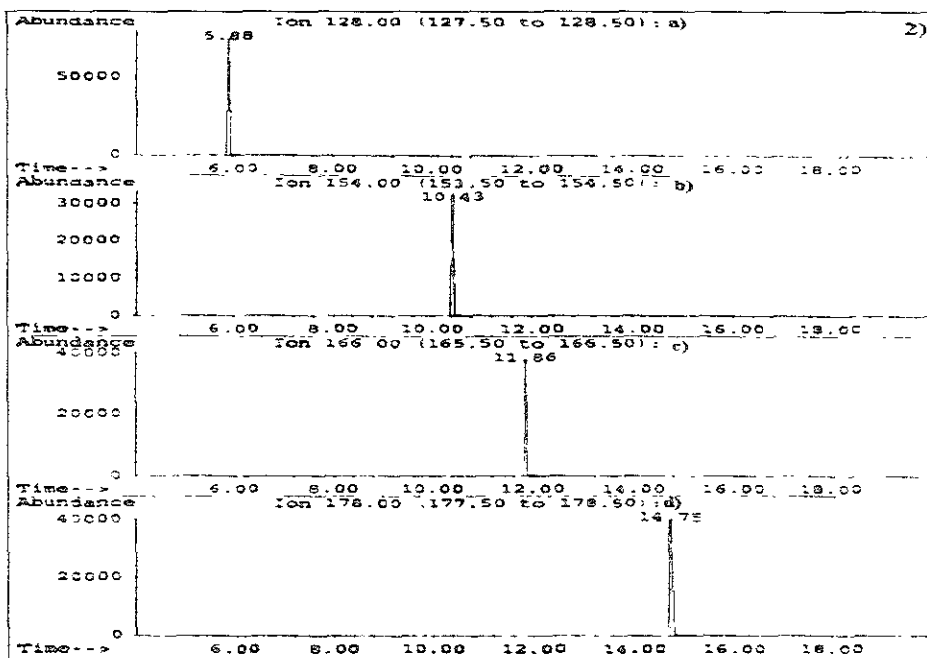
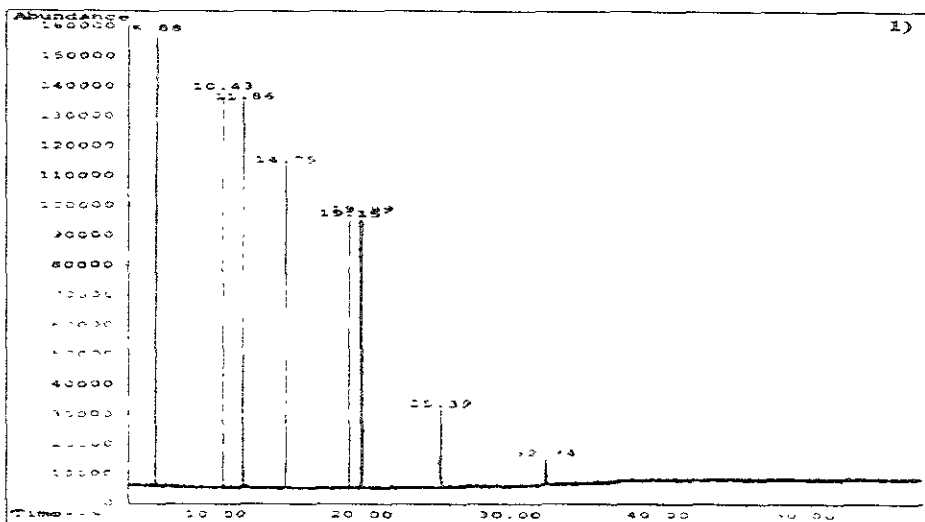
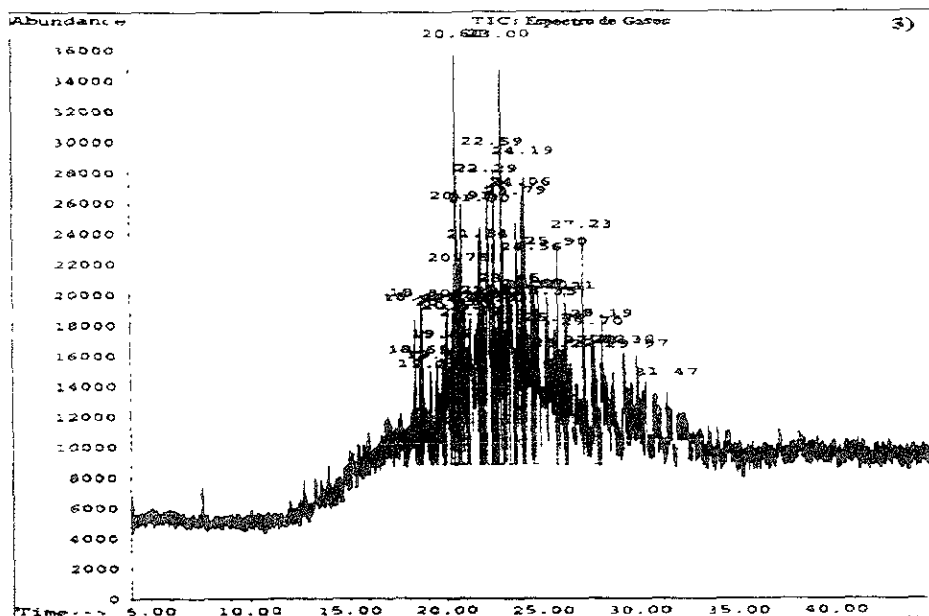
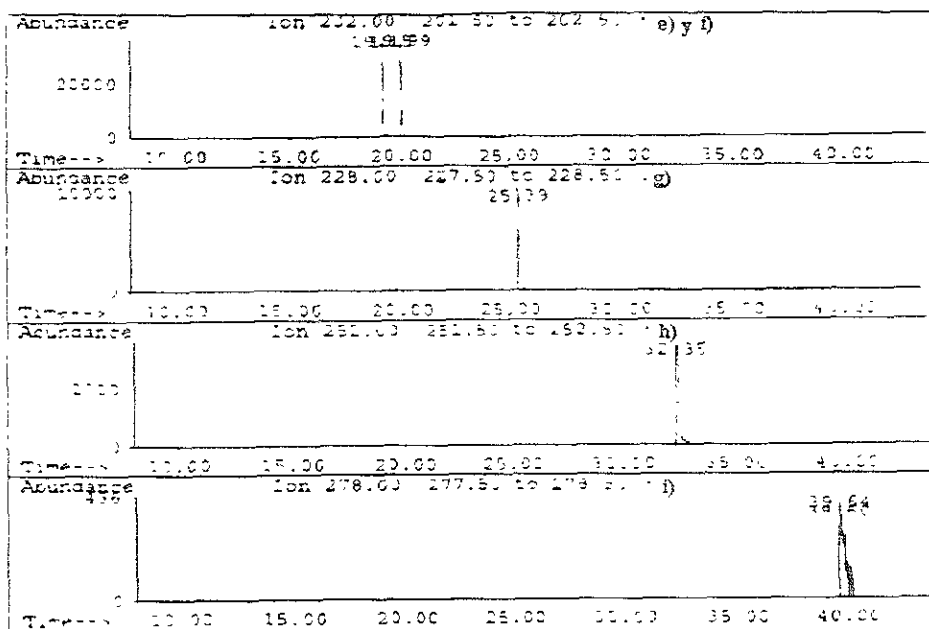
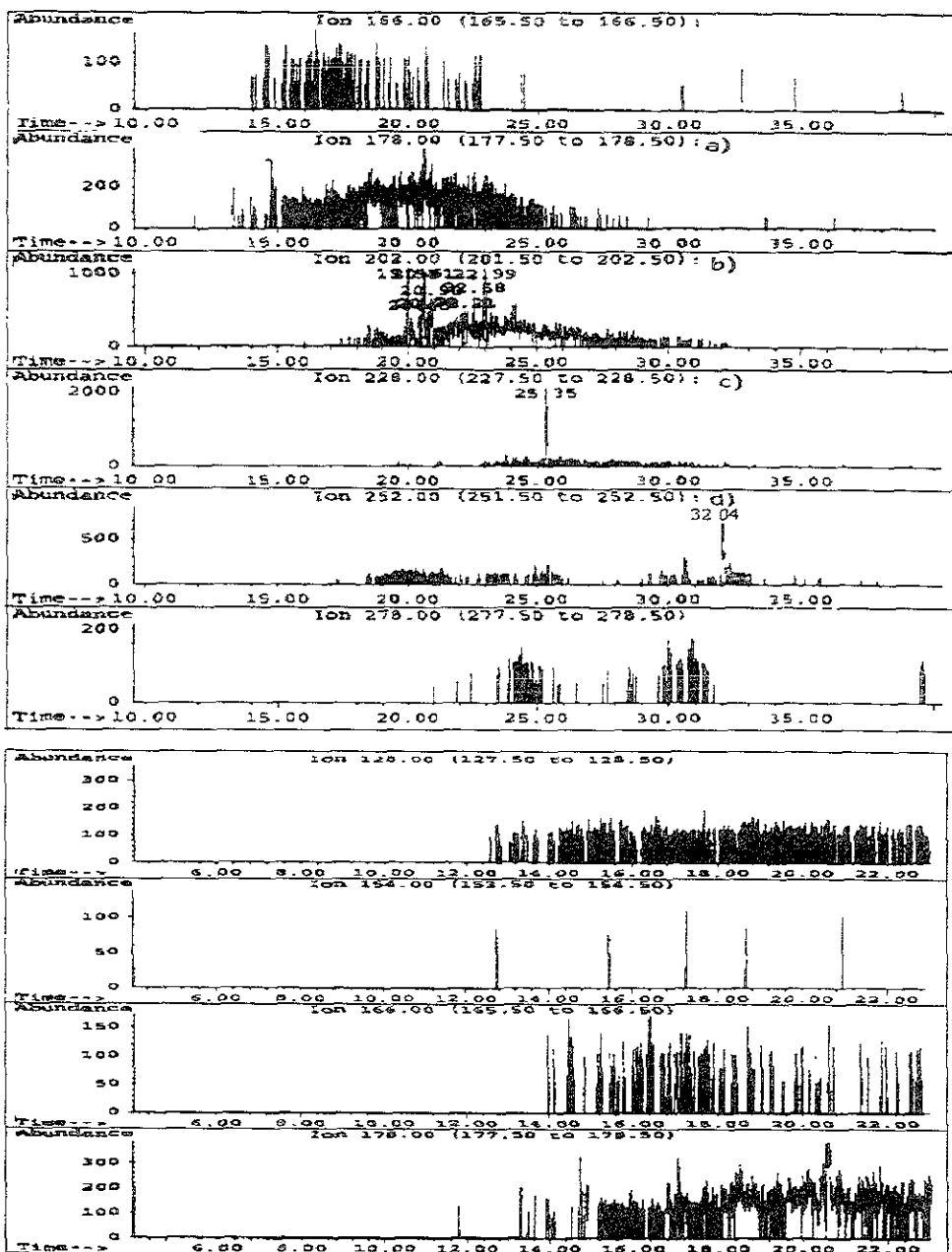


Figura 7. Espectros de gase-masas de 9 HAP (1) Cromatograma (2) Espectros de masas del (a) naftaleno (b) acenafiteno (c) fluoreno (d) Fenantreno



Cont. de la Figura 7. (e) fluoranteno, (f) pireno, (g) criseno, (h) benzo(a)pireno, (i) dibenzo(a, h) antraceno  
 (3) Cromatograma de la fracción 3 del suelo contaminado de Minatitlán



Cont. de la Figura 7. Comparación espectral de la fracción 3 del suelo contaminado del área de Minatitlán con una espectroteca. (a) fenantreno Q(25), (b) fluoranteno Q(38), (c) criseno Q(60), (d) benzo(a)pireno Q(59). Los espectros no mencionados son los que se encontraban en el ruido

Tabla 12. Iones moleculares encontrados en las fracciones cromatográficas

Fracciones Nombre del compuesto	Fracción 2		Fracción 3		Fracción 4		Fracción 5	
	A	B	A	B	A	B	A	B
Acenafteño	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.
Fluoreno	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.
Fenantreno	n. d.	n. d.	178	20	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.
Fluoreno	n. d.	n. d.	202	38	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.
Pireno	n. d.	n. d.	202.	43	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.
Criseno	n. d.	n. d.	228	60	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.
Benzo(a) pireno	n. d.	n. d.	252	59	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.
Dibenzo (a, h) antraceno	n. d.	n. d.	278	53	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.

A = Ión molecular; B = Parámetro de abundancia

#### 4.10 Espectros de fluorescencia

Debido a la importancia de contar con metodologías analíticas capaces de cuantificar de manera rápida y eficiente el tipo de hidrocarburos aromáticos con los cuales se encuentra contaminado el suelo, se recurrió al apoyo de la espectroscopía de fluorescencia. Para cuantificar el contenido total de los compuestos aromáticos y poliaromáticos provenientes de las fracciones cromatográficas, fue necesaria la generación de una curva de calibración con la mezcla de 9 estándares (Figura 8), procediendo a la lectura de las muestras. La metodología utilizada para tal finalidad, fue mencionada en la sección 3.3 de Materiales y Métodos. Los espectros de emisión de las 5 fracciones cromatográficas leídos a una longitud de onda de 400 nm son resumidos en la Figura 9. En ella se visualiza que la intensidad de cada muestra fue proporcional a su concentración, encontrándose una menor intensidad en las fracciones 2 (a) y 4 (d), lo cual se corroboró con las concentraciones obtenidas de 0.3 y 14.91 ppm respectivamente. Las fracciones 3 (c) y 5 (b) correspondieron a las mayores concentraciones. En la fracción 3 (c) fue en donde se cuantificó a la mayoría de los compuestos aromáticos (7,587.4 ppm), mientras que en la 5 (b) solo fue posible cuantificar 114.31 ppm; Estas últimas fracciones fueron extraídas con las mezclas de disolventes hexano-diclorometano (1:1) y metanol-acetona (1:1) respectivamente. Los resultados expuestos con anterioridad hacen deducir que de las 30,809.15 ppm cuantificadas por IR como hidrocarburos totales de petróleo, aproximadamente la cuarta parte (7,716.92 ppm), correspondieron a la fracción aromática. Cabe mencionar que en esta prueba solo se cuantificaron al total de compuestos aromáticos de las fracciones cromatográficas, obteniéndose además de los compuestos de interés otros compuestos aromáticos con diferentes estructuras unidas a fracciones alifáticas (alquil-bencenos). Lo anterior concuerda con los resultados expuestos en la sección 5.2 en donde, al compararse el perfil general de los compuestos obtenidos por esta técnica con los de las fracciones (3) y (4) de IR (Figura 4) y con la fracción 3, inciso (e), obtenida por cromatografía de gases (Figura 6), se comprueba que los compuestos obtenidos en dicha fracción son predominantemente de naturaleza aromática, mientras que los de las fracciones 1 y 2 son de índole alifática. Por otro lado, en las fracciones 4 y 5 se notó una fuerte tendencia de

coelución de compuestos alquil- bencénicos, comúnmente encontrados en el petróleo. En el Anexo 5 se presentan los espectros de fluorescencia de cada uno de los estándares empleados, leídos bajo diferentes longitudes de onda de excitación, tomando como referencia las longitudes de onda de excitación propuestas por Harrison y col. (1996).

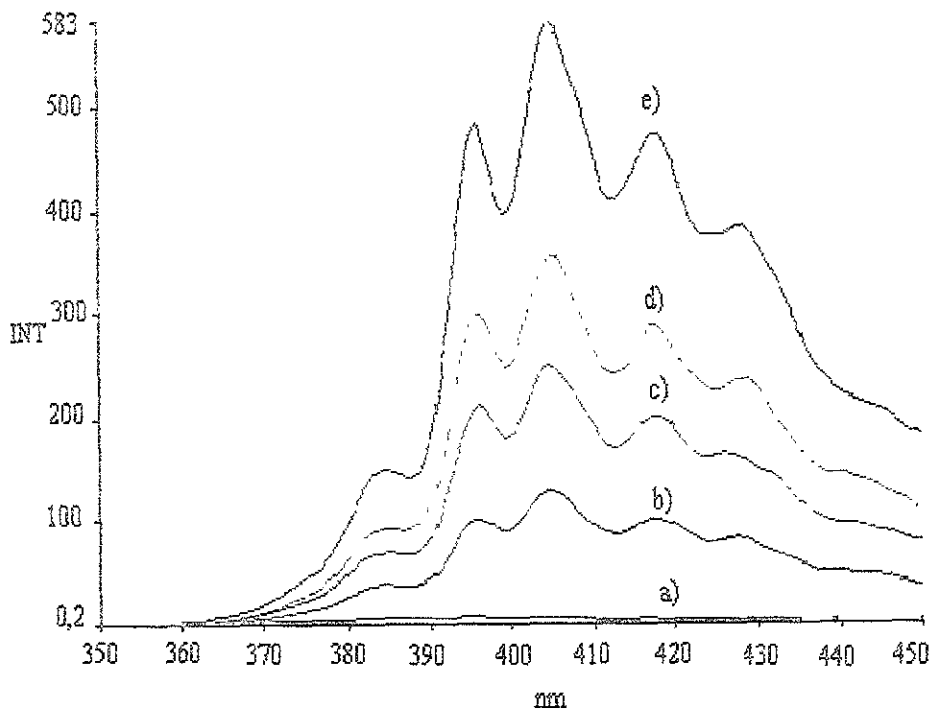


Figura 8. Espectros de emisión con los cuales se realizó la curva de calibración de la mezcla de nueve HAP a diferentes concentraciones (a) 0.72 ppm (b) 1.44 ppm (c) 2.16 ppm (d) 2.88 ppm (e) 3.60 ppm. El barrido espectral se realizó de 350 a 450 nm, excitando a  $\lambda_{ex}$  = 310 nm y tomando la lectura a  $\lambda_{em}$  = 410 nm).

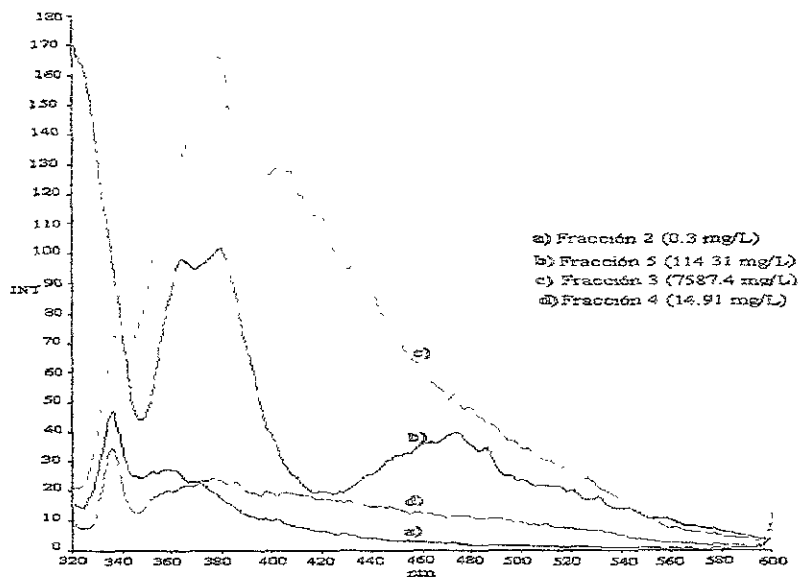


Figura 9. Espectros de emisión de las fracciones cromatográficas del suelo de Minatitlán obtenidos en hexano

#### 4.10.1 Obtención de sincronos de excitación de los estándares y del suelo contaminado

Gracias al número de anillos cíclicos en resonancia y al número de enlaces conjugados presentes entre las estructuras de los hidrocarburos aromáticos policíclicos, fue posible identificar, tanto a los nueve estándares como a algunos de los compuestos presentes en las fracciones cromatográficas. Éstas fueron obtenidas mediante una columna de separación, apoyados en la espectroscopía de fluorescencia y empleando la variante de sincronos de excitación. La metodología empleada es mencionada en el inciso 3.5.1, y los sincronos de excitación de cada compuesto estándar individual, como de la mezcla realizada entre ellos, se aprecian en el Anexo 6. Los primeros sincronos de cada estándar fueron obtenidos en metanol, sincronizando ambos monocromadores en una diferencia de longitud de onda de ( $\Delta\lambda=3\text{ nm}$ ) con aberturas (“slits”) de 5 y según lo reportado por Vo-Dinh (1978), en donde en un experimento similar, se realizó un análisis de cinco componentes poliaromáticos empleando la técnica de sincronos de excitación, con lo cual se logró la identificación de estos compuestos de diferente peso molecular a partir de una mezcla entre ellos, sin embargo, se observaron bajas resoluciones espectrales entre ellos. De manera similar al experimento de Vo-Dinh (1978) se manejaron características experimentales similares, pero variando las concentraciones, (de una mayor de 400 ppm hasta 0.004 ppm), dependiendo del factor de respuesta que presentaba cada componente frente a su detección.

De manera general, se observa que compuestos como naftaleno, acenafteno, fluoreno y fluoranteno presentaron una sola banda o señal, mientras que el resto de ellos se identificaron individualmente con dos bandas juntas o dobletes. Estos resultados concuerdan con lo reportado por Wehry (1981), en donde se ve que, una diferencia entre la configuración de las moléculas debido a un cambio de disolvente o un aumento en la complejidad o en la conformación estructural de cada compuesto, puede alterar la relación en la que los compuestos absorben energía y, por consiguiente, dan su salto energético. Esto repercute en la pérdida de emisión de Stokes ( $\delta\lambda_s$ ) y en su relación espectral, dando como resultado espectros con dos o más señales espectrales. Adicionalmente, se observó que conforme se aumentaban el número de conjugaciones y/o estructuras en resonancia, ocurría un desplazamiento mayor de longitud de onda, lo cual hizo posible su identificación y caracterización de manera individual. Además, como cada compuesto presenta una absorción y emisión diferentes, fue necesario encontrar la concentración adecuada entre cada uno de ellos para visualizarlos en la misma proporción (Anexo 6). Este comportamiento de desplazamiento estructural es similar al reportado en el experimento de Vo-Dinh (1978). En éste, adicionalmente, se realizó una representación teórica de los intervalos de longitudes de onda en que aparecen estos compuestos, dependiendo del número de anillos en sus estructuras. La obtención de los síncronos de excitación de las mezclas de estándares se realizaron guardando la misma intensidad entre ellos y abarcando el intervalo de estructuras en que pueden aparecer en un crudo. En la Tabla 13 se resumen los principales estándares identificados individualmente, así como el intervalo de longitudes de onda de cada compuesto y el número de bandas identificadas. En el Anexo 6 se aprecian las mezclas más representativas en cuanto al número de compuestos identificados. También se aprecia que la mezcla de compuestos (naftaleno, fluoreno, fenantreno, criseno, dibenzo(a, h)antraceno o, en su defecto, la sustitución de este último compuesto por benzo(a)pireno), fue la que mejor apreciación y resolución espectral presentó. Por otro lado, en el experimento donde se manejaron los mismos compuestos pero con diferente disolvente (hexano), se notó una mayor complejidad espectral, traducida en un mayor número de bandas, por lo que se descartó el empleo de este disolvente. En cuanto a lo que se refiere a los síncronos obtenidos de las fracciones del suelo contaminado (Figura 10), se observa nuevamente una complejidad espectral similar a la observada al obtener los espectros de emisión de las fracciones cromatográficas de la Figura 9. Sin embargo, fue posible efectuar la lectura en la fracción 3, en donde sobresalieron 3 bandas, una en la región de 345 nm, correspondiente a los compuestos de 3 anillos aromáticos como el fenantreno y dos bandas en la región de 395 y 400 nm correspondiente a compuestos con 5 anillos como es el caso del benzo(a)pireno, o dibenzo(a, h) antraceno, los cuales fueron identificados previamente con técnicas alternas como cromatografía de gases (sección 3.5.2.) y por cromatografía de gases-espectrometría de masas (sección 3.5.3), quedando confirmada la presencia de contaminantes de 3 a 5 anillos en el suelo en estudio.



Gracias a la sincronización en la obtención de espectros de fluorescencia es posible seleccionar en cada región espectral, cada estructura anular en una mezcla de varios contaminantes. En la Tabla 14 se resume a todas las técnicas empleadas durante el desarrollo experimental.

Tabla 13. Intervalos en que se encontraron los hidrocarburos aromáticos policíclicos por espectroscopía de fluorescencia

Número de estructuras anulares	Ejemplos de compuestos	Número de veces que se encontraron en este intervalo	Intervalo en que se encontraron (nm)*	No de síncronos o bandas características
2 anillos aromáticos y un anillo alifático	fluoreno, acenafteno	5	302 - 305	1
2 anillos aromáticos	naftaleno	5	317 - 323	1
3 anillo aromáticos	fenantreno	5	344 - 351	2
4 anillo aromáticos	criseno, pireno	5	358 - 364	2
5 anillos	benzo(a)pireno, dibenzo (a, h) antraceno	5	400 - 407	1 y 2 respectivamente

\* El número de repeticiones del experimento fue de 5 veces

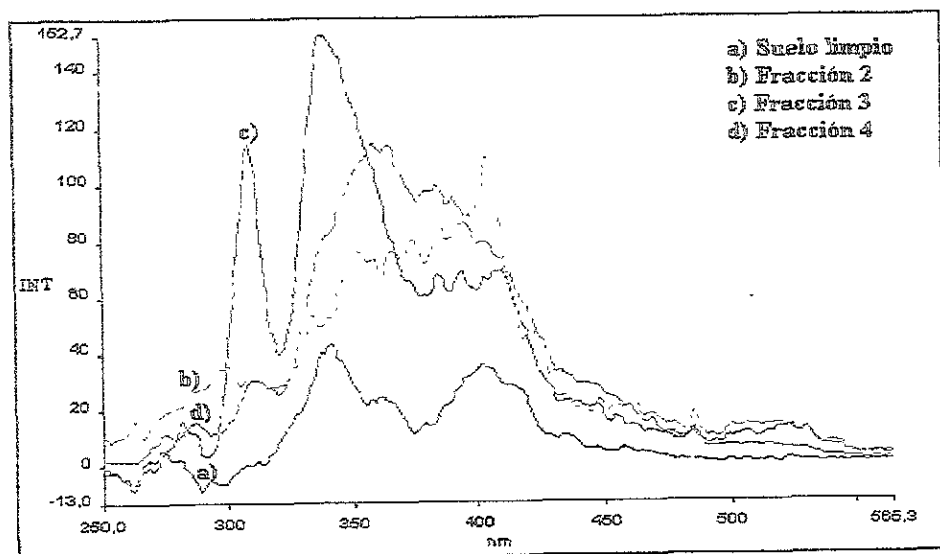


Figura 10. Síncronos de excitación en hexano de las fracciones del suero contaminado ( $\Delta\lambda=3$  nm) con aberturas ("slits") de 5

#### 4.11 Resumen de los métodos analíticos empleados en la muestra de suelo de Minatitlán, Ver.

En la Tabla 14 se visualizan los métodos analíticos empleados en la identificación cualitativa y cuantitativa de la muestra de suelo de Minatitlán. (Ver.). Se observa que cada técnica por separado brinda una información única y valiosa acerca de la identificación y cuantificación de la muestra de suelo analizada, ayudando de manera conjunta a determinar la existencia o ausencia de los contaminantes de interés y la concentración en que se encuentran. Mediante la técnica de síncronos de excitación fue posible la identificación de tres compuestos (Fenantreno, benzo(a)pireno y dibenzo(a,h)antraceno) de un estándar de 5 compuestos con una confianza del 99.8%, por lo que se recomienda, realizar curvas de calibración para cuantificar por medio de esta técnica a los HAP en estudio, ya que por cromatografía de gases y su confirmación por espectrometría de masas fue posible la identificación de 6 HAP en concentraciones que oscilaron entre los 0.71 ppm hasta 8.22 ppm.

Tabla 14. Resumen de los métodos analíticos empleados en la muestra de suelo de Minatitlán, Ver.

<i>Equipo analítico empleado</i>	<i>Identificación cualitativa y cuantitativa</i>
Infrarrojo	Fracción 2.- Hidrocarburos alifáticos, metilos y metilenos Fracción 3.- Compuestos aromáticos Fracción 4 y 5.- Identificación de grupos funcionales (aldehídos, ésteres, cetonas, ácidos carboxílicos y alquilbencenos Suelo contaminado con 30,809.00mg de hidrocarburos totales de petroleo/ kg. de suelo seco
Fluorescencia	Bandas complejas de diferente intensidad Fracción 2 (0.3 mg/L) Fracción 3 (7587.4 mg/L) Fracción 4 (14.91mg/L) Fracción 5 (114.31 mg/L)
Fluorescencia (Síncronos de excitación)	Fracción 2 (Ningún compuesto del estándar de 5 HAP) Fracción 3 (Fenantreno, benzo(a)pireno y dibenzo(a,h)antraceno) Fracción 4 (Ningún compuesto del estándar de 5 HAP) Fracción 5 (Ningún compuesto del estándar de 5 HAP)
Cromatografía de gases	Bandas características correspondientes a los tiempos de retención del estándar Fracción 2 (n. d.) Fracción 3 (8.22 mg/kg de suelo seco) Fracción 4 (4.07mg/kg de suelo seco) Fracción 5 (0.71 mg/kg de suelo seco)
Cromatografía de gases - masas	Fracción 2 (n. d.) Fracción 3 Confirmación de fenantreno fluoreno, pireno, criseno, benzo(a)pireno y dibenzo (a,h) antraceno Fracción 4 n. d. Fracción 5 n. d.

n. d. = no detectable

## CAPÍTULO V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

- La caracterización fisicoquímica del suelo proveniente del pantano de Santa Alejandrina, en Minatitlán, Ver., sirvió como un parámetro indicativo del tipo de suelo con que se estaba trabajando. Los valores altos de humedad (36.7%), materia orgánica (14.39%), pH (5.0) y escaso contenido de nitrógeno (0.08%), marcaron la pauta para conocer el nivel de contaminación de dichos suelos y poder evaluar los porcentajes de recuperación durante la extracción de los mismos.
- El contenido de hidrocarburos totales de petróleo (total petroleum hydrocarbons, TPH en inglés) del suelo contaminado fue de 30,809.00 ppm y de 30.00 ppm para el control, los cuales sirvieron como base para decidir el tipo de extracción y separación que se realizaría para los hidrocarburos de interés. Por otro lado, empleando la técnica IMP-QA-610 montada en el Instituto Mexicano del Petróleo, fue posible determinar que la cuarta parte (7,716.92) de las 30,809 ppm cuantificadas como hidrocarburos totales de petróleo correspondieron a los hidrocarburos aromáticos. Cabe mencionar, que por medio de esta última técnica, se cuantifica el total de los compuestos aromáticos analizados en su conjunto, por lo que este valor alto es indicativo de la existencia de otros contaminantes aromáticos en el suelo.
- El método No. 20 de la UNEP (UNEP/IOC/IAEA, 1992) fue el empleado en la extracción y separación de los HAP, sin embargo, debido a la gran cantidad de hidrocarburos en las muestras y conforme se tornó la extracción más selectiva, se aumentó el contenido de los adsorbentes empleados para empacar las columnas cromatográficas para, de esta forma, obtener una mejor separación de los compuestos de interés; sin embargo, si bien este método tiene buenos rendimientos, es poco selectivo, ya que junto con los compuestos de interés coeluyeron un gran número de compuestos interferentes, por lo que se recomienda buscar otras alternativas que aumenten la selectividad hacia dichos compuestos y mejoren los porcentajes de recuperación.
- Con la ayuda de espectroscopía IR se logró la identificación rápida de los grupos funcionales de las diferentes fracciones cromatográficas, lográndose observar en la fracción 3 obtenida con hexano:diclorometano (1:1) bandas características de compuestos aromáticos en las regiones de  $3020\text{ cm}^{-1}$ ,  $1600\text{-}1610\text{ cm}^{-1}$  y sobretonos característicos en la región de  $600\text{ cm}^{-1}$ , además de encontrarse en las fracciones 2, 4 y 5 grupos funcionales característicos y dependientes de la afinidad del disolvente empleado en las columnas de separación.

- Empleando la variante de síncronos de excitación fue posible la identificación en la región de 345 nm de compuestos de 3 anillos como es el fenantreno, y la aparición de 2 bandas en 395 y 400 nm. correspondientes a compuestos aromáticos de 5 anillos como el benzo (a)pireno y el dibenzo(a, h)antraceno. Lo anterior fue posible al sincronizar ambos monocromadores a una diferencia de longitud de onda de  $\Delta\lambda = 3$  nm y con aberturas ("slits") de 5 y según lo reportado por Vo-Dinh (1978). De esta manera se identificaron compuestos aromáticos de 3 a 5 anillos, con una confiabilidad del 99.8% sirviendo como parámetro de utilidad en la caracterización rápida y selectiva de estos compuestos fluorescentes. Debido a que la técnica presentó diferentes factores de respuesta para cada estándar, se recomienda verificar la sensibilidad de la técnica y poder cuantificar estos compuestos mediante una curva de calibración.
- Por medio de la técnica de cromatografía de gases, fue posible evaluar el grado de recuperación de los HAP, siendo ésta de 79.72%, sin tomar en cuenta los compuestos volátiles, además de identificarse la presencia de 4 HAP en la fracción 3, mientras que en la fracción 4, se identificaron dos y en la fracción 5, un compuesto. La concentración más alta encontrada fue para el pireno (5.26 ppm) y la más baja correspondió al fluoreno (0.71 ppm).
- De la misma manera, empleando espectrometría de masas fue posible identificar los hidrocarburos aromáticos de 3 a 5 anillos (fenantreno, fluoreno, pireno, criseno benzo(a)pireno y Dibenzo(a,h)antraceno), los cuales son derivados representativos del proceso de combustión incompleta de hidrocarburos fósiles (pirólisis) de las actividades industriales. Los hidrocarburos de 2 anillos como el naftaleno y el acenafeno tendieron a perderse, ya que como el suelo analizado era un suelo intemperizado, era poco probable la existencia de compuestos aromáticos de bajo peso molecular por ser compuestos volátiles.
- De acuerdo a los resultados obtenidos en los análisis, se puede suponer que la muestra del suelo procedente del pantano de Santa Alejandrina no contienen únicamente los contaminantes buscados, sino que se encuentran otros compuestos, como los alquilbencenos, los cuales son parte de la materia prima empleada en la elaboración de productos químicos.

- Los análisis del suelo en estudio, apoyados en 4 técnicas analíticas, determinaron, caracterizaron y cuantificaron a cinco de los nueve hidrocarburos aromáticos policíclicos establecidos inicialmente, por lo que se espera que esta tesis sirva como plataforma de estudios posteriores hacia la detección de contaminantes en suelo y en otras matrices ambientales.
- Dado el grado de contaminación de la muestra de suelo analizada, se recomienda realizar un estudio detallado de impacto ambiental en el área de estudio para que posteriormente, se empleen técnicas encaminadas a la remediación del sitio, tanto por métodos químicos como por procesos biotecnológicos, una vez eliminados los compuestos recalcitrantes y tóxicos.

## ANEXO 1

### Fundamentos de los métodos empleados en la caracterización edafológica

#### A.1.1 Determinación de humedad (Ruiz e Iris, 1997)

*Método de secado en la estufa.* Pesar una cápsula de porcelana e introducirla en una estufa de aire seco durante 1.0 h a 130°C; posteriormente, cuando se encuentre a peso constante pesar 70.0 g de suelo homogeneizado y ponerlo durante 3.0 h a 110°C. Transcurrido este tiempo sacarlo y dejar enfriar en desecador para proceder a pesarlo. El contenido de humedad se da por diferencia de peso entre la muestra de suelo húmedo y la pérdida de éste con la siguiente fórmula:

$$\% \text{ de Humedad} = \frac{(A - B)}{M} \times 100$$

A = Peso de la cápsula + muestra húmeda

B = Peso de la cápsula + muestra seca

M = Peso de la muestra húmeda en gramos

#### A.1.2 Determinación del pH del suelo (Santelises y col., 1987)

Fundamento: La acidez del suelo puede dividirse en dos tipos: La acidez activa que comprende la concentración de  $H^+$  en la solución del suelo y la acidez potencial que comprende a los  $H^+$  que pueden ser liberados por diversos tipos de materiales del suelo como cuando se remueven cationes de la solución ó cuando el equilibrio entre el sistema suelo - solución es alterado por la adición ó sustracción de agua, sales, ácidos o bases. Para fines prácticos se determinó el pH activo.

Procedimiento: Para determinar el pH activo se emplea el método potenciométrico, utilizando un electrodo de vidrio, como electrodo indicador. La determinación puede realizarse en agua o en soluciones salinas, las cuales presentan varias ventajas desde el punto de vista analítico. Para realizar la determinación se pesan 5.0 g de suelo seco en vaso de precipitado y se agregan 10.0 mL de agua destilada con la pipeta o bureta automática. Agitar durante 10 min. Colocar los electrodos para medir el pH y agitar la suspensión del suelo. Leer inmediatamente el pH.

### A.1.3 Determinación de densidad (Ortiz y Ortiz, 1984)

Fundamento: La densidad de las partículas del suelo, conocida también como densidad real, se define como la masa de los sólidos del suelo por unidad de volumen ( $\text{g}/\text{cm}^3$ ). Los valores de densidad encontrados son variables y dependen de la composición del suelo. En la mayoría de los suelos minerales, el valor no sobrepasa los  $2.65 \text{ g}/\text{cm}^3$ , mientras que en suelos con grandes cantidades de minerales pesados como magnetita, epidota, zircón, turmalina y hoblenda puede sobrepasar a este valor. La materia orgánica, así como algunos vidrios volcánicos, repercuten en los valores de densidad, originando valores variables entre  $1.2 - 1.5 \text{ g}/\text{cm}^3$ .

#### Procedimiento

- 1 - Lavar con agua desionizada y secar los picnómetros a  $105^\circ\text{C}/1 \text{ h}$ . Transcurrido este tiempo, son colocados en desecador para proceder a pesarlos hasta obtener fracciones de diezmilésimas de gramo.
- 2 - Pesar  $5.0 \text{ g}$  de suelo y se calcula la diferencia de peso entre ambos para obtener la muestra real de suelo (S).
- 3 - Llenar con agua destilada un tercio del volumen del picnómetro desalojando el aire que se pudiera formar de la suspensión suelo - agua. Se reposa  $5 \text{ min}$  y se llena con agua a su totalidad (incluyendo el capilar del tapón) teniéndose especial cuidado de no derramar nada.
- 3 - Pesar nuevamente el picnómetro, con lo cual se obtendrá el peso del suelo más el peso del agua (S + a) incluyendo el peso del picnómetro.
- 4 - Eliminar el contenido del picnómetro y enjuagarlo. Posteriormente se procede a llenarlo con agua hasta que cubra al capilar y se pesa.
- 5 - La densidad de las partículas se calcula mediante la siguiente fórmula

$$DP = \frac{S}{S + A - (S + a)}$$

S = Peso de la muestra de suelo

A = Peso del agua sin el picnómetro

S + a = Peso del suelo + Peso del agua (sin el peso del picnómetro).

#### A.1.4 Determinación de nitrógeno total (Santelises y col., 1987)

El método Kjeldahl es el más usado en la determinación de nitrógeno en suelos y plantas.

Fundamento: El  $N_2$  junto con toda la demás materia orgánica se oxida por el  $H_2SO_4$ . El  $N_2$  que se encuentra en forma orgánica se fija como sulfato de amonio. Al reaccionar esta sal con una base fuerte se desprende amoníaco, el cual es recibido en un volumen conocido de ácido valorado. Titulando el ácido neutralizado, se calcula la cantidad de amoníaco desprendido y así la cantidad de nitrógeno en la muestra.

Reactivos.

1.  $H_2SO_4$  concentrado
2. Solución de ácido bórico con indicador. Colocar 80.0 g de ácido bórico ( $H_3BO_3$ ) en un frasco de 4.0 litros, adicionar 3.8 litros de agua destilada y calentar hasta la disolución del ácido, enfriar y agregar 80.0 mL de 0.099 g de verde de bromocresol y 0.066 g de rojo de metilo disueltos en 100.0 mL de etanol al 95 %, ajustar a pH de 5.0 con NaOH 0.1 N, y completar a 4.0 litros con agua destilada mezclando vigorosamente
3. Mezcla de catalizadores  $K_2SO_4$ . Mezclar 1.0 kg de  $K_2SO_4$ , 100.0 g de  $CuSO_4 \cdot 5H_2O$  y 10.0 g de selenio metálico, mezclar hasta su homogeneización
4. NaOH 10.0 N. Colocar 4.2 kg de NaOH en un botellón de vidrio de 10.0 L. Adicionar 4.0 L de agua destilada hasta su disolución. Dejar que la solución se enfríe, y decante durante toda la noche protegiéndolo del  $CO_2$
5. Ácido sulfúrico 0.05N estandarizado. Diluir 1.4 mL de ácido sulfúrico concentrado a un litro con agua destilada. Estandarizar con  $Na_2CO_3$  seco. Pesar 0.250 g de sal y disolver en 50.0 mL de agua. Agregar de 5.0 a 6.0 gotas de anaranjado de metilo o titular con el ácido. Calcular la normalidad según la fórmula siguiente

$$N[H_2SO_4] = \frac{\text{peso } Na_2CO_3 \times g}{53} \times \frac{1}{VH_2SO_4 \times l}$$

Procedimiento: Colocar una muestra que contenga 10.0 mg de nitrógeno (10.0 g para suelo con 2% de materia orgánica, 5.0 g con un 4% y 2.5 con un 8% a 1.0 g para plantas) en un matraz Kjeldahl de 800.0 mL y llevar un blanco sin muestra. Adicionar 11.1 mL de la mezcla catalizadora y 30.0 mL de  $H_2SO_4$  con. Iniciar el calentamiento del matraz en forma lenta. Cuando cesen los vapores de agua y la espuma que se forman, aumentar la



temperatura de digestión hasta aproximadamente 390°C y esperar que la mezcla aclare. Dejar digerir a ebullición lenta por 5 h. Concluida esta fase enfriar el producto digerido. Adicionar cuidadosamente al matraz de digestión 100.0 mL de agua destilada y agitar. Enfriar en el frasco Kjeldahl colocando bajo un chorro de agua fría. Transferir el líquido sobrenadante a otro frasco Kjeldahl, teniendo cuidado de evitar el paso del residuo arenoso: ya que esto causa que el matraz salte durante la ebullición a que se somete el producto digerido para destilar el amoníaco. Lavar el residuo sólido del matraz de digestión con cuatro porciones de 50.0 mL de agua destilada. Colocar el frasco Kjeldahl con el producto digerido en el aparato de destilación. En el tubo de salida de éste colocar un Matraz Erlenmeyer de 500.0 mL provisto de 50.0 mL de la mezcla H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub> - indicador, teniendo cuidado que el tubo quede sumergido en el líquido. Adicionar cuidadosamente al matraz de destilación colocado en un ángulo de 45° 150.0 mL de NaOH 10.0 N, de modo que la sosa escurra por el cuello del matraz y se acumule en el fondo de éste sin mezclarse. Conectar el tubo con el tapón de goma. Previamente a la adición de sosa es conveniente agregar perlas de ebullición. Mezclar el contenido del frasco mediante un giro y comenzar la destilación conectando la placa de calentamiento. Cerciórese que el agua del condensador esté fluyendo y que el destilado salga a una temperatura inferior a 35°C. Destilar aproximadamente 150.0 mL. Enjuagar el tubo de salida del condensador para la destilación. Titular el destilado con H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> empleando una bureta de 25.0 mL. El indicador debe virar de verde a rosa en su punto final de titulación. El porcentaje de nitrógeno se calcula empleando la siguiente fórmula:

$$\%N = \frac{(V_m - V_B) \times N \times 14}{P \times 10}$$

donde:

V<sub>m</sub> = Volumen del ácido sulfúrico empleado en titular la muestra

V<sub>b</sub> = Volumen de ácido sulfúrico empleado en titular el blanco

N = Normalidad exacta del ácido sulfúrico

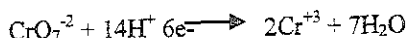
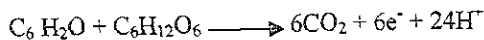
14 = Peso equivalente del N<sub>2</sub>

P = Peso de la muestra, expresado en gramos

10 = Factor para convertir en porcentaje

### A.1.5 Determinación de carbono orgánico total (Ortiz y Ortiz, 1984)

Fundamento: Este método se basa en la oxidación húmeda del carbono orgánico con dicromato de potasio:



y la determinación espectrofotométrica de la extinción de los iones  $Cr^{3+}$ . El cálculo del contenido de carbono orgánico se realiza a través de una curva patrón elaborada con glucosa.

Procedimiento: Se pesan entre 0.1 y 1.0 g de suelo seco, tamizado (<2.0 mm) y molido en un mortero, se trasvasa a un matraz Erlenmeyer de 250.0 mL. Se agregan 10.0 mL de disolución de dicromato de potasio 2.0 N y 10.0 mL de  $H_2SO_4$  con. Se colocan los matraces en estufas a 120°C durante 90 min. Se retiran las muestras de la estufa y se dejan enfriar a temperatura ambiente. Después de este tiempo, se trasvasa la solución con el suelo a matraces aforados de 100.0 mL por medio de un embudo de separación, se realizan varios lavados con agua destilada y se afora. Se homogeneiza la muestra agitándola y se vacía una alícuota en los tubos de centrifuga. Se centrifuga durante 10 min a 2500 rpm vaciando el sobrenadante en las celdas del fotómetro leyendo a una absorbancia de 578 nm contra el blanco. Paralelamente a las muestras se elabora una curva patrón pipeteando 0.5, 1.0, 2.0, 5.0, 10.0 y 20.0 mL de la dilución 1:10 de una solución patrón de glucosa en matraces Erlenmeyer de 250.0 mL (equivalentes a 0.72, 1.44, 2.88, 7.2, 14.4, y 28.8 mg de C/100 mL) y se procede con ellos igual que con las muestras.

Cálculos: La curva patrón es graficada ( mg de C/100 mL en la abscisa y la absorbancia en la ordenada) y las concentraciones equivalentes son leídas a las extinciones medidas.

$mg \text{ de C/g de suelo} = (mg \text{ de C/100 mL leídos en la curva}) \times \% \text{ en peso de la muestra en gramos}$

$\% \text{ de C orgánico} = mg \text{ de C/g de suelo}/10$

$\% \text{ de materia orgánica} = \% \text{ de C orgánico} \times 1.724$

El factor 1.724 resulta de que, en promedio, la materia orgánica contiene 58% de C orgánico ( $100/58 = 1.724$ )

### A.1.6 Determinación de textura (Método de Bouyoucos) (Ortiz y Ortiz, 1984)

Procedimiento: Se pesan 55.0 g de suelo en vaso Berzelius de 400 ó 500 mL. Se agregan 10.0 mL de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> al 8% (previamente humedecido el suelo con agua destilada) mezclándolo con un agitador de vidrio. La materia orgánica es eliminada en baño María a no más de 60°C hasta la eliminación de la efervescencia. La muestra es secada agregando acetona. Posteriormente, se pesan 50.0 g de suelo colocándolos en un vaso de batidora, agregando 10.0 mL del dispersante y llenando el resto con agua destilada hasta la segunda ranura. Agitar 10 min en batidora ( si es arcilloso 15, si es arenoso 5) y pasar a una probeta de 1.0 L aforando con agua destilada. Agitar durante un minuto con el agitador manual para homogeneizarlo y dejar reposar 40 segundos. Tomar la primera lectura con el hidrómetro y anotar la temperatura. Dejar reposar la muestra durante 2 horas y proceder a realizar la segunda lectura anotando la temperatura. Se realizan los cálculos tomando en cuenta la corrección por temperatura para las lecturas

Fórmulas.

a) % de limos - % de arcillas = Primera lectura (40") X 100/g de suelo

b) % de arena = 100 - (% de limos + % de arcillas)

c) % de arcillas = 2a lectura (120") X 100/ g de suelo

d) % de limos = (% limos + % de arcillas) - % de arcillas

Nota: Se calcula el triángulo de texturas (% de arena, % de limo y % de arcilla) para conocer la clasificación.

### A.1.7 Determinación de fósforo disponible (Ortiz y Ortiz, 1984)

Fundamento: Este método se ha empleado como un índice de disponibilidad de fósforo en suelos. La combinación de HCl y NH<sub>4</sub>F está diseñada para remover formas de P fácilmente solubles en ácidos, fosfatos de calcio y una porción de fosfatos de aluminio y de hierro. El NH<sub>4</sub>F disuelve fosfatos de hierro y aluminio por la formación de complejos con estos iones metálicos en solución ácida. En general, este método ha sido más adecuado en suelos ácidos.

*Soluciones necesarias para esta determinación*

1. Fluoruro de amonio (NH<sub>4</sub>F), 1.0 N. Disolver 37.0 g de fluoruro de amonio en agua destilada y diluir la solución a 1.0 L. Almacenar esta solución en un envase de polietileno.

2. Ácido clorhídrico (HCl), 0.5 N. Diluir 20.2 mL de HCl a un volumen de 500.0 mL con agua destilada
3. Solución extractora: Agregar 15.0 mL de  $\text{NH}_4\text{F}$  1.0 N y 25.0 mL de HCl 0.5 N a 460 mL de agua destilada. Esto da una solución 0.03 N en  $\text{NH}_4\text{F}$  y 0.025N en HCl. Puede mantenerse en vidrio por más de un año.
4. Cloruro estañoso ( $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ), solución stock. Disolver 10.0 g de  $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  en 25.0 mL de HCl concentrado. Mantener la solución en un envase de vidrio oscuro y preparar una solución, de preferencia, cada 6 semanas. Almacenar la solución en el refrigerador en una botella de polietileno para alargar la efectividad del reactivo.
5. Molibdato de amonio  $(\text{NH}_4)_6\text{MoNH}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ . Disolver 15.0 g de molibdato de amonio en 350.0 mL de agua destilada. Agregar 350.0 mL de HCl 10.0 N al frasco lentamente, con movimientos rotatorios. Enfriar el contenido a temperatura ambiente y agregar agua para obtener un volumen de 1 L. Almacenar la solución en botella de vidrio oscuro. Preparar una solución cada 2 meses.
6. Cloruro estándar de fósforo. Diluir 0.4393 g de  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  en 1.0 L de agua destilada. 1.0 mL de esta solución contiene 100 microgramos de P. Preparar soluciones que contengan de 1.0 a 10.0 microgramos de fósforo por mL, diluyendo alícuotas adecuadas de la solución con agua destilada.

Procedimiento: Pesar 1.0 g de suelo en un tubo de ensaye de 16 X 175 cm, agregar 7 mL de solución extractora. Agitar durante 1 min. Filtrar el contenido en papel filtro Whatman No. 42. Si el filtrado no está claro, volver a filtrar. Posteriormente, a 2.0 mL del filtrado, agregar 5.0 mL de agua destilada y 2.0 mL de la solución de molibdato de amonio mezclando bien. Agregar 1.0 mL de la solución diluida de cloruro estañoso y mezcle otra vez. Después de 5 ó 6 minutos y antes de los 20 minutos, medir en un espectrofotómetro a 660 nm .

Se prepara una curva estándar incluyendo 2 mL de solución extractora en un intervalo de 0.1 a 1.0  $\mu\text{g}$  de fósforo/ mL.

Cálculos

$$\text{ppm de P en suelo} = \text{ppm de P en solución} \times 35$$

Notas: Los valores de esta prueba son interpretados en general como sigue:

<3ppm, muy bajo; 3 a 7 ppm, bajo; 7 a 20 ppm, medio; >20 ppm, alto.

Tabla A. Resultados del análisis fisicoquímico del suelo testigo y contaminado de Minatitlán, Ver.

Determinación	Suelo testigo	Promedio (a)	Suelo contaminado	Promedio (a)
Humedad relativa (%)	1) 9.82 2) 9.86 3) 10.30	9.90 $\sigma \pm 0.27$	1) 36.10 2) 36.93 3) 37.28	36.77 $\sigma \pm 0.49$
Valor de pH (activo)	1) 5.03 2) 4.90 3) 5.20	5.00 $\sigma \pm 0.12$	1) 4.40 2) 3.93 3) 4.34	4.20 $\sigma \pm 0.21$
Densidad real (g/mL)	1) 2.15 2) 2.0 3) 1.98	2.05 $\sigma \pm 0.08$	1) 1.01 2) 0.98 3) 1.23	1.06 $\sigma \pm 0.10$
Materia orgánica (%)	1) 8.77 2) 7.95 3) 8.93	8.55 $\sigma \pm 0.43$	1) 14.34 2) 14.40 3) 14.45	14.39 $\sigma \pm 0.04$
Carbono (%)	1) 4.93 2) 4.89 3) 5.09	4.97 $\sigma \pm 0.09$	1) 9.04 2) 9.06 3) 9.08	9.06 $\sigma \pm 0.01$
Nitrógeno (%)	1) 0.08 2) 0.06 3) 0.01	0.08 $\sigma \pm 0.03$	1) 0.05 2) 0.07 3) 0.06	0.06 $\sigma \pm 0.08$
Fósforo (mg/L)	1) 0.48 2) 0.55 3) 0.50	0.51 $\sigma \pm 0.03$	1) 0.48 2) 0.49 3) 0.49	0.48 $\sigma \pm 0.001$
Textura	% de arena 1) 81.80 2) 81.84 3) 81.90 % de arcilla 1) 15.14 2) 15.21 3) 15.15 % de limo 1) 2.81 2) 2.93 3) 3.33	% de arena 81.84 $\sigma \pm 0.05$  % de arcilla 15.16 $\sigma \pm 0.03$  % de limo 3.00 $\sigma \pm 0.26$		

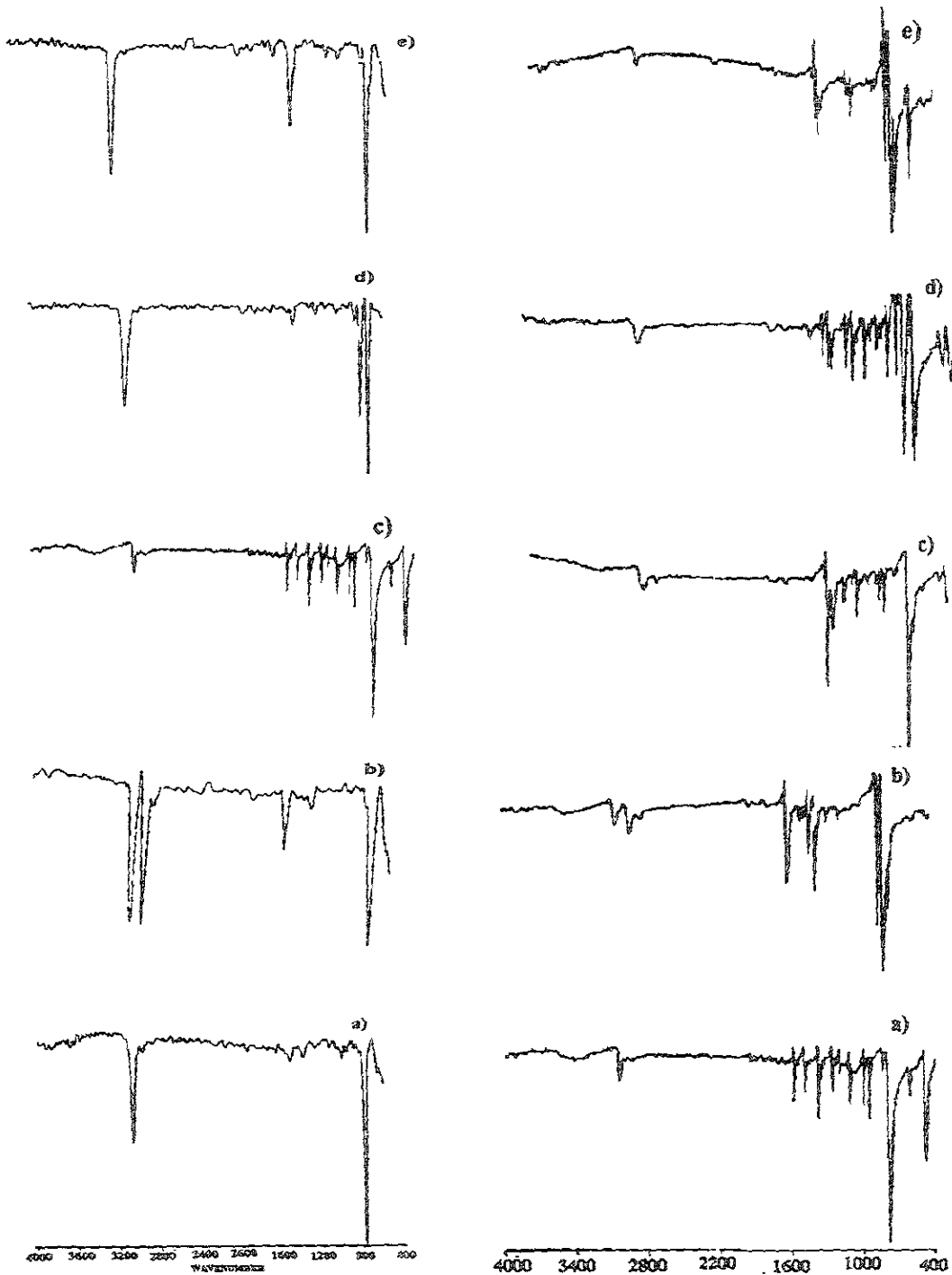
(a) Promedio de tres determinaciones;  $\sigma$  = Desviación estándar

Tabla B. Parámetros requeridos para la obtención de espectros de IR en fase gaseosa

Compuesto	Cantidad inyectada ( $\mu\text{L}$ )	Concentración (ppm)	Temperatura del horno cromatográfico	Temperatura de la interfase del IR
naftaleno	2.0	2500	150°C	200°C
acenafteno	2.0	2500	150°C	200°C
fluoreno	2.0	2500	200°C	230°C
fenantreno	4.0	2500	200°C	230°C
fluoranteno	4.0	2500	250°C	260°C
pireno	4.0	2500	250°C	260°C
criseno	4.0	2500	$T_1=100^\circ\text{C}$ $t_1=5.0$ min $T_2=300^\circ\text{C}$ $t_2=20^\circ\text{C}/\text{min}$	260°C
benzo(a) antraceno	4.0	2500	$T_1=100^\circ\text{C}$ $t_1=5.0$ min $T_2=300^\circ\text{C}$ $t_2=30^\circ\text{C}/\text{min}$	260°C
dibenzo(a, h)antraceno	4.0	2500	$T_1=100^\circ\text{C}$ $t_1=3.0$ min $T_2=300^\circ\text{C}$ $t_2=50$ min	260°C

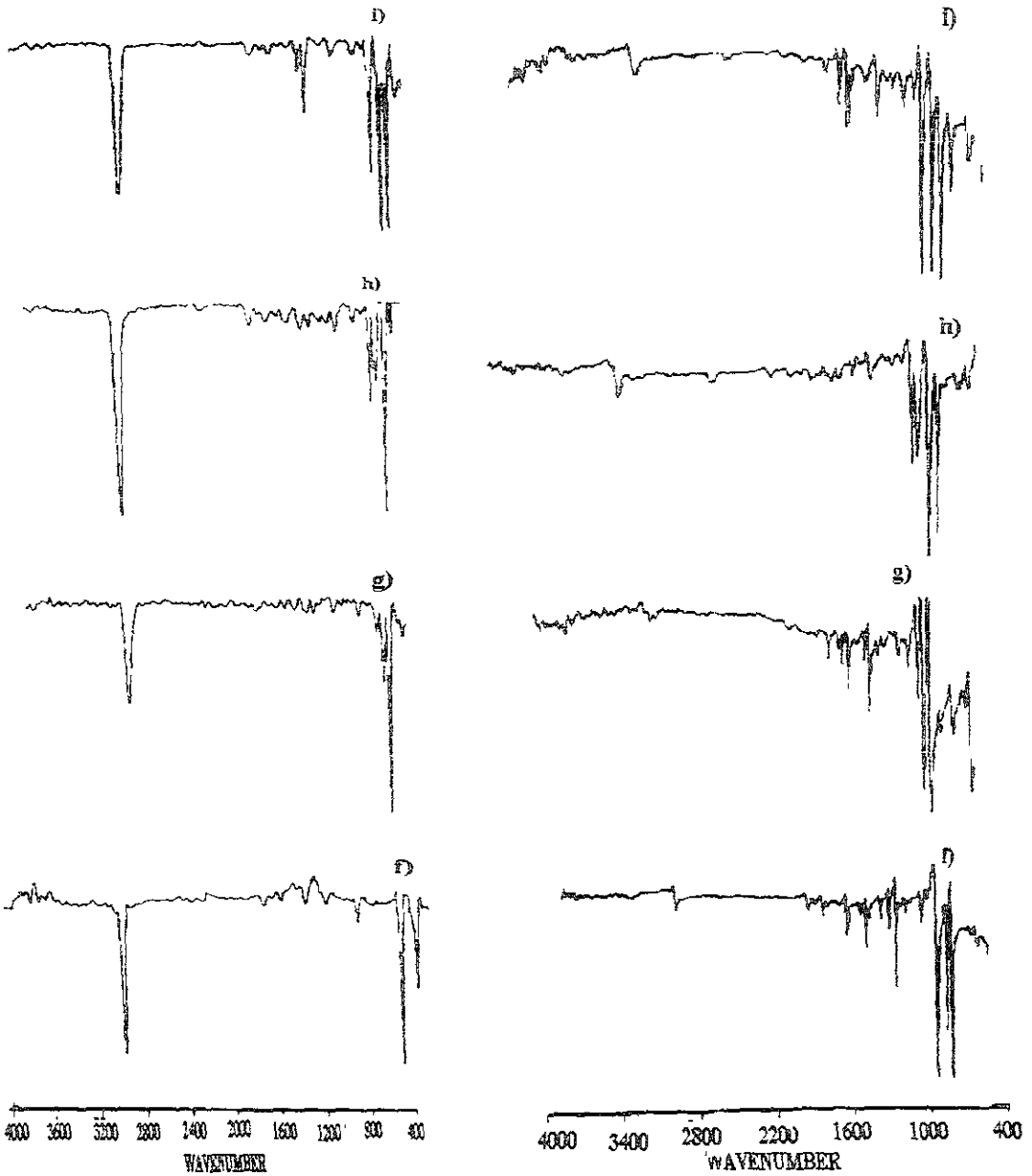
donde:  $T_1$ =Temperatura inicial,  $t_1$ =tiempo inicial,  $T_2$ =Temperatura final,  $t_2$ =tiempo final

Continuación del ANEXO 2  
 Espectros de IR de los hidrocarburos aromáticos policíclicos en fase vapor y condensada



Espectros de IR en fase condensada (derecha) y en fase vapor (izquierda) de los hidrocarburos aromáticos policíclicos (a) naftaleno (b) acenafeno (c) fluoreno (d) fenantreno (e) fluoranteno

Continuación del ANEXO 2



Espectros de IR en fase condensada (derecha) y en fase vapor (izquierda) de los hidrocarburos aromáticos policíclicos (f) pireno (g) criseno (h) benzo(a)pireno (i) dibenzo(a,h)entraceno



### ANEXO 3

Datos para obtener la curva de calibración de 9 hidrocarburos aromáticos policíclicos

<b>naftaleno</b>				
Concentración (ppm)	área	Ordenada	Pendiente	Coefficiente de correlación
10	43999	-2262	4028.96	0.99233276
20	71439			
30	114449			
40	163961			
<b>acenafteno</b>				
Concentración (ppm)	área	ordenada	pendiente	Coefficiente de correlación
10	52262	-942	5013.95	0.99479547
20	99345			
30	140267			
40	205753			
<b>fluoreno</b>				
Concentración	área	ordenada	pendiente	Coefficiente de correlación
10	59634	-6297	5749.3	0.99285833
20	97901			
30	162444			
40	229763			
<b>fenantreno</b>				
Concentración (ppm)	área	ordenada	pendiente	Coefficiente de correlación
10	60701	-1608.5	5773.66	0.99317506
20	112934			
30	159744			
40	237553			
<b>fluoranteno</b>				
Concentración (ppm)	área	ordenada	pendiente	Coefficiente de correlación
10	62393	-4781	6143.58	0.99584997
20	113264			
30	171965			
40	247612			

<b>pireno</b>				
<b>Concentración (ppm)</b>	<b>área</b>	<b>ordenada</b>	<b>pendiente</b>	<b>Coefficiente de correlación</b>
10	65507	-3698	6543.07	0.99880376
20	121333			
30	192932			
40	259743			
<b>Criseno</b>				
<b>Concentración (ppm)</b>	<b>área</b>	<b>ordenada</b>	<b>pendiente</b>	<b>Coefficiente de correlación</b>
10	60252	17529	5874.24	0.97401142
20	159969			
30	191904			
40	245415			
<b>benzo(a)pireno</b>				
<b>Concentración (ppm)</b>	<b>área</b>	<b>ordenada</b>	<b>pendiente</b>	<b>Coefficiente de correlación</b>
10	55700	8909.5	5077.64	0.99786447
20	116393			
30	161335			
40	209974			
<b>dibenzo(a, h) antraceno</b>				
<b>Concentración (ppm)</b>	<b>área</b>	<b>ordenada</b>	<b>pendiente</b>	<b>Coefficiente de correlación</b>
10	50640	-832.5	5377.08	0.99938882
20	109658			
30	161477			
40	212603			

## ANEXO 4

### Espectros de masas de los estándares empleados y de gases-masas de las cinco fracciones cromatográficas de Minatitlán, Ver.

Los espectros de masas de los nueve estándares empleados se obtuvieron a partir de la base de datos NB575KL de la biblioteca interna del programa ("software") del equipo de gases-masas, con la finalidad de observar los patrones característicos de fragmentación presentes en estos compuestos. Por otro lado, las condiciones que se manejaron para la obtención de los espectros de gases-masas tanto de los estándares de manera individual, como de las cinco fracciones cromatográficas de Minatitlán son mencionados a continuación.

#### a) Parámetros empleados en el cromatógrafo de gases

Parámetros	Valores
Longitud de columna:	30m
Diámetro de columna:	0.250 mm
Gas acarreador:	He
Presión:	4.89 bar (7.1 psi)
Flujo:	1.0 mL/min
Velocidad:	36 cm/s
Temperatura del inyector:	270°C
Temperatura del detector:	280°C
Temperatura máxima del horno:	270°C
Temperatura de equilibrio del horno:	0.50 min
Partición (split):	25
Volumen de inyección:	0.2 µL

### “Rampa” de Temperatura

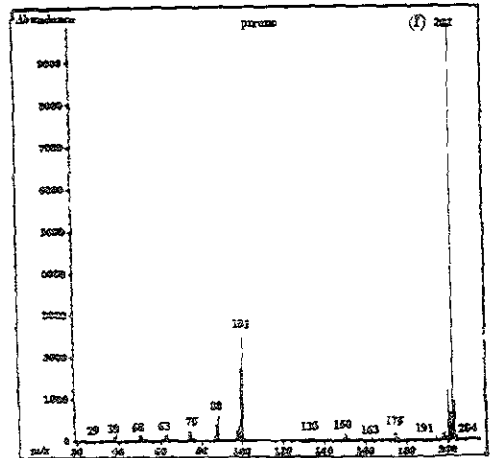
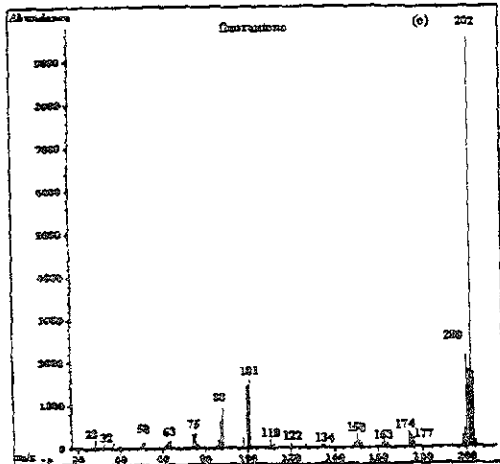
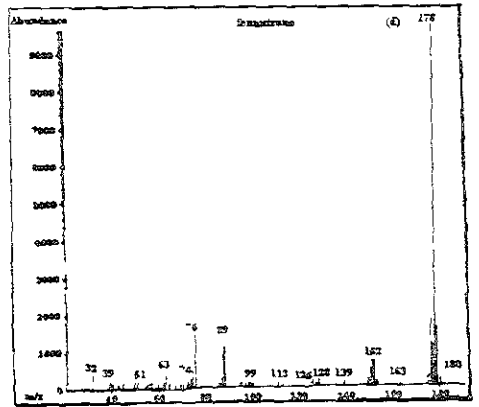
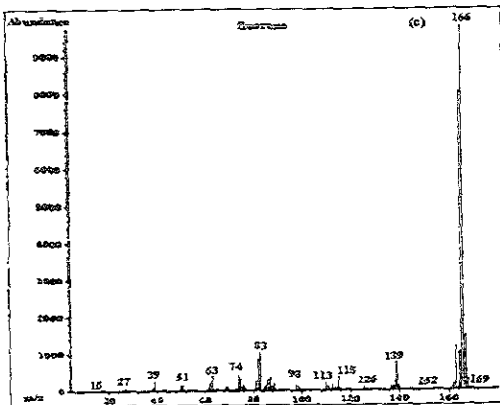
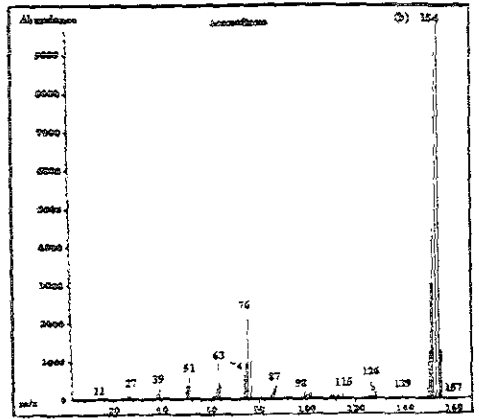
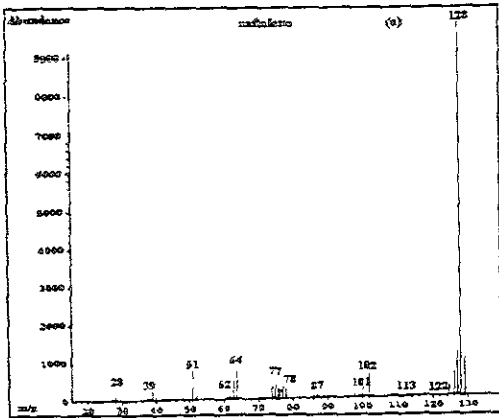
Parámetros	Valores
Temperatura <sub>1</sub>	180°C
Tiempo <sub>1</sub>	0 min
Gradiente 1	8°C
Temperatura <sub>2</sub>	245°C
Tiempo <sub>2</sub>	0 min
Gradiente 2	5°C
Temperatura <sub>3</sub>	270°C
Tiempo <sub>3</sub>	20 min
Gradiente 3	2°C

### b) Parámetros de operación empleados en el espectrómetro de masas

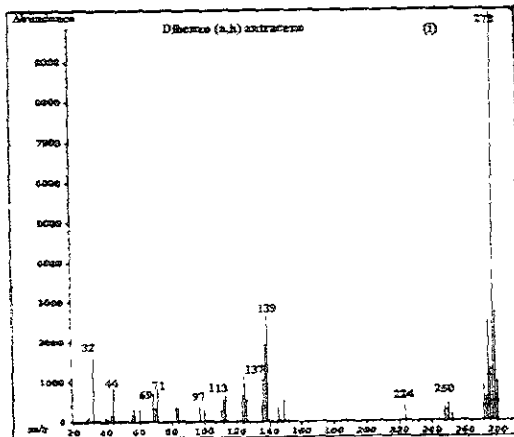
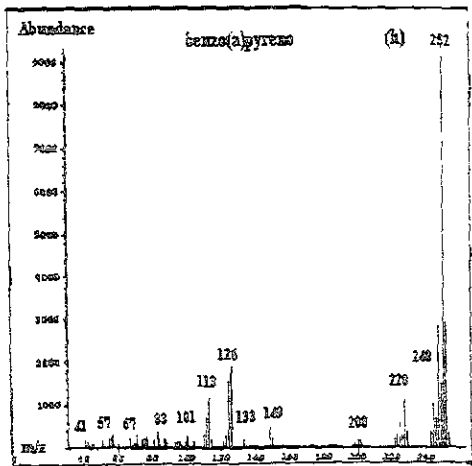
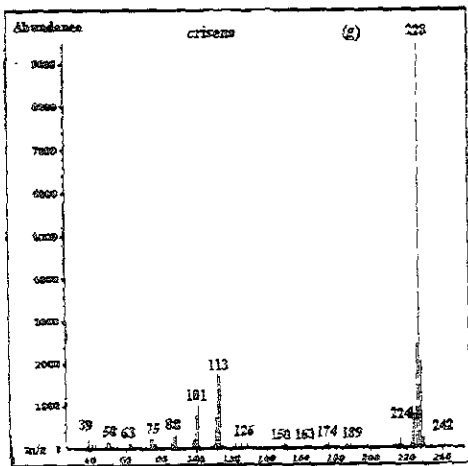
Modo de operación:	Barrido completo (Full scan)
Modo de ionización:	Electroimpacto. (EI)
Multiplicador:	1450 volts
Retardo de disolvente:	4.0 min
Masa inicial:	15 UMA
Masa final:	550 UMA
Fuente de inyección:	Manual

Los espectros de gases-masas de los nueve estándares empleados durante la investigación presentaron buenas abundancias y definiciones espectrales, con lo cual se procedió a realizar la identificación de los compuestos de interés en las fracciones cromatográficas. En la fracción uno no se logró identificar a ningún HAP, debido a que las abundancias presentadas se encontraban a nivel del ruido (abundancia menor a 200), además de que de antemano se sabía que en ella era muy probable encontrar compuestos no polares. En la fracción dos, se identificó con la ayuda de una comparación espectral de la biblioteca (espectroteca) interna del programa por regiones de interés a parafinas lineales y a un HAP sustituido como es el 2,3,5-trifenilfenantreno identificado. La fracción tres fue en donde se encontraron 4 HAP, fenantreno, fluoranteno, criseno y benzo(a)pireno, con buenas abundancias y, finalmente, en las fracciones 4 y 5 apareció el patrón de fragmentación característico de los ftalatos, los cuales son contaminantes presentes en materiales plásticos.

Continuación del ANEXO 4  
Espectros de masas de los estándares empleados

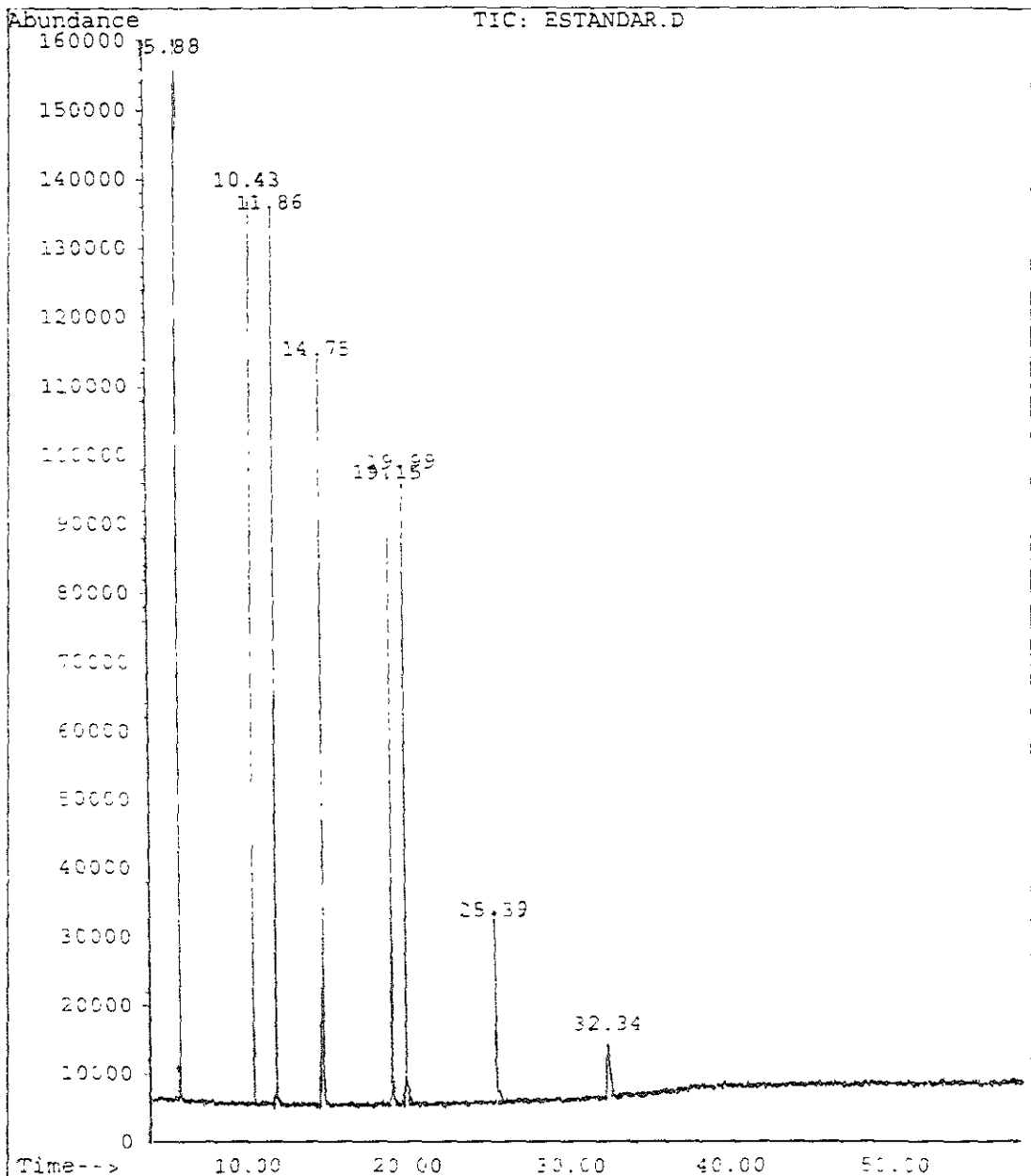


Espectros de masas de la mezcla de 9 estándares de hidrocarburos aromáticos policíclicos: (a) nftaleno, (b) acenafteño, (c) fluoreno (d) fenantreno, (e) fluoranteno, (f) pireno

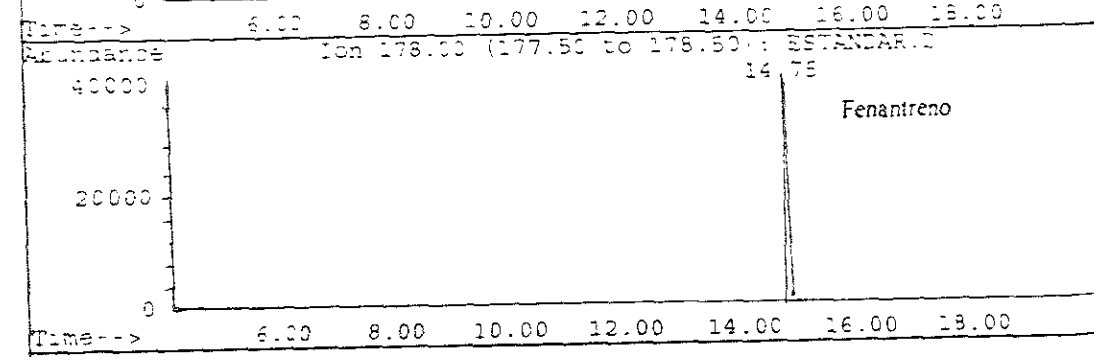
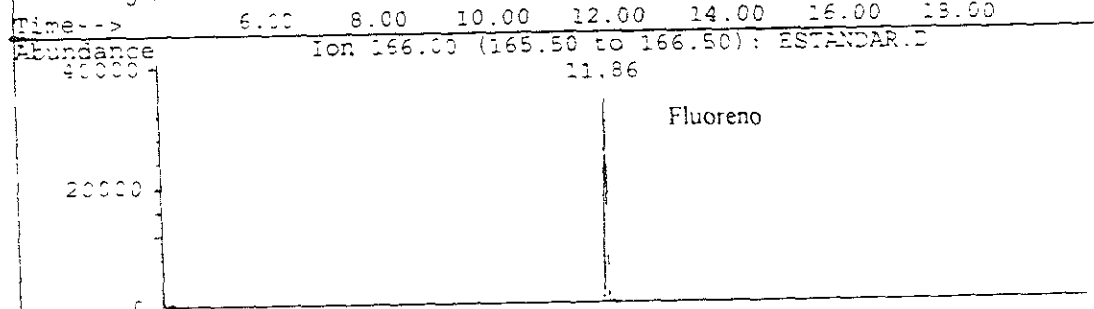
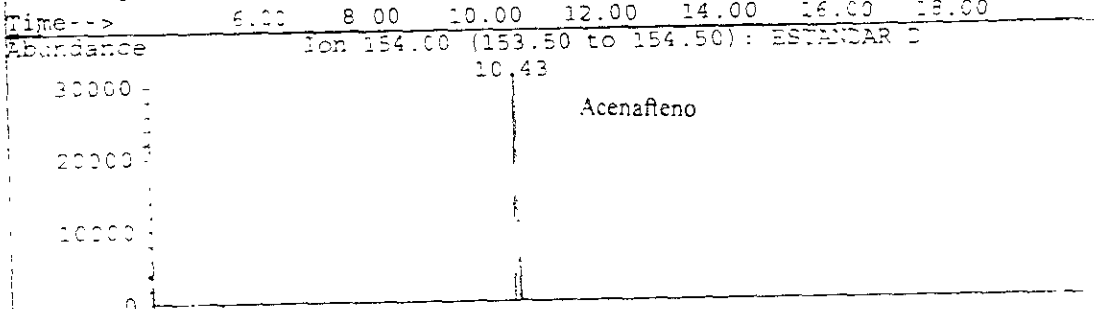
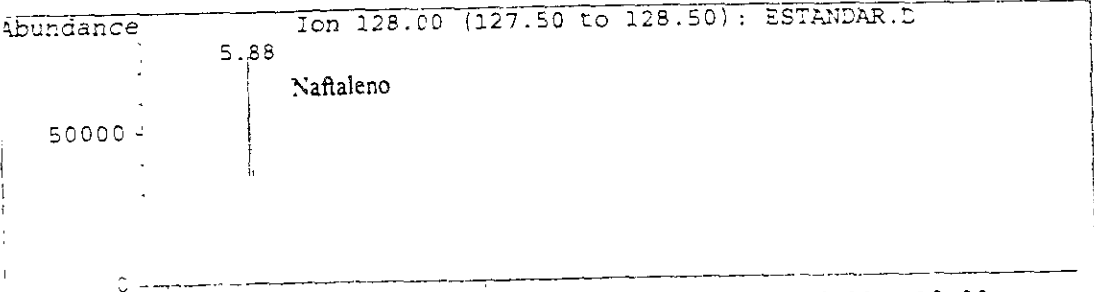


Cont. Espectros de masas de la mezcla de 9 estándares de HAP: (g) criseno, (h) benzo(a)pireno, i) dibenzo(a,h)antraceno.

File : C:\HPCHEM\2\DATA\GENERAL\250599\ESTANDAR.D  
Operator : jasa  
Acquired : 25 May 99 12:17 pm using AcqMethod PACO.M  
Instrument : 5971 - In  
Sample Name: 9 PAH'S a 100 ppm 25/III/99  
Misc Info :  
Vial Number: 1 VOL INY 100 µl



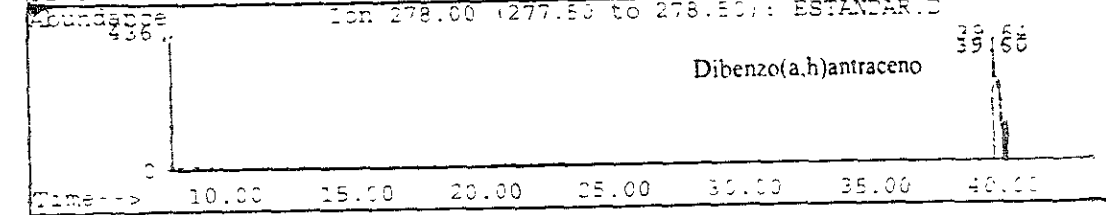
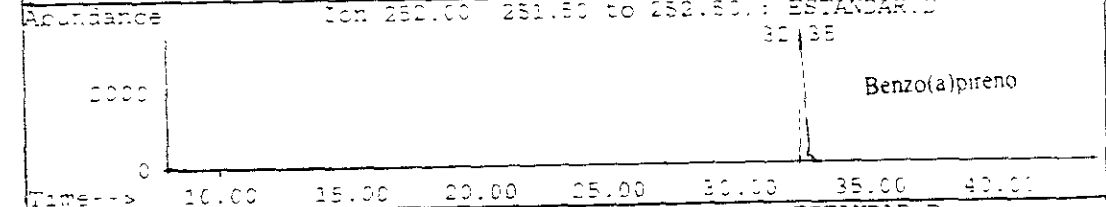
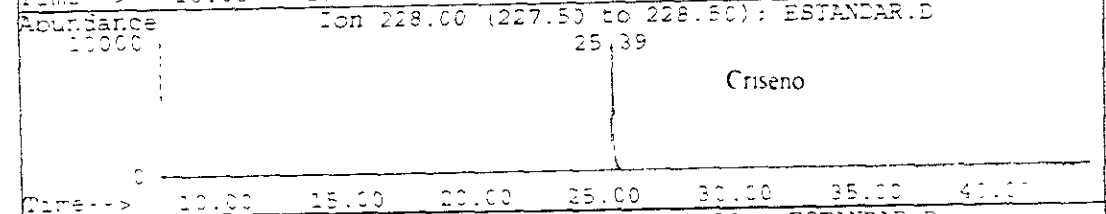
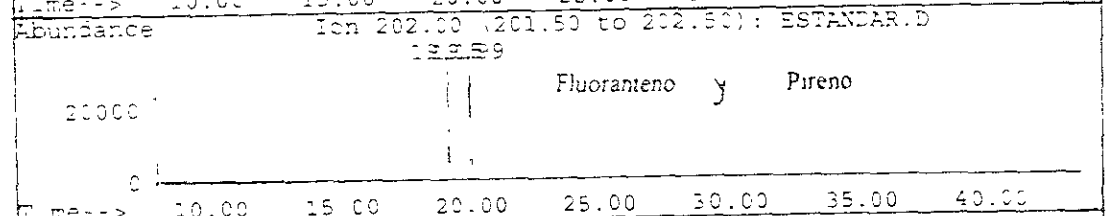
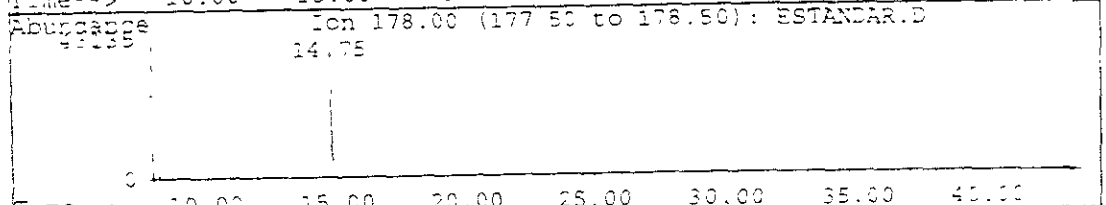
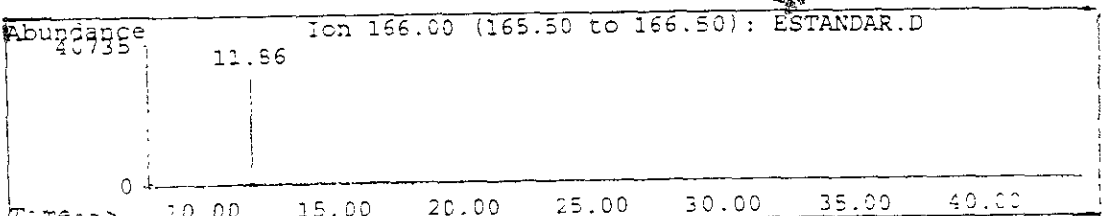
file : C:\HPCHEM\2\DATA\GENERAL\250599\ESTANDAR.D  
 operator : Jasa  
 acquired : 25 May 99 12:17 pm using AcqMethod PACC.M  
 instrument : 5971 - In  
 sample Name : 9 PAH'S a 100 ppm 25/III/99  
 disc Info :  
 vial Number: 1



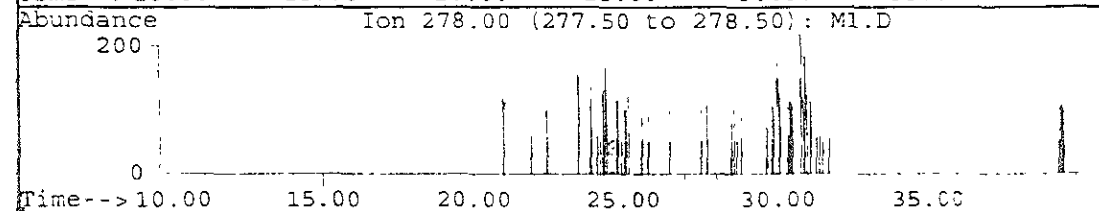
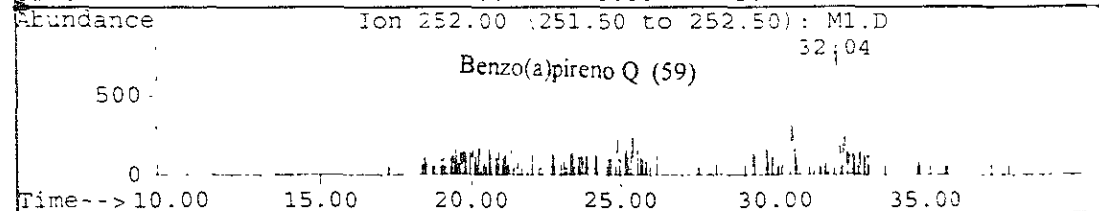
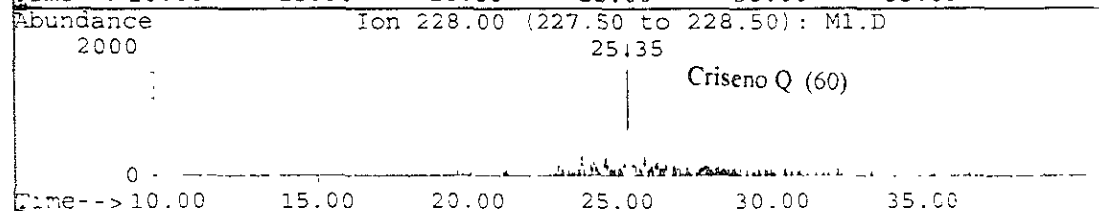
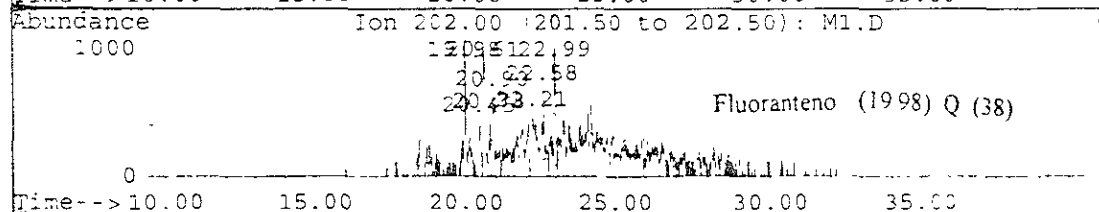
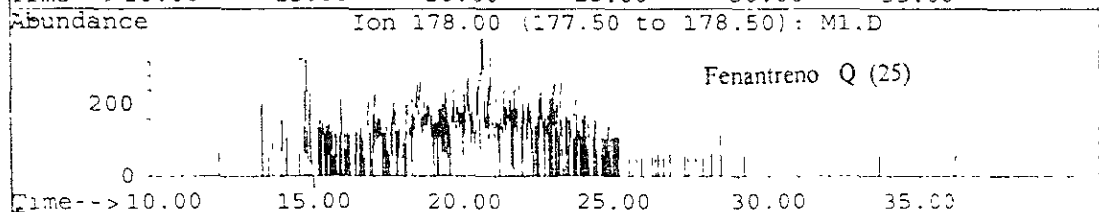
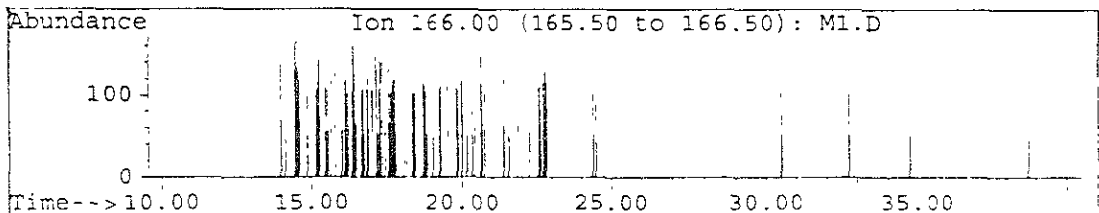


ESTA FICHA NO DEVE  
 SAIR DE LA BIBLIOTECA

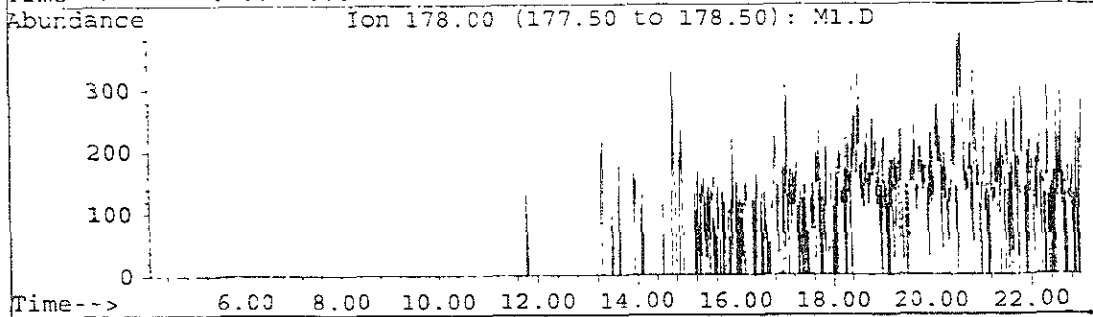
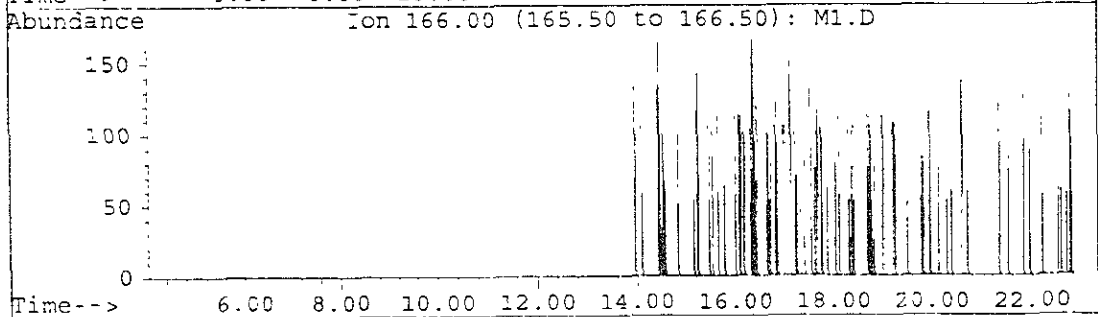
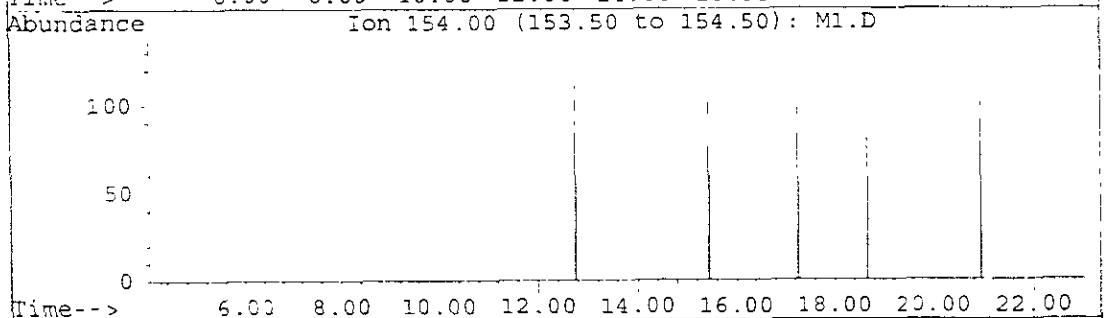
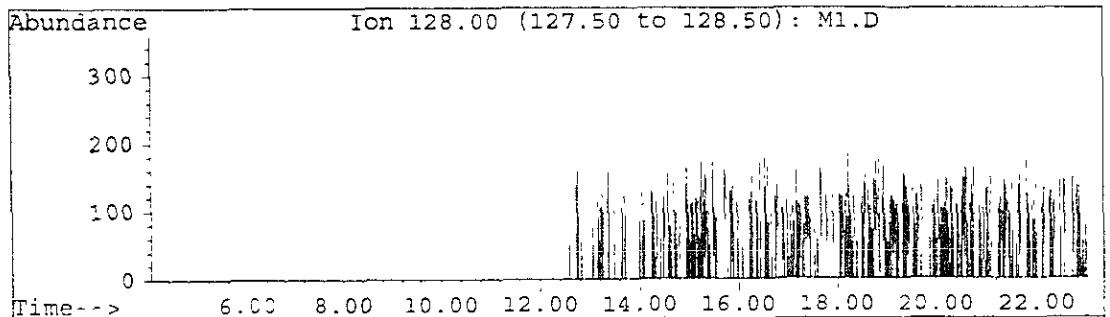
File : C:\FICHEM\2\DATA\GENERAL 250599\ESTANDAR.D  
 Operator : jasa  
 Acquired : 25 May 99 12:17 pm using AcqMethod PACO.M  
 Instrument : 5971 - In  
 Sample Name : 9 PAH'S a 100 ppm 25/III/99  
 Misc Info :  
 Vial Number: 1



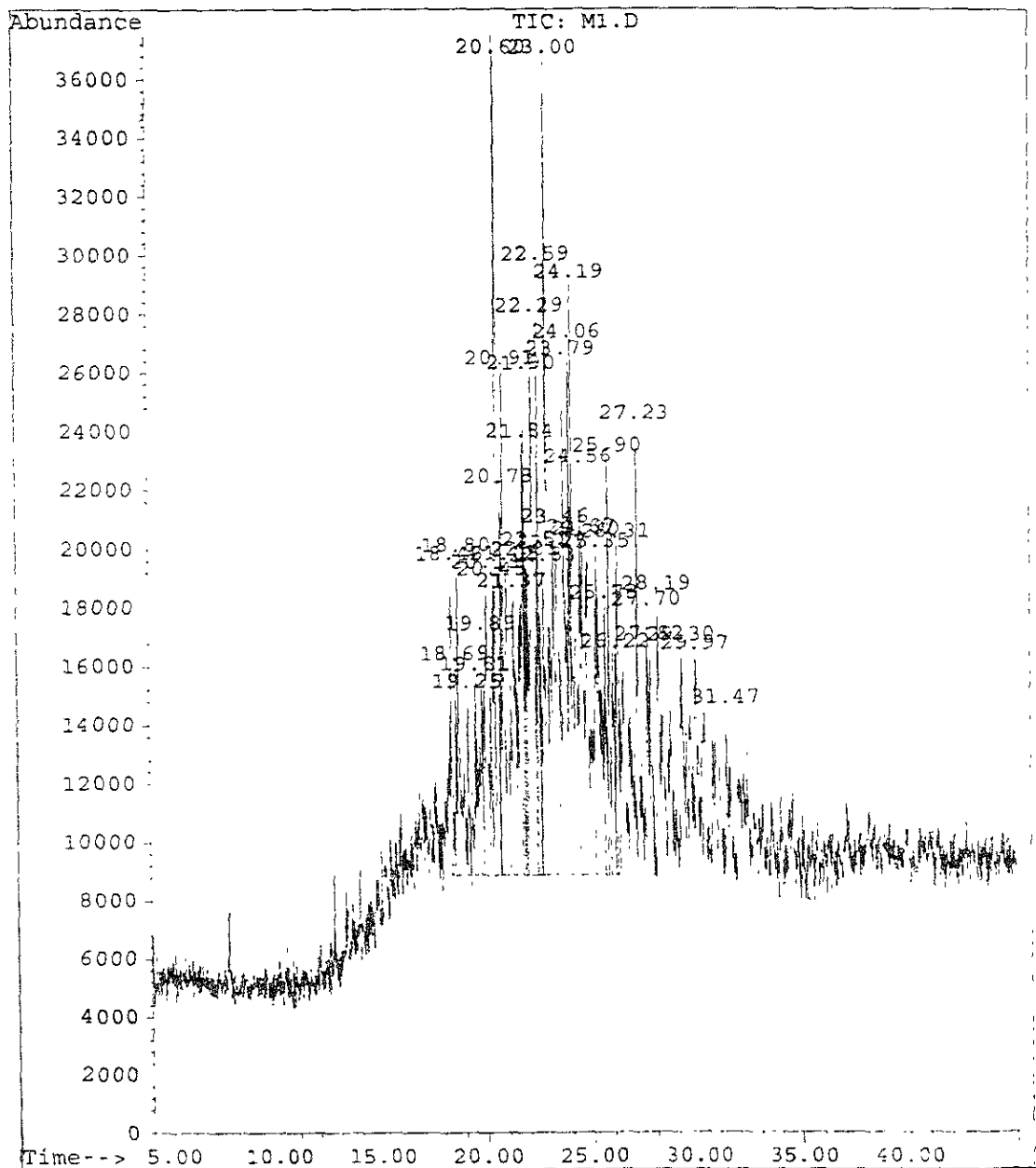
File : C:\HPCHEM\2\DATA\GENERAL\260599\M1.D  
Operator : JASA  
Acquired : 26 May 99 11:00 am using AcqMethod PACO.M  
Instrument : 5971 - In  
Sample Name: Fracción 3 21/X/98  
Misc Info :  
Vial Number: 1



File : C:\HPCHEM\2\DATA\GENERAL\260599\M1.D  
Operator : JASA  
Acquired : 26 May 99 11:00 am using AcqMethod PACO.M  
Instrument : 5971 - In  
Sample Name: Fraccion 3  
Misc Info :  
Vial Number: 1



File : C:\HPCHEM\2\DATA\GENERAL\260599\M1.D  
 Operator : JASA  
 Acquired : 26 May 99 11:00 am using AcqMethod PACO.M  
 Instrument : 5971 - In  
 Sample Name: Fracción 3  
 Misc Info :  
 Vial Number: 1

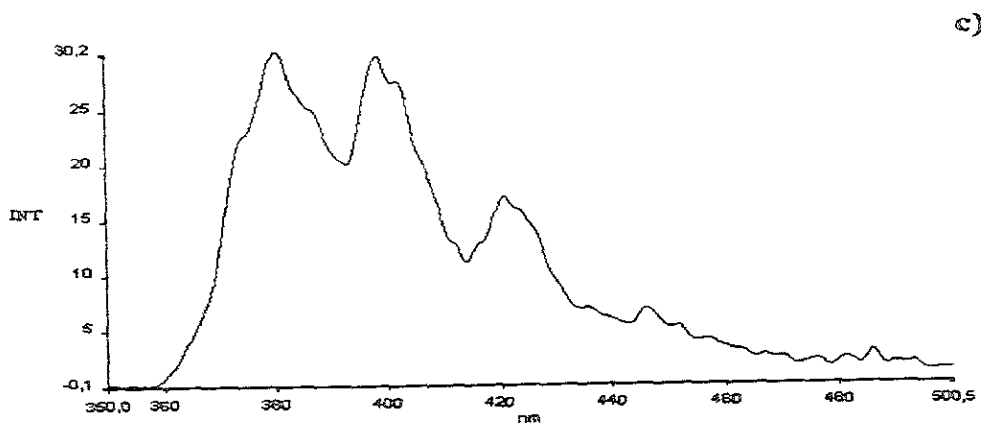
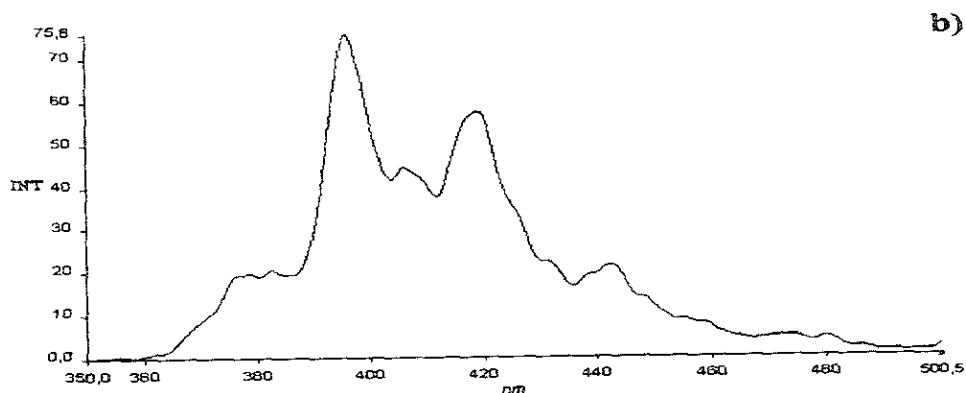
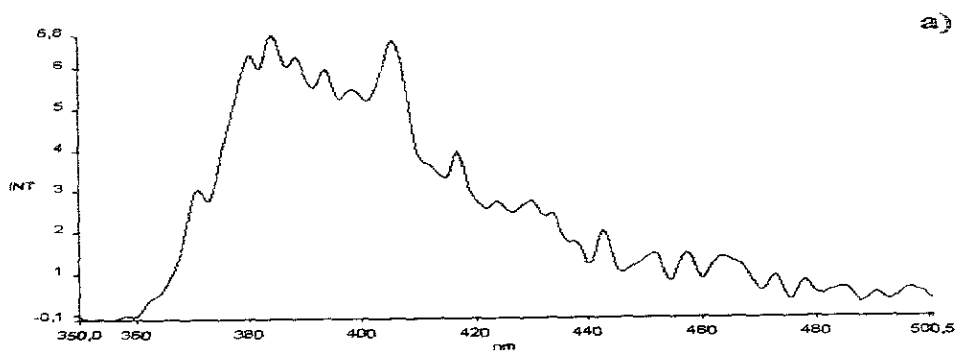


## ANEXO 5

### Obtención de espectros de emisión por fluorescencia

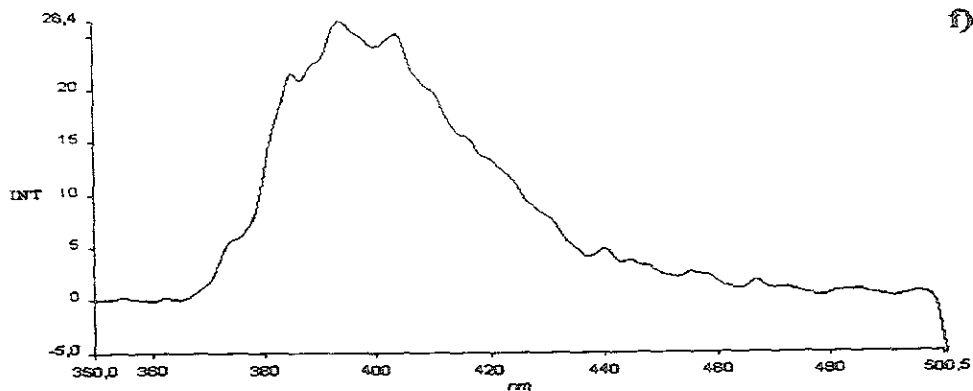
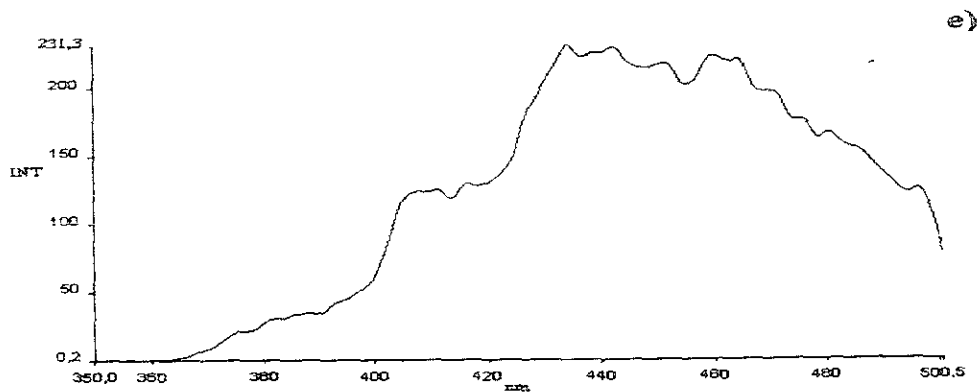
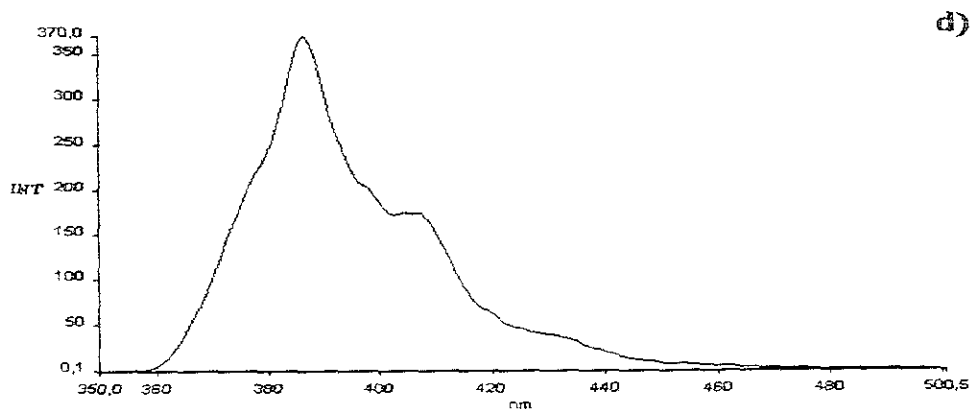
Los espectros de emisión de los nueve HAP observados de manera cualitativa, fueron obtenidos con la finalidad de comparar el número de bandas observadas y la complejidad espectral presentada al realizar únicamente la técnica de emisión, en vez de la de síncronos de excitación. Para obtener los espectros de emisión de cada estándar se ajustó tanto la longitud de onda de excitación, como la de emisión conforme lo indicado en el método IMP-QA-610 empleado para la estimación de la concentración total de hidrocarburos aromáticos disueltos en agua, sedimentos y suelos, establecido en el IMP. Cabe mencionar que la sensibilidad, rapidez y facilidad de manejo de muestras hacen que la técnica de espectrometría de fluorescencia sea reconocida como una excelente opción para determinar compuestos fluorescentes en las matrices ambientales mencionadas. La sensibilidad del método es de 0.002 ppm, y el límite máximo de medición es de 1000 ppm. Las aberturas ("slits") que se manejaron fueron de 5. Los estándares previamente disueltos en etanol y tolueno se evaporan a sequedad con  $N_2$  y, posteriormente, todos los estándares son resuspendidos en hexano. Se realizan diluciones hasta obtener concentraciones pertinentes que entren dentro de la escala de intensidad de 0 a 1000 y se procede a dar lectura a las muestras en el espectrómetro de luminescencia LS-50B (Perkin Elmer). Las 5 fracciones cromatográficas se cuantifican por medio de una curva de calibración realizada bajo cinco concentraciones conocidas de mezclas de los nueve estándares (0.72, 1.44, 2.16, 2.88 y 3.60 ppm), con una longitud de onda de excitación de 310 nm y una longitud de onda de emisión de 400 nm.

Continuación del ANEXO 5  
Espectros de emisión de nueve hidrocarburos aromáticos policíclicos



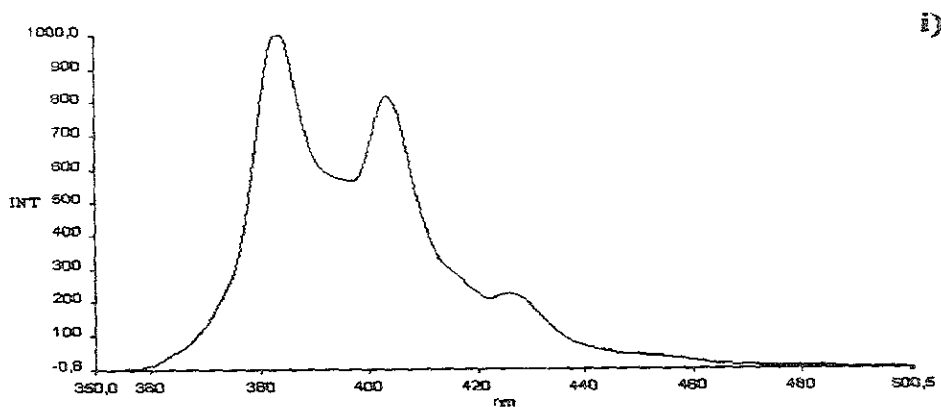
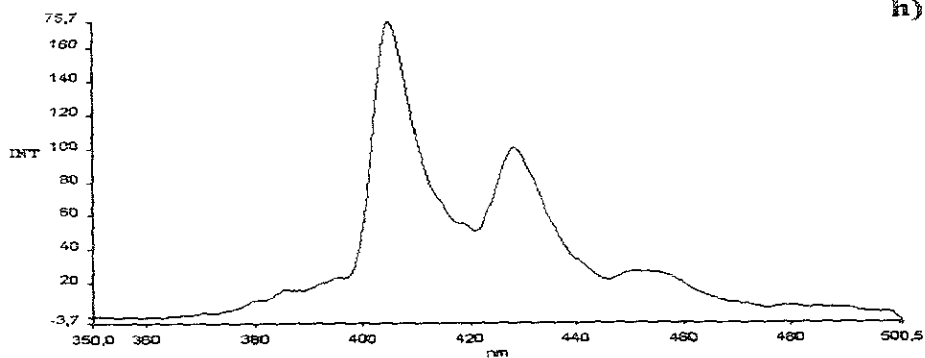
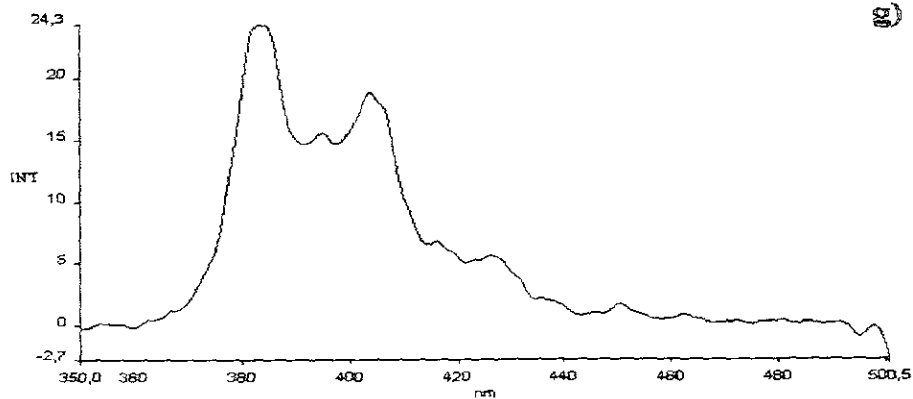
Espectros de emisión en hexano del (a) naftaleno, (b) acenafteño, (c) fluoreno. La longitud de onda de excitación en todos los casos fue de 310 nm y el intervalo de emisión espectral fue de 350-550 nm

Continuación del Anexo 5



Cont. de los espectros de emisión en hexano del (d) fenantreno, (e) fluoranteno, (f) pireno. La longitud de onda de excitación en todos los casos fue de 310 nm y el intervalo de emisión espectral fue de 350-550 nm

Continuación del Anexo 5



Cont. de los espectros de emisión en hexano del (g) criseno, (h) benzo(a) antraceno, (i) dibenzo(a, h) antraceno. La longitud de onda de excitación en todos los casos fue de 310 nm y el intervalo de emisión espectral fue de 350-550 nm



FI Concentration results  
 Generated on 07-30-1999  
 at time 12:57:01

Cálculos para conocer la concentración de cada una de las  
 fracciones cromatográficas del suelo de minatitlán. Ver.

\*\*\*\*\*

Measurement conditions

Method: C:\FLWINLAB\METHODS\CRISENO.MTH

User name: RGG

Comments: METODO PAH

Ex. wavelength (nm): 310  
 Em. wavelength (nm): 400  
 Ex. slit (nm): 5  
 Em. slit (nm): 5  
 Integration time (s): 1  
 Em. filter: 390 cut\_off

\*\*\*\*\*

Reference sample results

Std#	(mcg/l)	Intensity
pha1	720	89,015
pha3	1440	169,137
pha5	2160	234,947
pha7	2880	300
pha9	3600	366,683

Fit equation Y=MX+C  
 Slope 0,095  
 Intercept 26,097  
 Correlation 0,9991

\*\*\*\*\*

Unknown sample results

Concentration range limits

Low level:

High level:

SAMPLE	(mcg/l)	Intensity	ml hex.	af.	alic.	af.	alic.	g.suelo	conc.ppm
SUE MIN TPH's	933,06	115,02	30	25	0,1	25	1	10	17.494,80
Fracc 2. mina (31-3)	1.595,00	178,11	10	25	0,1	10	3	5	2.658,34
fracc.2sue min(26-4)	1.517,49	170,72	10	25	0,1	10	1	5	7.587,47
fracc 2.sue IMP 3/10	1.167,66	137,38	30	25	0,1	10	3	5	5.838,30
FRACC 3 mina	745,71	97,17	10	10	1	1	1	5	14,91
fracc.5 mina viej	1.143,06	135,04	10	25	0,5	1	1	5	114,31
fracc.6 mina viej	2.174,82	233,37	5	25	0,1	1	1	5	543,71
Estandar 1440mg/l	1427,11	162,108	1	1	1	1	1	1	1,43

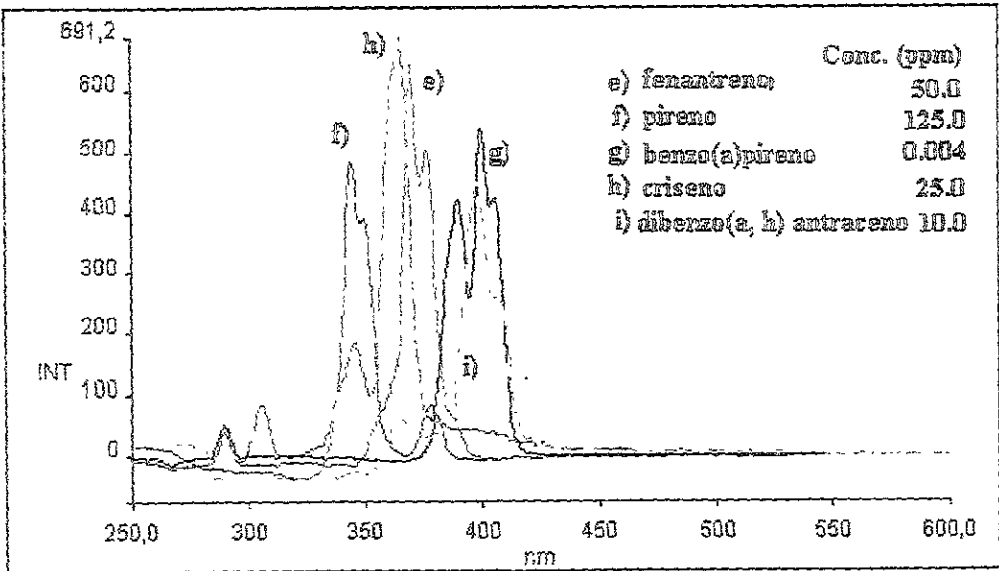
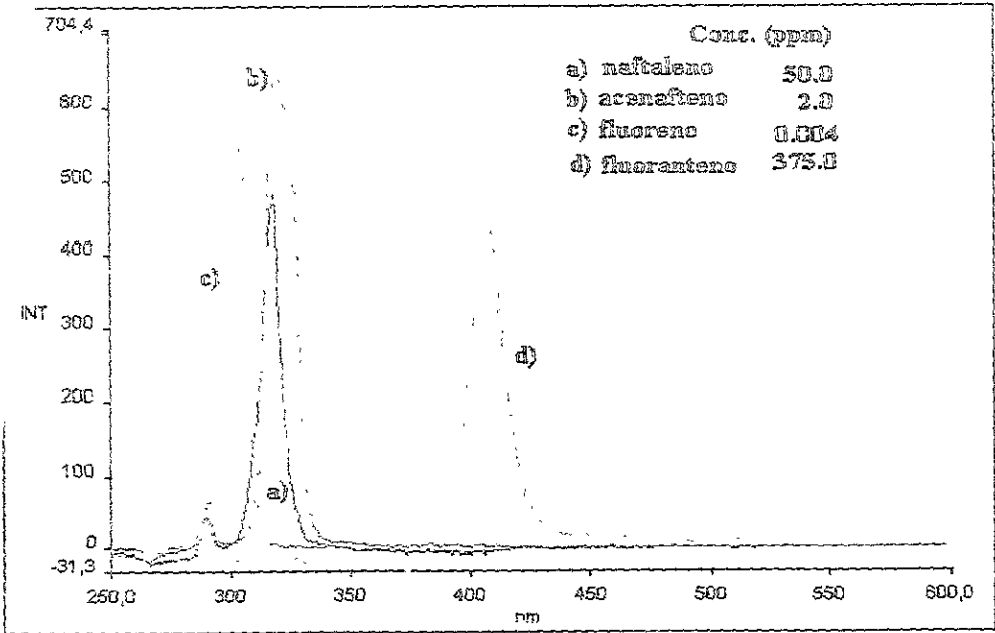
## ANEXO 6

### **Espectros de sincronos de excitación de nueve hidrocarburos aromáticos policíclicos y de las fracciones cromatográficas**

Los espectros de los sincronos de excitación de los estándares se obtienen preparando los estándares a una concentración conocida de 2500 ppm en etanol, (únicamente el criseno y el dibenzo(a, h)antraceno son disueltos en tolueno) y realizando diluciones pertinentes hasta que cada uno de ellos entre en el intervalo de intensidad de 0 a 1000. Los monocromadores del espectrómetro de luminiscencia LS-50B (Perkin Elmer) se sincronizan a una diferencia de longitud de onda de excitación de  $\Delta\lambda = 3$  nm y con aberturas ("slits") de 5. Los compuestos son excitados a una longitud de onda de excitación de 250 nm, la lectura de emisión es tomada a 600 nm. Para las mezclas de compuestos se realizan pruebas de acierto y error realizando mezclas entre ellos, hasta la obtención de mezclas "ideales" en donde se observen de manera cualitativa las regiones en que aparece cada uno de los estándares de manera constante para contar con un margen de confiabilidad. Una vez identificados los intervalos de longitudes de onda en que los estándares aparecen, se realizó un experimento adicional, (respetando los parámetros de operación establecidos previamente en el equipo) donde únicamente se cambió el disolvente (de etanol a hexano) observándose un ensanchamiento de las bandas y un aumento de ellas, por lo que se optó trabajar los experimentos ulteriores en etanol. Para conocer a los compuestos que se encontraban en las cinco fracciones cromatográficas el disolvente de origen es evaporado y las fracciones son resuspendidas en etanol. Para la identificación espectroscópica de las mismas se emplean los mismos parámetros que los establecidos para la obtención de los estándares de manera individual. A continuación se exponen los sincronos de excitación tanto de los nueve estándares de manera individual, empleados durante el desarrollo experimental, como las mezclas ideales obtenidas en etanol durante pruebas de ensayo y error además de las mezclas obtenidas realizando el cambio del disolvente.

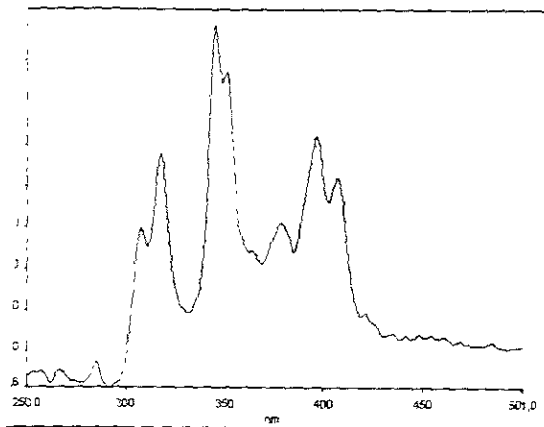
## Continuación del ANEXO 6

Sincronos de excitación de nueve hidrocarburos aromáticos policíclicos  
con un a diferencia de  $\Delta\lambda = 3$  y aberturas ("slits") de 5



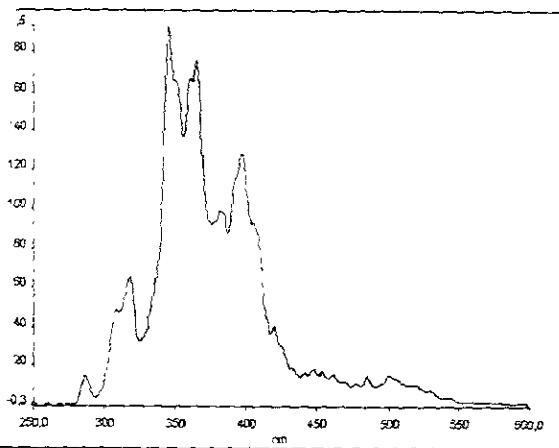
**Continuación del ANEXO 6**  
**Síncronos de excitación de mezclas de estándares en etanol**

**Mezcla de 4 HAP (naftaleno, fluoreno, fenantreno, dibenzo(a,h)antraceno)**



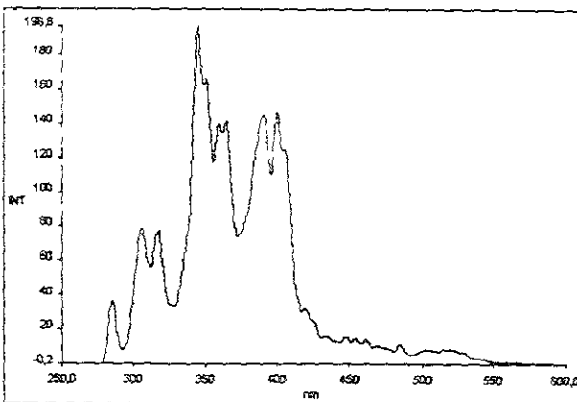
NOMBRE	ml ADICION.	LONGITUD DE ONDA	INT	CONC.(ppm)	FLUORE
FLUORENO	2	307	59	0.001	14750
NAFTALENO	2	317	95	14.0	1.9
FENANTRENO	2	344	159	14.0	3.18
		350	133		
		379	62		
DIBENZO(a,h)ANTRACENO	1	337	101	1.43	10.1
		437	84		

**Mezcla de 5 HAP (naftaleno, fluoreno, fenantreno, criseno, dibenzo(a,b)antraceno)**



NOMBRE	ml ADICION.	LONGITUD DE ONDA	INT	CONC.(ppm)	FLUORES
FLUORENO	2	305	82	0.016	20500
NAFTALENO	2	317	79	12.5	1.56
FENANTRENO	2	344	158	12.5	3.96
		349	167		
CRISENO	1	359	140	3.1	5.6
		363	144		
BENZO(a)PIRENO	1	390	148	0.004	14.8
		400	147		
		405	124		

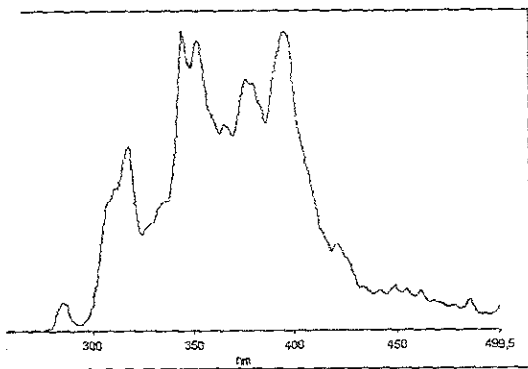
**Mezcla de 5 HAP (naftaleno, fluoreno, fenantreno, criseno, benzo(a)pireno)**



NOMBRE	ml ADICION.	LONGITUD DE ONDA	INT	CONC.(ppm)	FLUORES
FLUORENO	2	307	40	0.016	10000
NAFTALENO	2	317	66	12.5	1.32
FENANTRENO	2	344	192	12.5	3.84
		349	165		
CRISENO	1	350	167	3.1	6.68
		364	176		
DIBENZO(a,b)ANTRACENO	1	396	128	1.25	12.8
		405	82		

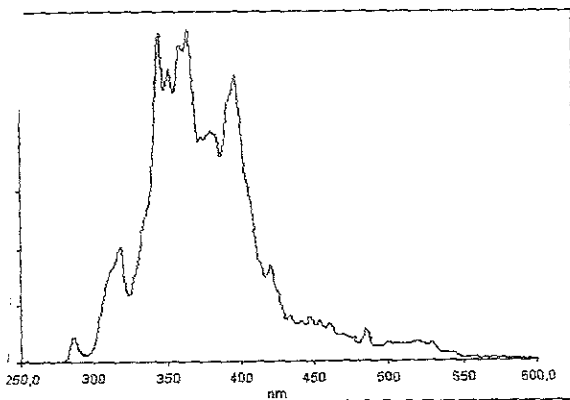
Continuación del ANEXO 6  
Síncronos de mezclas de estándares en hexano

Mezcla de 4 HAP (naftaleno, fluoreno, fenantreno, dibenzo(a,h)antraceno)



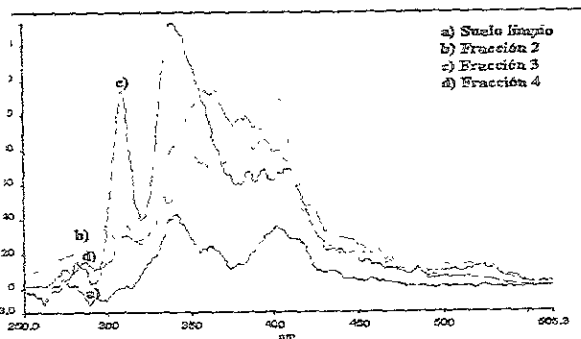
NOMBRE	mL ADICION.	LONGITUD DE ONDA	INT	CONC.(ppm)	FLUORES
FLUORENO	2	307	35	.001	0750
NAFTALENO	2	317	53	14	1.06
FENANTRENO	2	344 350 379	88 90 73	14	1.76
DIBENZO(a,h)ANTRACENO	1	387	88	143	8.8

Mezcla de 5 HAP (naftaleno, fluoreno, fenantreno, criseno, dibenzo(a,h)antraceno)



NOMBRE	mL ADICION.	LONGITUD DE ONDA	INT	CONC.(ppm)	FLUORES
FLUORENO	2		0	0.0160	0
NAFTALENO	2	317	40	12.5	0.8
FENANTRENO	2	344 349	115 163	12.5	2.3
CRISENO	1	360 354	111 116	3.1	4.44
DIBENZO(a,h)ANTRACENO	1	386	100	1.25	10

Síncronos de las fracciones del suelo contaminado de Minatitlán disueltas en etanol



FRACCIÓN	DISOLVEN TES	RELACION	LONG	INT.
SUELO LIMPIO	hex-dicloro	5.5	341	42.9
			361	24
			405	143
FRACCIÓN 2	hex-dicloro	9.1	285	100
			307	318
FRACCIÓN 3	hex-dicloro	5.5	281	14
			306	114
			339	152
			384	67
			393	68
FRACCIÓN 4	met-acetona	5.5	0	0

## BIBLIOGRAFÍA

- Albert L. (1990). *Curso Básico de Toxicología Ambiental*. Limusa. pp. 247 - 277. México, D. F. México.
- Budavarg S. (1996). *The Merck Index. An Encyclopedia of Chemicals. Drugs and Biologicals*. 20<sup>th</sup> Ed. Merck Research Laboratories. Whitehouse Station. EEUA.
- Bohn L. H. y McNeal B. (1993). *Química del Suelo*. Ed. Limusa. pp. 15 - 33. México, D. F. México.
- Calabrese J. E. y Kostecki T. P. (1991). *Hydrocarbon Contaminated Soils and Groundwater*. Lewis Publishers. pp. 88 - 104. Chelsea. Michigan, EEUA.
- Carmichael L. M., Christman F. R. y Pfaender K. F. (1997) Desorption and mineralization kinetics of phenantrene and crysene in contaminated soils. *Environ. Sci. Technol.* **31**, 126 - 132.
- Chen S., Inskeep P. W., Williams A. S. y Callis R. P. (1994) Fluorescence lifetime measurements of fluoranthene, 1-naphthol, and napropamide in the presence of dissolved humic acid. *Environ. Sci. Technol.* **28**, 1582 - 1588.
- Díaz G. G., Córdova C. J., Botello V. A., y Ponce V. G. (1995) Evaluación de hidrocarburos aromáticos policíclicos en suelos hidromórficos de la reserva de la biosfera "Los pantanos de Centla" en Tabasco. *Rev. Int. Contam. Amb.* **12**, 15 - 21.
- Duchaufour P. y Souchier B. (1984). *Edafogénesis* 1<sup>a</sup> Ed. Masson, pp. 3 - 65. Barcelona. España.
- Dwijen K. y Murray R. (1997) Analysis of hydrocarbon contaminated soil by thermal extraction gas chromatography. *Environm. Sci. Technol.* **31**, 646 - 650.
- Dyer R. J. (1973). *Aplicaciones de Espectroscopía de Absorción en Compuestos Orgánicos*. Prentice /Hall Internacional, pp. 22 - 47. Barcelona, España.
- EPA. (1986). *Test Methods for Evaluating Solid Wastes; Soxhlet Extraction*, Method 3540. Washington, D. C. 1C, 3541 - 3547

- EPA. (1983). *Petroleum Hydrocarbon Total Recoverable. Spectrophotometric Infrared. Method 418.1 for chemical Analysis.* Cincinnati, Ohio. EEUUA.
- Esteban L. (1993). *La Espectrometría de Masas en Imágenes.* ACK Editores. Pp. 24 - 44. Madrid, España.
- Gary J. H. y Handwork E. G. (1984). *Refino de Petróleo.* Reverté S.A. pp. 20 - 113. Barcelona, España.
- Goldstein J. A. y Faletto B. M. (1993) Advances in mechanisms of activation and deactivation of environmental chemicals. *Environ. Health Perspect.* **100**, 169 - 176.
- Grimmer G. (1984). *Environmental Carcinogens: Polycyclic Aromatic Hydrocarbons.* CRC Press. Inc. pp. 44 - 46. Boca Ratón, Florida, EEUUA.
- Guilbault G. G. (1973). *Practical Fluorescence. Theory, Methods, and Techniques.* Marcel Dekker Inc., pp. 5 - 50. Nueva York, EEUUA.
- Harrison M. R., Smith T. J. D. y Luhana L. (1996) Source apportionment of atmospheric polycyclic aromatic hydrocarbons collected from an urban location in Birmingham, U. K. *Environ Sci. Technol.* **30**, 825 - 832.
- IMP, PEMEX, IMTA. (1997). *Estudio de Clasificación del Río Coatzacoalcos.* Ver. Grupo de Ordenamiento Ecológico. Informe IMP. pp.1 - 335. México. D. F. México.
- Jackson M. L. y Lesage S. (1976). *Análisis Químico de Suelos.* 3ª Ed. Omega, pp. 5 - 30. Barcelona, España.
- Lakowicz J. R. (1994). *Principes of Fluorescence Spectroscopy.* 2ª Ed. Plenum Press. pp. 1-15., Nueva York, EEUUA.
- Larson A. R. y Weber E. (1994). *Reaction Mechanisms in Environmental Organic Chemistry.* Lewis Publishers. Boca Ratón, Florida. EEUUA.
- Lotfabad-Karimi S., Pickard A. M. y Gray R. M. (1996). Reactions of polynuclear aromatic hydrocarbons on soil. *Environm. Sci. Technol.* **30**, 1145 - 1151.

- Manahan S. E. (1992). *Toxicological Chemistry*. 2ª Ed. Lewis Publishers, pp. 217 - 165. Chelsea Michigan, EEUUA.
- Marshall S. (1991). *Handbook of Toxic and Hazardous Chemicals and Carcinogens*. (I - II) 3ª Ed. Noyes Publications, Nueva Jersey, EEUUA.
- McGown B. L. y Warner M. I. (1990). Molecular fluorescence, phosphorescence, and chemiluminescence spectrometry. *Anal. Chem.* 62, 255 R - 267 R.
- Morrison R. y Boyd R. (1987). *Química Orgánica*. 5ª Ed. Addison-Wesley-Iberoamericana, pp. 1152 - 1170. México, D. F. México
- Odum E. (1993). Ecología: "El Vínculo entre las Ciencias Naturales y las Sociales". Ed. CECSA, pp. 1 - 15. México, D. F. México
- Ortiz V. y Ortiz C. A. (1984). *Prácticas de Edafología*. Ed. UACH, Chapingo, México.
- PEMEX. (1982). *Datos Generales de la Refinería "Cadereyta"*. Subdirección General de Capacitación y Desarrollo Profesional. IMP, pp. 4 - 23. México, D. F. México.
- PEMEX. (1982). *Datos Generales de la Refinería "Madero"*. Subdirección General de Capacitación y Desarrollo Profesional. IMP, pp. 7 - 29. México. D. F. México.
- PEMEX. (1983). *Datos Generales de la Refinería "Ing. Antonio M. Amor"*. Subdirección General de Capacitación y Desarrollo Profesional. IMP, pp. 1 - 32. México, D. F. México.
- PEMEX. (1986). *Datos Generales de la Refinería "Gral. Lázaro Cárdenas del Río"*. Subdirección General de Capacitación y Desarrollo Profesional. IMP, pp. 3 - 45. México, D. F. México.
- PEMEX. (1986). *Datos Generales de la Refinería "Antonio Dovalí Jaime"*. Subdirección General de Capacitación y Desarrollo Profesional. IMP, pp. 6 - 40. México, D. F. México.
- PEMEX. (1990). *Datos Generales de la Refinería "Miguel Hidalgo"*. 2ª Ed. Subdirección General de Capacitación y Desarrollo Profesional. IMP, pp. 5 - 68. México, D. F. México.



- PEMEX. (1998). *Anuario Estadístico. Gerencia de Evaluación Corporativa de Evaluación e Información*. pp. 3 – 60. México, D. F. México.
- Pollard J. S., Hrudey E. S., Fuhr J. B., Alex F. R., Holloway R. L. y Tosto F. (1992). Hydrocarbon wastes at petroleum and cresote contaminated sites: Rapid characterization of component classes by thin layer chromatography with flame ionization detection. *Environ. Sci. Technol.* 67, 2528 - 2534.
- Puchalski M. M., Morra J. M. y Wandruszka V. R. (1992). Fluorescence quenching of synthetic organic compounds by humic materials. *Environ. Sci. Technol.* 26, 1778 – 1792.
- Reinhold V. N. (1992). *Dangerous Properties of Industrial Materials*. Vol. I-II. 8ª Ed. Van Nostrand Reinhold. Nueva York, EEUUA.
- Rutan C. S. y Tood L. C. (1990). Correction for fluorescence response shifts in polyaromatic hydrocarbon mixtures with an innovations - based kalmar filter method. *Anal. Chem.* 62, 1998 - 2004.
- Ruiz F. M. e Iris A. V. (1997). *Manual de Calidad del Laboratorio Central del Instituto Mexicano del Petróleo (IMP)*. Método IMP-Q. A- 610; Método IMP-Q. A-620. México, D. F. México.
- Santelises A. A., Barra E. J. y Ramos C. J. (1987). *Análisis químico para evaluar la fertilidad del suelo*. Ed. Sociedad Mexicana de la Ciencia del Suelo, pp. 19 - 44; 45 –81; 85 - 91. Chapingo, Edo. de México, México.
- Silverstein B. M. (1981). *Spectrometric Identification of Organic Compounds*. 4ª Ed. John Wiley y Sons, pp. 3 - 16. Nueva York, EEUUA.
- Skoog A. D. (1994). *Análisis Instrumental*. 4ª Ed. Mc Graw-Hill, pp. 705 - 727. México, D. F. México.
- Smith L. A. (1979). *Applied Infrared Spectroscopy. Fundamentals, Techniques, and Analytical Problem - Solving*. John Wiley & Sons, Nueva York, EEUUA.
- Storch J. M. (1982). *Fundamentos de la Cromatografía de Gases*. Alhambra-Universidad, pp. 12 - 62. México, D. F. México.

- Tapía T. G. y Rosas O. G. (1991). *Contaminación de Suelos*. Trabajo monográfico de actualización mancomunado. Tesis de Licenciatura; UNAM, Facultad de Química. México, D. F. México.
- Tiller L. C. y Jones K. D. (1997). Effects of dissolved oxygen and light exposure on determination of Koc values for PAH's using fluorescence quenching. *Environ. Sci. Technol.* **31**, 424 – 429.
- UNEP/IOC/IAEA. (1992). *Determination of Petroleum Hydrocarbons in Sediments*. Reference Method No. 20. United Nations Environment Programme (UNEP). Paris, Francia.
- Vo-Dinh T. (1978) Multicomponent analysis by synchronous luminescence spectrometry. *Anal. Chem.* **50**, 396 - 401.
- Voon S. O. y Hites R. (1994) Electron capture mass spectrometry of organic environmental contaminants. *Mass Spectrometry Reviews.* **13**, 259 - 283.
- Yeung P. P., Johnson L. R., y Acharya N. S. (1994). *An improved Procedure for Determining Oil Content in Wet Soil Samples. En Soil Contaminated with Petroleum Constituents*. ASTM. Philadelphia, EEUUA.
- Wehry E. L. (1981). *Modern Fluorescence Spectroscopy*. Plenum Press, No.4. pp.167 – 192. Nueva York, EEUUA.
- Wise L. D. y Tarantolo D. J. (1996). *Remediation of Hazardous Contaminated Soils*. Marcel Dekker, pp. 234 - 385. Nueva York, EEUUA.