

ESTUDIO DE LA TÉCNICA DE EXTRACCIÓN ASISTIDA POR MICROONDAS PARA SU APLICACIÓN EN LA DETERMINACIÓN DE HIDROCARBUROS TOTALES DE PETRÓLEO EN SUELOS

STUDY OF THE MICROWAVE-ASSISTED EXTRACTION TECHNIQUE
FOR ITS APPLICATION TO THE DETERMINATION
OF TOTAL PETROLEUM HYDROCARBONS IN SOILS

Carlos Rodríguez P.¹ & Wendy Heredia R.¹

Palabras clave: Extracción asistida por microondas, Hidrocarburos totales de petróleo, TPH's, Espectrofotometría de Infrarrojo, suelo.

Key words: Microwave-Assisted Extraction (MAE), TPH, Total Petroleum Hydrocarbons, Infrared Spectroscopy, Soil.

RESUMEN

En el presente trabajo se desarrolló un método analítico eficiente para la extracción de Hidrocarburos Totales de Petróleo (TPH's por sus siglas en inglés) en suelos, usando extracción asistida por microondas (MAE por sus siglas en inglés) y se cuantificó por espectrofotometría de infrarrojo. Este artículo recalca la importancia de la etapa de tratamiento de la muestra por lo que se evaluaron y optimizaron las condiciones de extracción usando un equipo microondas

¹Centro de Servicios Ambientales y Químicos CESAQ-PUCE, Quito-Ecuador, (cerodriguez@puce.edu.ec, wherediar@puce.edu.ec)

programable. Además se realizó un estudio de validación que permitió avalar y satisfacer la necesidad analítica del método propuesto. Los principales resultados obtenidos para las condiciones de extracción fueron: cantidad de muestra 2 g; volumen de solvente 10 mL; temperatura de extracción 40 °C; tiempo de extracción 10 minutos y remoción de interferencias 1 g de sílica gel. Los resultados de los parámetros de validación fueron: linealidad de las curvas de calibración $R^2 > 0.99$; rango de trabajo 100-7500 mg/kg; límite de detección 25 mg/kg; límite de cuantificación 100 mg/kg; precisión de repetibilidad C.V. < 10% y precisión de reproducibilidad C.V. < 10%. Se realizó un análisis comparativo final de un material de referencia certificado usando extracción asistida por microondas frente a una técnica ya establecida, con lo cual se evaluó la aplicabilidad del método.

ABSTRACT

This research develops an efficient analytical method for the extraction of Total Petroleum Hydrocarbons (TPH's) in soils using Microwave-Assisted Extraction (MAE) and performing the quantification by infrared spectroscopy. The research recalls the importance of the extraction step within the analytical procedure for the analysis of TPH's. Different extraction conditions in the microwave-assisted extraction system were evaluated to optimize the analytical technique. The middle section of this work presents the main results obtained and noted the final extraction conditions: amount of sample 2 g; solvent volume 10 mL; extraction temperature 40 °C; extraction time 10 minutes and amount of silica to remove interferences 1 g. To satisfy the analytical method requirement, some validation parameters were evaluated enabling the proposed procedure to be executed, the following results are shown: linearity of the calibration curves $R^2 > 0.99$; working range 100-7500 mg/kg; limit of detection 25 mg/kg; limit of quantification 100 mg/kg; repeatability C.V. < 10% and reproducibility precision C.V. < 10%. One additional analysis which involved a certified reference material was performed by microwave-assisted extraction and a conventional technique to make an accuracy comparison. Finally, advantages of the proposed method are discussed.

INTRODUCCIÓN

El creciente desarrollo de las actividades hidrocarburíferas como la explotación, transporte, manejo y producción de derivados del petróleo han generado un aumento de la contaminación ambiental, provocando que el cuidado y remediación del medio ambiente sea una preocupación latente a nivel mundial. La continua realización de estas actividades representa una inevitable exposición de los hidrocarburos totales de petróleo al medio ambiente; la mayoría de estos compuestos ingresan al ambiente a manera de desechos o liberaciones industriales, accidentes o derrames de petróleo, o como subproducto de uso comercial, por lo que se ha requerido llevar un control de la contaminación. Una vez en el ambiente, estos productos representan un peligro para la vida marina, terrestre y son perjudiciales para la salud humana, por lo cual es importante llevar un seguimiento de la contaminación y evaluar las áreas afectadas para impulsar las remediaciones pertinentes, tanto en agua como en suelo.

Los análisis de hidrocarburos totales de petróleo (TPH's) son usados fre-

cuentemente con el fin de encontrar áreas de contaminación y resulta un indicador medioambiental necesario; la determinación de TPH's provee información acerca del conjunto de compuestos químicos provenientes del petróleo que han sido evaluados por una técnica analítica determinada (U.S. Department of Health and Human Services, 1999; Pons, 2010). El campo de la química analítica ofrece varias alternativas para la extracción, determinación y cuantificación del conjunto de hidrocarburos de petróleo. En la actualidad se trata de desarrollar, establecer y optimizar procesos analíticos cada vez más eficientes que permitan una detección de este tipo de analitos en forma rápida, confiable, segura, aminorando los costos e incrementando la eficiencia del número de análisis.

La extracción por microondas ha sido usada por muchos años para extraer compuestos de diferentes matrices: biológicas, alimentos, agua contaminada y muchos otros tipos de muestras; además actualmente tiene un amplio uso en la digestión de muestras para el análisis de metales. Las

técnicas microondas empezaron a desarrollarse en base a la necesidad de encontrar e implementar métodos más rápidos, seguros, eficientes y relativamente más baratos (Budzinski & Letellier, 1999).

La radiación microondas es capaz de ejercer una acción directa sobre el material que absorbe una parte de la energía electromagnética y la transforma en calor. Esta energía alcanza para provocar rotación y movimientos desorganizados de las moléculas afectadas por este tipo de radiación electromagnética. Durante un proceso de extracción, sucede una alineación de moléculas dipolares de la mezcla solvente-muestra debido a la exposición al componente eléctrico de las microondas, lo que produce migración de iones y rotación de moléculas con momentos dipolares generando consecuentemente energía en forma de calor. (Budzinski & Letellier, 1999; California Environmental Protection Agency, 2000).

De esta manera, el presente estudio propone como objetivo principal, optimizar y establecer una técnica de extracción de hidrocarburos totales de petróleo en suelo usando extracción asistida por microondas y realizando la detección de los analitos por espectrofotometría de infrarrojo con Transformada de Fourier. El estudio se dividió en dos etapas: en la primera etapa se establecieron las condiciones óptimas de extracción que permitieron obtener los más altos porcentajes de recuperación en suelos limpios fortificados; en la segunda etapa se evaluaron los requerimientos analíticos que permitieron calificar a la técnica como confiable y aplicable, para lo cual se realizaron fortificaciones en suelos limpios y blancos de suelos. Además se copiaron los porcentajes de recuperación de materiales de referencia certificados para evaluar la exactitud del método y se compararon con las recuperaciones obtenidas empleando un método alterno como la extracción por ultrasonido.

MATERIALES Y MÉTODOS

Reactivos

- Solvente S-316 p.a. Horiba
- Sílica gel de 100 a 200 mesh. Merck.
- Agua destilada de conductividad menor a 0.1 $\mu\text{S}/\text{cm}$.

Estándares y materiales de referencia

- Estándar de Hidrocarburos Totales de Petróleo, marca Chemservice, Catálogo: M-TPH4181-10ML, Mezcla GRO-DRO-418, lote: 410000.
- Blanco de suelo, DataPackTM, catálogo N° 056, lote N° 56013.
- Material de Referencia Certificado marca ERA, catálogo 570, lote D069-632 (MRC-1).
- Material de Referencia Certificado marca ERA, Catálogo 570, lote D071-632 (MRC-2).

Metodología

El suelo obtenido para los ensayos de optimización de las condiciones de extracción fue una mezcla de suelos de tipo arenoso, tomados de manera puntual en varias zonas de los valles interandinos del Parque Nacional Cotopaxi, localizado en la sierra central

del Ecuador; este tipo de suelo presenta una baja retención de humedad, un alto grado de erosión y muy baja contaminación (ECOLAP y MAE, 2007); ensayos previos al estudio fueron realizados y no se encontró contaminación por hidrocarburos. Para la etapa de validación de la técnica, se usaron principalmente blancos de suelos certificados.

El tratamiento de la muestra se inició con el secado del suelo en una estufa marca Memmert a 60 °C durante 24 horas; transcurrido ese tiempo, la muestra se enfrió en un desecador y se homogenizó empleando un sistema de tamices de número mesh 16, 30 y 40 en orden descendente hasta alcanzar un tamaño de partícula menor a 425 μm ; se probó pesando 2, 3, 4 y 5 g de suelo en una balanza analítica marca Mettler-Toledo; la extracción se realizó en un equipo microondas marca CEM MARS Xpress (Figura 1), utilizando viales de teflón para contener a la muestra, con estuches de kevlar y un carrusel porta viales; también se emplearon pastillas de calentamiento de Carboflón que ayudan a absorber energía microondas adecuadamente.



**Figura 1. Equipo microondas
marca CEM MARS Xpress**

La extracción se realizó probando tiempos de 5, 10, 15 y 20 minutos a temperaturas de 40, 50, 60, 70 y 80 °C; el solvente empleado para la extracción fue el clorotrifluoroetileno (S-316) y se ensayó con 10 y 25 mL. Posterior a la extracción se realizó una remoción de interferencias a través de sílica gel usando 0.5, 0.7, 1.0 y 1.5 g. Cada condición fue evaluada de manera individual manteniendo constantes el resto de variables consideradas. La detección y cuantificación de los hidrocarburos totales de petróleo se realizó en un espectrofotómetro de infrarrojo con transformada de Fourier marca Perkin Elmer, modelo Spectrum BX, utilizando celdas de cuarzo marca Perkin Elmer

con un camino óptico de 1.00 cm. Una vez determinadas las condiciones óptimas de extracción, se procedió a evaluar los parámetros de validación del método en conjunto, tanto de la extracción como de la técnica instrumental empleada. Se comprobó la linealidad de curvas de calibración en 4 días de validación mediante coeficientes de correlación; se determinó el límite de detección al encontrar la menor concentración medible utilizando el proceso de extracción propuesto; así mismo se estableció el límite de cuantificación midiendo la menor concentración a la cual se obtuvo una recuperación de $100 \pm 10\%$; se hizo también un análisis de la menor y mayor variabi-

lidad esperada determinando coeficientes de variación en condiciones de repetibilidad y reproducibilidad ensayando varias muestras a la vez, alternando los días de ensayo y a diferentes niveles de concentración.

Finalmente se analizaron materiales de referencia certificados bajo las condiciones de extracción establecidas con los que se evaluaron la exactitud y fiabilidad del proceso de extracción y cuantificación.

RESULTADOS

Optimización de las condiciones de extracción:

En los ensayos para la optimización de la cantidad de sílica gel para eli-

minar interferencias se encontró que la más apropiada para la limpieza fue de 1.0 g, con una recuperación de 86% (Tabla 1).

Tabla 1. Valores promedio de recuperación en los ensayos de optimización de la cantidad de sílica gel

Sílica (g)	Promedio de recuperación (%)
0.5	82.3
0.7	84.2
1.0	86.0
1.5	83.0

El volumen de solvente óptimo para la extracción fue de 10 mL al obtenerse un promedio de recuperación de 98.7%, a comparación de la recuperación obtenida con 25 mL que fue de 95.3%.

Se estableció que 2 g es la cantidad de suelo apto para obtener los mejores resultados en la extracción (Tabla 2).

Tabla 2. Valores promedio de recuperación en los ensayos de optimización de la cantidad de suelo

Peso (g)	Promedio de recuperación (%)
2	97.8
3	97.0
4	96.5
5	92.6

Las pruebas de condicionamiento de la temperatura en el equipo microondas sugirieron que 40 °C es la tempe-

ratura óptima para el procedimiento propuesto (Tabla 3).

Tabla 3. Valores promedio de recuperación en los ensayos de optimización de la temperatura de extracción

Temperatura (° C)	Promedio de recuperación (%)
40	97.8
50	91.4
60	95.2
70	94.7
80	93.4

Se comprobó experimentalmente que un tiempo de extracción de 5 a

10 minutos es suficiente para obtener una buena recuperación (Tabla 4).

Tabla 4. Valores promedio de recuperación en los ensayos de optimización del tiempo de extracción

Tiempo (min)	Promedio de recuperación (%)
5	97.8
10	98.4
15	89.9
20	89.6

Validación del método

Las verificaciones de linealidad de las curvas de calibración en los 4 días de validación mostraron coeficientes de correlación mayores a 0.99.

Se encontró que el límite de detección empleando el procedimiento de extracción propuesto fue de 25 mg/kg y el límite de cuantificación fue de 100 mg/kg (Tabla 5).

Tabla 5. Valores de recuperación en la determinación del límite de detección y cuantificación

Punto en el rango (mg/kg)	Estándar (mg/L)	Lectura (mg/L)	Resultado (mg/kg)	Recuperación (%)
Blanco	0	-0.5665	0	-
25	5	7.4884	37.4	167.0
50	10	15.3475	76.4	160.2
100	20	19.1134	95.1	96.9
250	50	52.8929	258.0	103.3
500	100	102.8732	499.4	99.4

Se obtuvieron coeficientes de variación menores al 10% para la menor

y mayor precisión esperada en el desarrollo de la extracción (Tabla 6).

Tabla 6. Valores calculados de porcentaje de repetibilidad, reproducibilidad y recuperación a diferentes niveles de concentración

Estándar (mg/kg)	Repetibilidad (%)	Reproducibilidad (%)	Recuperación (%)
250	8.90	8.10	106.89
1000	4.35	4.48	96.20
2500	1.82	3.40	100.41
5000	2.34	4.05	99.16
Promedio	4.35	5.01	100.66

Los resultados de exactitud en cuanto a los porcentajes de recuperación en dos materiales de referencia certifica-

dos fue satisfactorio, obteniéndose recuperaciones entre $100 \pm 10\%$ (Tabla 7 y 8).

Tabla 7. Análisis de MRC-1 en condiciones de repetibilidad

Muestra	Lectura muestra (mg/L)	Resultado (mg/kg)	Valor teórico (mg/kg)	Recuperación (%)
1	290.2928	1458.8	1570	92.91
2	283.8226	1419.1	1570	90.39
3	360.0545	1722.7	1570	109.73

Tabla 8. Análisis de MRC-2 en condiciones de reproducibilidad

Día	Lectura Muestra (mg/L)	Resultado (mg/kg)	Valor teórico (mg/kg)	Recuperación (%)
1	251.5237	1251.4	1220	102.57
2	250.9612	1248.6	1220	102.34
3	227.2284	1124.9	1220	92.20

Finalmente, se compararon los porcentajes de recuperación de dos materiales de referencia certificados empleando la extracción asistida por microondas y el método alternativo de extracción por ultrasonido. Los resul-

tados reflejaron una mejor extracción usando microondas ya que se obtuvo un 98.0% de recuperación frente al 93.4% utilizando extracción por ultrasonido.

DISCUSIÓN

Condiciones de extracción

Remoción de interferencias: se sabe que el proceso de limpieza es muy importante especialmente cuando se realiza la identificación por espectrofotometría de infrarrojo, puesto que éste es un método sensible a interferencias que pueden ser medidas y confundidas con hidrocarburos de petróleo; compuestos que no provienen del petróleo como grasas de origen vegetal o animal en cuya estructura se encuentren enlaces C-H, pueden representar interferencia (TPH Criteria Working Group, 1998). En el ensayo se pudo apreciar que a menores cantidades de sílica gel en el proceso de limpieza, la recuperación es baja; empleando 1.0 g de sílica, solo los compuestos interferentes son removidos, sin embargo algunos constituyentes polares del petróleo podrían ser también removidos cuando se limpia con mayores cantidades de sílica, por lo que con 1.5 g de sílica, la recuperación se redujo.

Volumen de solvente: el condicionamiento del volumen de solvente

usado durante la extracción muestra promedios de recuperación superiores al 95% para cada volumen. Experimentalmente se estima que no existen variaciones significativas en cuanto al volumen de solvente utilizado, sin embargo se perciben recuperaciones mayores al utilizar 10 mL de solvente, por lo cual se seleccionó éste como volumen óptimo para el procedimiento propuesto, tanto por la recuperación conseguida como por el ahorro de solvente.

Cantidad de muestra: se obtuvieron recuperaciones superiores al 90% para cada prueba realizada, sin embargo se observa una tendencia a disminuir la recuperación a medida que se aumenta la cantidad de suelo utilizado, posiblemente por la saturación del solvente (Romero, 2010).

Temperatura de extracción: cada temperatura probada mostró recuperaciones por encima de 90%. Estudios previos han concluido que no existe una variabilidad considerable con respecto a la temperatura en la mayoría de procesos de extracción (Budzinski & Letellier, 1999; LeBlanc,

1999). Para el presente estudio, también se observó que no existen variaciones significativas al realizar la extracción a cada una de estas temperaturas, pero se detecta un ligero decrecimiento de la recuperación a temperaturas mayores a 40 °C, por lo que se podría suponer que existe algún tipo de pérdida o degradación de los componentes más livianos de la mezcla de hidrocarburos.

Tiempo de extracción: se observa que no existen variaciones considerables para 5 y 10 minutos; las recuperaciones disminuyeron para 15 y 20 minutos de extracción. Según estudios publicados por varios autores, el tiempo de extracción para hidrocarburos totales de petróleo en suelos no es un factor significativo en rangos de tiempo entre 5 y 30 minutos (Budzinski & Letellier, 1999; Lopez-Avila et al., 1994). Para el propósito de investigación y optimización del presente método propuesto, se seleccionó un tiempo de 10 minutos de extracción como valor óptimo.

Validación del método

El método propuesto satisface la necesidad analítica de regirse a los

parámetros adecuados para el desarrollo experimental de la técnica. Se obtuvieron coeficientes de correlación superiores a 0.99, garantizando la linealidad y proporcionalidad de los resultados. Se logró un límite de detección de 25 mg/kg y un límite de cuantificación de 100 mg/kg por sobre el cual se pueden esperar recuperaciones de $100 \pm 10\%$. El intervalo de trabajo adecuado para la extracción por microondas se estableció entre 100 mg/kg a 7500 mg/kg; se obtuvieron coeficientes de variación menores al 10% para la menor y mayor precisión esperada en el desarrollo de la extracción, con lo cual se garantiza la precisión y robustez del método propuesto. Finalmente las pruebas de exactitud en materiales de referencia certificados produjeron resultados altamente confiables, con porcentajes de recuperación entre $100 \pm 10\%$ en condiciones de repetibilidad, de reproducibilidad y en comparación con la extracción por ultrasonido, lo que demuestra una buena fiabilidad de la extracción por microondas en combinación con la cuantificación por espectrofotometría de infrarrojo.

CONCLUSIONES

La determinación de hidrocarburos totales de petróleo, empleando la técnica de extracción asistida por microondas y cuantificación por espectrofotometría de infrarrojo, permitió establecer una técnica eficiente tanto en la etapa de preparación de la muestra y extracción de los analitos, como también en la cuantificación de los mismos. Esta técnica logró adecuarse a la necesidad de recurrir a menores tiempos y mayor productividad en cuanto a análisis realizados.

Con la optimización de las condiciones de extracción se logró un mejor entendimiento de la relación e influencia de cada una de las condiciones durante todo el proceso analítico. La interpretación de la influencia de

estas variables en la extracción mediante microondas puede dar paso a estudios posteriores de mejoramiento del método o de métodos similares, o para el estudio de fracciones puntuales de hidrocarburos analizados con distintos métodos de cuantificación.

Fue posible la aplicación del procedimiento propuesto frente a otro método convencional, validado, reconocido y confiable como es la técnica de extracción por ultrasonido.

Se obtuvieron resultados analíticos equivalentes en el análisis de materiales de referencia, lo que sugiere una alta eficiencia del método de extracción asistida por microondas.

LITERATURA CITADA

- Budzinski, H. and Letellier, M. (1999). Microwave assisted extraction of organic compounds, Université Bordeaux, pp. 259.
- California Environmental Protection Agency, (2000), Microwave-Accelerated Reaction System, Model MARS-X, for the Extraction of Organic Pollutants from Solid Matrices, CEM Corporation, United States.
- ECOLAP y MAE. (2007). Guía del Patrimonio de Áreas Naturales Protegidas del Ecuador. ECOFUND, FAN, DarwinNet, IGM. Quito, Ecuador.
- LeBlanc, G. (1999). Microwave-accelerated techniques for solid sample extraction. LC GC, 17(6), 6-S30.
- Lopez-Avila, V., Young, R. and Beckert, W. (1994). Microwave-assisted extraction of organic compounds from standard reference soils and sediments. Analytical Chemistry, 66(7), pp 1097-1106.
- Pons, M., (2010). Extracción de hidrocarburos y compuestos derivados del petróleo en suelos agrícolas de la cuenca baja del río Tonalá. Tesis de grado de Maestra en Ciencias, Programa de maestría en producción agroalimentaria en el trópico, Colegio de Postgraduados, México.
- Romero, D. (2010). Desarrollo y validación de un método para la determinación de hidrocarburos totales de petróleo (TPH's) mediante espectrofotometría de infrarrojos con transformadas de Fourier en suelos fortificados, Disertación de Licenciatura en Ciencias Químicas, Pontificia Universidad Católica del Ecuador, Ecuador.
- Total Petroleum Hydrocarbon Criteria Working Group Series, (1998), Analysis of Petroleum Hydrocarbons in Environmental Media, Volume 1, Amherst Scientific Publishers, Massachusetts.
- U.S. Department of Health and Human Services, (1999), Toxicological Profile for Total Petroleum Hydrocarbons. Agency for Toxic Substances and Disease Registry, Atlanta, United States.