

**MONTAJE Y ESTANDARIZACIÓN DE UN MÉTODO PARA LA
DETERMINACIÓN DE HIDROCARBUROS TOTALES EN MATRICES DE
AGUA POR MEDIO DE LAS TÉCNICAS DE INFRARROJO Y
ULTRAVIOLETA**

SEBASTIÁN ARANGO RAMÍREZ

Código 1087998312

ANA MARÍA PÉREZ GÓMEZ

Código 1112765069

**UNIVERSIDAD TECNOLÓGICA DE PEREIRA
FACULTAD DE TECNOLOGÍA
ESCUELA DE QUÍMICA
ANTEPROYECTO
PEREIRA
2012**

**MONTAJE Y ESTANDARIZACIÓN DE UN MÉTODO PARA LA
DETERMINACIÓN DE HIDROCARBUROS TOTALES EN MATRICES DE
AGUA POR MEDIO DE LAS TÉCNICAS DE INFRARROJO Y
ULTRAVIOLETA.**

**SEBASTIÁN ARANGO RAMÍREZ
ANA MARÍA PÉREZ GÓMEZ**

Trabajo de grado para optar al título de químico industrial

**Director:
CARLOS HUMBERTO MONTOYA NAVARRETE
Químico Industrial**

**UNIVERSIDAD TECNOLÓGICA DE PEREIRA
FACULTAD DE TECNOLOGÍA
ESCUELA DE QUÍMICA
PEREIRA
2012**

**NOTA DE ACEPTACIÓN DE TRABAJO DE GRADO
MONTAJE Y ESTANDARIZACIÓN DE UN MÉTODO PARA LA
DETERMINACIÓN DE HIDROCARBUROS TOTALES EN MATRICES DE
AGUA POR MEDIO DE LAS TÉCNICAS DE INFRARROJO Y
ULTRAVIOLETA**

**Presentado por:
SEBASTIAN ARANGO RAMÍREZ
ANA MARÍA PÉREZ GÓMEZ**

Los suscritos director y jurado del presente trabajo de grado, una vez realizada la versión escrita y presenciado la sustentación oral, decidimos otorgar:

La nota de: _____

Con la connotación: _____

Para constancia firmamos en la ciudad de Pereira hoy:

Director:
Carlos Humberto Montoya Navarrete _____

Jurado:

Firma: _____

Jurado:

Firma: _____

AGRADECIMIENTOS

La presente Tesis es un esfuerzo en el cual, directa o indirectamente, participaron varias personas leyendo, opinando, corrigiendo, teniéndonos paciencia, porque se necesita tener la misma capacidad analítica para escribir una tesis que para escribir las palabras adecuadas para agradecer a quienes nos han dando ánimo, acompañándonos en los momentos de crisis y en los momentos de felicidad, para completar este ciclo de vida.

Agradecemos a nuestros padres por el apoyo incondicional y continuo durante el proceso tanto académico como personal, a Dios por permitirnos encontrar el camino y a las personas adecuadas para el desarrollo de este trabajo, a nuestros guías, Carlos Humberto Montoya director del proyecto, a Federman Castro evaluador del mismo, a Norma Patricia Durán y Clara Inés Arango, quienes con su asesoría permitieron que este trabajo llegara a un feliz término; al CTI y a la Fiscalía general de la nación seccional Pereira, por facilitarnos uno de los equipos necesitados para la parte experimental de éste proyecto.

Finalmente agradecemos a nuestros amigos y compañeros de estudio, porque en el transcurso de éste aprendizaje fueron fundamentales en la evolución académica y personal, siendo un apoyo constante en momentos de decadencia emocional.

CONTENIDO

	PÁG.
CAPÍTULO 1. RESUMEN.....	17
CAPÍTULO 2. JUSTIFICACIÓN.....	18
CAPÍTULO 3. OBJETIVOS	
3.1. OBJETIVO GENERAL.....	22
3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	22
CAPÍTULO 4. MARCO DE ANTECEDENTES	
4.1. MÉTODO POR ESPECTROMETRÍA DE IR.....	23
4.2. MÉTODO POR ESPECTROSCOPIA UV.....	24
CAPÍTULO 5. MARCO TEÓRICO	
5.1. ESTANDARIZACIÓN.....	26
5.1.1. Rango y linealidad.....	27
5.1.2. Precisión.....	29
5.1.3. Exactitud.....	31
5.1.4. Límite de detección.....	32
5.1.5. Límite de cuantificación.....	32
5.1.5.1. Método basado en la relación señal/ruido.....	33
5.1.5.2. Método basado en la Desviación Estándar de la respuesta del blanco y la pendiente de la recta calibrada.....	33

PAG

5.1.5.3. Método basado en la Extrapolación de la recta calibrada a concentración cero.....	34
5.1.6. Recuperación.....	34
5.1.7. Sensibilidad.....	35
5.2. HIDROCARBUROS TOTALES DEL PETRÓLEO (HTP's)	
5.2.1. Definición.....	36
5.2.2. Composición.....	36
5.2.3. Contaminación de aguas y consecuencias.....	37
5.3. ESPECTROSCOPÍA.....	40
5.3.1. Espectroscopía UV.....	41
5.3.1.1. Tipos de electrones absorbentes.....	43
5.3.1.2. Especies absorbentes.....	45
5.3.1.2.1. Absorción por compuestos orgánicos.....	46
5.3.1.3. Medición de transmitancia y absorbancia.....	48
5.3.1.4. Aspectos cuantitativos de las mediciones de absorción.....	50
5.3.1.4.1. Ley de Lambert-Beer.....	50
5.3.1.4.2. Absortividad y absortividad molar.....	50
5.3.1.4.3. Curva de calibración.....	51
5.3.1.5. Limitaciones de la Ley de Beer.....	52
5.3.1.5.1. Limitaciones propias de la Ley de Beer.....	53

5.3.1.5.1.1. Error fotométrico.....	53
5.3.2. Espectrometría de infrarrojo	
5.3.2.1. Generalidades.....	56
5.3.2.1.1. Teoría de la espectrometría de Infrarrojo.....	57
5.3.2.1.2. Transiciones rotacionales.....	57
5.3.2.1.3 Transiciones vibracionales/rotacionales.....	58
5.3.2.1.4 Tipos de vibraciones moleculares.....	58
5.3.2.1.5 Modos de vibración.....	60
5.3.2.1.6 Acoplamiento vibracional.....	62
5.3.2.1.7 Bandas características de los hidrocarburos en la espectrometría de Infrarrojo.....	64
5.3.2.2. Características del equipo.....	68
5.3.2.3 Principios de la transformada de Fourier.....	69
5.3.2.3.1 Componentes de los instrumentos con transformada de Fourier.....	71
5.3.2.3.1.1 Mecanismos de activación.....	72
5.3.2.3.2 Diseño de instrumentos.....	74
5.3.2.3.2.1 Ventajas de los espectrómetros con transformada de Fourier.....	75
5.3.2.3.3 Aplicaciones de la Espectrometría de Infrarrojo...	76

5.3.2.3.3.1	Espectrometría de absorción en el Infrarrojo medio.....	78
5.3.2.3.3.1.1	Manipulación de la muestra.....	78
5.3.2.3.3.1.2	Región de la huella dactilar.....	82
5.3.2.3.3.1.3	Limitaciones del uso de las tablas de correlación.....	83
5.3.2.3.3.1.4	Colecciones de espectros.....	84
5.3.2.3.3.1.5	Sistema de búsqueda por ordenador.....	84
CAPÍTULO 6. SECCIÓN EXPERIMENTAL.....		86
6.1.	MATERIALES Y EQUIPOS.....	86
6.1.1.	Estándar.....	86
6.1.2.	Muestra de análisis.....	86
6.1.3.	Blanco.....	86
6.1.3.	Equipos.....	86
6.1.3.1.	Espectrofotómetro UV- Visible.....	86
6.1.3.2.	Equipo Infrarrojo.....	87
6.2.	SECCIÓN EXPERIMENTAL ANTES DE LA ESTANDARIZACIÓN.....	88
6.2.1.	Espectroscopia UV- Visible.....	88
6.2.1.1.	Límite de detección.....	88
6.2.1.2.	Límite de cuantificación.....	88
6.2.1.3.	Curvas de calibración.....	89

6.2.1.4. Sensibilidad.....	89
6.2.1.5. Linealidad.....	89
6.2.1.6. Intervalo de trabajo o lineal.....	89
6.3. EXTRACCIÓN DEL ANALITO.....	90
6.4. PROCEDIMIENTO DE ESTANDARIZACIÓN.....	91
6.4.1.1. Exactitud.....	91
6.4.2. Precisión.....	91
6.4.2.1. Repetibilidad.....	91
6.4.2.2. Repetibilidad Intermedia.....	92
6.4.2.3. Reproducibilidad.....	92
6.4.3. Recuperación.....	92
6.4.4. Verificación de la estandarización.....	92
6.5 Análisis cualitativo por Espectrometría de Infrarrojo.....	93
6.6 Análisis cualitativo preliminar por cromatografía de gases.....	93
CAPÍTULO 7. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	95
7.1. BARRIDO ESPECTRAL.....	95
7.2. LÍMITE DE DETECCIÓN Y CUANTIFICACIÓN.....	95
7.3. CALIBRACIÓN.....	97
7.4. PARÁMETROS DE ESTANDARIZACIÓN.....	102
7.4.1. Precisión.....	102
7.4.2. Recuperación.....	104

7.4.3. Exactitud.....	105
7.3.4. Límite de confianza.....	108
7.5. ANÁLISIS CUALITATIVO POR ESPECROMETRÍA DE INFRARROJO.....	111
7.5.1. Espectro IR de ACPM comercial.....	112
7.5.2. Espectro IR de gasolina comercial.....	113
7.5.3. Espectro IR de kerosene comercial.....	115
7.5.4. Espectro IR de Mezcla de combustibles comerciales.....	116
7.5.5. Espectro IR de Muestra contaminada con mezcla de combustibles comerciales.....	118
7.6. ANÁLISIS PRELIMINAR CUALITATIVO POR CROMATOGRFÍA DE GASES.....	120
CAPÍTULO 8. TIEMPO Y COSTOS DEL PROYECTO.....	124
CAPÍTULO 9. RECOMENDACIONES.....	126
CAPÍTULO 10. CONCLUSIONES.....	128
BIBLIOGRAFÍA.....	131
ANEXOS.....	135

ÍNDICE DE TABLAS

	Pág.
Tabla N°1. Características de transiciones electrónicas entre orbitales σ , π y η .	45
Tabla N°2. Regiones del espectro del infrarrojo.	57
Tabla N°3. Bandas características de los Alcanos.	64
Tabla N°4. Bandas características de los Alquenos.	65
Tabla N°5. Bandas características de los Alquinos.	66
Tabla N°6. Bandas características de los Hidrocarburos Aromáticos.	67
Tabla N°7. Principales aplicaciones de la espectrometría en el infrarrojo.	77
Tabla N°8. Datos obtenidos para la determinación del límite de cuantificación y detección del análisis preliminar con el solvente puro	95
Tabla N°9. Parámetros estadísticos para la determinación del límite de cuantificación y detección del análisis preliminar para el solvente puro	96
Tabla N°10. Datos obtenidos para la determinación del límite de cuantificación y detección del análisis preliminar para la concentración 0,1 mg/L	97
Tabla N°11. Parámetros estadísticos para la determinación del límite de cuantificación y detección del análisis preliminar para la concentración 0,1 mg/L	97
Tabla N°12. Datos obtenidos para la determinación del límite de cuantificación y detección del análisis preliminar	97

para la concentración 0,5 mg/L

Tabla N°13. Parámetros estadísticos para la determinación del límite de cuantificación y detección del análisis preliminar para la concentración 0,5 mg/L	98
Tabla N°14. Datos correspondientes a la curva de calibración.	100
Tabla N°15. Datos estadísticos para la calibración.	101
Tabla N°16. Datos obtenidos para el análisis de a repetibilidad del método.	103
Tabla N°17. Datos obtenidos para el análisis de la repetibilidad Intermedia del método.	103
Tabla N°18. Datos obtenidos para el análisis de la reproducibilidad del método.	103
Tabla N°19. Parámetros para la determinación de la precisión en términos de la repetibilidad, repetibilidad intermedia y reproducibilidad.	104
Tabla N°20. Lectura para determinar recuperación, con adición de estándar alto y bajo.	105
Tabla N°21. Datos obtenidos para la determinación de la Exactitud del método.	106
Tabla N°22. Parámetros para la determinación de la exactitud a tres niveles de concentración.	107
Tabla N°23. Datos obtenidos en el análisis ANOVA del conjunto De datos para la precisión del estándar bajo	108
Tabla N°24. Datos obtenidos en el tratamiento estadístico para Establecer el límite de confianza del 95% del estándar Bajo por Sheffé	108

Tabla N°25. Datos obtenidos en el análisis ANOVA del conjunto De datos para la precisión del estándar medio	108
Tabla N°26. Datos obtenidos en el tratamiento estadístico para Establecer el límite de confianza del 95% del estándar medio por Sheffé	109
Tabla N°27. Datos obtenidos en el análisis ANOVA del conjunto De datos para la precisión del estándar alto	109
Tabla N°28. Datos obtenidos en el tratamiento estadístico para Establecer el límite de confianza del 95% del estándar alto por Sheffé	109
Tabla N°29. Datos espectroscópicos de IR para el ACPM comercial.	113
Tabla N°30. Datos espectroscópicos de IR para la gasolina Comercial.	114
Tabla N°31. Datos espectroscópicos de IR para el Kerosene Comercial.	115
Tabla N°32. Datos espectroscópicos de IR para una mezcla de hidrocarburos comerciales.	117
Tabla N°33. Datos espectroscópicos de IR para una muestra de agua contaminada	118
Tabla N°34. Tabla comparativa de tiempos de retención de ACPM, gasolina y kerosene frente al estándar de hidrocarburos lineales.	123
Tabla N°35. Cronograma de actividades	124
Tabla N°36. Presupuesto estimado del proyecto	125

ÍNDICE DE FIGURAS

	Pág.
Figura N°1. Estudios en los que se divide la precisión.	30
Figura N°2. Contaminación de cuerpos de agua por derrames de HTP's	38
Figura N°3. Contaminación del suelo por HTP's	39
Figura N°4. Contaminación del aire por emisiones de masa de gases ricos en HTP's	40
Figura N°5. Espectro electromagnético.	41
Figura N°6. Niveles de energía para los estados fundamental y excitado de una molécula orgánica.	42
Figura N°7. Representación de las interfaces: aire – pared, Pared – solución.	48
Figura N°8. Diagrama esquemático del aparato usado para métodos analíticos basados en la absorción de energía radiante.	49
Figura N°9. Curva de calibración característica de un Espectrofotómetro.	52
Figura N°10. Gráfica de la desviación relativa de la concentración causada por un error fotométrico de 1% en función del porcentaje de transmitancia y de la absorbancia.	54
Figura N°11. Curvas de error para diversas categorías de incertidumbre Instrumentales.	55
Figura N°12. Tipos de vibraciones moleculares.	59
Figura N°13. Otros modos de vibración del dióxido de carbono.	62

Figura N°14. Espectro de un hidrocarburo lineal saturado (Alcano).	65
Figura N°15. Espectro de un hidrocarburo lineal insaturado (Alqueno).	66
Figura N°16. Espectro de un hidrocarburo lineal insaturado (Alquino).	67
Figura N°17. Espectro de un Hidrocarburo Aromático.	68
Figura N°18. Esquema de un interferómetro de Michelson iluminado por una fuente monocromática.	72
Figura N°19. Interferómetro en un espectrómetro de Infrarrojo de Transformada de Fourier.	73
Figura N°20. Espectrómetro FT-IR de un solo haz.	75
Figura N°21. La región de las frecuencias de grupo del Infrarrojo medio.	82
Figura N°22. Espectrofotómetro UV – Visible.	87
Figura N°23. Espectrómetro ThermoScientificNicolet 380 FT-IR.	87
Figura N°24. Diagrama de flujo de extracción líquido – líquido del analito de hidrocarburos totales en una muestra de agua.	90
Figura N°25. Curvas realizadas para la calibración del método.	99
Figura N°26. Espectro de infrarrojo para ACPM comercial	112
Figura N°27. Espectro de infrarrojo para gasolina comercial	113
Figura N°28. Espectro de infrarrojo para kerosene comercial	115
Figura N°29. Espectro de infrarrojo para mezcla combustibles Comerciales	116
Figura N°30. Espectro de infrarrojo para muestra contaminada	118

Figura N°31. Vibraciones de estiramiento C _{SP3} – H	119
Figura N°32. Vibraciones de deformación C _{SP3} – H	119
Figura N°33. Cromatograma realizado del estándar de hidrocarburos lineales.	121
Figura N°34. Cromatograma realizado de ACPM comercial.	121
Figura N°35. Cromatograma realizado de gasolina comercial.	122
Figura N°36. Cromatograma realizado de kerosene comercial.	122

1. RESUMEN

En el siguiente trabajo se presenta la estandarización de un método para cuantificar hidrocarburos totales por la técnica de espectrofotometría de ultravioleta y la cualificación de los mismos por espectrometría de infrarrojo en matrices de agua.

Se realizaron en la parte cuantitativa una curva de calibración con patrones de 0,5 mg/L siendo la menos concentrada hasta 10 mg/L siendo la más concentrada. Se determinaron parámetros estadísticos como linealidad, precisión y exactitud. Los cuales arrojaron valores aceptables de estas medidas, indicando que el método muestra concordancia entre los análisis realizados.

Como estándar para los patrones se utilizó una mezcla de volúmenes equivalentes de hidrocarburos comerciales (ACPM, gasolina y kerosene), y como muestra real se usó una muestra de agua contaminada a una concentración conocida con la misma mezcla.

En la parte cualitativa, se tomaron espectros de cada uno de los hidrocarburos comerciales ya mencionados, así como también, de la mezcla de los mismos, mostrando flexiones y tensiones en regiones específicas referentes, según la literatura, a enlaces presentes en hidrocarburos.

2. JUSTIFICACION

La energía del petróleo y sus derivados no es una energía renovable, sino que pertenece al grupo de las energías fósiles y contaminantes. Los sedimentos petrolíferos se hacen más pesados y caen al fondo del agua como consecuencia de su propio peso. A medida que los depósitos adicionales se acumulan, la presión ejercida sobre aquellos que se encuentran más abajo aumenta miles de veces, así como la temperatura también se incrementa en varios cientos de grados ^[1].

La clasificación de petróleo crudo se da a todos aquellos que se denominan «*pesados y ligeros* ». Al estar formado principalmente por moléculas hidrocarbonadas, entre ellos se encuentran: Hidrocarburos aromáticos, hidrocarburos alifáticos saturados (parafinas o alcanos), hidrocarburos alifáticos insaturados (olefinas o alquenos) ^[2], además de pequeñas cantidades de azufre, oxígeno, nitrógeno, y trazas de metales como hierro, cromo, níquel y vanadio, cuya mezcla constituye el petróleo crudo ^[3].

De particular preocupación está la exposición al benceno, tolueno y xileno. Altas concentraciones de benceno causan síntomas neurotóxicos, y una prolongada exposición a niveles tóxicos puede causar lesión de la médula

Ósea, el benceno también es un conocido causante de leucemia. ^[4].

La contaminación de las aguas por hidrocarburos en los sistemas de almacenamiento, en las fuentes de abastecimientos subterráneos y superficiales, así como en otros cuerpos de agua es un hecho que ocurre con relativa frecuencia. Este tipo de contaminación produce un cambio en las características organolépticas del agua que induce al rechazo de los consumidores, y su ingestión representa un riesgo para la salud; asimismo, el ecosistema puede sufrir afectaciones debidas al impacto negativo de estos contaminantes sobre sus diferentes componentes.

Las contaminaciones pueden presentarse de dos formas generales: puntuales y sistemáticas. Las primeras ocurren de manera fortuita en los cuerpos de agua donde generalmente no hay presencia de hidrocarburos. Las segundas son habituales y caracterizan a aquellas aguas que son contaminadas por la actividad antrópica que en ellas se realiza. Por otro lado, las fuentes de la contaminación pueden ser simples o múltiples, y verter a los medios 1 o varios componentes del petróleo.

El estudio de este tipo de contaminaciones puede alcanzar una gran complejidad, determinada ésta por la naturaleza de la contaminación, los métodos de análisis empleados y la manera en que se proceda en la ejecución del estudio; la integración de estos factores determina su alcance,

la eficiencia en el uso de los recursos y la ejecución de una intervención adecuada.

Existen diferentes métodos analíticos que permiten estudiar este tipo de contaminación, entre los que se encuentran la cromatografía de gases, métodos de partición gravimétrica y métodos espectroscópicos infrarrojo y ultravioleta ^[5,6]. Cada uno de ellos tiene ventajas y limitantes, de las que se pueden señalar, en el caso de los métodos instrumentales, el elevado costo del equipamiento y la necesidad de patrones de alta pureza de los hidrocarburos presentes en la contaminación.

La cromatografía de gases es de los métodos señalados el de mayor sensibilidad. Los métodos de partición gravimétrica y extracción presentan una baja sensibilidad (mayor que 10 mg/L). El método infrarrojo presenta valores de detección del orden de 0,2 mg/L, superior a lo requerido en el caso de las aguas de consumo ^[5,7].

En Colombia los hidrocarburos están regulados en el decreto nacional 3930 de 2010 expedido por el ministerio de salud y en la resolución 30 de 2005 expedido por el ministerio de minas y energía, los cuales reconocen los efectos perjudiciales que tienen estas sustancias tanto para la salud humana como para el medio ambiente, e indican que hay que ejercer acciones de control relacionadas con estos compuestos.

Las entidades de control ambiental, en este caso la Corporación Autónoma Regional de Risaralda (CARDER), son las encargadas de ejercer las funciones de evaluación, control y seguimiento ambiental de los usos del agua, el suelo, el aire y los demás recursos naturales renovables, así como los vertimientos o emisiones que puedan causar daño o poner en peligro los recursos naturales renovables^[8].

Con este trabajo se pretende estandarizar un método analítico para la determinación de hidrocarburos totales, debido a los efectos perjudiciales que conllevan estos compuestos al estar presentes en el ambiente, y a la necesidad de controlar la cantidad presente en las matrices de agua.

Atendiendo a la demanda del sector industrial, organismos de control y a la comunidad en general, se implementará un método analítico estandarizado para el análisis de hidrocarburos totales en el agua, como aporte de la Universidad Tecnológica de Pereira en el soporte técnico a la comunidad regional, a través del Laboratorio de Análisis de Aguas y Alimentos.

3. OBJETIVOS

3.1. OBJETIVO GENERAL

- Montaje y estandarización de un método para la determinación de hidrocarburos totales en matrices de agua por medio de las técnicas de Infrarrojo y UV.

3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Encontrar los criterios de calidad analíticos Límite de cuantificación (LC), Límite de detección (LD), Varianza (S), Sensibilidad, Exactitud y Precisión en la determinación de hidrocarburos totales mediante la técnica espectrofotométrica de UV.
- Determinar una región de absorción en el infrarrojo por parte de hidrocarburos presentes en combustibles comerciales, individuales y en mezcla.
- Implementar un método de análisis cuantitativo por UV complementado con un análisis cualitativo por IR.

4. MARCO DE ANTECEDENTES

4.1. MÉTODO POR ESPECTROSCOPIA DE IR

La determinación de Hidrocarburos Totales de Petróleo (HTP) o TPH (Total Petroleum Hydrocarbons) es el procedimiento más empleado en Ecuador y otros países de Latinoamérica en el monitoreo ambiental para determinar contaminación por hidrocarburos en matrices de agua y suelo y para hacer seguimiento a procesos de remediación.

El método por espectroscopia infrarroja es muy ampliamente usado por su versatilidad, sin embargo, éste tiene algunas variables que pueden determinar una baja recuperación o resultados diferentes entre laboratorios.

Este método no es técnicamente complejo y permite una cuantificación rápida, al contrario de los métodos por cromatografía de gases que, aunque brindan más información, el tiempo y dificultad que presentan, los limitan para estas aplicaciones.

Varios estudios han comprobado serias diferencias entre los resultados obtenidos de duplicados de muestras al emplear el método por infrarrojo en la determinación de HTP en suelo contaminado de piscinas y derrames antiguos.

El método para determinar en agua, hidrocarburos totales por infrarrojo, se sigue utilizando y tiene aplicaciones importantes para fines de peritaje ambiental y barridos para remediación de derrames de hidrocarburos.^[9]

4.2. MÉTODO DE ESPECTROSCOPIA DE UV

Se han realizado prácticas para evaluar un método espectroscópico ultravioleta (UV), para detectar contaminantes orgánicos en agua, específicamente hidrocarburos en agua a través de sus cromóforos presentes, es decir de sus grupos absorbentes a una longitud de onda de 450 nm, analizando de manera individual distintos derivados del petróleo en agua.

Este método con eficiencia permite cuantificar, a una determinada longitud de onda, el contenido de hidrocarburos en muestras de agua, basado en la extracción líquido-líquido de los compuestos orgánicos no polares de la muestra, principalmente, hidrocarburos de origen del petróleo por su afinidad al solvente 1, 1,1-tricloroetano (TCE).

Los grupos cromóforos presentes en los hidrocarburos disueltos en TCE se determinan cuantitativamente, por comparación de la medida de absorbancia a una longitud de onda de 450 nm (correspondiente a la región media ultravioleta visible del espectro electromagnético).^[10]

Sin embargo para este trabajo en particular la cuantificación de hidrocarburos totales se realizó en la región de ultravioleta (UV) a una longitud de onda de

229 nm, debido a que no se pretendía medir cromóforos en específico, sino, todos los dobles y triples enlaces presentes en los hidrocarburos.

Por otra parte, se prefirió cambiar el solvente por Hexano, ya que el método descrito utilizaba un solvente clorado, y estos están prohibidos por las leyes ambientales.

5. MARCO TEÓRICO

5.1 ESTANDARIZACIÓN

Estandarizar un método de análisis consiste en verificar y documentar, que este conduzca con un alto grado de seguridad, a la obtención de resultados precisos y exactos dentro de las especificaciones y los atributos de calidad previamente establecidos ^[11]. La estandarización de las metodologías analíticas, junto con otras actividades englobadas en la gran área del aseguramiento de la calidad permite conseguir calidad, otorgando la confianza necesaria a la vez que confieren un grado elevado de comparabilidad entre los resultados de los análisis químicos.

El análisis se considera hoy en día un proceso mediante el cual se obtiene información. Se realizan millones de análisis cada día en el mundo en los ámbitos más variados: análisis de productos manufacturados, naturales, análisis medioambientales, clínicos, forenses, químicos y físicos. En todos ellos se requiere una confianza en los resultados obtenidos.

La estandarización del método debe detectar la presencia de error en los resultados emitidos. Los requisitos analíticos para un uso determinado establecen los parámetros o criterios de calidad del método a utilizar para resolver el problema. Estos criterios de calidad, llamados “performance characteristics” o “figures of merit”, pueden ser de tipo estadístico. En estos

figuran los parámetros fundamentales de exactitud (relacionados con la trazabilidad) y precisión (relacionados con la incertidumbre) y los secundarios de selectividad, sensibilidad, límites de detección y cuantificación ^[21].

5.1.1. Rango y Linealidad

La linealidad es la capacidad del método de proporcionar resultados que son directamente (o por medio de transformaciones matemáticas) proporcionales a la concentración del analito en la muestra dentro del rango establecido. Siempre que sea posible se buscará respuesta del tipo lineal que facilitará su trazado, interpolación e interpretación.

El rango es el intervalo entre la concentración superior e inferior de analito para el cual se ha demostrado la correcta precisión, exactitud y linealidad del método descrito. Aunque el proceso lógico consistiría en evaluar cuales son los límites de concentración en los que el método analítico pierde su linealidad, normalmente se toma como punto de partida un intervalo de concentraciones ya establecido de acuerdo con la experiencia, el conocimiento analítico de la técnica empleada y principalmente en función de las especificaciones ^[11, 12].

Para evaluar la linealidad existen unos criterios mínimos aplicables a cualquier procedimiento:

Dentro del rango establecido se recomienda estudiar al menos 4 niveles de concentración. Estadísticamente lo correcto sería analizar las muestras de forma aleatoria, no obstante, se establece como criterio práctico analizarlas

en sentido creciente de concentración para minimizar posibles efectos memoria en el equipo. Para realizar los análisis se recomienda hacer toma de volúmenes independientes, ya que así se elimina el posible error sistemático que se podría arrastrar partiendo de una sola medida volumétrica y realizando diluciones. No obstante, para evaluar la linealidad en las impurezas se suelen utilizar sucesivas diluciones ya que normalmente se trabaja en niveles de concentración muy bajos y esto dificultaría las pesadas [11].

Con los resultados del estudio de la linealidad se prepara una tabla relacionando las concentraciones x y la respuesta y . La relación entre ambas variables se expresa matemáticamente como una recta de regresión del tipo $y = bx + a$, obtenida por un método de ajuste. Si la recta no pasa cerca del origen de coordenadas significa que el método a evaluar está afectado por un error sistemático por defecto o por exceso en el intervalo estudiado. Si existen diferencias apreciables entre los valores experimentales y los puntos de la recta significa que la linealidad no es buena.

En la recta de regresión $y = bx + a$, x es la concentración, y la respuesta, b el valor de la pendiente y, a el término independiente. La pendiente b se encuentra relacionada con la sensibilidad del método de forma que a mayor pendiente mayor sensibilidad (respuesta del método frente a los cambios de la concentración del analito). El término independiente a , u ordenada en el origen, es la intersección de la recta con el eje de las ordenadas y es indicativo del error sistemático, no difiriendo estadísticamente de cero en

caso de no existir sesgo. El coeficiente de correlación (r) indica el grado de relación entre la variable x (concentración), y la variable y (respuesta). Su valor máximo es 1, si r es cercano a la unidad significa que existe correlación con una probabilidad elevada. Un valor nulo indica ausencia de relación lineal entre variables. El valor recomendable para el coeficiente de correlación es $\geq 0,999$, aunque en el caso de impurezas se admite $\geq 0,990$ [11].

5.1.2. Precisión

Indica el grado de concordancia entre los resultados obtenidos para réplicas de una misma muestra, aplicando el mismo procedimiento experimental bajo condiciones prefijadas. Usualmente se expresa en términos de la DESVIACIÓN ESTÁNDAR (s). Otra forma de expresar la precisión es la Desviación estándar Relativa o COEFICIENTE DE VARIACIÓN (CV). [12]

La procedencia de las muestras destinadas al estudio de la precisión puede ser de muestras reales o preparadas en el laboratorio. La importancia de evaluar este parámetro es la de conocer la variabilidad o el mas-menos del método de ensayo. Esta variabilidad es debida a errores aleatorios inherentes a todo método de ensayo. Como consecuencia de la existencia de estos errores, los análisis efectuados sobre muestras idénticas, en las mismas circunstancias, no conducen generalmente a resultados idénticos. Los factores susceptibles a influir sobre los resultados de un ensayo no

pueden ser siempre controlados (analista, equipo instrumental, reactivos, tiempo, etc.), [11, 13].

En la figura 1 se muestra los diferentes tipos de resultados que engloba la precisión.

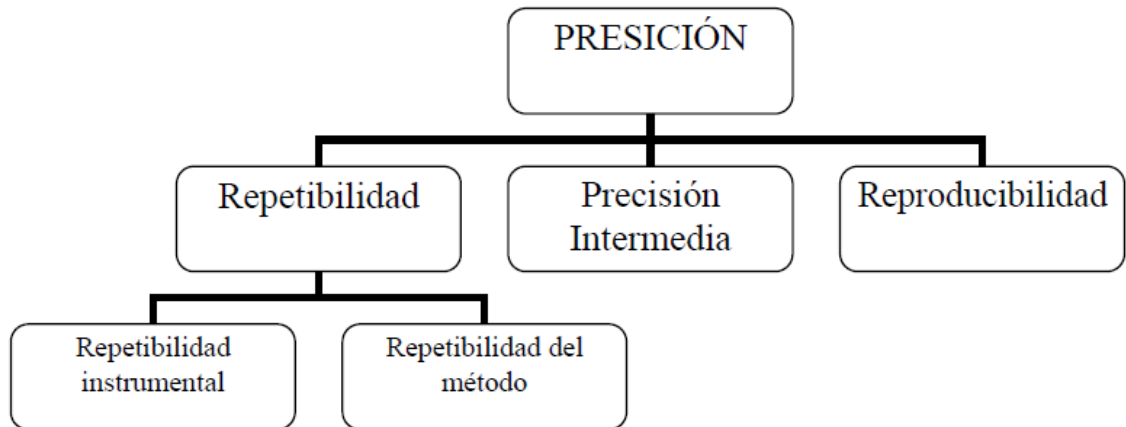


Figura N° 1. Estudios en los que se divide la precisión.

La repetibilidad se expresa matemáticamente por el coeficiente de variación (desviación estándar relativa) de una serie de medidas. Uno de los factores que más influye en la repetibilidad del método de análisis es la concentración del analito, ya que la desviación estándar de las respuestas obtenidas aumenta al disminuir la concentración del analito. La repetibilidad instrumental estudia la variabilidad debida únicamente al instrumento y se determina analizando repetidamente una misma muestra de forma consecutiva de 6 a 10 veces. El ensayo de la repetibilidad del método se efectúa sobre una serie de alícuotas de una muestra homogénea que se analiza independientemente desde el principio (preparación de muestra) hasta el final (lectura de resultados) por el mismo instrumento y el mismo

analista, los resultados de la repetibilidad instrumental dependen del instrumento, por ejemplo no se puede obtener el mismo coeficiente de variación con un equipo de doble haz que con uno de haz sencillo. Cuanto mayor sea la manipulación de la muestra más probable es que la variabilidad del método aumente.

Con la precisión intermedia se determina la variabilidad del método efectuando una serie de análisis sobre la misma muestra, en un mismo laboratorio pero en condiciones operativas diferentes.

La reproducibilidad permite verificar que el método de análisis proporciona los mismos resultados en diferentes laboratorios, ^[11].

5.1.3. Exactitud

La exactitud de un procedimiento analítico expresa la proximidad entre el valor que es aceptado convencionalmente como valor verdadero o un valor de referencia y el valor experimental encontrado. Se expresara como porcentaje de recuperación en la valoración de una cantidad conocida de analito añadida sobre la muestra o como la diferencia entre la media obtenida y el valor aceptado como verdadero junto a los intervalos de confianza, ^[11].

5.1.4. Límite de detección (LD)

El límite de detección se define como la mínima cantidad de analito en la muestra que se puede detectar aunque no necesariamente cuantificar bajo las condiciones experimentales establecidas, ^[11].

El límite de detección es un término solo cualitativo. No debe confundirse este término con otro al que normalmente se asocia, la sensibilidad, ya que esta es la capacidad de un método de análisis para discriminar pequeñas diferencias en concentración o masa del analito. Una alta sensibilidad del método analítico no siempre permite suponer inferiores límites de detección, ya que lo que definiría este límite es la relación entre el ruido y la señal debida al analito, ^[11].

5.1.5 Límite de Cuantificación (LC).

El límite de cuantificación de un método, corresponde a la mínima cantidad de analito presente en la muestra que se puede cuantificar, bajo las condiciones experimentales descritas, con una adecuada precisión y exactitud.

El límite de cuantificación es un término cuantitativo, encontrándose entre este y el límite de detección un rango de concentraciones en el que si bien no puede cuantificarse el analito en cuestión con razonable certeza, si puede detectarse su presencia sin incurrir en falsos positivos, ^[11].

Existen diversos métodos de análisis y equipos instrumentales, dependiendo de cada uno se elige el método para hallar tanto el límite de detección como

el de cuantificación, en los siguientes párrafos se mencionaran algunos métodos para hallarlos.

5.1.5.1 Método Basado en la Relación Señal/Ruido.

Uno de los empleados, requiere que el procedimiento de análisis sea instrumental y que proporcione una señal blanco, un ruido de fondo o una línea de base, es decir una señal residual a concentración de cero analito (espectrofotometría UV-visible). Este procedimiento presenta la desventaja que en numerosas ocasiones al llevar a cabo la comprobación experimental del LC calculado, se observa que es posible obtener resultados igualmente precisos y exactos aun cuando se desciende más en la concentración limite, [11].

El anterior método no fue utilizado en el presente trabajo.

5.1.5.2 Método Basado en la Desviación Estándar de la Respuesta del Blanco y la Pendiente de la Recta de Calibrado.

De acuerdo con la IUPAC, puede calcularse el LD y LC de un método analítico a partir del conocimiento de la desviación estándar atribuible a la respuesta de una muestra y la pendiente de la recta de calibrado del analito. La expresión a aplicar para este cálculo varía en función de si el método instrumental empleado corrige la señal frente a un blanco (métodos espectrofotométricos) o no (métodos cromatográficos), [11].

5.1.5.3. Método Basado en la Extrapolación de la Recta de Calibrado a concentración Cero.

Se trata de un procedimiento aplicable también a métodos analíticos instrumentales que proporcionan resultados numéricos y dirigido a evitar el cálculo, en ocasiones costoso en tiempo, de la señal media del blanco y su desviación estándar. Utilizando como en el anterior la pendiente de la recta de calibrado, pero en este caso sustituye el valor real de un blanco, por la extrapolación de dicha recta, ^[11].

En el presente proyecto se determinó el límite de cuantificación por el método basado en la desviación estándar de la respuesta del blanco y la pendiente de la recta de calibrado.

5.1.6 Recuperación.

Es la capacidad que tiene un procedimiento analítico para determinar cuantitativamente una especie química que ha sido adicionada a una muestra. Se expresa como porcentaje de recuperación (%R). ^[12]

La recuperación esperada depende de la matriz de la muestra, del procedimiento de preparación de la muestra y de la concentración del analito en la misma. Aunque es deseable alcanzar valores de recuperación cercanos al 100%, en algunas muestras de matrices complejas solo se obtienen valores del 50, 80 o 90%. En estos casos es importante que aunque la recuperación sea baja, la precisión del método sea alta ya que entonces puede intentar aplicarse un factor de corrección. La desviación de la

exactitud por exceso se produce cuando existen interferencias y la selectividad del método no es la adecuada, entonces se obtienen resultados superiores al valor verdadero. En este caso, si es posible, se debería modificar las condiciones del método para optimizar la selectividad o bien cambiar a otro alternativo que sea selectivo. La desviación de la exactitud por defecto suele producirse cuando la matriz de la muestra es compleja y la extracción del analito requiere varios pasos obteniéndose recuperaciones más bajas. Cuando esto ocurre sería conveniente intentar optimizar la preparación de la muestra para mejorar el factor de recuperación, ^[11].

El porcentaje de recuperación se estableció en un rango de 98 y 102%, debido a que un porcentaje inferior al 80% puede reflejar que el analito no fue extraído en su totalidad con el método utilizado; así mismo un porcentaje superior al 120% puede ser producto de la extracción de otros compuestos disueltos por el solvente. Otra razón por la cual el porcentaje de recuperación puede ser superior es la lectura de compuestos de menor interés a la misma longitud de onda. ^[14]

5.1.7. Sensibilidad.

Es una medida del factor de respuesta del instrumento como una función de la concentración ^[12]. En contraste con el límite de detección, la sensibilidad de un método está definida como la habilidad para distinguir entre diferentes concentraciones. Para métodos donde la respuesta con respecto a la concentración es una función lineal, la sensibilidad es constante con respecto

a la concentración y es igual a la pendiente de la curva de calibración. Contrariamente a las funciones lineales, la sensibilidad de métodos cuando su respuesta es no-lineal cambia con la concentración del analito ^[13,15]. Normalmente la sensibilidad se mide como la pendiente de la curva de calibración ^[12]

5.2. HIDROCARBUROS TOTALES DE PETRÓLEO

5.2.1. Definición

El término hidrocarburos totales de petróleo (HTP's) se usa para describir a un grupo extenso de varios cientos de sustancias químicas derivadas originalmente del petróleo crudo. En este sentido, los HTP's son realmente una mezcla de sustancias químicas. Se les llama hidrocarburos porque casi todos los componentes están formados enteramente de hidrógeno y carbono. Los crudos de petróleo pueden tener diferentes cantidades de sustancias químicas; asimismo, los productos de petróleo también varían dependiendo del crudo de petróleo del que se produjeron. La mayoría de los productos que contienen HTP's se incendian. Algunos HTP's son líquidos incoloros o de color claro que se evaporan fácilmente, mientras que otros son líquidos espesos de color oscuro o semisólidos que no se evaporan. ^[10]

5.2.2. Composición

La clasificación de petróleo crudo se da a todos aquellos que se denominan «*pesados y ligeros* ». Al estar formado principalmente por moléculas

hidrocarbonadas, entre ellos se encuentran: Hidrocarburos aromáticos, hidrocarburos alifáticos saturados (parafinas o alcanos), hidrocarburos alifáticos insaturados (olefinas o alquenos) ^[3], además de pequeñas cantidades de azufre, oxígeno, nitrógeno, y trazas de metales como hierro, cromo, níquel y vanadio, cuya mezcla constituye el petróleo crudo ^[4].

5.2.3. Contaminación de aguas y consecuencias

La cantidad de HTP's que se encuentra en una muestra sirve como indicador general del tipo de contaminación que existe en el sitio. Sin embargo, la cantidad de HTP's que se mide suministra poca información acerca de como hidrocarburos de petróleo específicos pueden afectar a las personas, los animales y las plantas. Para tener una idea más clara acerca de lo que les sucede a estas sustancias en el ambiente, los científicos han dividido a los HTP's en grupos de hidrocarburos basado en el comportamiento similar en el suelo o el agua. Estos grupos se conocen como fracciones de hidrocarburos del petróleo. Cada fracción contiene muchos componentes individuales ya especificados. La mayor parte de la información en este resumen se refiere a fracciones de HTP's. ^[16]

Los HTP's son liberados al ambiente a raíz de accidentes, desde industrias o como productos secundarios a raíz de su uso comercial o privado. Cuando hay escapes o derrames de HTP's directamente al agua, algunas fracciones de los HTP's flotarán en el agua y formarán una capa delgada en la

superficie. Otras fracciones más pesadas se acumularán en el sedimento del fondo, lo que puede afectar a peces y a otros organismos que se alimentan en el fondo. Algunos organismos en el agua (principalmente bacterias y hongos) pueden degradar algunas de las fracciones de los HTP's. Los HTP's que son liberados al suelo pueden moverse hacia el agua subterránea a través del suelo. Allí, los componentes individuales pueden separarse de la mezcla original dependiendo de las propiedades químicas de cada componente. Algunos de estos componentes se evaporarán al aire y otros se disolverán en el agua subterránea y se alejarán del área donde fueron liberados. Otros compuestos se adherirán a partículas en el suelo y pueden permanecer en el suelo durante mucho tiempo, mientras que otros serán degradados por microorganismos en el suelo. ^[16]

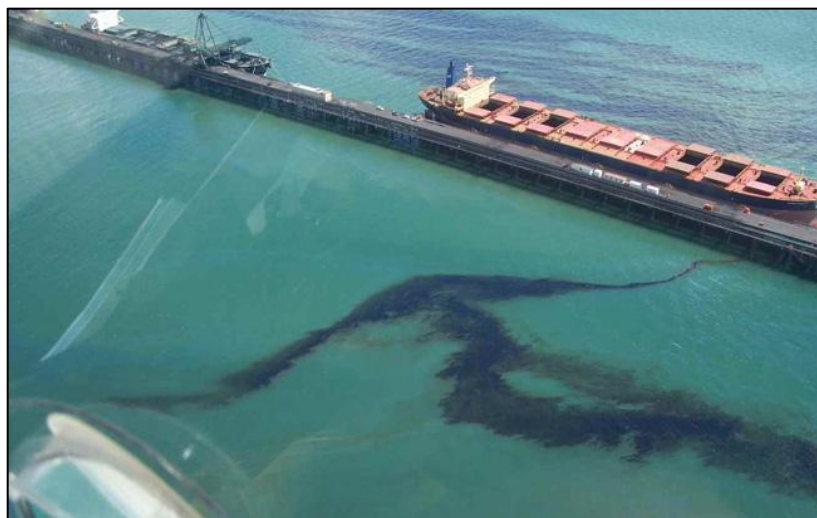


Figura No 2. Contaminación de cuerpos de agua por derrames de petróleo. Fuente: <http://elifernandez94.blogspot.com/2011/08/quimica.html>

Todos los seres vivos están expuestos a los HTP's provenientes de muchas fuentes, incluyendo vapores de gasolina en gasolineras, aceite de motor

derramado en el pavimento, sustancias químicas usadas en el trabajo o el hogar o algunos plaguicidas que contienen HTP's como solventes. En el aire que se respira hay una cantidad pequeña de componentes livianos de los HTP's. Hay muchas ocupaciones que involucran extracción y refinación de petróleo crudo, manufactura de petróleo y de otros productos de hidrocarburos o el uso de estos productos. Si se trabaja con productos del petróleo, se podría estar expuesto a niveles más altos de TPH a través de contacto con o al inhalar aire contaminado. Si hay un escape de H desde tanques de almacenaje subterráneos y estas sustancias entran al agua subterránea, el agua de pozo que se bebe podría estar contaminada con TPH. En un área donde ha ocurrido un derrame o escape accidental, se podría inhalar algunos de los componentes de los TPH que se evaporan. Los niños podrían exponerse al jugar en suelo contaminado con TPH.



Figura No 3 Contaminación del suelo por HTP's.

Fuente:<http://periodicoellibertario.blogspot.com/2011/06/red-ara-impactos-generados-por-la.html>

De particular preocupación está la exposición al benceno, tolueno y xileno. Altas concentraciones de benceno causan síntomas neurotóxicos, y una prolongada exposición a niveles tóxicos puede causar lesión de la médula ósea persistente, el benceno también es un conocido causante de leucemia.^[4], sin dejar a un lado la muerte de miles de especies animales y vegetales marinas y de agua dulce o aérea, a causa de los derrames de crudo en diferentes partes del mundo por parte del transporte del mismo.



Figura No 4. Contaminación del aire por emisiones de masa de gases ricos en HTP's.

Fuente:

<http://mimedioambiente2.blogspot.es/1253653800/>

5.3. ESPECTROSCOPIA

Se denomina espectroscopia a la medición de la cantidad de energía radiante que absorbe un sistema químico en función de la longitud de onda

de la radiación, basada en la interacción materia – radiación electromagnética, y a las mediciones a una determinada longitud de onda.

La teoría ondulatoria de la luz propone la idea de que un haz de luz es un flujo de cuantos de energía llamados fotones; la luz de una cierta longitud de onda está asociada con los fotones, cada uno de los cuales posee una cantidad definida de energía.

La longitud de onda, λ , del movimiento ondulatorio por el cual es transmitida la energía radiante varía en un intervalo extremadamente amplio, la magnitud de esta longitud sirve como medio cómodo para clasificar las diversas formas de radiación electromagnética. En la **figura N°5** se muestra una representación esquemática del espectro electromagnético.

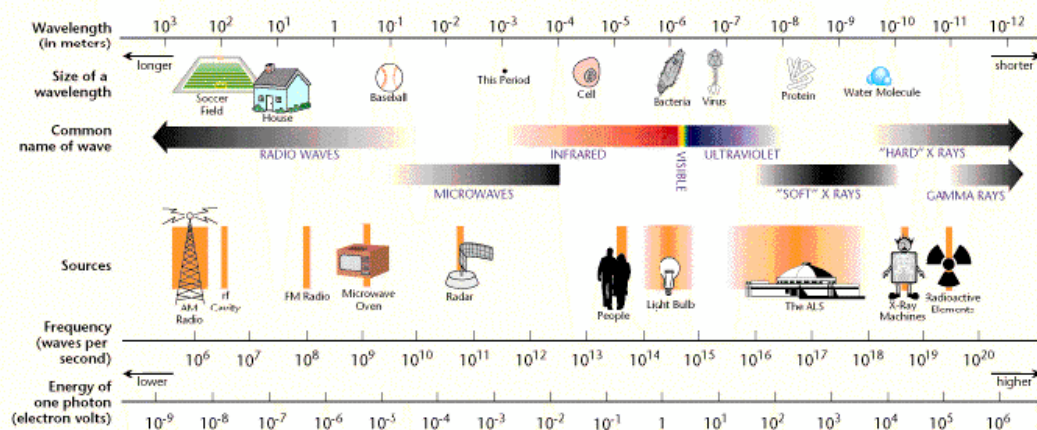


Figura N°5. Espectro Electromagnético. Fuente: www.ieec.fcr.es

5.3.1. ESPECTROSCOPIA ULTRAVIOLETA

La espectroscopía ultravioleta (UV) se basa en la detección de las transiciones electrónicas, es decir, la promoción de electrones de un nivel de

energía a otro. Aquellas transiciones más frecuentes son las que suponen el movimiento de un electrón de un orbital σ a uno σ^* , de un orbital no enlazante (n) a uno π^* . Transiciones menos comunes son de n a π^* y de π a σ^* . Estos saltos requieren energías en el intervalo de 80 a 150 Kcal/mol, que es asimismo el intervalo de energías correspondiente a los enlaces sencillos.

Como consecuencia de la gran energía asociada a la espectroscopia UV, la absorción suele observarse como una banda bastante ancha. Esta banda suele denominarse envolvente o pico. La estructura fina de la banda viene originada por la influencia de la vibración y rotación molecular.

Cuando la molécula absorbe una radiación electromagnética de energía igual a la diferencia de energías entre ambos niveles, se promueve un electrón de un nivel energético en el estado fundamental a otro nivel energético en el estado excitado. Esta transición electrónica tiene lugar en 10^{-16} s, esta absorción ocurre tan rápidamente que no afecta la estructura de la molécula.

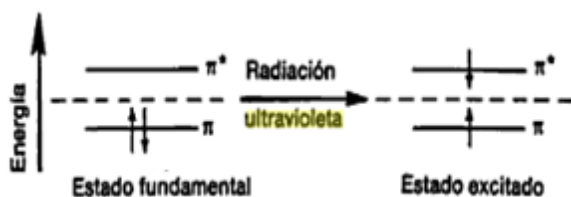


Figura N°6. Niveles de energía para los estados fundamental y excitado de una molécula orgánica

Para poder registrar un espectro UV, es preciso determinar cuánta energía se absorbe a cada longitud de onda. Muchos disolventes que se emplean para disolver compuestos orgánicos que también absorben pequeñas cantidades de radiación UV. El espectro UV que se obtendrá de una

disolución corresponderá tanto al del soluto como al del propio disolvente. En una molécula son posibles muchas transiciones electrónicas. En específico la transición electrónica que se tomó en cuenta en el presente trabajo, fue la de $\pi \rightarrow \pi^*$, ya que las energías que se requieren para estos procesos conducen a picos en una región espectral conveniente experimentalmente (200 a 700 nm). Ambas transiciones requieren la presencia de un grupo funcional que suministre los orbitales π .

5.3.1.1. Tipos de electrones absorbentes

Los electrones que contribuyen a la absorción por una molécula orgánica son aquellos que participan directamente en la formación del enlace entre átomos y que están además asociados a más de un átomo y los electrones no enlazantes o externos que no participan y que están localizados alrededor de átomos como el oxígeno, los halógenos, el azufre y el nitrógeno.

Las distribuciones espaciales de los electrones en las moléculas se denominan orbitales moleculares y de una manera simple se puede suponer que el orbital molecular es la suma de los orbitales atómicos enlazantes y que el número de orbitales resultante es igual al número de orbitales utilizados en la combinación.

Cuando se combinan dos orbitales atómicos, aparece un orbital molecular enlazante de baja energía y un orbital molecular antienlazante de elevada energía.

Los orbitales moleculares asociados a los enlaces sencillos se designan como orbitales sigma (σ) y los electrones correspondientes son los electrones σ , la distribución de densidad de carga de un orbital sigma es rotacionalmente simétrica alrededor del eje del enlace.

El doble enlace en un molécula orgánica contiene dos tipos de orbitales moleculares; un orbital sigma (σ) correspondiente a un par de electrones enlazantes y un orbital molecular pi (π) asociado al otro par. Los orbitales π se forman por la superposición paralela de orbitales atómicos p. Su distribución de carga se caracteriza por un plano nodal (una región de baja densidad de carga) a lo largo del eje del enlace y una densidad máxima en las regiones por encima y por debajo del plano.

Además de los orbitales σ y π , muchos compuestos orgánicos contienen electrones no enlazantes. Estos electrones que no participan se designan por el símbolo n .

Las energías de los diferentes tipos de orbitales moleculares difieren significativamente. Generalmente, el nivel de energía de un electrón no enlazante está entre los de los orbitales enlazantes y antienlazantes π y σ . Las transiciones electrónicas entre ciertos niveles de energía pueden tener lugar por absorción de radiación. La siguiente tabla presenta las características de los orbitales σ , π y n en las transiciones electrónicas.

Transición	$\lambda(\text{nm})$	$\epsilon(\text{L. mol}^{-1}\text{cm}^{-1})$	Ejemplo
$\sigma \rightarrow \sigma^*$	<200	-	Hidrocarburos saturados
$\pi \rightarrow \pi^*$	200–500	$\approx 10^4$	Alquenos, alquinos aromáticos
$\eta \rightarrow \sigma^*$	160–260	10	H ₂ O, CH ₃ OH, CH ₃ CL
$\eta \rightarrow \pi^*$	250–600	$10-10^3$	Carbonilos, nitro, nitrato, carbonilo.

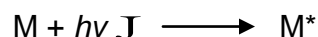
Fuente: Skoog, Douglas y Donald M. West. Análisis Instrumental.

Tabla N° 1. Características de transiciones electrónicas entre orbitales σ , π y η

El espacio subrayado de la tabla hace referencia a la transición de interés.

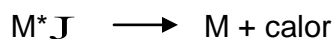
5.3.1.2. Especies absorbentes

La absorción de radiación ultravioleta o visible por una especie atómica molecular M se puede considerar que es un proceso en dos etapas, la primera implica una excitación electrónica como muestra la ecuación:



El producto de la relación entre M y el fotón $h\nu$ es una especie electrónicamente excitada que se representa por M^* , siendo J la energía en Joules.

El tiempo de vida de la especie excitada es breve (de 10^{-8} a 10^{-9} s), su existencia acaba por algunos de los diversos procesos de relajación. El tipo más común de relajación implica la conversión de la energía de excitación en calor, esto es:



La relajación puede tener lugar también por descomposición de M^* dando nuevas especies; un proceso de este tipo se llama reacción fotoquímica. Alternativamente, la relajación puede implicar reemisión de radiación fluorescente o fosforescente. Es importante señalar que el tiempo de vida de M^* es normalmente tan corto que su concentración en cualquier momento es generalmente despreciable.

5.3.1.2.1 Absorción por compuestos orgánicos

La longitud de onda a la que absorbe una molécula orgánica depende de la fortaleza de los enlaces de sus electrones. Los electrones compartidos en los enlaces simples carbono-carbono están sujetos con tal firmeza que su excitación requiere energías que corresponden a la longitud de onda de la región ultravioleta al vacío inferior de 180 nm. No se utilizan los espectros de enlace simple para fines analíticos como resultado de las dificultades experimentales de trabajar en esta región. Estas dificultades se presentan debido a que el cuarzo y los componentes atmosféricos absorben en esta región, de modo que son necesarios espectrofotómetro al vacío con elementos ópticos de fluoruro de litio.

Los electrones de enlaces dobles y triples de moléculas orgánicas se sujetan con menos fuerza y, por tanto, se excitan mediante radiación con más facilidad; así las especies con enlaces no saturados exhiben picos de

absorción útiles. Los grupos funcionales orgánicos no saturados que absorben en las regiones UV se llaman cromóforos. Estos grupos se utilizan como guía aproximada para fines de identificación, ya que se ven afectados por efectos del disolvente y otros detalles estructurales de las moléculas. Además, la conjugación entre dos o más cromóforos tiende a causar desviaciones de los máximos a longitudes de onda mayores. Por último los efectos vibratorios amplían los picos de absorción en las regiones UV, lo que dificulta la determinación exacta de un máximo de absorción.

Los compuestos orgánicos saturados que contienen heteroátomos, como el oxígeno, nitrógeno, azufre o halógenos, poseen electrones no compartidos que se pueden excitar mediante radiación en el intervalo de 170 a 250 nm.

Algunos, como los alcoholes y éteres, son disolventes comunes, de modo que su absorción en esta región impide medir la absorción de analitos disueltos en dichos compuestos a longitudes de onda menores de 180 a 200 nm. En ocasiones, la absorción en esta región se emplea para determinar compuestos que contienen halógenos y azufre.

5.3.1.3 Medición de transmitancia y absorbancia

La transmitancia y la absorbancia se miden en un instrumento llamado espectrofotómetro, la solución del analito se debe contener en algún recipiente transparente, tubo o celda

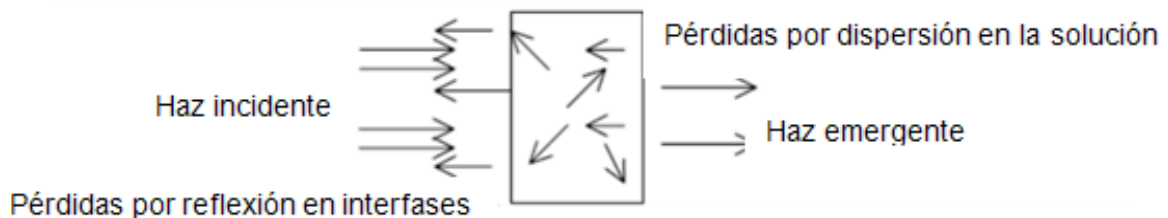


Figura N°7. Representación de las interfaces: aire – pared, pared – solución.

Como se ve en la representación, ocurre reflexión en las interfaces: aire-pared, tanto como en la pared-solución. La atenuación del haz resultante es sustancial. Además, la atenuación de un haz puede ocurrir por dispersión de las moléculas grandes y a veces por absorción de las paredes del recipiente.

Para compensar estos efectos, la potencia del haz transmitido por la solución del analito, P , es comparada comúnmente con la potencia del haz transmitido por una celda idéntica que contiene solamente solvente, P_0 .

En un espectrofotómetro, la luz de una fuente continua pasa a través de un monocromador (un prisma, rejilla de difracción o filtro), el cual aísla las radiaciones de las longitudes de onda deseadas a partir de las radiaciones heterocromáticas que inciden o se reflejan desde el objeto, seleccionando así una banda estrecha de longitudes de onda de luz incidente. Esta luz

monocromática atraviesa una muestra de espesor conocido, contenida en una celda o cubeta fabricada con material que permite el paso de la radiación en la región espectral que interesa, para luego medir la potencia radiante de la luz que sale por medio de un detector.

La fuente de luz en un espectrofotómetro por lo general es una lámpara de tungsteno de bajo voltaje, la cual emite en forma continua una región del espectro, la intensidad de esa radiación varía de forma gradual con la longitud de onda. El monocromador tiene como componentes principales una ranura de entrada, un elemento que dispersa la luz en sus longitudes de onda componentes (en general una red de difracción), y una ranura de salida que permite seleccionar la longitud de onda deseada, la cual permite que sólo una banda estrecha de éstas pueda pasar a través de la muestra. El detector es un fototubo que se utiliza para convertir la señal luminosa en señal eléctrica, y así transmitir informaciones al procesador de señal, el cual permite efectuar lecturas de transmitancia y absorbancia.

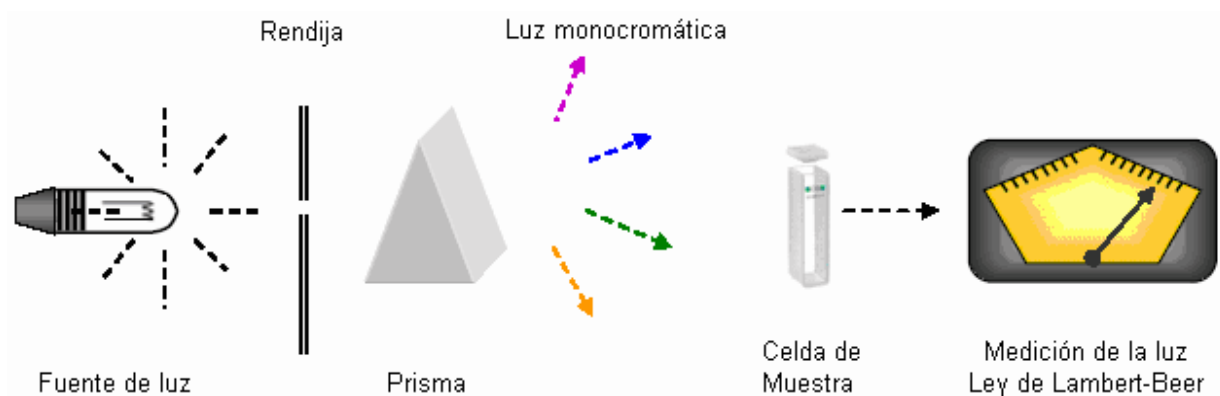


Figura N° 8. Diagrama esquemático del aparato usado para métodos analíticos basados en la absorción de energía radiante. Fuente: www.gusgsm.com

5.3.1.4 Aspectos cuantitativos de las mediciones de absorción

5.3.1.4.1 Ley de Lambert-Beer

La Ley de Lambert-Beer (a veces conocida simplemente como la Ley de Beer), considera la relación entre el poder de radiación de la luz incidente y el de la transmitida, en función tanto de la longitud de paso óptico como de la concentración de la especie absorbente, esta ley permite corregirla dependencia de la concentración y otros factores operacionales al comparar distintos compuestos y sirve como base de todas las determinaciones cuantitativas prácticas. Esta ley combinada puede expresarse matemáticamente como:

$$\log \frac{P_0}{P} = K''bc$$

Donde k'' es una constante de proporcionalidad, b la longitud de paso óptico y c la concentración. La cantidad $\log (P_0/P)$ se define como absorbancia y se representa por el símbolo A.

5.3.1.4.2 Absortividad y absortividad molar

A partir de la Ley de Beer se conoce que la absorbancia es directamente proporcional a la longitud del camino b a través de la solución y la concentración c de la especie absorbente. Estas relaciones se dan como

$$A=a \cdot b \cdot c$$

Siendo a una constante de proporcionalidad llamada absorptividad, un coeficiente característico de la sustancia absorbente a cada longitud de onda. La magnitud de a dependerá de las unidades empleadas para b y c . A menudo b es dada en términos de cm y c en gramos por Litro, entonces la absorptividad tiene unidades de $\text{L}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$.

Cuando la concentración se expresa en moles por litro y la longitud de la celda en centímetros, la absorptividad se llama absorptividad molar, se designa como ϵ y tiene unidades de $\text{L}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$, entonces la absorbancia es

$$A = \epsilon \cdot b \cdot c$$

5.3.1.4.3 Curva de calibración

Denominamos espectro de una sustancia a la representación de absorbancia (A) en función de longitud de onda (λ), este gráfico presenta ondulaciones con máximos y mínimos.

Para hacer las determinaciones cuantitativas se elige, en general, la longitud de onda correspondiente a un máximo, pues el error de medición es mínimo y la sensibilidad máxima.

Para verificar el cumplimiento de la Ley de Beer, se debe realizar la curva de calibración; absorbancia (A) en función de concentración (C), para lo cual se preparan soluciones de la sustancia de concentraciones conocidas y se mide

la absorbancia a la longitud de onda elegida. La figura No 9 muestra una curva de calibración característica para un espectrofotómetro.

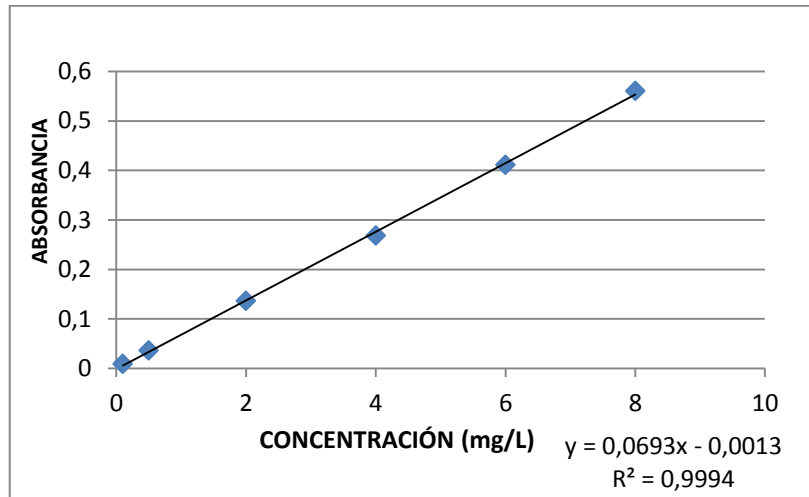


Figura N°9. Curva de calibración característica de un espectrofotómetro.

5.3.1.5 Limitaciones a la aplicabilidad de la Ley de Beer

Se encuentran pocas excepciones a la generalización que la absorbancia está relacionada linealmente a la longitud del camino óptico.

En cambio, las desviaciones de la proporcionalidad directa entre la absorbancia medida y la concentración, para b constante, son más frecuentes.

Estas desviaciones son fundamentales y representan limitaciones reales de la ley. Algunas ocurren como una consecuencia de la manera en que las mediciones de absorbancia se hacen, o como un resultado de cambios químicos asociados con cambios en la concentración. Otras ocurren a veces como desviaciones instrumentales.

5.3.1.5.1 Limitaciones propias de la ley de Beer

La Ley de Beer es exitosa en describir el comportamiento de absorción de soluciones diluidas solamente; a concentraciones altas (generalmente mayores que 0,01 M), la distancia promedio entre las especies responsables de la absorción está disminuida hasta el punto que cada una afecta la distribución de cargas de sus vecinas. Esta interacción, a su vez, puede alterar la habilidad de las especies para absorber en una longitud de onda de radiación. Debido a que la extensión de la interacción depende de la concentración, la ocurrencia de este fenómeno provoca desviaciones de la relación lineal entre absorbancia y concentración.

Un efecto similar se encuentra a veces en soluciones que contienen altas concentraciones de otras especies, particularmente electrolitos. La proximidad de iones a la especie absorbente altera la absorptividad molar de la última por atracciones electrostáticas, este efecto se disminuye por dilución.

Se encuentran algunas excepciones entre ciertos iones o moléculas orgánicas grandes, que presentan interacciones significativas por debajo de 0,01M. Desviaciones de la Ley de Beer también surgen porque ϵ es dependiente del índice de refracción de la solución; entonces, si cambios de concentración provocan alteraciones en el índice de refracción de la solución, se observan desviaciones de la ley.

5.3.1.5.1.1 Error fotométrico

El valor final de la transmitancia o de la absorbancia, obtenido en una determinación fotométrica, tiene ciertos límites de exactitud y precisión. La confiabilidad del resultado depende de la calidad del instrumento, de las condiciones imperantes durante la medición, de la reproducibilidad de los ajustes del aparato, etc., y, desde luego, de la habilidad del operador. Es

especialmente interesante considerar cómo afecta la precisión de la medición fotométrica, esto es, el llamado error fotométrico o ruido, al resultado de la determinación.

Los datos obtenidos a partir de la relación entre el error fotométrico y la precisión del valor obtenido para la concentración se presenta en la figura 10, esta gráfica permite leer la desviación relativa de la concentración, causada por un error fotométrico absoluto de 1%T. En la gráfica puede notarse que la desviación relativa de la concentración es mínima a una transmitancia de aproximadamente 37%.

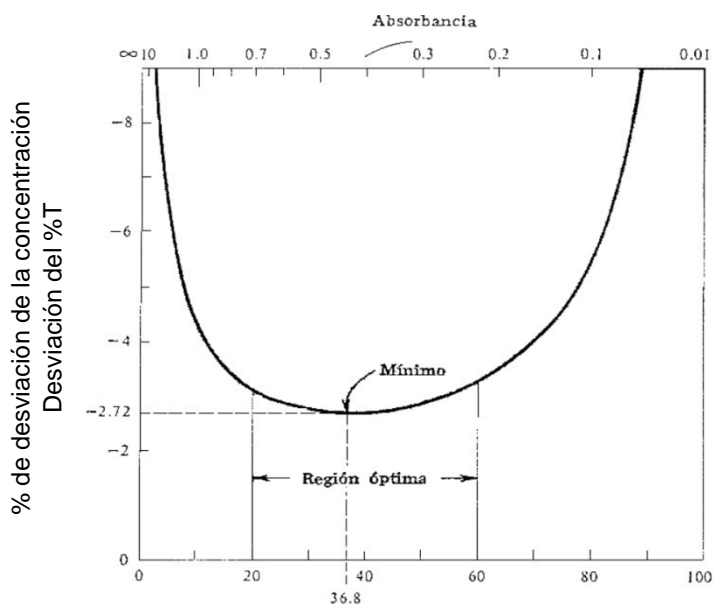


Figura N° 10. Gráfica de la desviación relativa de la concentración causada por un error fotométrico de 1%, en función del porcentaje de transmitancia (abscisas inferiores) y de la absorbancia (abscisas superiores), Fuente: Química analítica cualitativa de Flaschka, H. A. página 469

En este punto, un error fotométrico de 1%T, causa una desviación relativa de 2.7% en la concentración. El mismo error fotométrico pero a 80%T produce una desviación relativa de 5.6% en la concentración. Para un buen instrumento, el error fotométrico máximo es 0.2%T, que en las condiciones óptimas de 37%T produce un valor de concentración con una precisión de 0.5%.

La medida de absorbancia espectrofotométrica requiere tres pasos, como ya se mencionó anteriormente, una ajuste al 0% de transmitancia, T, un ajuste al 100%T y una medida en %T. Los errores aleatorios relacionados con cada uno de estos pasos se combinan en un error aleatorio neto del valor final obtenido para la T. La relación entre el ruido encontrado en la medida de la T y la incertidumbre de la concentración resultante se puede deducir a partir de la Ley de Beer.

Las incertidumbres en medidas espectrofotométricas de la concentración, σ_T , tienen una dependencia compleja respecto de la magnitud de la transmitancia (absorbancia). Las incertidumbres pueden ser independientes de T, proporcionales a $\sqrt{T^2 + T}$ o proporcionales a T.

Errores en la concentración cuando $\sigma_T = k_1$: Para muchos fotómetros y espectrofotómetros, la desviación estándar en la medida de T es constante e independiente de la magnitud de T. Es frecuente observar este tipo de error aleatorio en instrumentos de lectura directa con medidores analógicos, que poseen una resolución limitada. En el caso de instrumentos económicos, se determinan desviaciones estándar de transmitancia de casi 0.003 ($\sigma_T = \pm 0.003$).

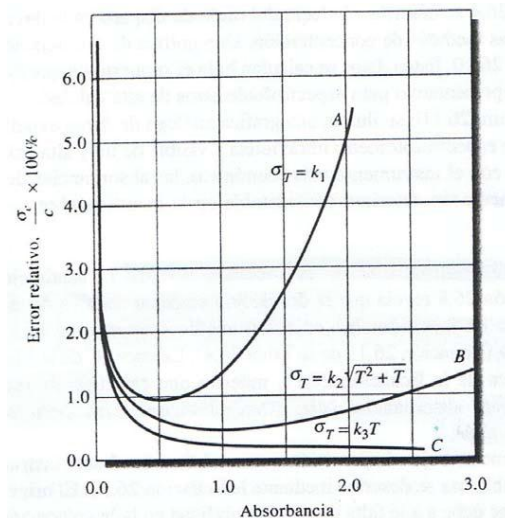


Figura N°11. Curvas de error para diversas categorías de incertidumbres instrumentales, Fuente: Química analítica, Skoog, Douglas y Donald M. West. Página 811

Los datos trazados en la **figura 11**, permiten observar el efecto de las incertidumbres experimentales en la concentración. En la curva A se nota que la desviación estándar relativa de la concentración pasa por un mínimo con una absorbancia de casi 0.5 y aumenta con rapidez cuando la absorbancia es menor de 0.1 o mayor de 1.5.

Errores en la concentración cuando $\sigma_T = K_2\sqrt{T^2 + \bar{T}}$ esta clase de incertidumbre aleatoria es característica de los espectrofotómetros de calidad máxima. Tiene su origen en el llamado ruido de disparo que hace que la salida de los fototubos fotomultiplicadores fluctúe al azar respecto a un valor medio. En la figura 11 se ilustra la gráfica análoga de datos experimentales obtenidos con un espectrofotómetro UV-VIS de muy alta calidad; en contraste con el instrumento más económico, las absorbancias de 2.0 o mayores se pueden medir sin deterioro considerable de la incertidumbre de las concentraciones^[17]

5.3.2. Espectrometría de infrarrojo

5.3.2.1. Generalidades

La región del infrarrojo del espectro abarca la radiación con números de onda comprendidos entre 12.800 y 10 cm^{-1} . Tanto desde el punto de vista de las aplicaciones como de la instrumentación, es conveniente dividir el espectro infrarrojo en tres regiones denominadas cercano, medio y lejano. Ver *tabla 2*.

Región	Intervalo de longitud de onda (λ), μm	Intervalo de número de onda ($\bar{\nu}$), cm^{-1}	Intervalo de frecuencias (ν), Hz
Cercano	0,78 a 2,5	12.800 a 4.000	$3,8 \times 10^{14}$ a $1,2 \times 10^{14}$
Medio	2,5 a 50	4.000 a 200	$1,2 \times 10^{14}$ a $6,0 \times 10^{12}$
Lejano	50 a 1.000	200 a 10	$6,0 \times 10^{12}$ a $3,0 \times 10^{11}$
La más utilizada	2,5 a 15	4.000 a 670	$1,2 \times 10^{14}$ a $2,0 \times 10^{13}$

Tabla N° 2. Regiones del espectro de infrarrojo, Fuente: *Química analítica, Skoog, Douglas y Donald M. West*, página 431

5.3.2.1.1 Teoría de la espectrometría de absorción en el infrarrojo

El **espectro de absorción** de un material muestra la fracción de la radiación electromagnética incidente que un compuesto absorbe dentro de un rango de frecuencias. Es, en cierto sentido, el opuesto de un espectro de emisión.

Para absorber la radiación en el infrarrojo, una molécula debe sufrir un cambio neto en el movimiento de vibración o de rotación. Sólo en éstas circunstancias, el campo eléctrico alterno de la radiación puede interactuar con la molécula, y provocar cambios en la amplitud de alguno de sus movimientos.

5.3.2.1.2 Transiciones rotacionales

La energía necesaria para provocar un cambio en los niveles rotacionales es muy pequeña y corresponde a radiaciones de 100 cm^{-1} o menos ($> 100\mu\text{m}$). Dado que los niveles rotacionales están cuantizados, la absorción por los gases en la región del infrarrojo lejano se caracteriza por líneas discretas bien definidas. En los líquidos y sólidos los choques e interacciones intramoleculares causan el ensanchamiento de las líneas originando un espectro continuo.

5.3.2.1.3 Transiciones vibracionales / rotacionales

Los niveles de energía vibracionales también están cuantizados, y para la mayoría de las moléculas, las diferencias de energía entre los estados cuantizados corresponden a la región del infrarrojo medio. El espectro infrarrojo de un gas consta, por lo general, de una serie de líneas muy próximas entre sí, debido a la existencia de varios estados energéticos rotacionales para cada estado vibracional. Por otra parte en los sólidos y los líquidos la rotación está muy restringida; en este tipo de muestra, las líneas directas vibracionales/ rotacionales desaparecen, quedando sólo los picos vibracionales algo ensanchados.

5.3.2.1.4 Tipos de vibraciones moleculares

Las posiciones relativas de los átomos en una molécula no son exactamente fijas, sino que fluctúan continuamente como consecuencia de una multitud de tipos de vibraciones y rotaciones diferentes alrededor de los enlaces en la molécula. Para una molécula sencilla diatómica o triatómica es fácil definir el número y la naturaleza de tales vibraciones, y relacionarlas con las energías de absorción. Sin embargo, en el caso de las moléculas poliatómicas se hace difícil, si no imposible, un análisis de esta clase, no sólo a causa del gran número de centros de vibración que presentan las moléculas grandes, sino también por las interacciones que aparecen entre algunos de estos centros y que se deben tener en cuenta.

Pueden distinguirse dos categorías básicas de vibraciones: de *tensión k* y de *flexión*. Una vibración de tensión supone un cambio continuo en la distancia interatómica a lo largo del eje del enlace entre dos átomos. Las vibraciones de flexión se caracterizan por un cambio en el ángulo entre dos enlaces y son de cuatro tipos: de *tijereteo*, de *balanceo*, de *aleteo* y de *torsión*. Los distintos tipos de vibración se representan en la figura No.12.

En una molécula que contiene más de dos átomos, son posibles todos los tipos de vibraciones mostrados en la figura No.12. Además, pueden producirse una interacción o *acoplamiento* de las vibraciones si en estas se involucran enlaces con un mismo átomo central. El resultado del acoplamiento es un cambio en las características de las vibraciones implicadas.

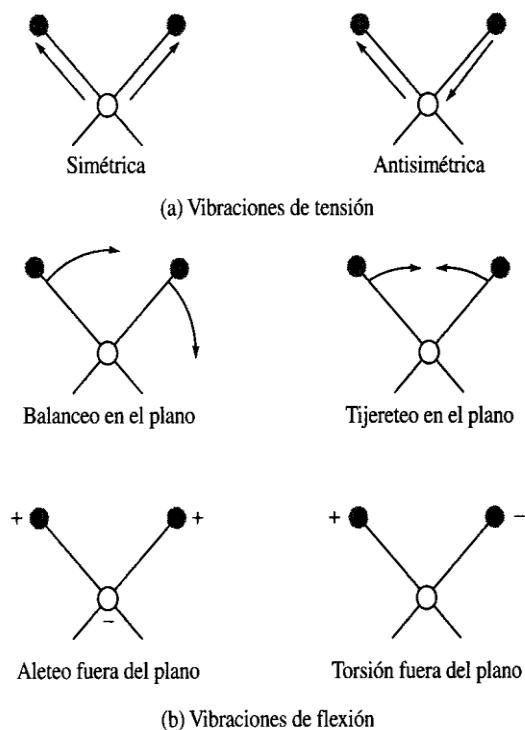


Figura N° 12. Tipos de vibraciones moleculares. Nota: + indica un movimiento del plano de la página hacia el lector; - indica un movimiento del plano de la página alejándose del lector, Fuente: Química analítica, Skoog, Douglas y Donald M. West, página 433

5.3.2.1.5 Modos de vibración

La cantidad de vibraciones posibles en una molécula poliatómica se puede calcular como sigue. Como se necesitan tres coordenadas para localizar un punto en el espacio, para fijar N puntos se requieren tres coordenadas para cada uno, es decir, un total de $3N$. Cada coordenada corresponde a un grado de libertad para uno de los átomos para una molécula poliatómica. Por este motivo, si una molécula contiene N átomos o más se dice que tiene $3N$ grados de libertad.

Para definir el movimiento de una molécula, se tiene que considerar:

- 1) El movimiento de toda la molécula en el espacio, es decir, el movimiento de translación de centro de gravedad.
- 2) El movimiento de rotación completa de la molécula alrededor de su centro de gravedad.
- 3) El movimiento de cada uno de sus átomos respecto a los otros átomos, o en otras palabras sus vibraciones individuales.

Como todos los átomos de la molécula se mueven de manera acompasada por el espacio, para definir el movimiento de translación se requieren tres coordenadas y, por consiguiente, este movimiento requiere 3 grados libertad de los $3N$. Para describir la rotación de la molécula como un todo se necesitan otros 3 grados de libertad. Los restantes $3N - 6$ grados de libertad están relacionados con el movimiento interatómico, por tanto, que

representan el número de vibraciones posibles en la molécula. Una molécula lineal es un caso especial, porque por definición todos los átomos se encuentran en una sola línea recta. En este caso no es posible la rotación alrededor del eje del enlace y son suficientes 2 grados de libertad para describir el movimiento rotatorio. Entonces, el número de vibraciones para una molécula lineal es de $3N - 5$. Cada una de los $3N - 6$ o $3N - 5$ se denominan un *modo normal*.

Cuatro factores son los que tienden a producir menos picos de absorción experimentales que los previstos a partir del número teórico de modos normales. Se encuentra un menor número de bandas de absorción cuando:

- 1) La simetría de las moléculas es tal que una vibración particular no produce cambios en el momento dipolar.
- 2) Las energías de dos o más vibraciones son idénticas o casi idénticas.
- 3) La intensidad de absorción es tan baja que es indetectable por los medios ordinarios.
- 4) La energía vibracional se encuentra en una región de longitudes de onda que está afuera del intervalo del trabajo del instrumento.

A veces se encuentran más picos de los esperados con base en el número de modos normales:

- 1) Existencia de bandas de sobretonos que se presentan a frecuencias dos o tres veces mayores que la frecuencia fundamental.

- 2) Se encuentran bandas de combinación cuándo un fotón causa en forma simultánea dos modos de vibración. La frecuencia de la banda de combinación es casi la suma o la diferencia de las dos frecuencias fundamentales. Este fenómeno ocurre cuándo dos enlaces, y no uno solo, absorben un cuanto de energía.

5.3.2.1.6 Acoplamiento vibracional

La energía de una vibración, y por consiguiente, la longitud de onda del correspondiente máximo de absorción, podrían ser afectadas por otros osciladores de la molécula o estar acoplados a ellos. Algunos factores influyen el grado de estos acoplamientos.

- 1) Ocurre un fuerte acoplamiento entre vibraciones de estiramiento sólo cuando hay un átomo común en las dos vibraciones.
- 2) La interacción entre las vibraciones de flexión requiere un enlace común entre los grupos que vibran.
- 3) El acoplamiento entre una vibración de estiramiento y una vibración de flexión puede ocurrir si el enlace que sufre el estiramiento forma uno de los lados del ángulo que varía en la vibración de flexión.
- 4) La mayor interacción tiene lugar cuando las energías individuales de los grupos acoplados son aproximadamente iguales.
- 5) Se observa poca o ninguna interacción entre grupos separados por dos o más enlaces.

- 6) El acoplamiento requiere que las vibraciones sean de especies de la misma simetría.

Como ejemplo de los efectos de acoplamiento, consideremos el espectro de infrarrojo del dióxido de carbono, una molécula lineal que tiene $(3 \times 3) - 5 = 4$ modos normales de vibración. Pueden darse dos vibraciones de estiramiento; además, puede haber interacción entre ellas porque los enlaces tienen un átomo de carbono común; una de las vibraciones es simétrica y la otra es asimétrica.

La vibración simétrica no causa cambio alguno en el momento dipolar, porque los dos átomos de oxígeno se mueven en forma simultánea alejándose y acercándose del átomo de carbono central. Entonces, la vibración simétrica es inactiva en el IR. En la vibración asimétrica un oxígeno se aleja del átomo de carbono a la vez que este se acerca al otro oxígeno. Como consecuencia, hay un cambio neto periódico en la distribución de carga que produce un cambio en el momento dipolar, lo cual da como resultado una absorción a 2350 cm^{-1} .

Los otros modos de vibración del dióxido de carbono son de tijereteo, tal como se ilustra en la Figura No.13

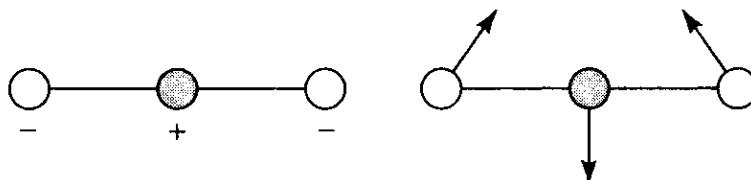


Figura N° 13. Otros modos de vibración del dióxido de carbono, Fuente: Principios de análisis instrumental, Skoog, Douglas y Donald M. West capítulo 16 página 438

Las dos vibraciones de flexión son los componentes resultantes, perpendiculares entre sí, de los movimientos de flexión en todos los planos posibles alrededor del eje de enlace. Las dos vibraciones son idénticas en energía, por tanto, producen una banda única a 667 cm^{-1} . De los estados cuánticos idénticos, como en este caso, se dice que son *degenerados*.

5.3.2.1.7 Bandas características de los hidrocarburos en la espectrometría IR

Los hidrocarburos por poseer en su estructura únicamente moléculas de carbono o hidrógeno, presentan las siguientes bandas características difiriendo según el tipo de enlaces que posea.

ALCANOS		
Ubicación	Banda	Descripción
1	2960	Tensión asimétrica de C-H de $-\text{CH}_3$
2	2925	Tensión simétrica de C-H de $-\text{CH}_2$
3	1380	Flexión simétrica C-H de CH_3
4	1170	Doblete si hay metilos germinales y acompañada de otra banda
5	1470	Flexión de tijera de $-\text{CH}_2$

Tabla N° 3. Bandas características de los Alcanos

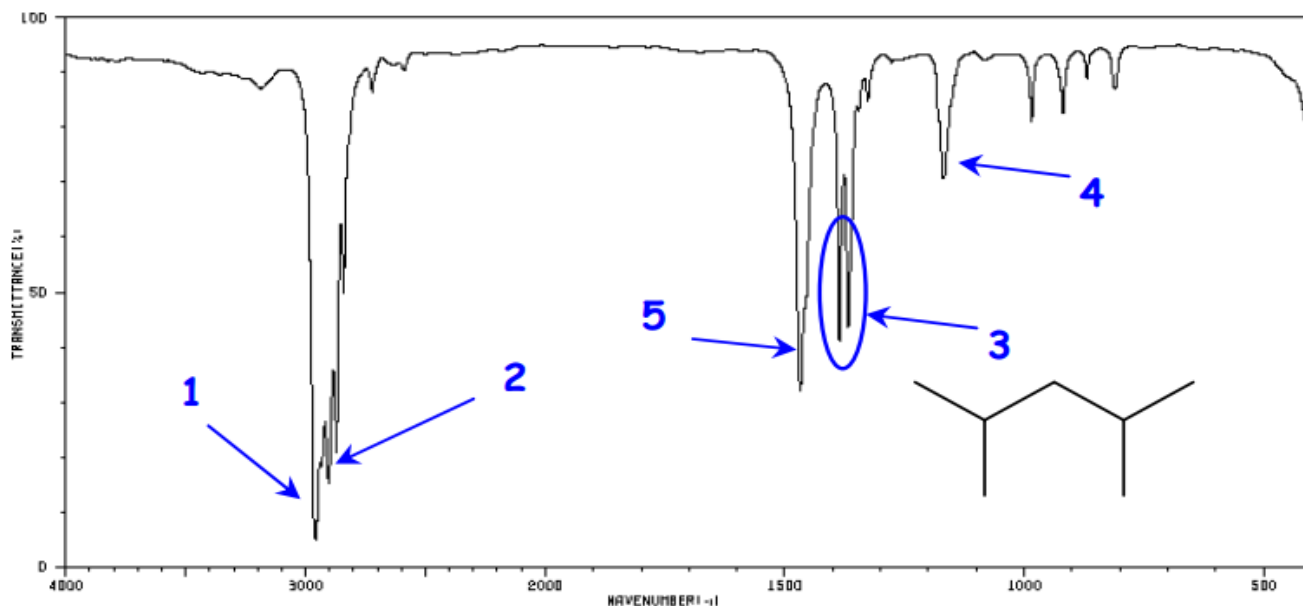


Figura N° 14. Espectro de un hidrocarburo lineal saturado (Alcanos). Fuente: <http://www.academiabiblos.com/es/recursos/DETERMINACION%20ESTRUCTURAL.pdf>

ALQUENOS		
Ubicación	Banda	Descripción
1	2960	Tensión asimétrica de C-H de -CH ₃
2	2925	Tensión simétrica de C-H de -CH ₂
3	1380	Flexión simétrica C-H de CH ₃ (Doblete si hay metilos germinales)
4	1170	Banda que acompaña al doblete si hay metilos germinales
5	1470	Flexión de tijera de -CH ₂

Tabla N° 4. Bandas características de los Alquenos

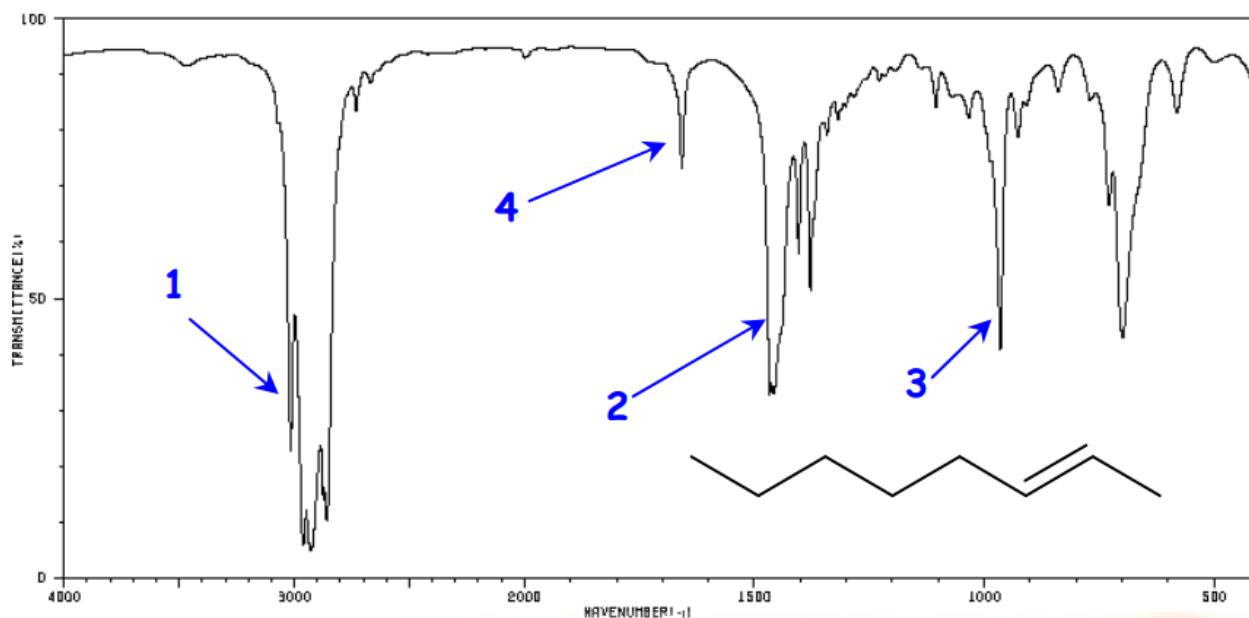


Figura N°15. Espectro de un hidrocarburo lineal insaturado (Alquenos). Fuente: <http://www.academiabiblos.com/es/recursos/DETERMINACION%20ESTRUCTURAL.pdf>

ALQUINOS		
<i>TERMINAL</i>		
Ubicación	Banda	Descripción
1	3300	Tensión C-H (pico agudo)
2	700 – 600	Flexión C-H (con sobretonos)
3	2140 – 2100	Tensión C≡C
<i>CENTRAL</i>		
4	2260 – 2190	Tensión C≡C (Desaparece con la simetría)

Tabla N° 5. Bandas características de los Alquinos

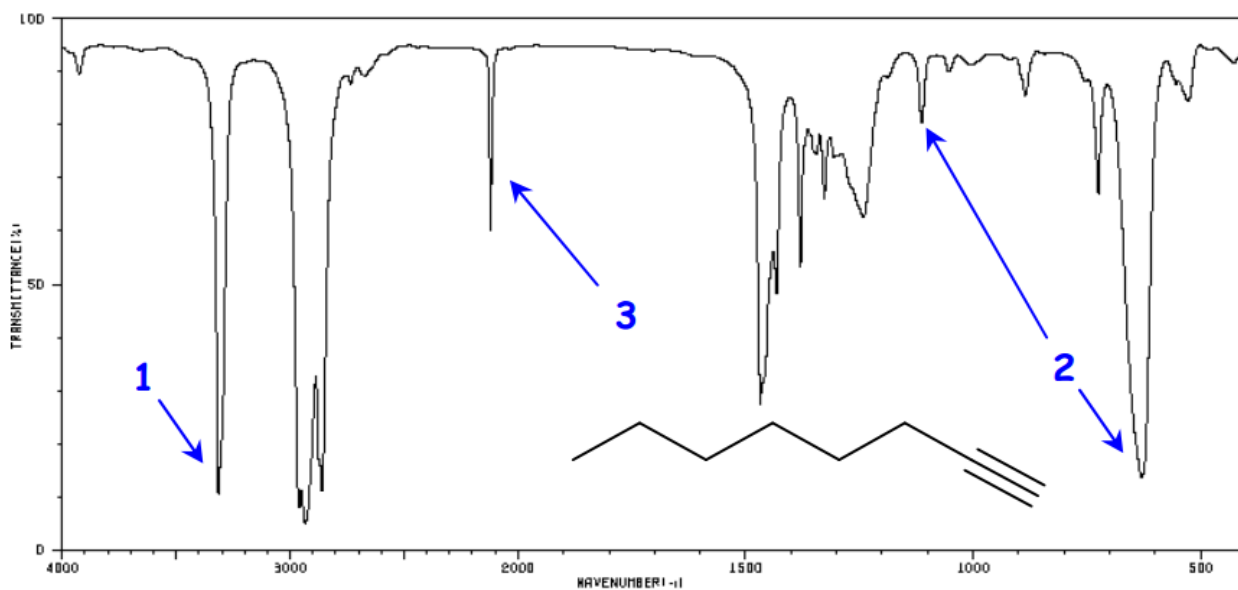


Figura N° 16. Espectro de un hidrocarburo lineal insaturado (Alquinos).
 Fuente: <http://www.academiabiblos.com/es/recursos/DETERMINACION%20ESTRUCTURAL.pdf>

HIDROCARBUROS AROMÁTICOS		
Ubicación	Banda	Descripción
1	3030	Tensiones C-H (varias bandas por encima de 3000)
2	2000 - 1660	Sobretonos deformaciones C-H grupos de 2 a 6 bandas características para un patrón de sustitución
3	1500 y 1606	Tensiones C-C aromáticos
4	950 - 1225	Deformaciones en el plano C-H poco intensas
5	675 – 870	Deformaciones fuera del plano C-H muy intensas

Tabla N°6. Bandas características de los Hidrocarburos Aromáticos

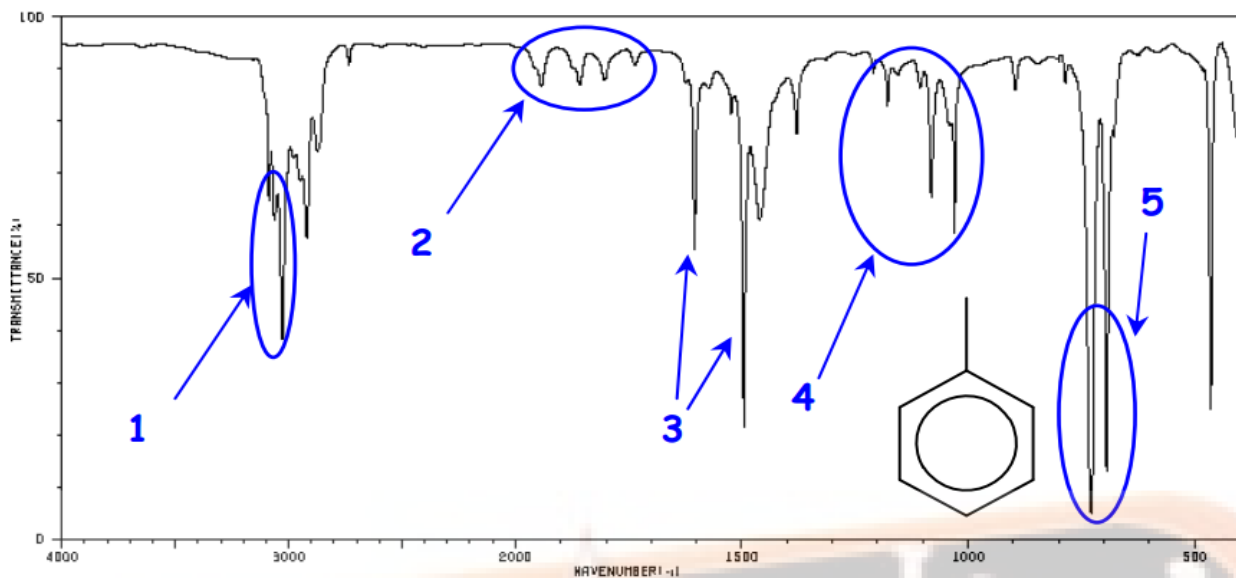


Figura N° 17. Espectro de un Hidrocarburo Aromático.

Fuente: <http://www.academiabiblos.com/es/recursos/DETERMINACION%20ESTRUCTURAL.pdf>

5.3.2.2. Características del equipo

Para las medidas de absorción en el infrarrojo existen tres tipos de instrumentos disponibles comercialmente: (1) espectrofotómetros dispersivos de red que se utilizan principalmente para el análisis cualitativo; (2) instrumentos multiplex que emplean la transformada de Fourier, que resultan adecuados para las medidas en el infrarrojo tanto cualitativas como cuantitativas; (3) fotómetros no dispersivos que se han desarrollado para la determinación cuantitativa de diversas especies orgánicas en la atmósfera por espectrometría de absorción, de emisión y de reflectancia.

Todos los instrumentos anteriormente nombrados utilizan filtros o monocromadores para aislar una región del espectro para la medida,

exceptuando el instrumento *multiplex*, el cual obtiene información espectral sin dispersar o filtrar primero la radiación para proporcionar las longitudes de onda de interés. El término *multiplex* proviene de la teoría de la comunicación, donde se usa para describir sistemas en los que muchos conjuntos de información se transportan de forma simultánea a través de un monocal. Los instrumentos analíticos multiplex son dispositivos monocal en los que todos los componentes de la respuesta analítica se recogen simultáneamente para determinar la magnitud de cada uno de estos componentes, se necesita modular la señal analítica de forma que permita una subsiguiente decodificación de la respuesta en sus componentes.

La mayoría de los instrumentos analíticos multiplex dependen de la *Transformada de Fourier* (FT) para decodificar la señal y, por lo tanto, se denominan con frecuencia espectrómetros de transformada de Fourier^[17].

5.3.2.3 Principio de la Transformada de Fourier

La transformada de Fourier se emplea con señales periódicas a diferencia de la serie de Fourier. Las condiciones para poder obtener la transformada de Fourier son (Condiciones de Dirichlet):

Que la señal sea absolutamente integrable, es decir:

$$\int_{-\infty}^{\infty} |x(t)|^2 \cdot dt < \infty$$

Que tenga un grado de oscilación finito.

Que tenga un número máximo de discontinuidades.

La transformada de Fourier es una particularización de la transformada de Laplace con $S=j\omega$ (siendo $\omega=2\pi f$), y se define como:

$$X(\omega) = \int_{-\infty}^{\infty} x(t) \cdot e^{-j\omega t} dt$$

Y su antitransformada se define como:

$$x(t) = \frac{1}{2\pi} \int_{-\infty}^{\infty} X(\omega) \cdot e^{j\omega t} d\omega$$

Se ha mencionado al principio que la transformada de Fourier se usa con señales aperiódicas. Con la invención de la función delta ($\delta(t)$) a principios de este siglo es posible calcular la transformada de Fourier de una señal periódica, Sabiendo que: $\delta(t - t_0) \leftrightarrow e^{-j\omega t_0}$

Y que la transformada de Fourier tiene la propiedad de dualidad:

$$x(t) \leftrightarrow X(\omega)$$

$$X(t) \leftrightarrow 2\pi \cdot x(-\omega)$$

Obtenemos que:

$$e^{j\omega_0 t} \leftrightarrow 2\pi\delta(\omega - \omega_0)$$

De esta forma, podemos calcular la transformada de Fourier de cualquier señal periódica $x(t)$ de potencia media finita, esto es:

$$\frac{1}{T} \int |x(t)|^2 \cdot dt < \infty$$

Ya que:

$$\begin{aligned} x(t) = \sum_{k=-\infty}^{\infty} a_k e^{jk\omega_0 t} &\rightarrow F \left\{ \sum_{k=-\infty}^{\infty} a_k e^{jk\omega_0 t} \right\} \\ &= \sum_{k=-\infty}^{\infty} a_k \cdot F\{e^{jk\omega_0 t}\} = \sum_{k=-\infty}^{\infty} a_k 2\pi\delta(\omega - \omega_0) \end{aligned}$$

Luego para una $x(t)$ periódica se cumple que ^[18]:

$$x(t) \text{ periodica} \leftrightarrow \sum_{k=-\infty}^{\infty} a_k 2\pi\delta(\omega - \omega_0)$$

5.3.2.3.1 Componentes de los instrumentos con Transformada de Fourier

La mayoría de los instrumentos de Infrarrojo de Transformada de Fourier que hay en el comercio se basa en el interferómetro de Michelson, aunque también hay otro tipo de sistemas ópticos. Figura N°18.

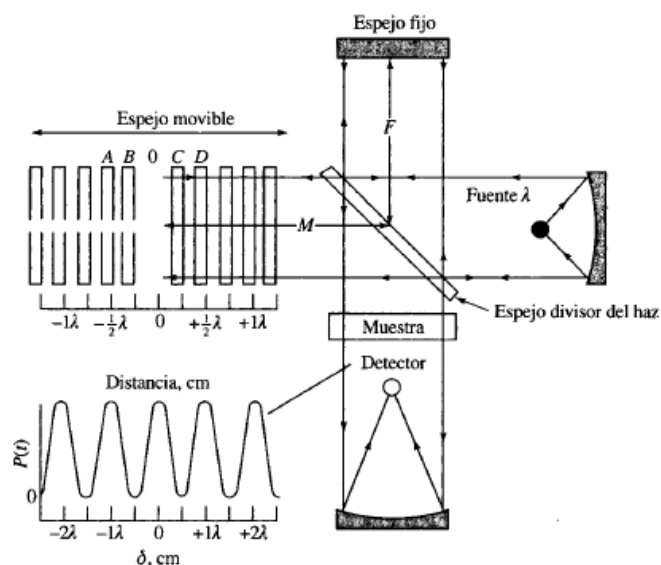


Figura N° 18. Esquema de un interferómetro de Michelson iluminado por una fuente monocromática, Fuente: Fuente: Principios de análisis instrumental, Skoog, Douglas y Donald M. West capítulo 7 página 208

5.3.2.3.1.1 Mecanismos de activación

Para obtener interferogramas satisfactorios y por tanto, espectros satisfactorios, es necesario la velocidad del espejo móvil sea siempre constante y que su posición se conozca con exactitud en cualquier instante. También debe permanecer constante el plano del espejo a lo largo de todo el recorrido de 10 cm o más.

En las regiones del infrarrojo medio y cercano se requieren mecanismos precisos y complicados donde el soporte del espejo está suspendido sobre cojines de aire sujetos a unos manguitos de acero inoxidable muy ajustados (Figura N° 18). Este montaje se acciona por medio de un motor de accionamiento lineal y una bobina electromagnética semejante a la de un altavoz; una corriente creciente de la bobina mueve el espejo a una velocidad constante. Al alcanzar el extremo final, el espejo regresa con rapidez al punto

de partida para el próximo barrido mediante una rápida inversión de la corriente. La longitud del recorrido varía de 1 a 20 cm y las velocidades de barrido oscilan de 0.01 a 10 cm/s.

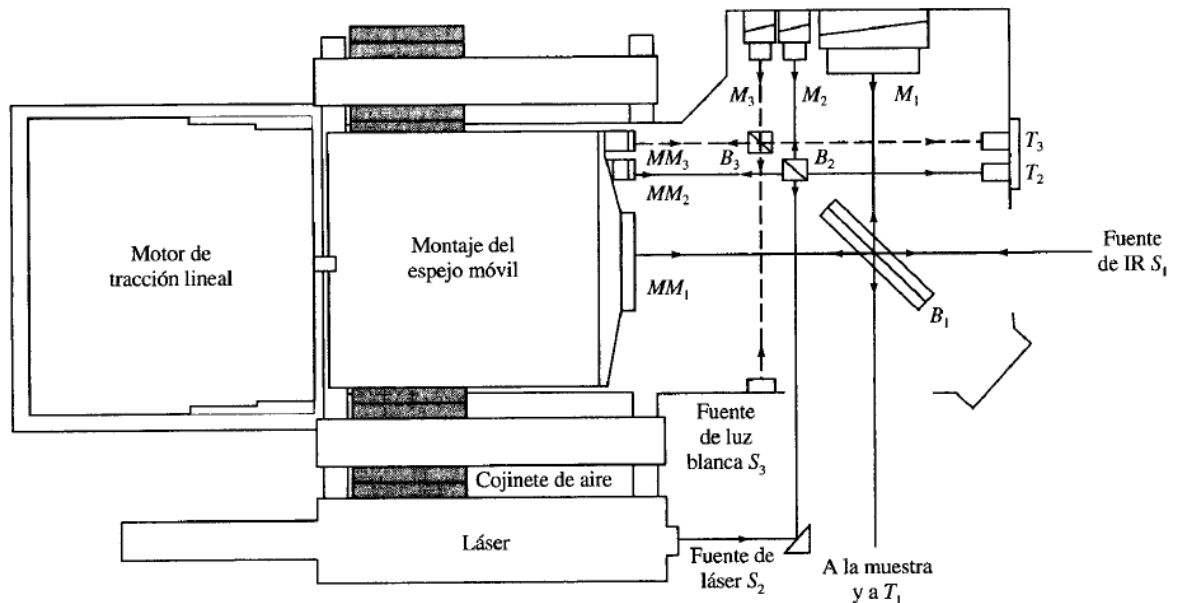


Figura N° 19. Interferómetros en un espectrómetro infrarrojo de transformada de Fourier, los subíndices 1 indican la trayectoria de la radiación en el interferómetro de infrarrojo; los subíndices 2 y 3 se refieren a los interferómetros de láser y de la luz blanca respectivamente, Fuente: *Principios de análisis instrumental*, Skoog, Douglas y Donald M. West capítulo 16 página 440

Para que el sistema del espejo funcione en forma satisfactoria se requieren dos características adicionales. La primera es que el sistema pueda tomar muestras del interferograma a intervalos de retraso exactamente definidos. La segunda es un método para determinar con exactitud el punto de retraso del cero para facilitar el promedio de las señales. Si no se conoce con exactitud este punto, las señales de los barridos repetidos, no estarán en fase; el promedio tiende a degradar la señal en lugar de mejorarla.

El problema de la toma de muestras precisa de la señal y de su promedio pueden resolverse usando dos o tres interferómetros y con un único montaje para espejos que sostiene los tres espejos móviles.

5.3.2.3.2 Diseño de instrumentos

Los espectrómetros de infrarrojo de transformada de Fourier de un solo haz o de doble haz. En la figura N° 20, se muestran los componentes ópticos de un equipo de un solo haz. Un procedimiento característico para determinar la transmitancia o la absorbancia con este tipo de instrumento consiste, en obtener un interferograma de referencia mediante barridos de una referencia por lo general aire, acumular los datos y almacenar los resultados en la memoria del computador del instrumento. A continuación se coloca la muestra y la trayectoria de la radiación y se repite el proceso. Se calcula entonces la relación entre los datos espectrales de la muestra y la referencia y se obtiene la transmitancia a distintas frecuencias. Con esta relación se calcula la absorbancia en función del número de onda. Las fuentes y detectores modernos tienen la estabilidad suficiente como para que los espectros de referencia se tengan que obtener solo en forma ocasional.

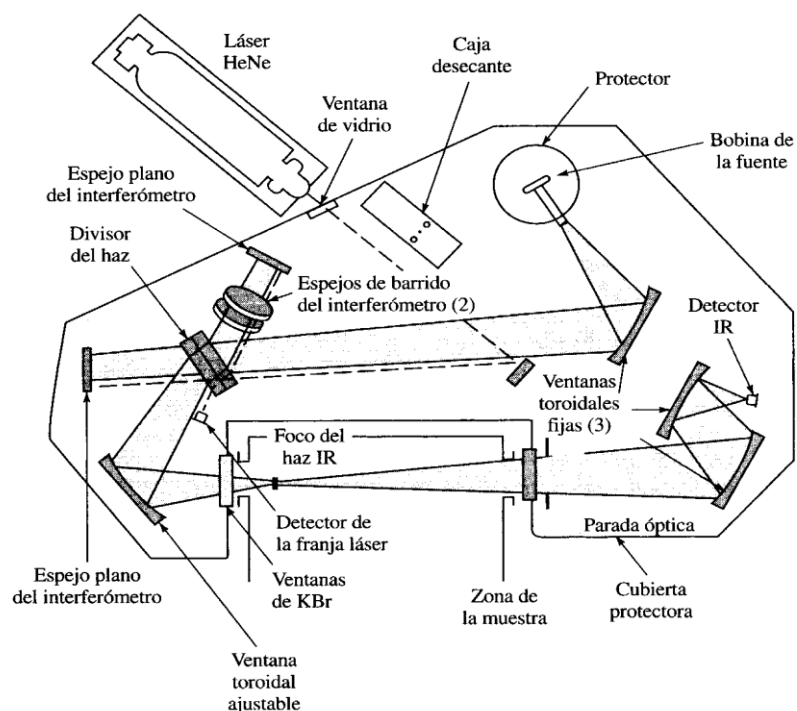


Figura N° 20. Espectrómetro FTIR de un solo haz. Fuente: Principios de análisis instrumental, Skoog, Douglas y Donald M. West capítulo 16 página 443

5.3.2.3.2.1 Ventajas de los espectrómetros de Transformada de Fourier

Los instrumentos de transformada de Fourier en la mayor parte del intervalo espectral Infrarrojo medio, presentan una relación señal-ruido mejor que la de los instrumentos dispersivos de buena calidad en más de un orden de magnitud. La relación señal-ruido mejorada puede intercambiarse por un barrido rápido, pudiéndose obtener, en la mayoría de los casos, buenos espectros en pocos segundos. Los instrumentos interferométricos también se caracterizan por sus altas resoluciones ($< 0.1\text{cm}^{-1}$) y por sus determinaciones más exactas y de frecuencia reproducible. Esta última

propiedad es útil para cuando se restan los espectros para las correcciones del fondo.

Una ventaja teórica de los instrumentos de FTIR es que sus piezas ópticas proporcionan un rendimiento energético mucho mayor de uno o de dos órdenes en magnitud, que los instrumentos dispersivos, en los cuales el rendimiento está limitado por la necesidad de usar rendijas angostas. Sin embargo, esta ganancia potencial se compensa en forma parcial por la sensibilidad menor de los detectores de respuesta rápida que se requieren para las medidas interferométricas. Por último se debe subrayar que el interferómetro decrece el problema de la radiación parásita porque, de hecho, cada frecuencia del infrarrojo se divide a una frecuencia diferente.

5.3.2.3.3 Aplicaciones de la espectrometría de Infrarrojo

La moderna espectrometría en el infrarrojo es una herramienta versátil que se aplica a la determinación cualitativa y cuantitativa de especies moleculares de todo tipo. Las aplicaciones de la espectrometría en el infrarrojo se dividen en tres grandes categorías relacionadas con las tres regiones espectrales del infrarrojo. La región más utilizada es la región del infrarrojo medio que se extiende entre aproximadamente 670 y 4.000 cm^{-1} . En ésta región, para los análisis cualitativos y cuantitativos, se emplean los espectros de absorción, reflexión y emisión. La región del infrarrojo cercano, comprendida entre 4.00 y 14.000 cm^{-1} , también encuentra una considerable

utilidad en la determinación cuantitativa de rutina de cierta especies, como el agua, dióxido de carbono, azufre, hidrocarburos de bajo peso molecular, nitrógeno amínico, y muchos otros compuestos sencillos que tienen interés en agricultura y en industria. Estas determinaciones se basan, con frecuencia, en medidas de la reflectancia difusa de muestra sólidas o líquidas sin tratamiento previo o en estudios de transmisión por gases. La principal utilidad de la región infrarroja lejana consiste en la determinación de estructuras de especies inorgánicas organometálicas que se basan en las medidas de absorción.

En la Tabla N° 7 se muestra una tabla de aplicaciones de la espectrometría del infrarrojo.

Regiones espectrales	Tipo de medida	Tipo de análisis	Tipo de muestras
Infrarrojo cercano	Reflectancia difusa	Cuantitativa	Materiales comerciales sólidos o líquidos
	Absorción	Cuantitativa	Mezclas gaseosas
Infrarrojo medio	Absorción	Cualitativa	Compuestos sólidos, líquidos o gaseosos puros
		Cuantitativa	Mezclas complejas de gases, líquidos o sólidos
		Cromatográfico	Mezclas complejas de gases, líquidos o sólidos
	Reflectancia	Cualitativa	Compuestos sólidos puros o líquidos
	Emisión	Cuantitativa	Muestras atmosféricas
Infrarrojo lejano	Absorción	Cualitativa	Especies inorgánicas puras u organometálicas

Tabla N° 7. Principales aplicaciones de la espectrometría en el infrarrojo. Fuente: Principios de análisis instrumental, Skoog, Douglas y Donald M. West capítulo 17 página 436.

Entre las áreas de la química en las que las características adicionales de los instrumentos interferométricos son útiles están:

- 1) Trabajos que requieren muy alta resolución, por ejemplo, los que corresponden a mezclas de gases cuyo espectro es complejo a

consecuencia de la superposición de las bandas vibracionales y rotacionales.

- 2) Estudio de muestras cuya absorbancia es elevada.
- 3) Estudio de sustancias con bandas de absorción débiles, por ejemplo el estudio de compuestos que son absorbidos químicamente por la superficie de los catalizadores.
- 4) Investigaciones que requieren barridos rápidos, como los estudios cinéticos, o la detección de los efluentes cromatográficos.
- 5) Obtención de datos de infrarrojo con muestras muy pequeñas.
- 6) Obtención de espectros de reflexión.
- 7) Estudios de emisión en el Infrarrojo.

5.3.2.3.3.1 Espectrometría de absorción en el Infrarrojo Medio

Esta es la principal herramienta para determinar la estructura de especies orgánicas y bioquímicas.

5.3.2.3.3.1.1 Manipulación de la muestra.

Gases

El espectro de un gas se puede obtener al permitir que la muestra se expanda en una celda o cubeta cilíndrica en la que se ha hecho el vacío, equipada con las ventanas adecuadas para este fin hay una gran variedad de cubetas cilíndricas que oscilan entre pocos centímetros y 10 metros o más. Las longitudes de trayectoria más largas se obtienen en celdas

compactas con superficies internas reflejantes, de modo que el haz pasa numerosas veces por la muestra antes de salir de la celda.

Soluciones

Es conveniente obtener el espectro infrarrojo de soluciones preparadas de tal manera que contengan una concentración conocida de la muestra, como se hace por lo general en espectrometría de UV-Vis. Sin embargo, esta técnica tiene ciertas limitaciones en cuantos a sus aplicaciones porque depende de la disponibilidad de solventes que sean transparentes en las regiones del infrarrojo.

En este caso se utilizó un equipo ATR que dispone de soportes con cristal de diamante y cristal de ZnSe, es un espectrómetro infrarrojo de transformada de Fourier (FTIR Nicolet) equipado con una fuente láser de He/Ne, beamsplitter de Csl, detector DTGS-Csl y software OMNIC para detección en un rango espectral de 225 a 6400 cm^{-1} (far-IR and middle-IR). El equipo dispone de tres compartimientos diferentes para realización de medidas de transmitancia, reflectancia total atenuada (ATR), reflectancia especular y reflectancia difusa (DRIFTS). Se pueden analizar muestras en forma de polvo, líquidos, sólidos, recubrimientos ultra-delgados, fibras, pellets, recubrimientos metálicos, entre otras.

Se emplea en la caracterización de moléculas orgánicas, materiales poliméricos, materiales cerámicos, detección de especies adsorbidas en

substratos metálicos, detección de superficies contaminantes, residuos, monocapas de materiales orgánicos o inorgánicos, entre otras.

Sólidos

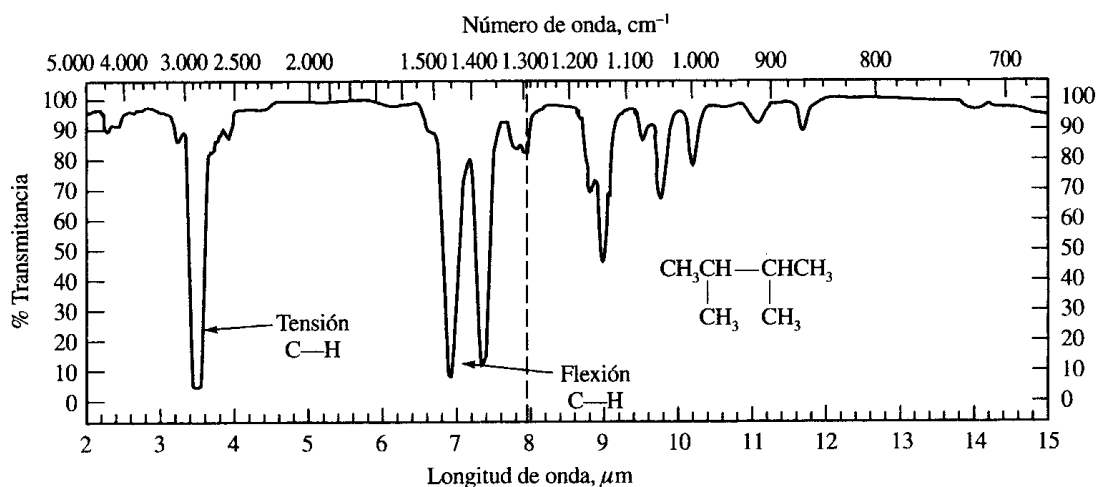
La mayoría de los compuestos orgánicos presentan numerosas bandas de absorción en toda la región del IR medio y con frecuencia es imposible encontrar un solvente que no dé lugar al traslape de picos. Por esta razón los espectros se obtienen a menudo en dispersiones del sólido en una matriz líquida o sólida. La muestra sólida se debe pulverizar hasta que el tamaño de partícula sea menor que la longitud de onda de la radiación para evitar los efectos de dispersión de la radiación.

Una de las técnicas más populares de manipulaciones de las muestras solidas es la formación de pastillas de KBr pues tiene la propiedad de flujo en frío, por lo cual cuando el material finamente pulverizado se somete a una presión suficiente manifiesta propiedades transparentes o translúcidas como el vidrio.

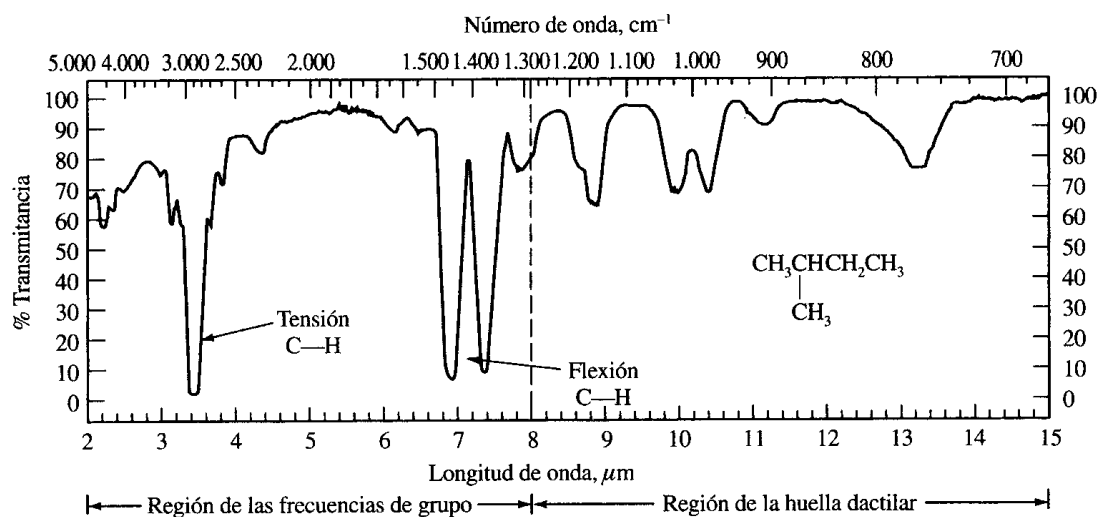
Los espectros IR de sólidos insolubles en un solvente transparente al Infrarrojo o que no se prestan para la formación de pastillas con el KBr se obtienen al dispersar el analito en aceite mineral o una suspensión de Hidrocarburo fluorado.

- **Análisis Cualitativo**

La identificación de un compuesto orgánico a partir de un espectro de este tipo es un proceso que consta de dos etapas. En la primera se determina qué grupos funcionales son los que tienen más probabilidad de estar presentes al examinar la región de frecuencias de grupo, que abarca la radiación comprendida entre 3600 cm^{-1} y 1250 cm^{-1} aproximadamente (véase figura N°21). La segunda etapa consiste en comparar con detalle el espectro del compuesto desconocido con los espectros de compuestos puros que contienen todos los grupos funcionales que se encontraron en la primera etapa. En este caso es particularmente útil la región de la huella dactilar, comprendida entre 1200 cm^{-1} y 600 cm^{-1} (Figura N° 24), debido a que pequeñas diferencias en la estructura y la constitución de una molécula causan cambios importantes en el aspecto y la distribución de las bandas en esta región. Por tanto, una gran similitud en la región de huella dactilar (así como en otras) de los espectros de dos compuestos constituye una evidencia casi certera de que son idénticos.



(a)



(b)

Figura N° 21 La región de las frecuencias de grupo del infrarrojo medio (~ 3600 a 1250 cm^{-1}) se utiliza para identificar grupos funciones comunes. Con la región de la huella dactilar (~ 1200 a 600 cm^{-1}) se identifican compuestos. Fuente: *Principios de análisis instrumental*, Skoog, Douglas y Donald M. West capítulo 17 página 460

5.3.2.3.1.2 Región de la huella dactilar

Pequeñas diferencias en la estructura y la constitución de las moléculas dan lugar a cambios significativos en la distribución de los máximos de absorción en la región del espectro que se extiende desde alrededor de 1200 hasta 600

cm^{-1} . Por consiguiente, la región de la huella dactilar sirve para identificar compuestos al comparar los espectros. La mayoría de los enlaces sencillos origina bandas de absorción a estas frecuencias; como sus energías son aproximadamente iguales, se producen interacciones fuertes entre los enlaces vecinos. Por tanto, las bandas de absorción son la combinación de estas distintas interacciones y dependen de la estructura del esqueleto completo de la molécula. Debido a la complejidad de los espectros, rara vez es posible interpretar en forma exacta los espectros en esta región. No obstante, para fines de identificación, la riqueza de las características de los espectros es una ventaja distinta. Muchos compuestos contienen bandas de absorción únicas en esta región, lo cual es muy útil en la identificación final.

5.3.2.3.3.1.3 Limitaciones del uso de las tablas de correlación

El establecimiento inequívoco de la identidad o estructura de un compuesto raras veces es posible con la sola ayuda de las tablas o gráficas de correlación. Con frecuencias surgen incertidumbres como consecuencia de la superposición de frecuencias de grupo, de las variaciones espectrales dependientes del estado físico de la muestra, es decir, si es una solución, una suspensión, una pastilla, etcétera, y las limitaciones de los instrumentos.

Cuando se usan las frecuencias de grupo, es esencial que se considere e interrelacione el espectro completo, y no una pequeña parte. La

interpretación basada en una parte del espectro se debe confirmar o rechazar mediante el estudio en otras regiones.

En resumen, las tablas de correlación sirven sólo como guía para un estudio posterior más minucioso.

5.3.2.3.3.1.4 Colecciones de espectros

Como ya se ha indicado, las tablas de correlación pocas veces son suficientes para la identificación positiva de un compuesto orgánico a partir de su espectro infrarrojo. Sin embargo, existen diversos catálogos de espectros de infrarrojo que ayudan en la identificación cualitativa permitiendo la comparación de los espectros con los de un gran número de compuestos puros. La búsqueda manual en grandes catálogos de espectros es lenta y tediosa. Por este motivo, en los últimos años se han empezado a utilizar extensamente los sistemas de búsqueda por ordenador.

5.3.2.3.3.1.5 Sistema de búsqueda por ordenador

En la práctica, todos los fabricantes de instrumentos de infrarrojo ofrecen sistemas de búsqueda por ordenador para ayudar al químico en la identificación de los compuestos a partir de los datos espectrales de infrarrojo almacenados. La posición y la magnitud relativa de los picos en el espectro del analito se determinan y almacenan en la memoria para dar un perfil de picos, que luego compara con los perfiles de los compuestos puros almacenados en discos magnéticos de alta densidad o discos láser. A

continuación, el ordenador compara los perfiles e imprime una lista de compuestos que tienen espectros similares a los del analito. Por lo general, el espectro del analito y el del compuesto probable (en porcentaje de similitud) se muestra simultáneamente en la pantalla del ordenador para su comparación. Los bancos de memoria de estos instrumentos son capaces de almacenar perfiles para cientos de miles de compuestos puros.

Otros métodos que pueden complementar el análisis cualitativo de sustancias orgánicas por Infrarrojo, son las pruebas fisicoquímicas, tales como: punto de fusión o ebullición, ó recurrir a los métodos instrumentales como cromatografía de gases ^[17].

6. SECCIÓN EXPERIMENTAL

6.1 MATERIALES Y EQUIPOS

6.1.1 Estándar

Se utilizó como patrón en la estandarización por el método de ultravioleta, una mezcla de volúmenes equivalentes de ACPM, gasolina y kerosene comerciales.

Para el análisis cualitativo por IR y Cromatografía de gases se utilizó un estándar preparado con algunos hidrocarburos lineales. (Ver ANEXO 1)

6.1.2 Muestra de análisis

Como muestra real se utilizó una muestra sintética de agua contaminada con una concentración conocida (6 ppm) con la mezcla de combustibles comerciales.

6.1.3 Blanco

Como blanco se utilizó Hexano grado analítico

6.1.4 Equipos

6.1.4.1 Espectrofotómetro UV – Visible

El análisis se realizó en un Espectrofotómetro UV/VIS modelo Evolution 60 marca Thermo Spectronic USA cat 840-189600, el cual fue prestado por la escuela de química de la Universidad Tecnológica de Pereira, las muestras

Fueron estudiadas una longitud de onda de 318 nm, la cual se estableció a través del valor máximo de absorción obtenido al someter el estándar de hidrocarburos a un barrido en el espectrofotómetro.



Figura N° 22. Espectrofotómetro UV-Visible, modelo Evolution 60 marca Thermo Spectronic USA cat 840-189600.

6.1.4.2 Espectrómetro de infrarrojo

El análisis se realizó en el Espectrómetro Thermo Scientific Nicolet 380 FT-IR and Smart Orbit, el cual fue prestado por el Cuerpo Técnico de Investigación CTI vinculado a la Fiscalía General de la Nación seccional Pereira; las muestras fueron analizadas en el estado de agregación líquido.



Figura N° 23. Espectrómetro ThermoScientificNicolet 380 FT-IR Smart Orbit. Fuente: www.thermo.com

6.2 SECCIÓN EXPERIMENTAL ANTES DE LA ESTANDARIZACIÓN

Antes del proceso de estandarización se establecieron por mediciones programadas los siguientes parámetros.

6.2.1. Espectroscopía UV

6.2.1.1 Límite de detección

Se determinaron 10 blancos, utilizando el blanco descrito en el numeral 6.1.3 [12]. Se realizaron varias modificaciones a la metodología descrita en la bibliografía.

Con el lote de datos se calculó: el promedio aritmético (X_m), la desviación estándar (s), el coeficiente de variación (% CV).

El límite de detección del método se calculó 3 veces sobre la medida de la desviación estándar $LD = 3s$

6.2.1.2 Límite de cuantificación

Se determinaron 10 blancos, utilizando el blanco descrito en el numeral 6.1.3 [12]. Se realizaron varias modificaciones a la metodología descrita en la bibliografía.

El límite de cuantificación se calculó como 10 veces sobre la medida de la desviación estándar $LC = 10s$.

6.2.1.3 Curvas de calibración

A partir del estándar, se realizaron los respectivos cálculos para tomar el volumen correspondiente con el fin de obtener varios patrones, cubriendo concentraciones desde 0,5 hasta 10 mg/L de la mezcla de combustibles comerciales. Se realizaron tres curvas en el desarrollo de la estandarización, de las cuales se eligió la de mejor coeficiente de correlación para el desarrollo de la estandarización ^[19].

6.2.1.4 Sensibilidad

Se eligió la curva que presentaba el mejor coeficiente de correlación y se tomó la pendiente como la sensibilidad ^[12].

6.2.1.5 Linealidad

Se leyeron patrones a diferentes concentraciones con el fin de examinar la correlación entre ellos (coeficiente de correlación) y observar la linealidad que presentaban ^[19].

6.2.1.6 Intervalo de trabajo lineal

El rango de trabajo se definió con base en las concentraciones de los patrones que presentaron mejor linealidad en la curva de calibración ^[12].

6.3 EXTRACCIÓN DEL ANALITO

Se realizó la extracción de los hidrocarburos en la muestra sintética por el método líquido – líquido, utilizando como solvente Hexano el cual es el ideal (US EPA 821 – 1394 – 004, 1995) y no solventes clorados como lo sugieren la mayoría de fuentes bibliográficas por su contaminación al medio.

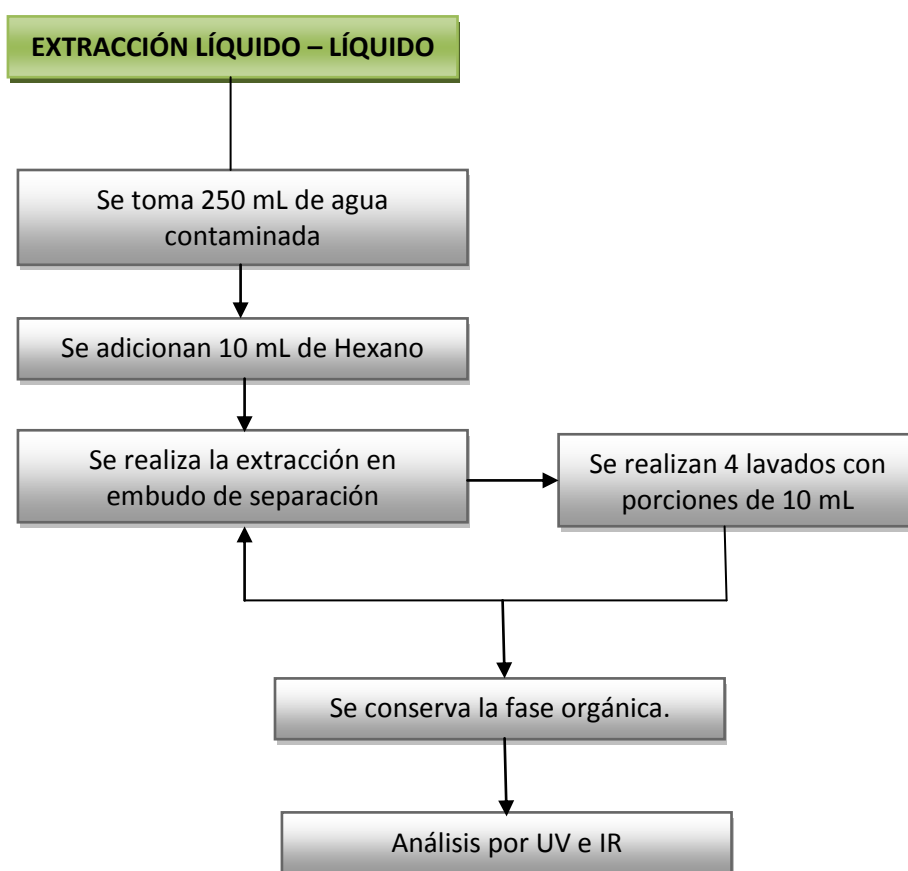


Figura N°24. Diagrama de flujo de extracción líquido – líquido de analito de hidrocarburos totales en una muestra de agua.

6.4 PROCEDIMIENTO DE ESTANDARIZACIÓN.

El proceso de estandarización consistió en la corrida de las muestras y el registro de los resultados necesarios para la determinación de los parámetros de estandarización. Los ensayos pueden ser continuos o alternos, con una diferencia máxima de 3 días entre un ensayo y otro (viernes-lunes), ^[12].

6.4.1 Exactitud

Se midieron 2 réplicas de cada estándar, a tres concentraciones teóricas diferentes, durante 5 días, ^[12].

Eb: Estándar bajo, cercano al LC.

Em: Estándar medio, cerca del 50 % del rango de trabajo.

Ea: Estándar alto, cerca del 80 % del rango de trabajo.

Con lo cual se calculo: promedio X_m , desviación estándar s , coeficiente de variación % CV y porcentaje de error % E.

6.4.2. Precisión.

Para la determinación de la precisión se realizó en función de:

6.4.2.1 Repetibilidad: La cual consistió en medir 2 réplicas de cada estándar (estándar bajo Eb, estándar medio Em y estándar alto Ea) y de cada muestra, durante 5 días, con los cuales se calculó: promedio X_m , desviación estándar s , coeficiente de variación % CV y porcentaje de error % E, ^[12].

6.4.2.2 Repetibilidad intermedia: Se analizó el grupo de patrones o muestras dos veces el mismo día por el analista responsable (en la mañana y en la tarde), se leyó en un equipo diferente, ^[12].

Para cada grupo de datos se calculó: X_m , s , % CV y % E.

6.4.2.3 Reproducibilidad: El analista sustituto analizó, por duplicado, el grupo de estándares y muestras durante dos días en la estandarización, ^[12].

Para cada grupo de datos se calculó: X_m , s , % CV y % E.

6.4.3. Recuperación.

Determinación de la recuperación, expresada como Porcentaje de recuperación (%R), Se analizó por duplicado, a una muestra real, cuya concentración estuvo cercana al 50% del rango de trabajo. ^[12]. La recuperación se determinó utilizando la siguiente ecuación:

$$\%R = [(C_x - C_{BK})/C_A] \times 100$$

Donde:

C_x : Concentración de la muestra hallada experimentalmente

C_{BK} : Concentración del blanco

C_A : Concentración real de la muestra

6.4.4. Verificación de la estandarización (análisis de la muestra).

Después que la técnica fue estandarizada, y la muestra real fue extraída de la matriz de agua, se hizo su análisis espectrofotométrico a las mismas condiciones a las que se analizaron los patrones.

6.5 ANÁLISIS CUALITATIVO POR ESPECTROMETRÍA DE INFRARROJO

Se realizó la medición de las muestras de combustibles comerciales (ACPM, gasolina y kerosene) por separado y en mezcla, de la muestra real extraída de la matriz de agua y del estándar preparado con hidrocarburos lineales.

6.6 ANÁLISIS CUALITATIVO PRELIMINAR POR CROMATOGRAFÍA DE GASES (CG)

Se realizó un análisis cualitativo de los combustibles comerciales por separado y del estándar de hidrocarburos lineales a una concentración, para determinar posibles componentes presentes en los combustibles estudiados.

Condiciones cromatográficas: las muestras fueron separadas por GC por una columna MXT5 508529 G1, de 30,0 m de longitud 0,25 mm de diámetro interno y un espesor de fase 0,50 μm ; con una temperatura máxima de 330 $^{\circ}\text{C}$.

Para la determinación con el detector FID, se necesitaron las siguientes condiciones cromatográficas: volumen de muestra 1 μm en Split. El horno se programó así: 40 $^{\circ}\text{C}$ (2 min) con una rata de 15 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$, hasta 70 $^{\circ}\text{C}$ (2 min) con una rata de 20 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$, hasta 150 $^{\circ}\text{C}$ (2 min) y finalmente una rampa de

20°C/min, hasta 300°C (5 min).el gas utilizado como fase móvil fue helio con una presión de 123,8kPa.

7. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

7.1 BARRIDO ESPECTRAL

Se preparó una solución de la mezcla de hidrocarburos comerciales a una concentración máxima de 10 ppm, siguiendo el procedimiento establecido en el numeral 6.3; el barrido espectral se realizó en un espectrofotómetro UV-VIS, marca THERMO SPECTRONIC ®. Se logró observar que el máximo de absorción se presentaba a 229 nm. El barrido se realizó con una longitud de onda inicial de 200 y una final de 700.

No se muestra el barrido espectral para fundamentar el máximo de absorción, por problemas técnicos.

7.2 LÍMITE DE DETECCIÓN Y CUANTIFICACIÓN

En una análisis preliminar para determinar el límite de cuantificación se analizó una muestra del solvente puro como blanco, y se recolectaron los siguientes datos mostrados en la tabla N° 8, que tratados estadísticamente arrojaron los resultados presentes en la Tabla 9.

BLANCO	CONCENTRACIÓN (mg/L)	ABSORBANCIA
1	0,060	0,003
2	0,060	0,003
3	0,060	0,003
4	0,060	0,003
5	0,060	0,003
6	0,048	0,002
7	0,048	0,002
8	0,048	0,002
9	0,060	0,003
10	0,060	0,003

Tabla N° 8. Datos obtenidos para la determinación del límite de cuantificación y detección con el solvente puro

PARÁMETRO	VALOR
Promedio	0,0564 mg/L
SD	0,00579 mg/L
CV (%)	10,28
LD	0,017 mg/L
LC	0,05 mg/L

Tabla N°.9 *Parámetros estadísticos para el solvente puro*

De acuerdo a los datos obtenidos en la Tabla N°.9 y basándose en el porcentaje del coeficiente de varianza descrito en la misma, se puede inferir que los límites de detección y de cuantificación no son los adecuados debido a que el CV (%) debe ser inferior al 10%.

La señal que presenta se debe posiblemente a ruido instrumental o impurezas en el solvente ya que no se utilizó n – hexano grado espectroscópico.

Basándonos en el límite de cuantificación obtenido en la Tabla N°.9, se realizó otro ensayo con una concentración superior estimativa de 0,1 mg/L, encontrándose lo siguiente:

BLANCO	CONCENTRACIÓN (mg/L)	ABSORBANCIA
1	0,149	0,009
2	0,134	0,008
3	0,120	0,007
4	0,120	0,007
5	0,149	0,008
6	0,149	0,008
7	0,120	0,007
8	0,149	0,009
9	0,134	0,008
10	0,134	0,008

Tabla N°. 10 *Datos obtenidos para la determinación del límite de cuantificación y detección del análisis preliminar para una concentración de 0,1 mg/L*

PARÁMETRO	VALOR
Promedio	0,1328 mg/L
SD	0,0107 mg/L
LD	0,032 mg/L
LC	0,107 mg/L
CV (%)	8,03
% E	32,8

Tabla N°.11 *Parámetros estadísticos del análisis preliminar para una concentración de 0,1 mg/L*

En este ensayo el coeficiente de varianza es inferior al 10%, pero tomando como referencia que el %E debe ser también inferior al 10% estos datos no satisfacen dicho requerimiento, para ello fue necesario realizar otro ensayo con una concentración superior a ésta.

Se eligió una concentración de 0,5 mg/L teniendo en cuenta que además de ser cercana al límite de cuantificación encontrado en la Tabla N° 11, a partir de este valor de concentración la linealidad de la curva de calibración es óptima.

BLANCO	CONCENTRACIÓN (mg/L)	ABSORBANCIA
1	0,550	0,037
2	0,530	0,036
3	0,530	0,036
4	0,520	0,035
5	0,550	0,037
6	0,530	0,036
7	0,550	0,037
8	0,530	0,036
9	0,520	0,035
10	0,520	0,035

Tabla N°. 12 *Datos obtenidos para la determinación del límite de cuantificación y detección del análisis preliminar para una concentración de 0,5 mg/L*

PARÁMETRO	VALOR
Promedio	0,533 mg/L
SD	0,012 mg/L
LD	0,037 mg/L
LC	0,125 mg/L
CV (%)	2,35
% E	6,6

Tabla N°.13 *Parámetros estadísticos del análisis preliminar para una concentración de 0,5 mg/L*

Considerando los datos obtenidos en la Tabla N°14, se dedujo que el Límite de detección (**LD= 0,037 mg/L**) y de cuantificación (**LC= 0,125 mg/L**) del método son los más confiables debido a que tanto el coeficiente de variación y el porcentaje de error son inferiores al 10%

7.3 CALIBRACIÓN

Para la calibración del método espectrométrico se prepararon patrones a partir de una mezcla de hidrocarburos comerciales (ACPM, gasolina y kerosene) con una concentración del 99%.

Después de realizar tres curvas de calibración y observar la de mejor comportamiento se eligió la que arrojó el coeficiente de correlación (R^2) más cercano a 1. A continuación en la figura N° 23 se muestran las tres curvas realizadas.

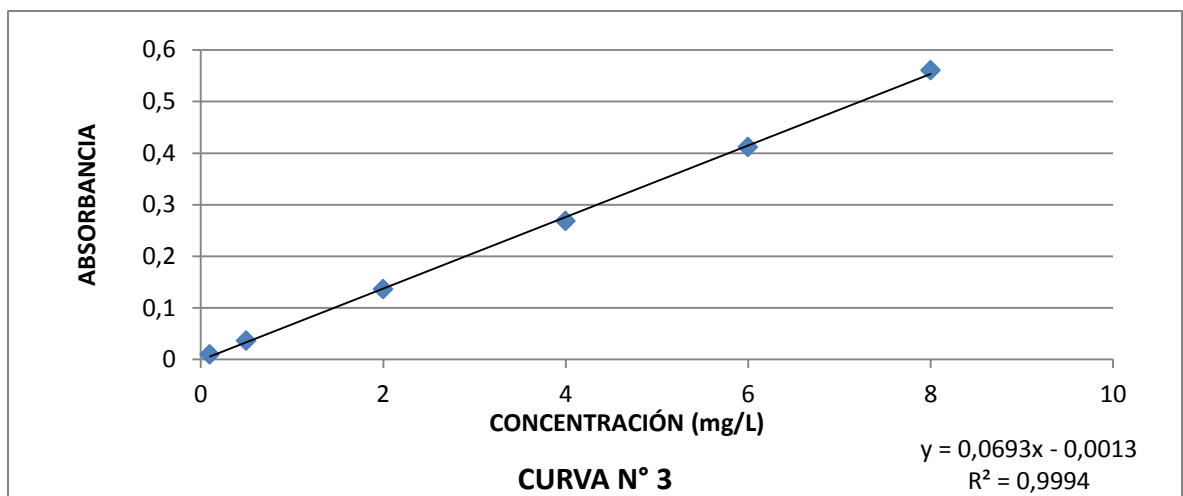
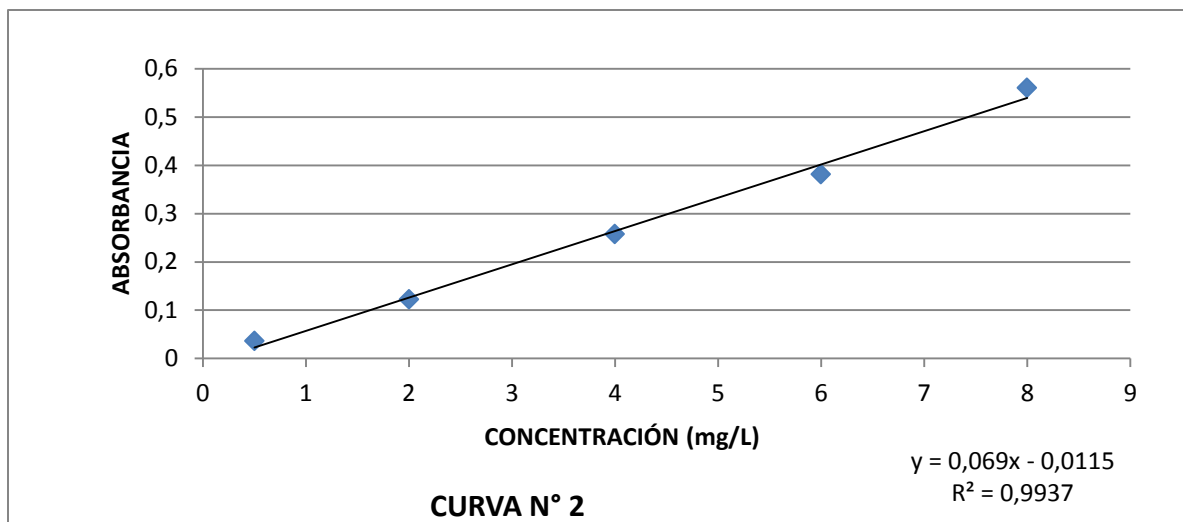
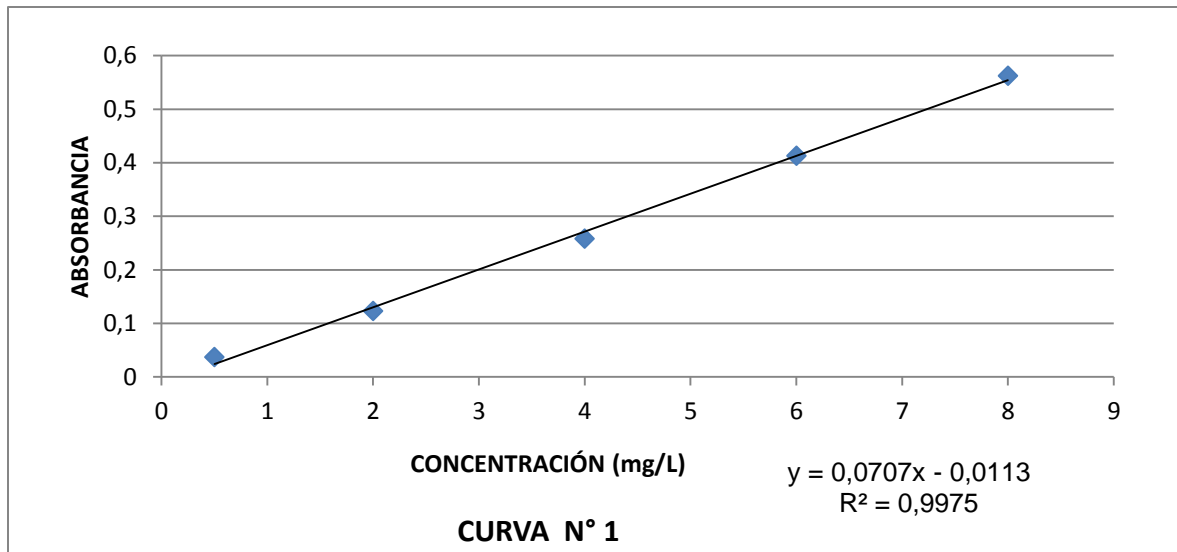


Figura N° 25. Curvas realizadas para la calibración del método.

Concentración (mg/L)	Absorbancia
0,5	0,036
2	0,136
4	0,268
6	0,411
8	0,560
10	0,759

Tabla N° 14. Datos correspondientes a la curva de calibración.

La ecuación de regresión lineal calculada de acuerdo a los datos obtenidos en la Tabla N° 14 fue la siguiente:

$$y = 0,0693x - 0,0013$$

Los resultados del análisis estadístico realizado a la técnica espectrométrica para la cuantificación de hidrocarburos totales fueron:

PARÁMETRO	VALOR
R²	0,9994
SD (mg/L)	0,012
RSD (%)	2,35
LD (mg/L)	0,037
LC (mg/L)	0,125
Sensibilidad (Absorbancia/mg/L)	0,069
LOL (mg/L)	10,000

Tabla N° 15. Datos estadísticos para la calibración

De acuerdo con los datos obtenidos:

El valor de R² se acercó mucho al valor ideal el cual es 1, esto indica que la curva de calibración se aproxima con una línea recta, indicando alta correlación entre las variables, [20, 21].

Según la desviación estándar (SD) y de la desviación estándar relativa (RSD), el método es repetible y reproducible. Puesto que el valor de RSD no sobrepasa el 10 % y la desviación de los datos no sobrepasa las 5 mg/L.

El LD reportado es aceptable ya que este es el mínimo cambio reportado por el equipo espectrofotométrico lo que permite tener un rango de probabilidad de error muy pequeño. Además este parámetro es un dato cualitativo permitiendo identificar si el analito de interés se encuentra presente o no, así sea a bajas concentraciones en la muestra a analizar minimizando el riesgo de cometer falsos positivos y falsos negativos [20, 21].

El LC reportado es aceptable, debido a que este es el límite inferior para las medidas cuantitativas precisas, que para efectos de la técnica permite tener lecturas de bajas concentraciones por debajo del valor máximo permitido.

La sensibilidad del método se tomó como la pendiente de la curva de calibración, la curva tiene una buena sensibilidad ya que a mayor pendiente mejor sensibilidad. Lo que indica que puede detectar pequeños cambios o variaciones en la concentración de forma precisa y clara en las muestra a analizar, ^[20, 21].

7.4 PARÁMETROS DE ESTANDARIZACIÓN

7.4.1 PRECISIÓN

Los parámetros de precisión fueron obtenidos al trabajar estadísticamente los datos (Tablas 16, 17 y 18), los resultados se presentan en la tabla N° 19.

PRECISIÓN									
PARÁMETROS ESTADÍSTICOS	REPETIBILIDAD			REPETIBILIDAD INTERMEDIA			REPRODUCIBILIDAD		
	Eb	Em	Ea	Eb	Em	Ea	Eb	Em	Ea
PROMEDIO	0,533	3,853	8,196	0,54	3,79	8,18	0,54	3,85	8,195
DESVIACIÓN	0,012	0,032	0,051	0,011	0,003	0,015	0,011	0,051	0,010
LÍMITE SUPERIOR	0,55	3,89	8,23	0,55	3,83	8,20	0,55	3,90	8,21
LÍMITE INFERIOR	0,52	3,81	8,11	0,53	3,77	8,17	0,53	3,78	8,19
COEFICIENTE DE VARIANZA (%)	2,35	0,82	0,62	2,14	0,79	0,18	2,14	1,33	0,122

Tabla N° 19. *Parámetros para la determinación de la precisión en términos de repetibilidad, repetibilidad intermedia y reproducibilidad.*

Para éste parámetro es necesario considerar el coeficiente de variación dado en porcentaje obtenido en las lecturas de estándar bajo de 0,5 mg/L, medio de 4 mg/L y alto de 10 mg/L.

Para hablar en términos tanto de reproducibilidad, como de repetibilidad intermedia y repetibilidad, el coeficiente de varianza es inferior a 10% el cual es el criterio de aceptación para que un método pueda ser considerado preciso.

7.4.2 RECUPERACIÓN

A continuación se presentan los parámetros con los que se calculó el porcentaje de recuperación, según los resultados obtenidos.

RECUPERACIÓN	
PARÁMETROS ESTADÍSTICOS	Muestra analizada (6 mg/L)
PROMEDIO	5,96
DESVIACIÓN	0,015
LÍMITE SUPERIOR	5,98
LÍMITE INFERIOR	5,95
%ERROR	0,67
PORCENTAJE DE RECUPERACIÓN	99,66

Tabla N° 20. Lecturas para determinar recuperación del método.

De acuerdo con los resultados obtenidos en la tabla 20, los valores de recuperación indicaron que el procedimiento de extracción fue efectivo en las condiciones de trabajo establecidas debido que el criterio de aceptación es que la recuperación está en un rango de 80% al 110%, ^[14,21],

7.4.3 EXACTITUD

Se presenta los datos promedios obtenidos para la determinación de la exactitud (Tabla N° 21).

PARÁMETROS ESTADÍSTICOS	EXACTITUD		
	BAJA	MEDIA	ALTA
PROMEDIO	0,533	3,835	8,15
DESVIACIÓN	0,012	0,033	0,033
LÍMITE SUPERIOR	0,55	3,87	8,23
LÍMITE INFERIOR	0,52	3,78	8,11
PORCENTAJE DE ERROR (%)	6,6	4,12	1,87
COEFICIENTE DE VARIACIÓN (%)	2,3	0,86	0,40

Tabla N° 22. *Parámetros para la determinación de la exactitud a tres niveles de concentración.*

Para hallar el valor de la exactitud, fue necesario utilizar el promedio de las medidas obtenidas en los análisis de los tres estándares, para hallar la concentración experimental y posteriormente determinar el % de error.

Para el estándar bajo de 0,5 mg/L el % error fue de 6,6%, para el estándar medio de 4 mg/L fue de 4,12% y para el estándar alto fue de 1,87% y el coeficiente de varianza fue menor al 10% en todos los casos, estos datos reflejan que el método es exacto.

7.4.4 LÍMITE DE CONFIANZA

- Estándar bajo:

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	,041	2	,020	1,676	,220
Intra-grupos	,182	15	,012		
Total	,223	17			

Tabla N° 23. Datos obtenidos en el análisis ANOVA del conjunto de datos de la precisión del estándar bajo

(I) Precisión	(J) Precisión	Diferencia de medias (I-J)	Error típico	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
					Límite inferior	Límite superior
Repetibilidad	repetibilidad intermedia	,1123	,06524	,259	-,0648	,2893
	reproducibilidad	-,0070	,06524	,994	-,1840	,1700
reproducibilidad	repetibilidad intermedia	,1193	,07797	,337	-,0924	,3309

Tabla N° 24. Datos obtenidos en el tratamiento estadístico para establecer el límite de confianza del 95% del estándar bajo por Sheffé

- Estándar medio:

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	,011	2	,006	4,461	,032
Intra-grupos	,018	14	,001		
Total	,029	16			

Tabla N° 25. Datos obtenidos en el análisis ANOVA del conjunto de datos de la precisión del estándar medio

(I) Precisión	(J) Precisión	Diferencia de medias (I-J)	Error típico	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
					Límite inferior	Límite superior
Repetibilidad	repetibilidad intermedia	,0617(*)	,02129	,037	,0034	,1199
	reproducibilidad	,0042	,02129	,981	-,0541	,0624
Reproducibilidad	repetibilidad intermedia	,0575	,02505	,107	-,0110	,1260

Tabla N° 26. Datos obtenidos en el tratamiento estadístico para establecer el límite de confianza del 95% del estándar medio por Shefflé

- **Estándar alto:**

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	,001	2	,000	,169	,846
Intra-grupos	,024	15	,002		
Total	,025	17			

Tabla N° 27. Datos obtenidos en el análisis ANOVA del conjunto de datos de la precisión del estándar alto

(I) Precisión	(J) Precisión	Diferencia de medias (I-J)	Error típico	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
					Límite inferior	Límite superior
Repetibilidad	repetibilidad intermedia	,0135	,02377	,853	-,0510	,0780
	reproducibilidad	,0010	,02377	,999	-,0635	,0655
reproducibilidad	repetibilidad intermedia	,0125	,02841	,908	-,0646	,0896

Tabla N° 28. Datos obtenidos en el tratamiento estadístico para establecer el límite de confianza del 95% del estándar alto por Shefflé

Analizando la significancia arrojada por el tratamiento estadístico en cada uno de los estándares estudiados, con el fin de asignarle una confianza del 95% y un 5% de incertidumbre al método, se puede concluir lo siguiente:

La comparación realizada entre el grupo de datos referentes a la precisión muestra unos valores de significancia superiores a 0,05, es decir, todos los datos recolectados durante la cuantificación de hidrocarburos en aguas, en el parámetro de precisión, pertenecen a la misma población, para los estándares alto y bajo.

Con el estándar medio, ocurre que entre el conjunto de datos analizados para la repetibilidad y repetibilidad intermedia, la significancia es inferior al 0,05, lo que indica que justo en esta medición se presentó un error de tipo humano o ambiental, pues al comparar los otros estándares y los parámetros estadísticos (repetibilidad, repetibilidad intermedia y reproducibilidad) de la misma muestra (estándar medio) no hubo otro conjunto de datos con una significancia menor a éste valor.

7.5 ANÁLISIS CUALITATIVO POR ESPECTROMETRÍA DE INFRARROJO

El análisis cualitativo de los hidrocarburos totales del petróleo (HTP's) por espectroscopia de infrarrojo es un método relativamente rápido para determinar la presencia de analito en una matriz de agua contaminada. La principal ventaja de la espectroscopia IR para medir (cuantitativamente) HTP's es que es un método simple, rápido y barato.

Los distintos grupos funcionales y tipos de enlaces tienen distintas frecuencias e intensidades de absorción. Los métodos para la medición de HTP's miden la absorción de los enlaces C-H. La mayoría de los métodos miden la absorción a una única frecuencia (generalmente 2930cm^{-1}) que corresponde a los grupos alifáticos CH_2 . Otros métodos usan más de una frecuencia, por ejemplo 2960cm^{-1} para el grupo CH_3 y de 3000 a 3100cm^{-1} para los enlaces C-H de los compuestos aromáticos, así pues que la absorción producida por los cambios de vibración-rotación de los enlaces C-H de los hidrocarburos se da en un rango de (3200 a 2700cm^{-1})

La cualificación se llevó a cabo comparando la absorción de la muestra contaminada con hidrocarburos contra tres muestras comerciales de diferentes combustibles (ACPM, gasolina, kerosene). El análisis por IR se realizó con un equipo de reflectancia total atenuada (ATR) con punta de diamante (ver numeral 6.1.4.2), teniéndose y determinando lo siguiente:

7.5.1 Espectro IR de ACPM comercial

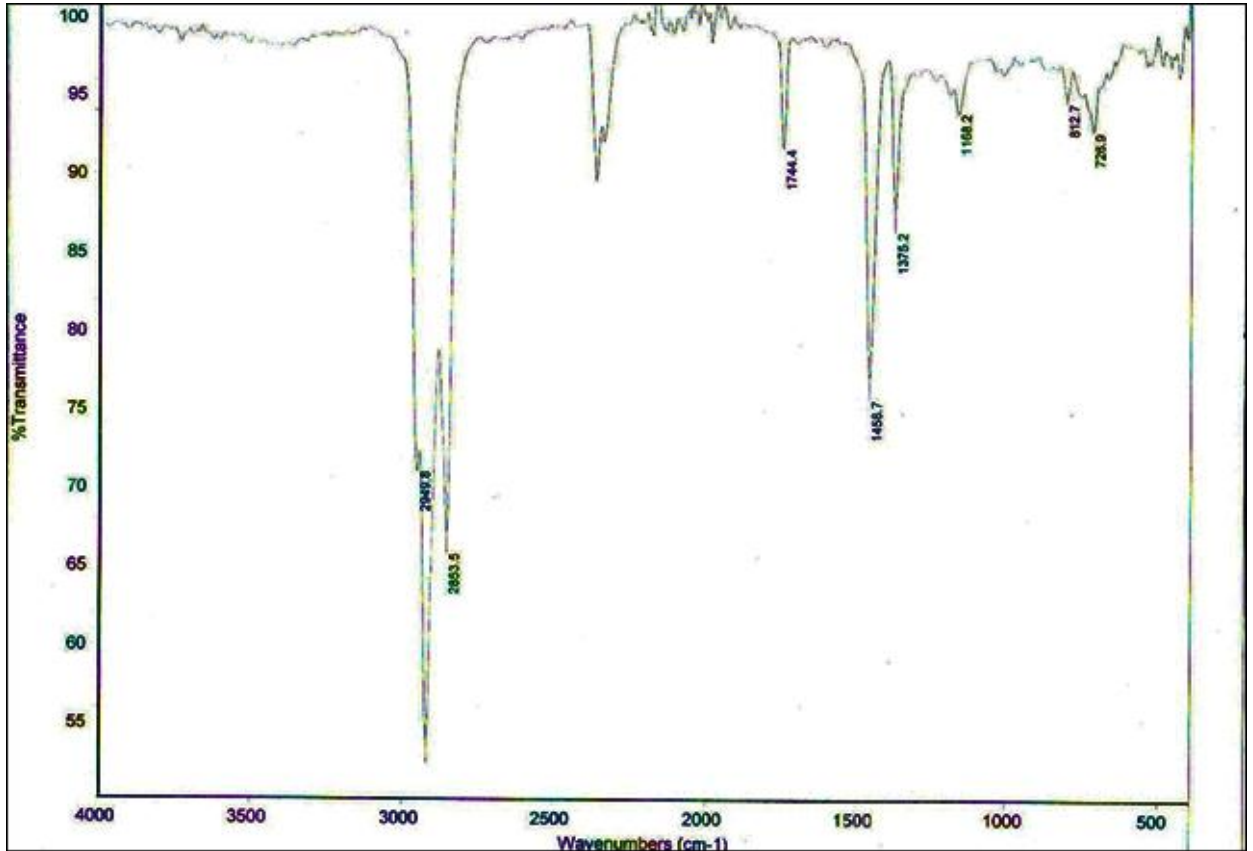


Figura N° 26. Espectro de Infrarrojo para el ACPM comercial

Como era de esperarse el ACPM comercial al ser un combustible constituido principalmente por hidrocarburos lineales, presenta estiramientos y deformaciones en los enlaces de tipo C_{sp3}-H y C_{sp3}-C_{sp3} evidenciados en la siguiente tabla.

Asignación	Intervalo normal (cm ⁻¹)	Observaciones
-CH	2949.8-2853.5	Se puede mostrar estiramientos asimétricos de los enlaces C-H entre los 2949.8 cm ⁻¹ y simétricos en los 2853.5 cm ⁻¹
-C-CH ₃ -CH ₃	1458.7 1375.2	Banda asimétrica Doblete en grupos metilos
-CH ₂ -	726.9	Confirmatorio para enlace metileno en C-(CH ₂) _n -C

Tabla N° 29. Datos espectroscópicos de IR para el ACPM comercial

7.5.2 Espectro IR para gasolina comercial

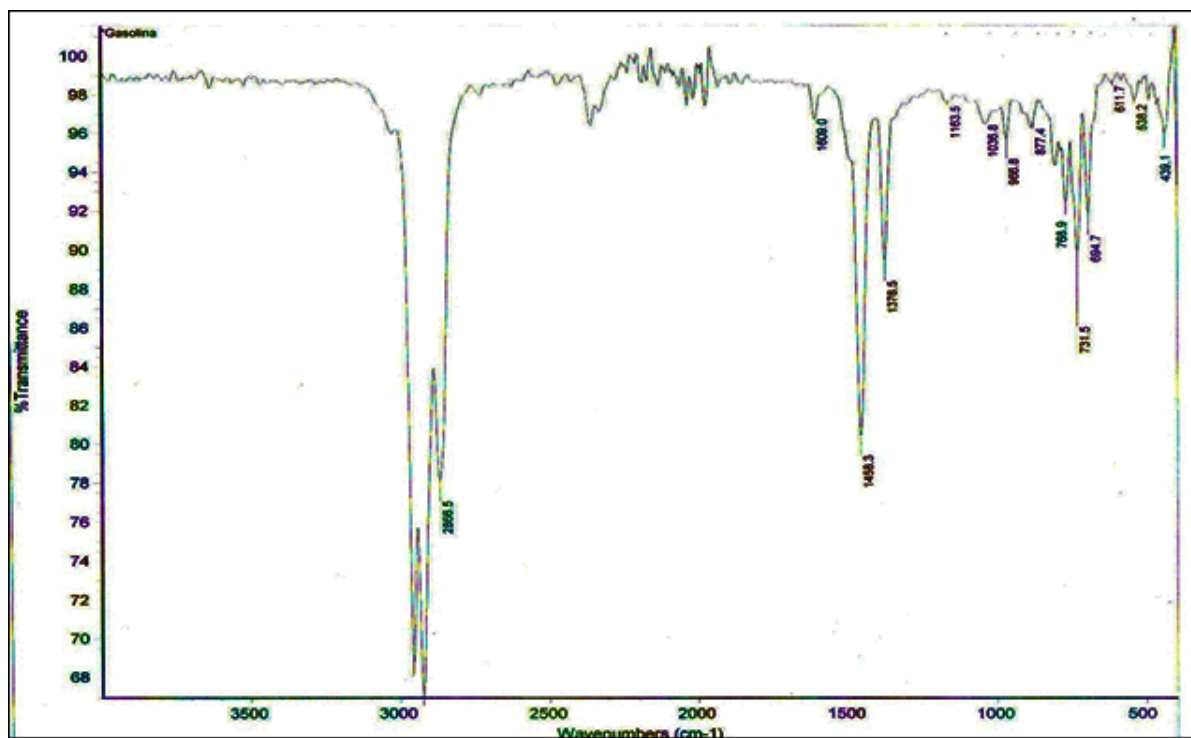


Figura N° 27. Espectro de Infrarrojo para Gasolina comercial.

Al tratarse de un combustible comercial podemos observar un espectro constituido por hidrocarburos lineales, a continuación se presentan las bandas de estiramiento y de deformación para la Gasolina, esto se puede evidenciar gracias a la vibración de los enlaces en la región de Infrarrojo

Asignación	Intervalo normal cm^{-1}	Intensidad	Observaciones
$\text{C}_{\text{sp}^3}\text{-H}$	3000-2850	Intensa	Estiramiento con banda media estrecha
C-CH ₂ con CH ₂ o CH ₃	1470-1450	Media	Vibración de Tijera CH ₂ y CH ₃ (Estrecha)
-CH(CH ₃) ₂	1376.5	Media	Deformación de enlace C-H en iso-grupos (medianamente estrechas)
-C-(CH ₂) _n -C	720-725	Media	Balanceo de cadena de al menos 4 grupos CH ₂ (media)

Tabla N°30. Datos espectroscópicos de IR para gasolina comercial

7.5.3 Espectro IR para kerosene comercial

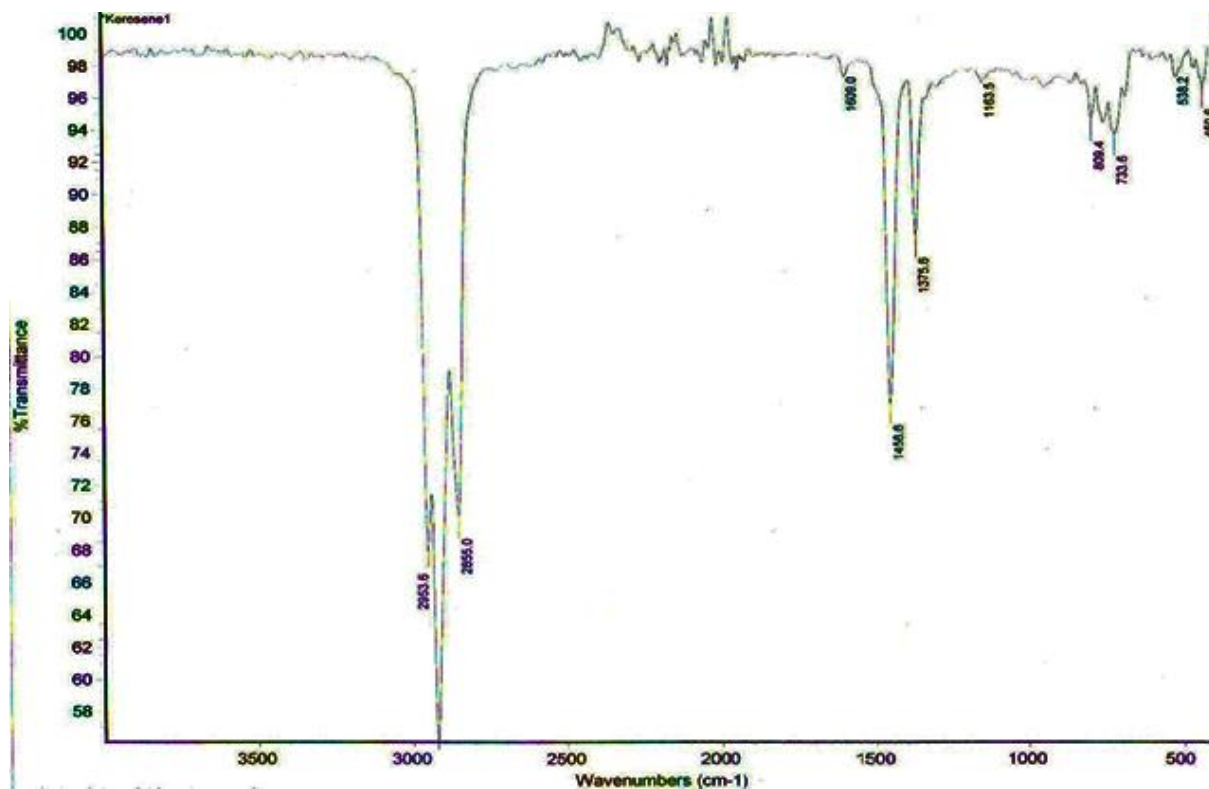


Figura N° 28 Espectro de Infrarrojo para Kerosene comercial.

Asignación	Intervalo normal cm^{-1}	Intensidad	Observaciones
$\text{C}_{\text{sp}^3}\text{-H}$	3000-2850	Intensa	Estiramiento con banda media estrecha
C-CH ₂ con CH ₂ o CH ₃	1470-1450	Media	Vibración de Tijera CH ₂ y CH ₃ (Estrecha)
-CH(CH ₃) ₂	1375.6	Media	Deformación de enlace C-H en iso-grupos (medianamente estrechas)
-C-(CH ₂) _n -C	720-725	Media	Balaceo de cadena de al menos 4 grupos CH ₂ (media)

Tabla N°31. Datos espectroscópicos de IR para Kerosene comercial

El espectro de IR para el Kerosene demuestra las principales bandas de absorción de los hidrocarburos presentes en este compuesto, se puede observar que el rango comprendido entre $2953.6 - 2855.0 \text{ cm}^{-1}$ muestra la vibración simétrica y asimétrica del enlace ($-\text{CH}_3$.)

7.5.4 Espectro IR de la mezcla de combustibles comerciales

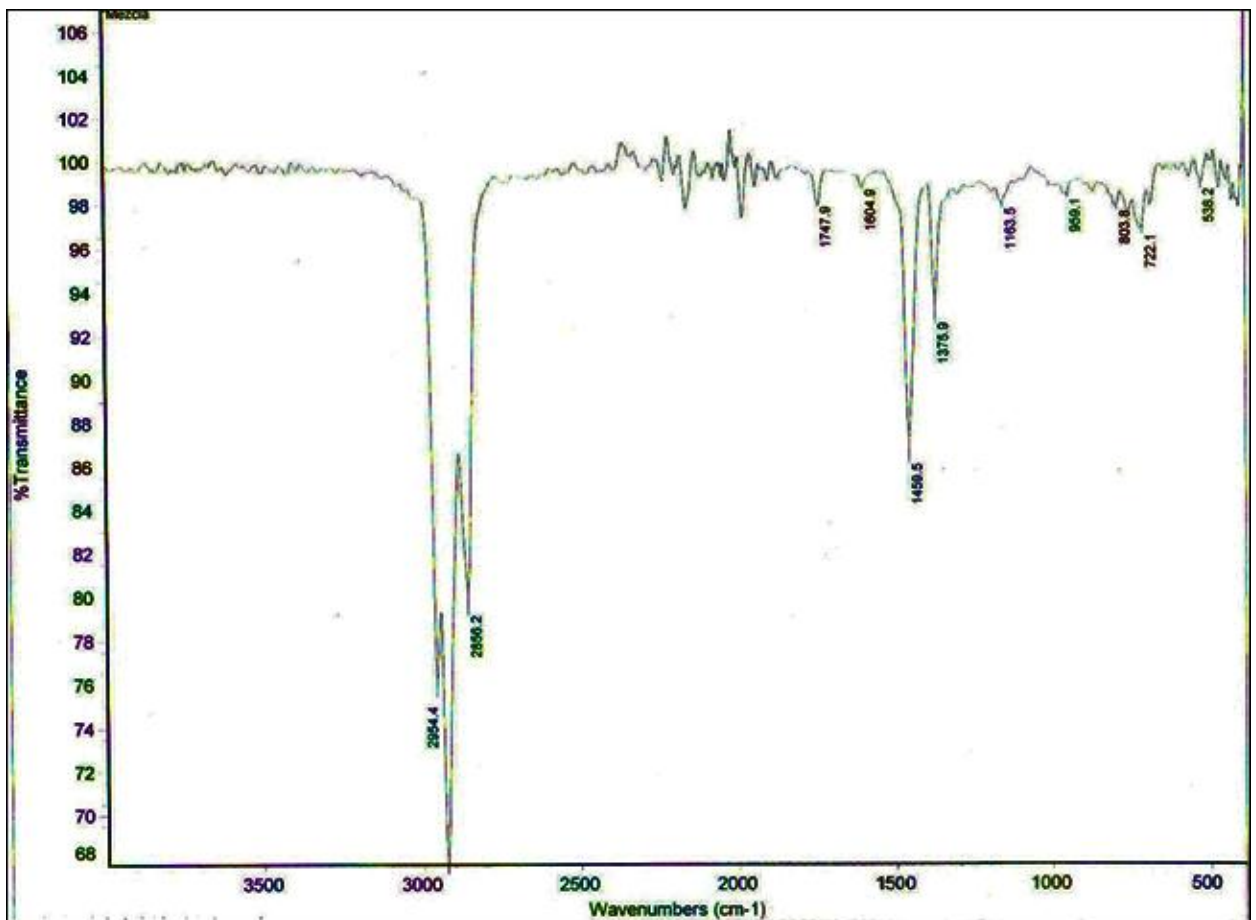


Figura N° 29. Espectro de Infrarrojo para mezcla de combustible comercial.

Asignación	Intervalo normal cm^{-1}	Intensidad	Observaciones
$\text{C}_{\text{sp}^3}\text{-H}$	3000-2850	Intensa	Estiramiento con banda media estrecha
C-CH ₂ con CH ₂ o CH ₃	1470-1450	Media	Vibración de Tijera CH ₂ y CH ₃ (Estrecha)
-CH(CH ₃) ₂	1375.9	Media	Deformación de enlace C-H en iso-grupos (medianamente estrechas)
-C-(CH ₂) _n -C	720-725	Media	Balaceo de cadena de al menos 4 grupos CH ₂ (media)

Tabla N°32. Datos espectroscópicos de IR para una mezcla de combustibles comerciales

El espectro de IR para el estándar de hidrocarburos lineales evidencia el comportamiento de los enlaces sencillos entre Carbono e Hidrógeno (-CH), compilados en la tabla N° 32. Así pues que la simetría y asimetría de los enlaces permiten determinar la absorción de los mismos.

7.5.5 Espectro IR de muestra contaminada con mezcla de combustibles comerciales

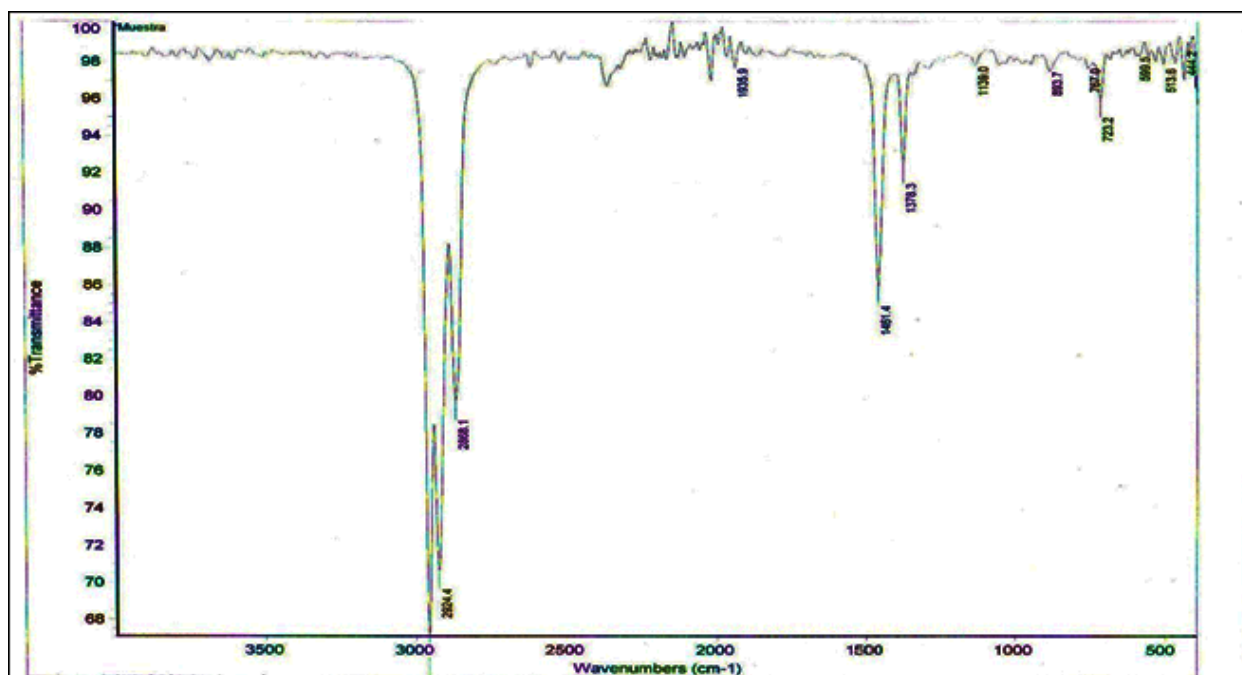
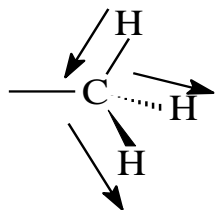


Figura N° 30 Espectro de Infrarrojo para una muestra de agua contaminada

Asignación	Intervalo normal cm^{-1}	Intensidad	Observaciones
$\text{C}_{\text{sp}^3}\text{-H}$	3000-2850	Intensa	Estiramiento con banda media estrecha
C-CH ₂ con CH ₂ o CH ₃	1470-1450	Media	Vibración de Tijera CH ₂ y CH ₃ (Estrecha)
-C-(CH ₂) _n -C	720-725	Media	Balaceo de cadena de al menos 4 grupos CH ₂ (media)

Tabla N°33. Datos espectroscópicos de IR para una muestra de agua contaminada.

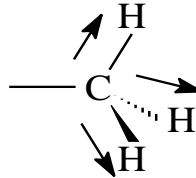
VIBRACIONES DE ESTIRAMIENTO C_{SP^3-H} :



modo asimétrico
dos se estiran y uno
se contrae



2924.4 cm^{-1}



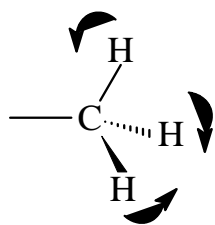
modo simétrico
los tres se estiran
y contraen en fase



2868.1 cm^{-1}

Figura N° 31 Vibraciones de estiramiento C_{SP^3-H} :

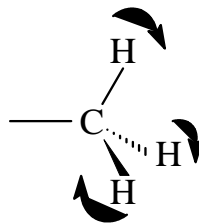
VIBRACIONES C_{SP^3-H} DE DEFORMACIÓN:



modo asimétrico



1461.4 cm^{-1}



modo simétrico



1378.3 cm^{-1}

Figura N° 32 Vibraciones de deformación C_{SP^3-H} :

7.6 ANÁLISIS PRELIMINAR CUALITATIVO POR CROMATOGRAFÍA DE GASES (CG)

El análisis por cromatografía de gases se realizó con el fin de saber los probables compuestos presentes en cada una de las muestras comerciales de los combustibles, para poder comparar cuales se encontraban en común y cuáles eran propios de cada uno, pues la muestra con la que se realizaron los patrones de la técnica espectrofotométrica, fue una mezcla de los mismos.

La cualificación se desarrolló con una mezcla estándar preparada con 17 hidrocarburos lineales a una concentración de 1% en cada uno de ellos. (Ver anexo 1)

En las figuras 33, 34,35 y 36 se muestran los diferentes cromatogramas obtenidos tanto del estándar como de cada uno de los combustibles estudiados.

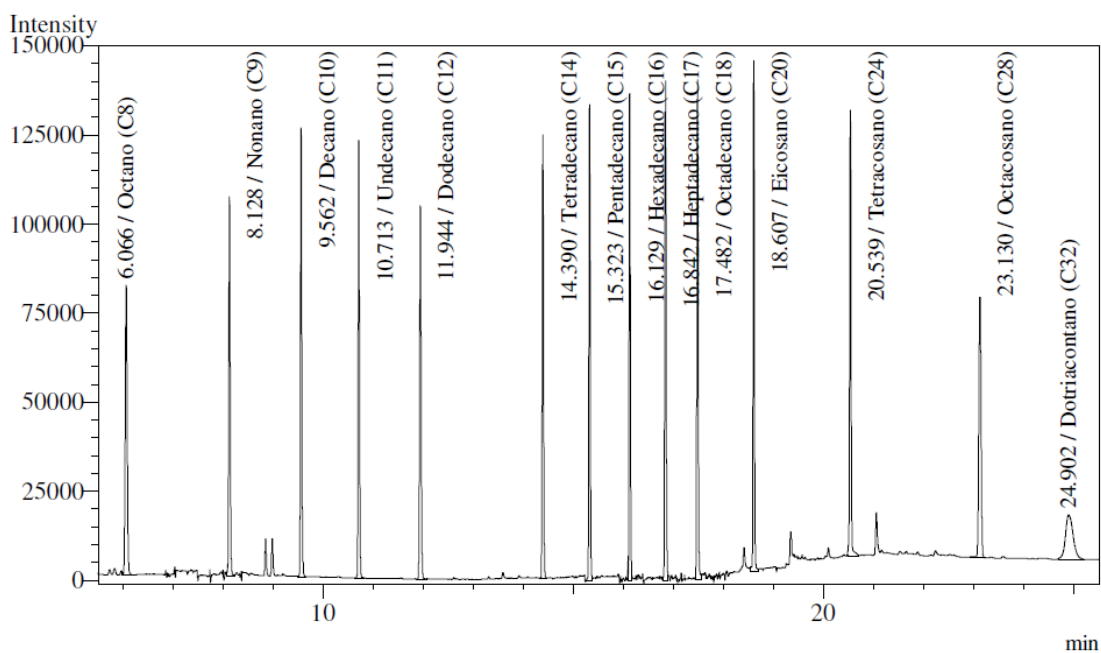


Figura N° 33. Cromatograma realizado de estándar hidrocarburos lineales.

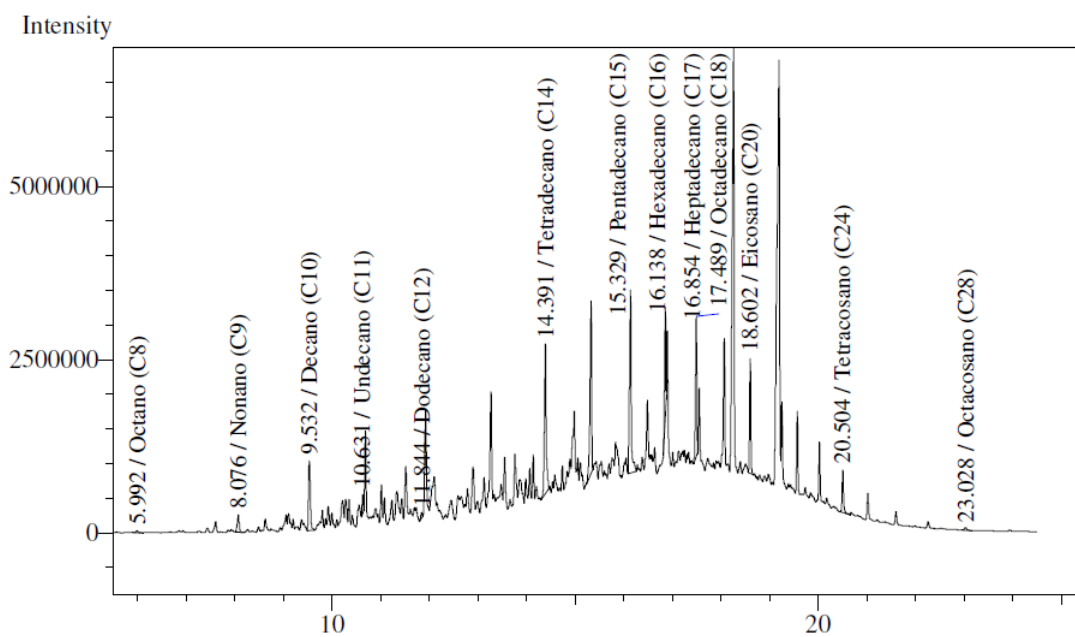


Figura N° 34. Cromatograma realizado de ACPM comercial.

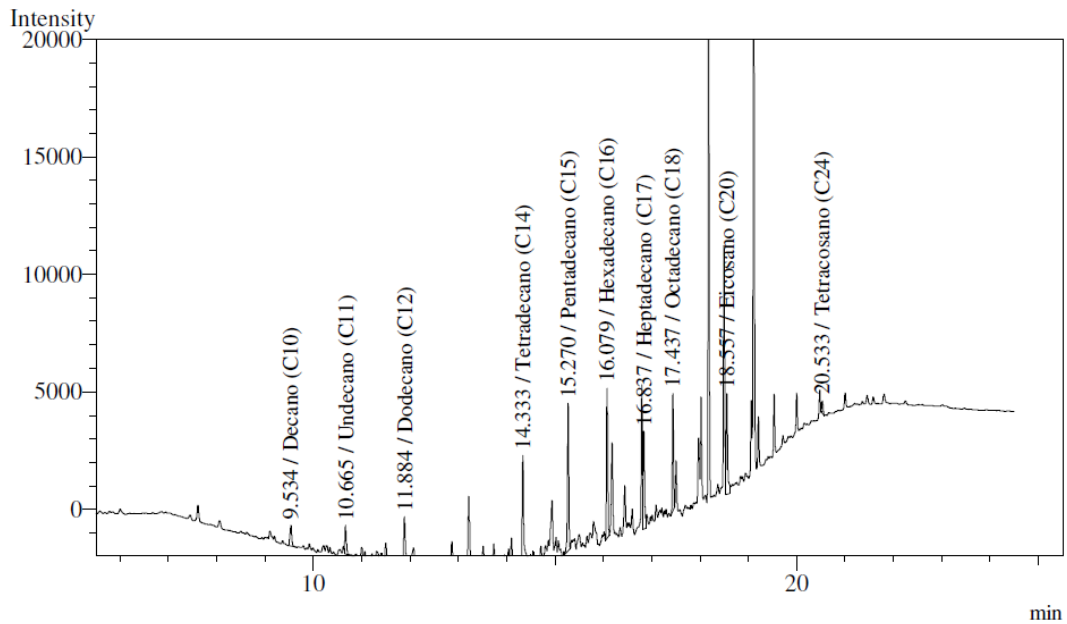


Figura N°35. Cromatograma realizado de Gasolina comercial.

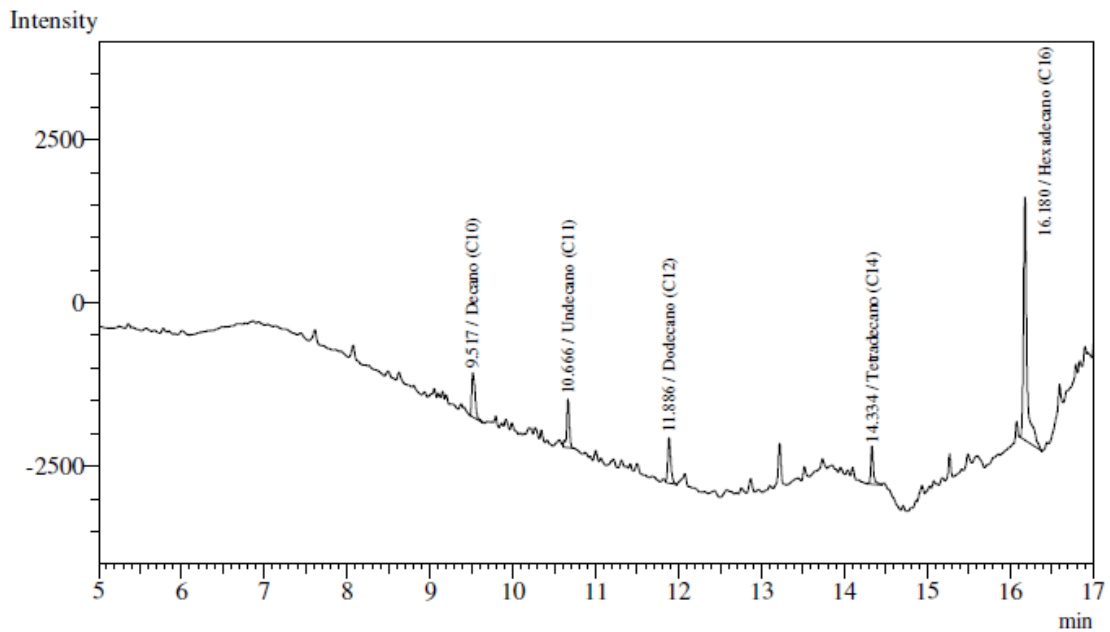


Figura N°36. Cromatograma realizado de Kerosene comercial.

Para realizar el análisis de los cromatogramas, es necesario comparar los tiempos de retención de cada uno de los compuestos presentes en el

estándar. En la Tabla N° 34 se muestran los tiempos de retención de las cuatro sustancias asociados respectivamente al posible hidrocarburo.

HIDROCARBUROS	TIEMPO DE RETENCIÓN (min)			
	ESTÁNDAR	ACPM	GASOLINA	KEROSENE
<i>Octano</i>	6,023	5,992	6,035	
<i>Nonano</i>	8,1	8,076	8,073	
<i>Decano</i>	9,5	9,532	9,534	9,517
<i>Undecano</i>	10,6	10,631	10,665	10,666
<i>Dodecano</i>	11,8	11,844	11,884	11,886
<i>Tetradecano</i>	14,38	14,391	14,333	14,334
<i>Pentadecano</i>	15,305	15,329	15,270	
<i>Hexadecano</i>	16,12	16,138	16,079	16,180
<i>Heptadecano</i>	16,828	16,854	16,837	
<i>Octadecano</i>	17,466	17,489	17,437	
<i>Eicosano</i>	18,6	18,602	18,557	
<i>Tetracosano</i>	20,548	20,504	20,533	
<i>Octacosano</i>	23,063	23,028		
<i>Dotriacontano</i>	24,9			

Tabla N° 34. *Tabla comparativa de tiempos de retención de ACPM, gasolina y kerosene frente al estándar de hidrocarburos lineales.*

Según los datos de tiempos de retención mostrados en la tabla anterior, se reconoce que el ACPM es el combustible con mayor número de hidrocarburos identificados frente al estándar con 13 de 14 que se observan en la lista. La gasolina también posee un número alto de los compuestos a reconocer, entre ellos el octano, el cual es el más representativo en el contenido de éste combustible, pues como es sabido, éste hidrocarburo es el que determina la calidad de una gasolina en el comercio. Con respecto al Kerosene, se identificaron cuatro hidrocarburos, éste resultado era de esperarse pues el kerosene es el destilado de la gasolina, proceso en el cual pierde los hidrocarburos de menor número de carbonos con respecto a la lista de referencia.

8. TIEMPO Y COSTOS DEL PROYECTO

CRONOGRAMA DE ACTIVIDADES								
ACTIVIDADES	MES							
	1	2	3	4	5	6	7	8
Revisión Bibliográfica	■	■	■	■	■			
Preparación de muestras a analizar	■							
Extracción Hidrocarburos		■						
Realización procedimientos experimentales			■	■	■	■		
Análisis de resultados				■	■	■	■	
Estandarización de la técnica				■	■	■	■	■
Interpretación de resultados						■	■	■
Entrega primer avance						■		
Entrega segundo avance							■	
Elaboración de informe final			■	■	■	■	■	■
Sustentación								■

Tabla N° 35. Cronograma de actividades

REACTIVOS Y MATERIALES	CANTIDAD	PRECIO (Pesos colombianos)
Sulfato de sodio anhidro	100 g	47.560,00
Hexano grado analítico HPLC 97% Ref. 34859	1700 mL	281.714,00
N-Hexadecano	100 mL	209.370,00
Sílica gel	25 g	282.533,00
Celdas cuarzo	2	700.000,00
Estándar mezcla de hidrocarburos lineales	1 mL	250.000,00
	TOTAL	Total: \$ 1'488.644

Tabla N° 36. Presupuesto estimado del proyecto

*Este monto fue suministrado por el laboratorio de Aguas y Alimentos y la Escuela de Química de la Universidad Tecnológica de Pereira.

9. RECOMENDACIONES

- El análisis cuantitativo de Hidrocarburos Totales del Petróleo también puede realizarse por la técnica de espectrometría de Infrarrojo, para una posterior comparación con el actual método estandarizado.
- Como Laboratorio de Aguas, es necesario solicitar a la entidad responsable del área ambiental, la instauración de un límite máximo permitido para la concentración de HTP's en aguas, basados en la reforma que se le puede llegar a hacer al decreto nacional 3930 de 2010 expedido por el ministerio de salud y en la resolución 30 de 2005 expedido por el ministerio de minas y energía, con el fin de presentar un informe más completo en los resultados del análisis.
- Para garantizar resultados más confiables, se aconseja analizar muestras con una concentración mínima de 0,5 mg/L en HTP's.
- El resultado de la determinación de límite de confianza para los datos comparativos de la repetibilidad y repetibilidad intermedia del estándar medio, recomienda una segunda valoración de estos parámetros, para un resultado confiable.

- Para la realización de este tipo de análisis se recomienda el uso de Solventes, en este caso, n – Hexano grado espectroscópico, el cual muestra una pureza superior al grado analítico.

10. CONCLUSIONES

- Se realizó el montaje y la estandarización de un método para la determinación de hidrocarburos totales en matrices de agua por medio de las técnicas de Infrarrojo y UV.
- Se encontraron los criterios de calidad analíticos: Límite de cuantificación (LC), Límite de detección (LD), Varianza (S), Sensibilidad, Exactitud, Precisión y límite de confianza del 95% en la determinación de hidrocarburos totales mediante la técnica de espectrofotometría de UV.
- Se determinaron las regiones de absorción en el infrarrojo por parte de los hidrocarburos presentes en combustibles comerciales, individuales y en mezcla.
- Se implementó un método de análisis cuantitativo por UV complementado con un análisis cualitativo por IR.

Para las condiciones de trabajo establecidas en el proceso de estandarización para la determinación de hidrocarburos totales en muestras de agua expresada en (mg/L) por el método de espectrofotometría de Ultravioleta en la Escuela de Química de la Universidad Tecnológica de Pereira se establecieron las siguientes conclusiones:

El rango de trabajo para el método está entre 0,5 y 10 mg/L utilizando como estándar una solución al 99% en una mezcla de ACPM; gasolina y kerosene comerciales.

El límite de detección del método es de 0,037 mg/L

El límite de cuantificación del método es de 0,125 mg/L

El límite de cuantificación se determinó por medio de ensayos preliminares que lograran satisfacer los requerimientos estadísticos para la realización de la estandarización de este método.

CARACTERÍSTICA	EXPRESADA EN	DATOS OBTENIDOS
Precisión	Coficiente de Varianza (%)	0,18
Exactitud	% Error	0,40
Linealidad	Coficiente de correlación	0,9994
%Recuperación	Porcentaje	99,66

- La región de absorción causada por los cambios de vibración-rotación de los enlaces C-H de los hidrocarburos se da en un rango de (3200 a 2700 cm^{-1})
- Los distintos tipos de enlaces tienen distintas frecuencias e intensidades de absorción que permitieron cualificar los HTP's.
- La principal ventaja del método es que resulta simple, rápido y comparativamente económico.

- En todos los hidrocarburos lineales se encontraron sólo estiramientos y deformaciones de enlaces como los $C_{sp^3}-H$ y $C_{sp^3}-C_{sp^3}$.
- El estudio preliminar por Cromatografía de Gases, le proporcionó al método una garantía de la presencia de hidrocarburos de interés en el análisis cuantitativo de los HTP, como lo son los hidrocarburos lineales de cadena larga y algunos en específico como el octano.
- Durante el proceso de estandarización se descartó la lectura de otros compuestos como grasas, las cuales también son extraídas con el hexano; realizando un barrido espectral de una mezcla de aceites comerciales y obteniendo un máximo de absorción a 215 nm.
- Colombia no posee una legislación reguladora en el contenido de HTP en aguas, por lo que fue necesario establecer un rango de trabajo basados en la experimentación analítica e instrumental.

BIBLIOGRAFÍA

[1] VARELA FERNANDEZ, Sandra. Energía de petróleo. [Artículo de internet] e Renovable, 2009. Disponible en: <http://erenovable.com/2009/07/22/energia-de-petroleo/> [Consulta: 20 de julio de 2011]

[2] ROUSSEL, J. Claude y BOULET, Raymond. El refine del petróleo: Petróleo crudo, productos petrolíferos, esquemas de fabricación. Madrid: Ediciones Díaz de Santos, S.A., 2004. pp. 1 – 8.

[3] CHOW PANGTAY, Susana. Origen y composición del petróleo. [Artículo de internet] Biblioteca digital. Disponible en: http://bibliotecadigital.ilce.edu.mx/sites/ciencia/volumen1/ciencia2/39/html/sec_8.html [Consulta: 20 de julio de 2011]

[4] SAN SEBASTIAN, Miguel, TANGUILA, Aníbal, SANTI, Santiago. Informe Yana Curi Impacto de la actividad petrolera en la salud de poblaciones rurales en la Amazonia ecuatoriana. Trabajo de investigación. Instituto de Epidemiología y Salud comunitaria Manuel Amúnarriz Medicus Mundi Gipuzkoa. En: Ecuador, 2004.

[5] AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION (APHA). Standard methods for the examination of water and wastewater. 16 ed. Washington DC: American Public Health Association, 2005. pp. 496-502.

[6] ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY (EPA). Manual of methods for chemical analysis of water and wastes. Cincinnati: Environmental Protection Agency, Office of Technology Transfer, 2006. pp. 226, 35.

[7] LEVY E.M., The identification of petroleum products in the marine environment by absorption spectrophotometry. WaterResearch 2007. pp. 57-69.

[8] FENDIPETROLEO, Resultados de Agenda Para el Fortalecimiento de la Gestión Ambiental. CARDER – FENDIPETROLEO, Seccional Risaralda. ISBN: 978-958-8370-24-8. Pereira, 2010. pp. 1, 8, 12-13

[9] VILLACRECES, L. Evaluación de factores que afectan la medición de hidrocarburos totales de petróleo (HTP) mediante espectroscopia IR en suelos Contaminados con petróleo intemperizado. [Artículo de internet] Laboratorio de Monitoreo Ambiental, Gerencia de Seguridad, Salud y Ambiente, EPPETROECUADOR Nueva Loja, Ecuador, 2011.

[10] ARÉVALO HIDALGO, Ana Graciela. Evaluación de un método por espectroscopía UV-VIS para la detección de contaminantes orgánicos en agua. Guatemala, octubre de 2006. Trabajo de grado (Ingeniería Química).

Universidad de San Carlos de Guatemala. Facultad de Ingeniería. Programa de Ingeniería Química.

[11] AGUIRRE ORTEGA, L., et al., Validación de métodos analíticos, ed A.E.F. Industria. España, 2001.

[12] COY, G.A., Protocolo. Estandarización de métodos analíticos, ed. I.D.E.A.M.P.F. Ambiental. Bogotá, 1999. pp. 4 -5.

[13] RILEY C.M. and T.W. ROSANKE, Development and validation of analytical methods. 1 Ed, ed. E. Science. Great Britain, 1996.

[14] Ministerio de Ambiente, Vivienda y Desarrollo Territorial. Estandarización de métodos analíticos, IDEAM, 2006. Versión 2.

[15] RIUS, F. X. et al., La validación de métodos analíticos. Revista Técnicas de Laboratorio, 2000. 252: pp. 382 – 385

[16] AGENCY FOR TOXIC SUBSTANCES & DISEASE REGISTRY (ATSDR). Hidrocarburos totales de petróleo. Agosto de 1999. Disponible en: http://www.atsdr.cdc.gov/es/toxfaqs/es_tfacts123.html [consulta: 19 de julio de 2011]

[17] SKOOG, D., WEST, D. M. Análisis instrumental 6^{ta} Ed. Editorial CENGAGE Learning 2008.

[18] FAÚNDEZ Z., M. Sistemas de comunicaciones. Ed. Marcombo, Boixareud Editores. España, 2001, pp 12.

[19] TABORDA Q., O., ALZATE R., E. J., MONTOYA N., C.H. Aplicación del numeral 5.4 Métodos de ensayo y calibración y validación de métodos de la norma ISO-IEC 17025 en el Laboratorio de Aguas de la Universidad Tecnológica de Pereira. Procedimiento general para validación de metodologías analíticas pp 10.

[20] Miller, J., Miller, J.; Estadística y quimiometría para química analítica. PEARSON EDUCATION, S.A Ed 4, 2002.

[21] Eurachem MÉTODOS ANALÍTICOS ADECUADOS A SU PROPÓSITO, guía de laboratorio para validación de métodos y tópicos. Ed. 1. 1998.

ANEXO 1. CONTENIDO DE ESTÁNDAR PREPARADO CON HIDROCARBUROS LÍNEALES.

Fue preparado con una concentración equivalente de 1% para cada compuesto.

Octano (C8)

Nonano (C9)

Decano (C10)

Undecano (C11)

Dodecano (C12)

Tetradecano (C14)

Pentadecano (C15)

Hexadecano (C16)

Heptadecano (C17)

Octadecano (C18)

Eicosano (C20)

Tetracosano (C24)

Octacosano (C28)

Dotriacotano (C32)