



**UNIVERSIDAD NACIONAL DE LA PAMPA  
FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES**

Departamento de Química



**Determinación del Contenido de  
Hierro, Manganeso y Cobre en Suelos Biorremediados,  
como Parámetros de Evaluación de Impacto Ambiental  
en la Zona Petrolera Medanito – 25 de Mayo  
(La Pampa).**



**TRABAJO DE TESIS DE GRADO  
LICENCIATURA EN QUÍMICA**

Presentado por

**LAURA ANTONELA ITURRI**

Directora

**MSc. MARÍA SUSANA BOERIS**

Co - director

**Dr. JOSÉ MANUEL CAMIÑA**

SANTA ROSA – LA PAMPA  
2009

## **PREFACIO**

Esta Tesina es presentada como parte de los requisitos para optar al grado Académico de Licenciado en Química de la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales de la Universidad Nacional de La Pampa y no ha sido presentada previamente para la obtención de otro título en esta Universidad ni en otra Institución Académica. Se llevó a cabo en el Departamento de Química de la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, durante el período comprendido entre el 27 de junio de 2008 y el 24 de abril de 2009, bajo la dirección de la MSc. María Susana Boeris y bajo la co - dirección del Dr. José Manuel Camiña.

**24 / 04 / 2009**

.....

**Laura Antonela ITURRI**  
**Departamento de Química**  
**Facultad de Ciencias Exactas y Naturales**  
**Universidad Nacional de La Pampa**

## AGRADECIMIENTOS

*A la Directora del Departamento de Química, MSc. María Susana Boeris, mi Directora de Tesis y al Dr. José Manuel Camiña, mi Co – director, por su incondicional apoyo, motivación y orientación brindada; y por sobre todas las cosas por su calidez humana y por el cariño y la confianza depositada en mi. Me siento orgullosa de haberlos tenido como profesores y luego, de haber contado con su dirección. ¡Mil veces Gracias!*

*Mis agradecimientos son también para con todos los profesores del Departamento de Química de la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales de la Universidad Nacional de La Pampa por su calidez humana y constante apoyo.*

*Además, debo agradecer enormemente a mi Familia por brindarme el mejor legado: la posibilidad de realizar y concretar mis estudios universitarios; en especial a mi Mamá Mónica, a mi Abuela María Esther y a mi Novio Sebastián, por brindarme toda su confianza, compañía, inmenso apoyo y constante estímulo. ¡Los Adoro!*

*A Marianela, Katia y Silvana, mi Amigas y Compañeras; que juntas recorrimos este camino, apoyándonos y acompañándonos siempre cada día. ¡Las Quiero!*

*Al Departamento de Química de la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales de la UNLPam, que me ha dado la posibilidad, de completar mis estudios e iniciarme en la investigación; y que en lo personal, me ha permitido un enriquecedor crecimiento.*

*A la MSc. Silvia Aimar, al Geol. Carlos Camiletti y al Dr. Darío Mariani, que me han facilitado las técnicas, bibliografía y la legislación, respectivamente, contribuyendo de esta manera a la realización de esta tesina.*

*Por último, deseo expresar mi agradecimiento a todos aquellos que de alguna manera han colaborado conmigo a lo largo de mi carrera y en el presente trabajo.*

## **RESUMEN**

En el presente trabajo fueron determinadas las concentraciones de Fe, Mn y Cu en muestras de suelos empetrolados correspondientes a zonas de remediación en la región Medanita-25 de Mayo, provincia de la Pampa, Argentina.

En virtud de la ausencia de antecedentes científicos referidos a la cuantificación de elementos de transición en suelos biorremediados, el objetivo del presente trabajo ha sido demostrar aportes significativos de Fe, Mn y Cu, a los fines de realizar estudios más profundos referidos a contaminación, y de adecuar la legislación vigente para evitar eventuales riesgos ambientales y su posible impacto para futuros usos del suelo con fines agrícolas, forestales, ganadero, asentamientos humanos, etc.

## **ABSTRACT**

In this work, the concentrations of Fe, Mn and Cu in soils samples with petroleum from Medanita-25 de Mayo, province of La Pampa, Argentina, were determined.

Due to the absence of scientific antecedents of the quantification of transition elements in biorremediated soils, the objective of this work has been to demonstrate significant contributions of Fe, Mn and Cu, so as to carry out deeper studies referred to contamination, and to adapt the current legislation to avoid possible environmental risks and their possible impact for future uses of the soil with agricultural and forest purposes, cattle, settlement, etc.

# ÍNDICE

## 1 – INTRODUCCIÓN, 1

---

### 1.1- HIDROCARBUROS, 2

#### 1.1.1- Definición, 2

1.1.1.1- Alcanos, 2

1.1.1.2- Alquenos, 2

1.1.1.3- Alquinos, 3

1.1.1.4- Hidrocarburos cíclicos, 3

#### 1.1.2- Petróleo, 4

1.1.2.1- Características, 4

1.1.2.2- Formación, 5

1.1.2.3- Enriquecimiento con metales, 6

1.1.2.4- Evolución histórica del aprovechamiento del petróleo, 8

#### 1.1.3- Cuantificación de Elementos de Transición, 9

### 1.2- LEGISLACIÓN, 14

1.2.1- Ley Nacional N° 24.051. Residuos Peligrosos, 14

1.2.2- Ley Provincial N° 1.466, 14

1.2.3- Ley Provincial N° 1.914. Ley Ambiental Provincial, 15

### 1.3- MÉTODOS INSTRUMENTALES DE ANÁLISIS, 17

1.3.1- Generalidades de la Espectroscopia Atómica, 17

1.3.2- Atomización de la Muestra, 17

1.3.2.1- Atomizadores continuos, 18

1.3.2.1.1- Atomización con llama, 18

1.3.2.1.1.1- Tipos de llamas utilizadas en la espectroscopia atómica, 21

1.3.2.1.1.2- Estructura de la llama, 22

1.3.2.2- Atomizadores discretos, 22

1.3.2.2.1- *Modificadores de matriz para hornos*, 25

**1.3.3- Tipos y Fuentes de Espectros Atómicos, 25**

1.3.3.1- Fuentes de espectros atómicos, 25

1.3.3.2- Absorción de energía radiante por los átomos, 25

1.3.3.3- Espectros de emisión atómica, 26

1.3.3.4- Espectros de absorción atómica, 27

**1.4- ESPECTROSCOPIA DE ABSORCIÓN ATÓMICA (AAS), 27**

**1.4.1- Introducción, 27**

**1.4.2- Fuente de Radiación, 28**

1.4.2.1- Lámparas de cátodo hueco, 28

**1.4.3- Rendijas y Lentes, 29**

**1.4.4- Monocromador, 29**

**1.4.5- Detectores, 30**

**1.4.6- Interferencias, 31**

1.4.6.1- Interferencias espectrales, 32

1.4.6.2- Interferencias químicas, 33

1.4.6.3- Interferencias físicas, 32

**1.5- MÉTODOS ANALÍTICOS DE CUANTIFICACIÓN, 34**

**1.5.1- Curva de Calibración, 34**

**1.5.2- Método del Sobreagregado, 35**

**1.5.3- Método del Patrón Interno, 36**

**1.5.4- Método de Adición de Patrón, 37**

***2 - OBJETIVOS DEL TRABAJO PROPUESTO, 39***

---

**2.1- IMPORTANCIA DE LA CUANTIFICACIÓN DE ELEMENTOS DE TRANSICIÓN EN SUELOS BIORREMEDIADOS, 40**

***3 – MATERIALES Y MÉTODOS, 41***

---

**3.1- INSTRUMENTAL Y MATERIALES UTILIZADOS, 42**

- 3.1.1- Material de Laboratorio, 42**
- 3.1.2- Reactivos, 42**
- 3.1.3- Preparación de los Estándares Metálicos, 42**
- 3.1.4- Medidas de Absorbancia, 43**
- 3.1.5- Medidas de Masa, 43**
- 3.1.6- Instrumental Adicional, 43**

---

## ***4 – RESULTADOS Y DISCUSIÓN, 44***

- 4.1- TOMA DE MUESTRA, 45**
- 4.2- PRETRATAMIENTO DE MUESTRA, 46**
- 4.3- PREPARACIÓN DE PATRONES, 46**
- 4.4- PROCEDIMIENTO ANALÍTICO, 47**
  - 4.4.1- Condiciones Instrumentales de Operación, 47**
  - 4.4.2- Procedimiento, 47**
    - 4.4.2.1- Muestras de Fe, 47
    - 4.4.2.2- Muestras de Mn, 47
    - 4.4.2.3- Muestras de Cu, 48
    - 4.4.2.4- Blancos, 48
- 4.5- CUANTIFICACIÓN DE Fe, Mn y Cu, 48**
  - 4.5.1- Curvas de Calibración de Fe, Mn y Cu, 48**

---

## ***5 – CONCLUSIONES, 52***

---

## ***6 – BIBLIOGRAFÍA, 55***

---

# ***1. Introducción***

---

## Capítulo 1- INTRODUCCIÓN

### 1.1- HIDROCARBUROS

#### 1.1.1- Definición

Reciben la denominación de hidrocarburos, la familia de compuestos orgánicos que contienen carbono e hidrógeno. Son los compuestos orgánicos más simples y pueden ser considerados como las sustancias principales de las que se derivan todos los demás compuestos orgánicos. Los hidrocarburos se clasifican en dos grupos principales, de cadena abierta y cíclicos. En los compuestos de cadena abierta que contienen más de un átomo de carbono, los átomos de carbono están unidos entre sí formando una cadena lineal que puede tener una o más ramificaciones. En los compuestos cíclicos, los átomos de carbono forman uno o más anillos cerrados. Los dos grupos principales se subdividen según su comportamiento químico en saturados e insaturados.

##### 1.1.1.1- Alcanos

Los hidrocarburos saturados de cadena abierta forman un grupo homólogo denominado alcanos o parafinas. La composición de todos los miembros del grupo responde a la fórmula  $C_nH_{2n+2}$ , donde  $n$  es el número de átomos de carbono de la molécula. Los cuatro primeros miembros del grupo son el metano,  $CH_4$ , el etano,  $C_2H_6$ , el propano,  $C_3H_8$  y el butano,  $C_4H_{10}$ . Todos los miembros alcanos son inertes, es decir, no reaccionan fácilmente a temperaturas ordinarias con reactivos tales como ácidos, álcalis u oxidantes. Los primeros cuatro miembros del grupo son gases a presión y temperatura ambiente; los miembros intermedios son líquidos, y los miembros más pesados son semisólidos o sólidos. El petróleo contiene una gran variedad de hidrocarburos saturados y los productos del petróleo como la gasolina, el aceite combustible, los aceites lubricantes y la parafina consisten principalmente en mezclas de estos hidrocarburos que varían de los líquidos más ligeros a los sólidos.

##### 1.1.1.2- Alquenos

El grupo de los alquenos u olefinas está formado por hidrocarburos de cadena abierta en los que existe un doble enlace entre dos átomos de carbono. La fórmula general del grupo es  $C_nH_{2n}$ , donde  $n$  es el número de átomos de carbono. Al igual que los alcanos,

los miembros más bajos son gases, los compuestos intermedios son líquidos y los más altos son sólidos. Los compuestos del grupo de los alquenos son más reactivos químicamente que los compuestos saturados. Reaccionan fácilmente con sustancias como los halógenos, adicionando átomos de halógeno a los dobles enlaces. No se encuentran en los productos naturales, pero se obtienen en la destilación destructiva de sustancias naturales complejas, como el carbón, y en grandes cantidades en las refinerías de petróleo, especialmente en el proceso de craqueo. El primer miembro de la serie es el eteno,  $C_2H_4$ . Los dienos contienen dos dobles enlaces entre las parejas de átomos de carbono de la molécula. Están relacionados con los hidrocarburos complejos del caucho o hule natural y son importantes en la fabricación de caucho y plásticos sintéticos. Son miembros importantes de esta serie el butadieno,  $C_4H_6$ , y el isopreno,  $C_5H_8$ .

#### 1.1.1.3- Alquinos

Los miembros del grupo de los alquinos contienen un triple enlace entre dos átomos de carbono de la molécula. Son muy activos químicamente y no se presentan libres en la naturaleza. Forman un grupo análogo al de los alquenos. El primero y más importante de los miembros del grupo es el etino,  $C_2H_2$ . La fórmula general del grupo es  $C_nH_n$  donde  $n$  es el número de átomos de carbono.

#### 1.1.1.4- Hidrocarburos cíclicos

El más simple de los hidrocarburos cíclicos saturados o cicloalcanos es el ciclopropano,  $C_3H_6$ , cuyas moléculas están formadas por tres átomos de carbono con los átomos de hidrógeno unidos a cada uno de ellos. El ciclopropano es un poco más reactivo que el correspondiente alcano de cadena abierta, el propano,  $C_3H_8$ . Otros cicloalcanos forman parte del petróleo, tales como el ciclobutano, ciclopentano y ciclohexano.

Varios hidrocarburos cíclicos insaturados, cuya fórmula general es  $C_{10}H_{16}$ , se encuentran en algunos aceites naturales aromáticos y se destilan de los materiales vegetales. Esos hidrocarburos se llaman terpenos e incluyen el pineno (en la trementina) y el limoneno (en los aceites de limón y naranja).

El grupo más importante entre los hidrocarburos cíclicos insaturados es el de los aromáticos, que se encuentran en el alquitrán de hulla. Aunque los hidrocarburos aromáticos presentan a veces insaturación, es decir, tienden a adicionar otras sustancias, sus principales reacciones producen la sustitución de átomos de hidrógeno por otros tipos o

grupos de átomos. Entre los hidrocarburos aromáticos se encuentran el benceno, el tolueno, el antraceno y el naftaleno. [1]

### **1.1.2- Petróleo**

El petróleo, es un líquido oleoso bituminoso de origen natural compuesto por diferentes sustancias orgánicas. También recibe los nombres de petróleo crudo, crudo petrolífero o simplemente “crudo”. Se encuentra en grandes cantidades bajo la superficie terrestre y se emplea como combustible y materia prima para la industria química. Las sociedades industriales modernas lo utilizan sobre todo para lograr un grado de movilidad por tierra, mar y aire impensable hace sólo 100 años. Además, el petróleo y sus derivados se emplean para fabricar medicinas, fertilizantes, productos alimenticios, objetos de plástico, materiales de construcción, pinturas y textiles y para producción de energía eléctrica.

En la actualidad, los distintos países dependen del petróleo y sus productos; la estructura física y la forma de vida de las aglomeraciones periféricas que rodean las grandes ciudades son posibles gracias a un suministro de petróleo relativamente abundante y barato. Sin embargo, en los últimos años ha descendido la disponibilidad mundial de esta materia prima y su costo relativo ha aumentado. Es probable que, a mediados del siglo XXI, el petróleo ya no se use comercialmente de forma habitual. [2]

#### **1.1.2.1- Características**

Todos los tipos de petróleo se componen de hidrocarburos, aunque también suelen contener unos pocos compuestos de azufre y de oxígeno; el contenido de azufre varía entre un 0,1 y un 5%. El petróleo contiene elementos gaseosos, líquidos y sólidos. La consistencia del petróleo varía desde un líquido tan poco viscoso como la gasolina hasta un líquido tan espeso que apenas fluye. Por lo general, hay pequeñas cantidades de compuestos gaseosos disueltos en el líquido; cuando las cantidades de estos compuestos son mayores, el yacimiento de petróleo está asociado con un depósito de gas natural.

Existen tres grandes categorías de petróleo crudo: de tipo parafínico, de tipo asfáltico y de base mixta. El petróleo parafínico está compuesto por moléculas en las que el número de átomos de hidrógeno es siempre superior en dos unidades al doble del número de átomos de carbono. Las moléculas características del petróleo asfáltico son los naftenos, que contienen exactamente el doble de átomos de hidrógeno que de carbono. El petróleo de base mixta contiene hidrocarburos de ambos tipos. [2]

### 1.1.2.2- Formación

El petróleo se forma bajo la superficie terrestre por la descomposición de organismos marinos. Los restos de animales minúsculos que viven en el mar y, en menor medida, los de organismos terrestres arrastrados al mar por los ríos o los de plantas que crecen en los fondos marinos, se mezclan con las finas arenas y limos que caen al fondo en las cuencas marinas tranquilas. Estos depósitos, ricos en materiales orgánicos, se convierten en rocas generadoras de crudo. El proceso comenzó hace muchos millones de años, cuando surgieron los organismos vivos en grandes cantidades, y continúa hasta el presente. Los sedimentos se van haciendo más espesos y se hunden en el suelo marino bajo su propio peso. A medida que se van acumulando depósitos adicionales, la presión sobre los situados más abajo se multiplica por varios miles, y la temperatura aumenta en varios cientos de grados. El cieno y la arena se endurecen y se convierten en esquistos y arenisca; los carbonatos precipitados y los restos de caparzones se convierten en caliza, y los tejidos blandos de los organismos muertos se transforman en petróleo y gas natural.

Una vez formado el petróleo, éste fluye hacia arriba a través de la corteza terrestre porque su densidad es menor que la de las salmueras que saturan los intersticios de los esquistos, arenas y rocas de carbonato que constituyen dicha corteza. El petróleo y el gas natural ascienden a través de los poros microscópicos de los sedimentos situados por encima. Con frecuencia acaban encontrando un esquisto impermeable o una capa de roca densa: el petróleo queda atrapado, formando un depósito. Sin embargo, una parte significativa del petróleo no se topa con rocas impermeables, sino que brota en la superficie terrestre o en el fondo del océano. Entre los depósitos superficiales también figuran los lagos bituminosos y las filtraciones de gas natural [1, 2]. La figura 1 muestra un sistema de extracción y bombeo de petróleo sobre superficie terrestre, mientras que la figura 2 hace lo propio sobre superficie marina.



**Figura 1:** *Extractora terrestre de petróleo*

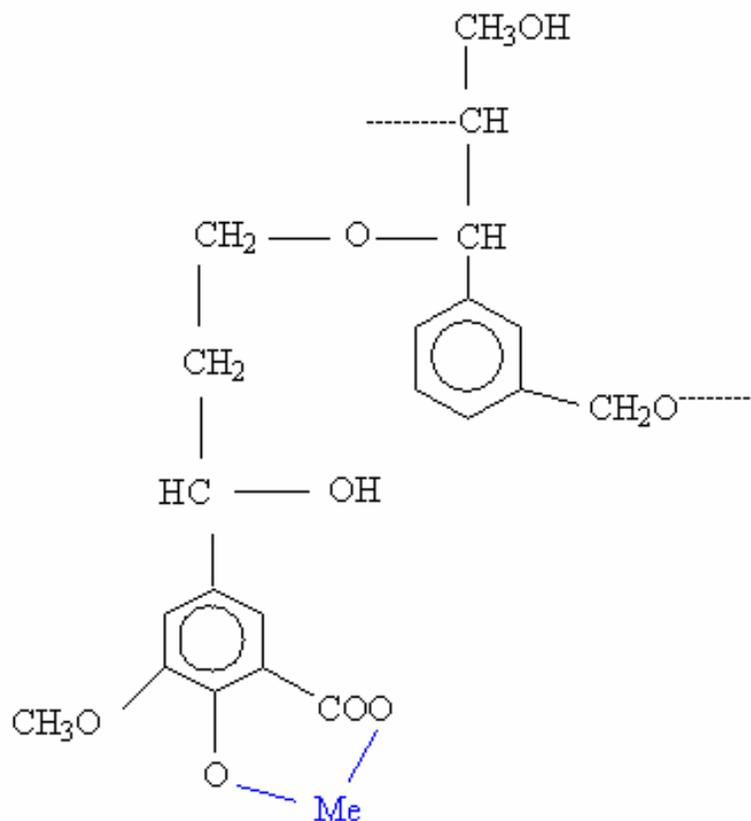


**Figura 2:** *Extractora marítima de petróleo*

### 1.1.2.3- Enriquecimiento con metales

El grado de enriquecimiento durante la diagénesis es ampliamente función del tipo de materia orgánica, de sus propiedades físico-químicas, y de la duración de la exposición a soluciones conteniendo iones metálicos. A medida que aumenta la profundidad a la que se encuentran enterrados los sedimentos-interfase con agua, las tasas de difusión a menudo controlan la formación de complejos organometálicos. Cuando los procesos de difusión no son un factor limitante, la composición elemental y estructural de la materia orgánica enterrada determinará si un metal dado puede quedar atrapado y conservado.

El grado de interacción está relacionado con las propiedades de un ión metálico electroactivo y una molécula orgánica sustituida. Los principales sitios de enlace para metales en el humus marino son grupos carbonilos (aldehídos, cetonas y ácidos carboxílicos) y grupos hidroxilos. Además, la interceptación de un ión metálico específico está determinada por la configuración estructural, la protonación, y la flexibilidad física de la molécula orgánica. La figura 3 ilustra esquemáticamente una interacción entre un ión metálico y una sustancia húmica marina a través de la combinación de dos ligandos organometálicos. [3]



**Figura 3:** Representación de un complejo organometálico formado por interacción de un ión metálico con oxígenos reactivos de grupos funcionales de una molécula húmica.

Estructuras similares a los materiales húmicos se encuentran en sedimentos cercanos a la superficie y son probablemente precursores de los kerógenos, fracción orgánica contenida en las rocas sedimentarias, inmaduros. Como los kerógenos maduran mientras se encuentran enterrados, la flexibilidad molecular y los potenciales sitios de enlace disminuyen debido al incremento de la aromaticidad y la disminución de las cadenas de ácidos grasos. Así, la formación de ligandos organometálicos dentro de los kerógenos es cada vez más limitada a medida que progresa la maduración.

Los metales que con más frecuencia se pueden encontrar formando parte de estos complejos organometálicos son V, Cu, Zn, Ni, Cd, Mo, Fe y Mn.

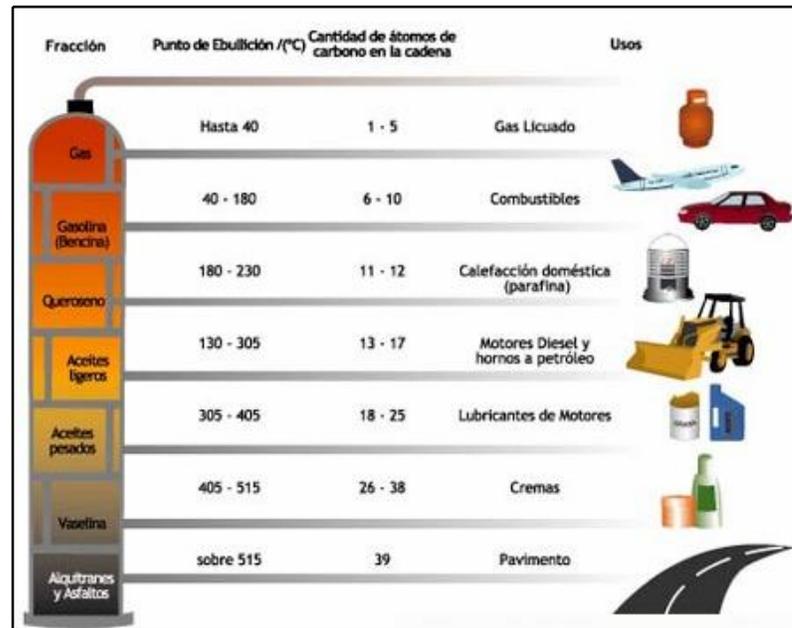
#### 1.1.2.4- Evolución histórica del aprovechamiento del petróleo

Los seres humanos conocen estos depósitos superficiales de petróleo crudo desde hace miles de años. Durante mucho tiempo se emplearon para fines limitados, como el calafateado de barcos, la impermeabilización de tejidos o la fabricación de antorchas. En la época del renacimiento, el petróleo de algunos depósitos superficiales se destilaba para obtener lubricantes y productos medicinales, pero la auténtica explotación del petróleo no comenzó hasta el siglo XIX. Para entonces, la Revolución Industrial había desencadenado una búsqueda de nuevos combustibles y los cambios sociales hacían necesario un aceite bueno y barato para las lámparas. El aceite de ballena sólo era accesible para la clase social más alta, las velas de sebo tenían un olor desagradable y el gas del alumbrado sólo llegaba a los edificios de construcción reciente situados en zonas metropolitanas.

La búsqueda de un combustible mejor para las lámparas llevó a una gran demanda de “aceite de piedra” o petróleo, y a mediados del siglo XIX varios científicos desarrollaron procesos para su uso comercial. Por ejemplo, el británico James Young y otros comenzaron a fabricar diversos productos a partir del petróleo, aunque después Young centró sus actividades en la destilación de carbón y la explotación de esquistos petrolíferos. En 1852, el físico y geólogo canadiense Abraham Gessner obtuvo una patente para producir, a partir de petróleo crudo, un combustible para lámparas relativamente limpio y barato, el querosén. Tres años más tarde, el químico estadounidense Benjamin Silliman publicó un informe que indicaba la amplia gama de productos útiles que se podían obtener mediante la destilación del petróleo. Con ello empezó la búsqueda de mayores suministros de petróleo.

Desde muchos años antes se sabía que en los pozos perforados para obtener agua o sal se producían, en ocasiones, filtraciones de petróleo, por lo que pronto surgió la idea de realizar perforaciones para obtenerlo. Los primeros pozos de este tipo se perforaron en Alemania entre 1857 y 1859, pero el acontecimiento que obtuvo fama mundial fue la perforación de un pozo petrolífero cerca de Oil Creek, en Pennsylvania (Estados Unidos), llevada a cabo por el Coronel Edwin L. Drake en 1859. Drake, contratado por el industrial estadounidense George H. Bissell, que también proporcionó a Silliman muestras de rocas petrolíferas para su informe, perforó en busca del supuesto “depósito matriz”, del que parece ser surgían las filtraciones de petróleo de Pennsylvania occidental. El depósito encontrado por Drake era poco profundo (21,2 m) y el petróleo era de tipo parafínico, muy fluido y fácil de destilar.

El éxito de Drake marcó el comienzo del rápido crecimiento de la moderna industria petrolera. La comunidad científica no tardó en prestar atención al petróleo y se desarrollaron hipótesis coherentes para explicar su formación, su movimiento ascendente y su confinamiento en depósitos. Con la invención del automóvil y las necesidades energéticas surgidas en la I Guerra Mundial, la industria del petróleo se convirtió en uno de los cimientos de la sociedad industrial [2]. La figura 4 muestra un esquema de los actuales usos del petróleo según la fracción de destilado.



**Figura 4:** Destilación de petróleo

### 1.1.3- Cuantificación de Elementos de Transición

Existen importantes antecedentes referidos a la determinación de ciertos elementos de transición en petróleo crudo y algunos derivados. Es así que en 1949 habían sido desarrollados métodos para la determinación de Fe, Ni y V. La muestra era quemada y tratada con bisulfato de potasio y la solución acuosa de bisulfato era analizada por un procedimiento fotométrico. Las medidas estaban basadas sobre el desarrollo de color a través del empleo de reactivos específicos para cada elemento, bajo condiciones analíticas. El Fe era determinado como el complejo Fe-2,2'-bipiridina, el Ni como el coloide Ni-dimetilglioxima, y el V por reacción con difenilbencidina. Los análisis eran hechos con una certeza de  $\pm 10\%$ , o mejor, en presencia de muchos elementos como ocurre en el

petróleo. Las interferencias eran minimizadas o eliminadas sin recurrir a técnicas de separación. Los límites de detección absolutos eran aproximadamente 0.005 mg de pentóxido de vanadio, 0,007 mg de óxido de níquel y 0,01 mg de óxido férrico. [4]

En 1952, la incidencia de trazas de metales en petróleo y en sus productos comenzaba a ser de considerable significancia para la industria. Para evaluar la influencia de un dado metal o sus compuestos en el petróleo, se requerían métodos analíticos de adecuada sensibilidad y certeza. El método consagrado tenía ciertas limitaciones inherentes: un posible error debido a la pérdida de materia y los excesivos tiempos y esfuerzos requeridos para el propio análisis. Debido a esto, se desarrolló un procedimiento en el cual, por controles rígidos de muestreo y de variables de combustión e ignición, se obtenía una reproducibilidad de alrededor de  $\pm 10\%$  en las cenizas. Los métodos colorimétricos y espectroscópicos habían probado ser adecuados para la determinación de metales individuales en cantidades del orden de los miligramos en cenizas, la relativa precisión de este método era de  $\pm 10\%$  a  $20\%$ . Métodos espectroscópicos proveyendo una certeza de  $\pm 20\%$  también se podían aplicar para la determinación directa de trazas de metales en ciertas muestras para sortear algunos de los problemas asociados con los métodos químicos indirectos. [5]

En 1955, las trazas de metales en algunos destilados de petróleo eran recuperados principalmente a través del método de calcinación húmeda, el cual consiste en la descomposición parcial con ácido sulfúrico, en vez del uso del método tradicional de calcinación seca. Se desarrolló un procedimiento de calcinado húmedo-espectrográfico que utilizaba nitrato de magnesio como un calcinante. Ni, V y Mg se podían cuantificar con exactitud en concentraciones de entre 0,1 a 2 ppm usando muestras de 10 a 50 gramos. El procedimiento también se podía aplicar para cantidades trazas de Fe, Na y Cu cuando se dispone de nitrato de magnesio libre de estos elementos. [6]

En 1960, se desarrolló un procedimiento químico rápido para la determinación de trazas de metales en petróleo. El método tenía una duración de menos de 2 horas; un operador podía realizar 15 muestras de petróleo por día para Fe, Ni y V. Este breve tiempo de análisis era posible por una combinación de calcinado rápido con perclorato de potasio y finalizando la cuantificación con una colorimetría directa. Se realizó un estudio espectrofotométrico y los resultados mostraron que la alfa-furil dioxima y la 3,3-dimetilnaftidina eran reactivos excelentes para Ni y V, respectivamente. La 4,7-difenil-1,10-fenantrolina se utilizaba para la determinación de Fe. [7]

Un método rápido para la determinación de Ni y V en petróleo y productos relacionados se desarrolló en 1961. Por la incineración de la muestra en presencia de ácido bencenosulfónico, los metales se retenían tan efectivamente como con un método con ácido sulfúrico, y el calcinado podía ser completado en tan sólo una fracción de tiempo. El procedimiento analítico se basaba en el uso de esta técnica de calcinado seguida de una medición de las intensidades de líneas de rayos X de metales y directamente desde las cenizas. Un estándar interno, Co, se adicionaba al petróleo previo a ser calcinado. Para obtener la ceniza en una forma adecuada por medidas de rayos X ésta se lavaba en la superficie de un disco de filtro. El procedimiento requería menos de una hora y media para el análisis completo. Esta nueva técnica era especialmente valiosa en el rango de concentraciones por debajo de 2 ppm. [8]

Ya en el año 1984, cuatro tipos de petróleos densos: Boscan, Cerro Negro, Wilmington, y Prudhoe Bay, se examinaron por Cromatografía de Líquidos de Alta Resolución en combinación con detección por Absorción Atómica con Horno de Grafito (HPLC / GFAA), para proporcionar una huella digital del V y una categorización por peso molecular de los compuestos de porfirina y no porfirina basados en el contenido de V. Los investigadores también intentaban realizar un estudio de especiación de los compuestos porfirina y no-porfirina de V en petróleos. [9] Luego, en el mismo año, se caracterizaron ricas fracciones de no porfirinas de V y de Ni en extractos de piridina/agua de cuatro tipos de petróleos densos usando Cromatografía Líquida de Alta Resolución de Fase Reversa en combinación con detección por Absorción Atómica con Horno de Grafito elemental selectiva (RP-HPLC / GFAA). Sobre las bases de la información de un rápido barrido espectral en el UV-Vis que indicaba una banda de absorbancia asociada con fracciones conteniendo Ni y V por separado, los investigadores categorizaban compuestos de Ni altamente polares como las no-porfirinas en petróleos densos, como los antes mencionados y compuestos de no-porfirinas de V de baja polaridad. [10]

En la década del '90 se publicó una técnica nueva para la cuantificación directa de metales en crudos a través de plasma acoplado inductivamente con detector de masas (ICP-MS). Esta metodología se basa en la formación de microemulsiones de petróleo en agua lo cual simplifica en gran medida la determinación de trazas de metales en petróleo. Las ventajas del método de microemulsión ICP-MS incluyen una rápida detección multielemental, facilidad de preparación de muestras, estabilidad de muestras por largo tiempo y bajos límites de detección. La exactitud y la precisión son del orden de  $\pm 3\%$ . Los petróleos que contienen metales en el rango de concentraciones de 0,1 a varios cientos

de partes por millón se pueden analizar rutinariamente. El límite superior de este rango puede ser extendido por simple dilución acuosa de la microemulsión. Dado que las soluciones de muestra se encuentran en solución acuosa, se evita la eventual deposición de carbono en la interfase del espectrómetro de masa. Otros materiales derivados del petróleo como gasolinas, combustibles diesel, aceites lubricantes, aceites residuales y asfaltenos se pueden analizar con esta metodología. [11]

La aplicabilidad y la ejecución del método de Fluorescencia de Rayos X para el análisis de muestras de materiales de las refinerías de petróleo e industrias químicas se estudiaron a partir de 1996. Un objetivo del estudio era desarrollar rápidos procedimientos analíticos para la determinación de elementos presentes en niveles vestigios en partículas de emisión diesel de tamaño fraccionado, en materiales crudos de la producción de resinas (ureas y fenoles) y en muestras intermedias. Otro objetivo consistía en determinar los límites de detección reales, más que los ideales, para las distintas aplicaciones. Los límites de detección absolutos para la mayoría de los elementos encontrados en partículas de emisión diesel de tamaño fraccionado estaban por debajo de 1 ng. Los límites de detección relativos determinados para elementos vestigios en ureas fueron entre 5 y 30  $\mu\text{g Kg}^{-1}$ . Sólo los valores de P, S y Ca excedían ese rango. [12]

En 2002, se utilizó de la espectroscopía de absorción atómica con llama de óxido nitroso – acetileno, para la cuantificación de V en petróleos incinerados y no incinerados de Venezuela. Los resultados experimentales, sugieren que si la temperatura utilizada en la incineración de petróleo para remediación alcanza aproximadamente los 1000 °C, el V no puede ser removido del petróleo incinerado. Estos resultados se obtuvieron para el caso de contenedores abiertos, sobre derrames en superficies del agua y sobre suelos arenosos de tamaño de partícula fija. [13]

Dos años más tarde, se propuso un método basado en la espectroscopía de absorción atómica con atomización electrotérmica (ETAAS), para la determinación de fracciones de V en diesel y asfalteno. A fin de evitar pérdidas analíticas observadas en el rango de los microgramos por litro para vestigios de metales en soluciones orgánicas, las muestras de diesel fueron estabilizadas como microemulsiones detergentes por el mezclado con soluciones de 1-propanol y ácido nítrico. La fracción de asfalteno sólido se separó y se disolvió en diclorometano antes de mezclar esta solución con la solución de 1-propanol y ácido nítrico. Para diesel, las soluciones analíticas acuosas pueden ser usadas para la calibración. Para asfaltenos, la calibración se realizó con soluciones analíticas preparadas con diclorometano, 1-propanol y ácido nítrico, mezclado con soluciones inorgánicas

estándar. Fueron observados rangos lineales hasta  $200 \mu\text{g L}^{-1}$ , además de límites de detección de  $5 \mu\text{g L}^{-1}$  y  $4 \mu\text{g g}^{-1}$  para diesel y asfalteno, respectivamente. Se obtuvieron buenos porcentajes de recuperación para V-ciclohexanobutiratos añadiendo muestras de diesel, además de resultados coherentes para las fracciones de asfaltenos que son analizados con materiales de referencia certificados del NIST 1634c para elementos vestigio en petróleo. [14]

También en el año 2004, varios métodos de preparación de muestra se investigaron para la determinación directa de Ni en petróleo usando espectrometría de absorción atómica con horno de grafito (GF-AAS). Se encontró que el xileno no es apropiado como solvente debido al corto tiempo de estabilidad de las soluciones y la contaminación resultante del equipo. Las soluciones de isobutil metil cetona (IBMK) exhibieron mejor estabilidad, pero la sensibilidad de la sal de Ni orgánica usada para la solución estándar mostró una gran variabilidad día tras día. Una emulsión de petróleo en agua usando Tritón X-100 como surfactante dio los mejores resultados. Usando espectrometría de absorción atómica con horno de grafito de fuente continua de alta resolución (HR-CS) GF-AAS, se observó que hasta un 50% de Ni en petróleo, como la mayoría de las porfirinas de Ni de bajo peso molecular, se perdieron por temperaturas de pirólisis mayores a  $400^{\circ}\text{C}$ , mientras que el resto del Ni además del estándar de Ni fueron estables hasta los  $1300^{\circ}\text{C}$ . La absorción de Ni en la línea secundaria de 232,138 nm se registró simultáneamente con la línea primaria a 232,003 nm, expandiendo el rango dinámico de trabajo en un orden de magnitud. La masa característica mayor fue  $m_0 = 27 \text{ pg}$  y los límites de detección fueron alrededor de  $0,07 \mu\text{g g}^{-1}$  de Ni en petróleo, basados en una emulsión de 2 g de petróleo en 10 mL. Se verificó la precisión del procedimiento analizando el material de referencia certificado NIST SRM 1634c, de elementos vestigio en petróleos residuales. [15]

En 2006, se optimizó y aplicó un procedimiento para preparar muestras de petróleo como microemulsiones detergentes para la determinación de Mo, Zn, Cd, Si, Ti, Ni, V, Fe, Mn, Cr y Co por espectroscopía de emisión óptica por plasma acoplado inductivamente (ICP-OES). Se usó 1-propanol como un co-solvente permitiendo la formación de un sistema homogéneo y estable conteniendo petróleo y agua. La composición óptima de la microemulsión fue petróleo/1-propanol/agua/ácido nítrico concentrado en relación 6:70:20:4. Este procedimiento de fácil preparación de muestra, junto con una introducción eficiente de la muestra, utilizando un nebulizador Meinhard K3 y una cámara de spray ciclónica, permitió una rápida cuantificación de los analitos usando curvas de calibración preparadas con estándares acuosos. En este caso, se utilizó Se como estándar interno para

la corrección de fluctuaciones de la señal y efectos de matriz. Se utilizó oxígeno en el flujo de gas del nebulizador a fin de minimizar el desarrollo del carbono. Se consiguieron límites de detección en el rango de  $\text{ng g}^{-1}$  para todos los elementos. La metodología se analizó a través del análisis de materiales de referencia (SRM NIST 1634c, petróleo residual) y se recuperó entre 97,9% y 103,8%. Los resultados estuvieron de acuerdo con los obtenidos usando el procedimiento de descomposición ácida. Se obtuvo una precisión menor al 5% y los resultados indicaron que el método es adecuado para muestras de petróleo conteniendo bajas concentraciones de elementos vestigio. [16]

## 1.2- LEGISLACIÓN

### 1.2.1- Ley Nacional N° 24.051. Residuos Peligrosos.

Ante el inminente crecimiento y desarrollo de la producción petrolera y los problemas de contaminación relacionados con la misma, desde hace algunas décadas existe la preocupación por parte de todos los países del mundo de proteger el ecosistema de los posibles daños que causan los residuos, tanto de la explotación como de la industrialización de todos los recursos naturales. La República Argentina no quedó al margen de ello y en el año 1991 se sancionó la Ley Nacional N° 24.051 de Residuos Peligrosos, promulgada el 8 de enero de 1992. En el Artículo 2° señala que:

*“...Será considerado peligroso, a los efectos de esta ley, todo residuo que pueda causar daño, directa o indirectamente, a seres vivos o contaminar el suelo, el agua, la atmósfera o el ambiente en general...”* [17]

### 1.2.2- Ley Provincial N° 1.466

En el año 2000, la Provincia de La Pampa adhiere a la Ley Nacional referida al Tratamiento de los Residuos Peligrosos a través de la Ley Provincial N° 1.466, cuya Reglamentación consta en el Decreto N° 2.054/00. En el Artículo 14° del Capítulo IV, De Los Generadores, considera que:

*“...Toda persona física o jurídica que genere residuos, como resultado de sus actos o de cualquier proceso, operación o actividad, está obligada a verificar si los mismos están calificados como peligrosos en los términos del Artículo 2° de la Ley N° 24.051 de acuerdo al procedimiento que establezca la Autoridad de Aplicación...”* [18]

### 1.2.3- Ley Provincial N° 1.914. Ley Ambiental Provincial.

El 14 de marzo de 2006 se aprobó la Reglamentación de la Ley Provincial N° 1.914 a través del Decreto N° 298. La misma considera que:

*“... la actividad hidrocarburífera, en lo atinente a su impacto ambiental, constituye un emprendimiento o sector de producción económica de significativo riesgo...”*

Y que por lo tanto,

*“...es menester regular a través de normas claras para los administrados, la actividad hidrocarburífera en orden a la mitigación de sus potenciales riesgos e impactos para el ambiente...”*

En el Artículo 1° del Anexo I se considera Residuo Petrolero a:

*“...todo material o suelo afectado por hidrocarburos como resultado de tareas de exploración, perforación, producción, mantenimiento y limpieza y/o derrames de hidrocarburos en suelo y/o agua, con un contenido de hidrocarburos totales de petróleo mayor a 2,00 % p/p sobre masa seca o su equivalente 20.000 mg/Kg., determinado por el Método EPA 418.1, o el Método EPA 1664A, resultante de los procesos, operaciones o actividades desarrolladas dentro de las tareas de exploración, explotación, transporte y almacenaje de hidrocarburos del yacimiento, generado, en forma habitual o eventual, no programada o accidental, cuyo destino natural debería ser su eliminación...” [19]*

En el Artículo 3° del Anexo I se establece que los límites máximos en el lixiviado serán los establecidos en la Tabla 1.

**Tabla 1-** Límites máximos permitidos para el lixiviado de los productos del tratamiento de Residuos Petroleros (barros empetrolados).

Parámetro	Límite Máximo Permitido (mg L <sup>-1</sup> )	Método
<b>Arsénico</b>	0,5	Absorción Atómica
<b>Bario</b>	100	Absorción Atómica
<b>Cadmio</b>	0,5	Absorción Atómica
<b>Cromo Total</b>	3,5	Absorción Atómica
<b>Mercurio</b>	0,02	Absorción Atómica
<b>Plomo</b>	1,0	Absorción Atómica
<b>T.P.H.</b>	15	Método EPA 418.1 ó 1664 <sup>a</sup>
<b>Compuestos Fenólicos</b>	0,1	Cromatografía gaseosa
<b>Benceno</b>	1,0	Cromatografía gaseosa
<b>Cinc</b>	5,0	Absorción Atómica
<b>Cobre</b>	2	Absorción Atómica
<b>Níquel</b>	1,5	Absorción Atómica
<b>Plata</b>	5	Absorción Atómica
<b>Selenio</b>	1,0	Absorción Atómica
<b>Benzopireno</b>	0,07	Cromatografía gaseosa o líquida
<b>Hidrocarburos aromáticos polinucleares totales</b>	2,8 x 10 <sup>-4</sup>	Cromatografía gaseosa o líquida

Como se puede observar en la tabla 1, los límites máximos permitidos para el lixiviado de los productos del tratamiento de residuos petroleros (barros empetrolados) se encuentran establecidos por la legislación vigente. Sin embargo, no están aún legislados los límites de metales de transición en suelos biorremediados. Ciertos elementos de transición podrían permanecer en el suelo por largos períodos de tiempo sin degradarse, escurrir a la cuenca del Río Colorado y/o contaminar las napas subterráneas o moverse a otros cursos de agua. Estas especies conforman un pasivo ambiental cuyo impacto es aún poco conocido y que por lo tanto, aún no se encuentran contemplados en la legislación.

### **1.3- MÉTODOS INSTRUMENTALES DE ANÁLISIS**

#### **1.3.1- Generalidades de la Espectroscopia Atómica**

La espectroscopia atómica se basa en la absorción y emisión por átomos o iones elementales. Hay dos regiones del espectro que dan información atómica, la ultravioleta/visible y la de rayos X.

Los espectros atómicos ultravioleta y visible se obtienen mediante un adecuado tratamiento térmico, ya sea por una llama o un plasma, este último es un gas muy caliente formado por iones y electrones libres, que convierten los componentes de una muestra en átomos o iones elementales gaseosos. La emisión o absorción de la mezcla gaseosa resultante sirve a continuación para la determinación cualitativa y cuantitativa de uno o varios de los elementos presentes en la muestra.

Estos procedimientos se han aplicado a la determinación de más de 70 elementos con sensibilidades cuyo intervalo se encuentra entre las partes por millón a las partes por billón. Además, los métodos espectroscópicos atómicos están entre los procedimientos analíticos más selectivos y presentan también las ventajas de la rapidez y comodidad.

Los componentes básicos de los equipos son: una fuente, un monocromador, rendijas y detector.

#### **1.3.2- Atomización de la Muestra**

Para conseguir que los átomos absorban o emitan radiación es necesario reducir la muestra al estado atómico. En general los atomizadores son de dos tipos, continuos y

discretos. En los primeros, la muestra se introduce en el atomizador a una velocidad constante. La señal espectral es, por tanto, constante en el tiempo. Con los atomizadores discretos, una cantidad medida de la muestra se introduce como un bolo de líquido o de sólido. La señal espectral en este caso alcanza un valor máximo y luego disminuye a cero cuando el vapor atómico abandona la región calentada. [20]

**Tabla 2-** Clasificación de los métodos ópticos espectrales y atómicos.

Método de atomización	Temperatura de atomización característica, °C	Fundamento del método	Denominación común y abreviatura del método
Llama	1700-3150	Absorción	Espectroscopia de absorción atómica, AAS
Plasma de argón acoplado inductivamente	4000-10000	Emisión	Espectroscopia de plasma acoplado inductivamente, ICP
Electrotérmica	1200-3000	Absorción	Espectroscopia de absorción atómica electrotérmica, ETAAS

### 1.3.2.1- Atomizadores continuos

Los dos primeros atomizadores de la tabla 2 son los llamados continuos. En cada uno de ellos, la solución de la muestra se convierte en una niebla de pequeñas gotas finamente divididas mediante un chorro de gas comprimido. Este proceso se denomina nebulización. A continuación el flujo de gas transporta la muestra a una región calentada donde tiene lugar la atomización.

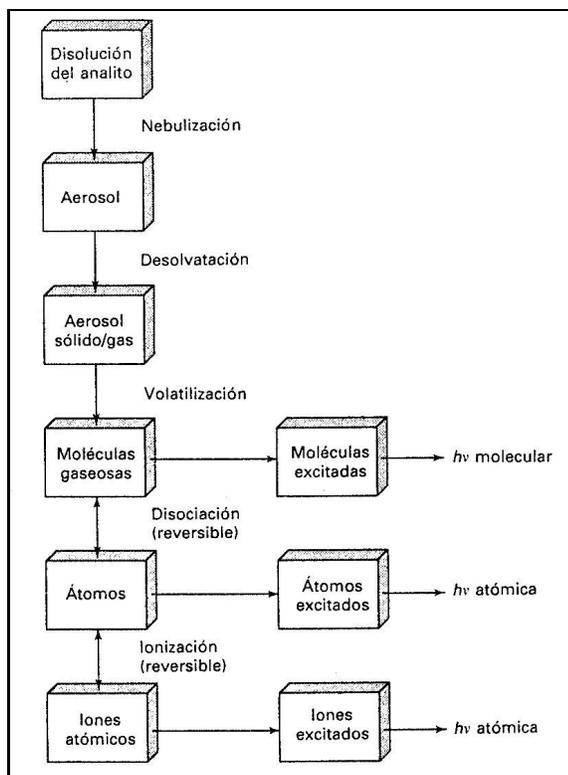
#### 1.3.2.1.1- Atomización con llama

En la atomización con llama, una disolución de la muestra se pulveriza en una llama mediante un nebulizador, el cual transforma la disolución de la muestra en un aerosol constituido por diminutas gotitas de líquido.

La figura 5 muestra el conjunto de procesos que ocurren durante la atomización. La primera etapa corresponde a la desolvatación, en la que el disolvente se evapora para

producir un aerosol molecular sólido finamente dividido. La disociación de las moléculas conduce luego a la formación de un gas atómico. A su vez, los átomos pueden disociarse en iones y electrones. Las moléculas, átomos e iones pueden excitarse en el medio calorífico, produciéndose así espectros de emisión moleculares y dos tipos de espectros de emisión atómicos de átomos neutros e iones.

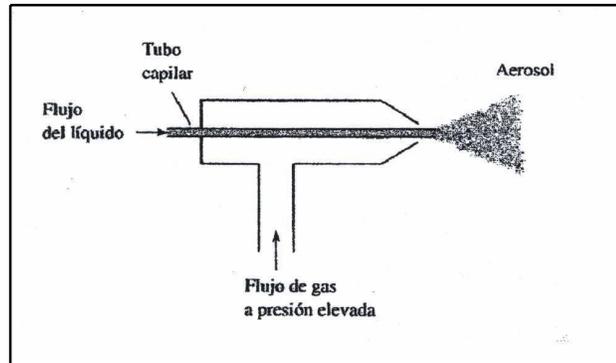
Debido a la gran variedad de procesos complejos que tienen lugar, no es sorprendente que la atomización sea la etapa más crítica en la espectroscopia de llama, y la que limita la precisión de estos métodos. Es por eso, que resulta importante comprender y conocer las características de las llamas y las variables que las afectan. [20-21]



**Figura 5-** *Procesos que tienen lugar durante la atomización.*

El tipo más común de nebulizador es el tubo concéntrico, que se muestra en la figura 6, en el que la muestra líquida se aspira a través de un tubo capilar mediante un flujo de gas a alta presión alrededor de la punta del capilar (efecto Venturi). A este procedimiento de transporte de líquido se le denomina aspiración. Debido a la alta velocidad del gas en el extremo del capilar, el líquido se dispersa en finas gotitas de varios tamaños, las cuales se introducen en la llama. También se emplean los nebulizadores de flujo cruzado en los que el gas a alta presión atraviesa el extremo del capilar en ángulo recto. Con frecuencia, en

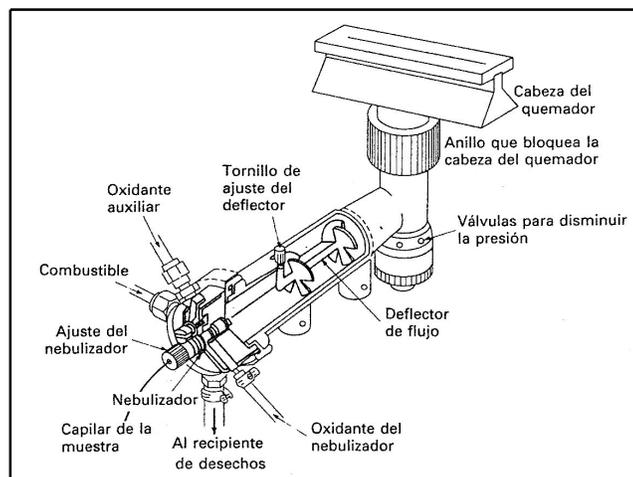
este tipo de nebulizador el líquido se bombea a través del capilar. En la mayoría de atomizadores, el gas a alta presión es el oxidante; de este modo el aerosol que se forma contiene el oxidante y a continuación se mezcla con el combustible.



**Figura 6-** *Un nebulizador de tubo concéntrico*

En la figura 7 se muestra el diagrama de un quemador de flujo laminar que emplea un nebulizador de tubo concéntrico. El aerosol se mezcla con el combustible y pasa a través de una serie de deflectores que eliminan las gotitas que no son muy finas. Como consecuencia de la acción de estos deflectores, la mayor parte de la muestra se recoge en el fondo de la cámara de mezcla, donde se drena hacia un contenedor de desechos. El aerosol, el oxidante y el combustible se queman en un quemador provisto de una ranura que produce una llama que por lo general mide entre 5 y 10 cm de longitud.

Los quemadores de flujo laminar proporcionan una llama relativamente estable y con una trayectoria larga. Estas propiedades tienden a aumentar la sensibilidad y la reproducibilidad. [20]



**Figura 7-** *Quemador de flujo laminar*

1.3.2.1.1.1- Tipos de llamas utilizadas en la espectroscopia atómica

En la tabla 3 se enumeran los combustibles y oxidantes más comunes que se utilizan en espectroscopia de llama y también las temperaturas que se alcanzan con cada una de las mezclas. Obsérvese que cuando se utiliza el aire como oxidante se obtienen temperaturas de 1700 a 2400 °C con varios combustibles. A esas temperaturas, sólo las especies fácilmente excitables tales como los metales alcalinos y los alcalinotérreos producen espectros de emisión aprovechables. Para los metales pesados, los cuales se excitan con menor facilidad, se debe emplear oxígeno u óxido nitroso como oxidantes; éstos producen temperaturas de 2500 a 3100 °C con los combustibles comunes.

**Tabla 3-** *Propiedades de las llamas.*

Combustible	Oxidante	Temperatura, ° C	Velocidad de combustión (cm. s <sup>-1</sup> )
Gas natural	Aire	1700-1900	39-43
Gas natural	Oxígeno	2700-2800	370-390
Hidrógeno	Aire	2000-2100	300-440
Hidrógeno	Oxígeno	2550-2700	900-1400
Acetileno	Aire	2100-2400	158-266
Acetileno	Oxígeno	3050-3150	1100-2480
Acetileno	Óxido nitroso	2600-2800	285

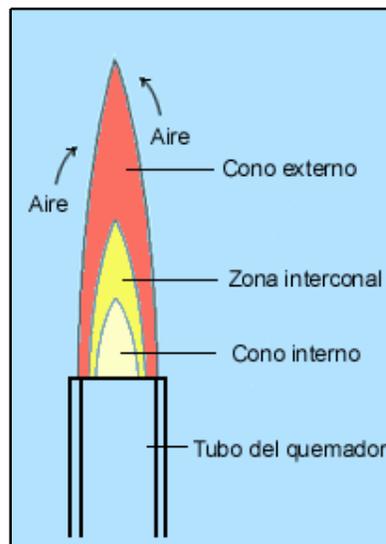
Las velocidades de combustión indicadas en la cuarta columna de la tabla 3 son de considerable importancia, porque las llamas sólo son estables en ciertos intervalos de caudal. Si el caudal no sobrepasa la velocidad de combustión, la llama se propaga hacia atrás por dentro del quemador, dando un fognazo interior. Cuando el caudal aumenta, la llama sube hasta alcanzar un punto por encima del quemador donde el caudal y la velocidad de combustión son iguales. En esta región es donde la llama es estable. A caudales más elevados, la llama sube y al final alcanza un punto donde se aparta del quemador. Sin lugar a dudas, el caudal de la mezcla combustible/oxidante es una importante variable que se ha de controlar rigurosamente; por otra parte, este caudal depende mucho del tipo de combustible y de oxidante que se utilizan.

### 1.3.2.1.1.2- Estructura de la llama

Como se muestra en la figura 8, las regiones más importantes de una llama son:

- Zona de combustión primaria o cono interno
- Región interconal y,
- Cono exterior.

El aspecto y el tamaño relativo de esas regiones varían considerablemente con la relación combustible/oxidante. La zona de combustión primaria se reconoce por su luminiscencia azul que proviene de los espectros de bandas de  $C_2$ ,  $CH$  y otros radicales. En general, en esta zona no se alcanza el equilibrio térmico, y así la zona de combustión primaria rara vez se utiliza para la espectroscopia de llama. El área interconal, la cual es relativamente estrecha en llamas de hidrocarburo estequiométricas, puede alcanzar varios centímetros de altura con fuentes ricas en combustible de acetileno/oxígeno o acetileno/óxido nitroso. La zona es con frecuencia rica en átomos libres y es la parte de la llama que más se utiliza en espectroscopia. El cono exterior es una zona de reacción secundaria donde los productos formados en la región interior se convierten en óxidos moleculares estables. [16, 19]



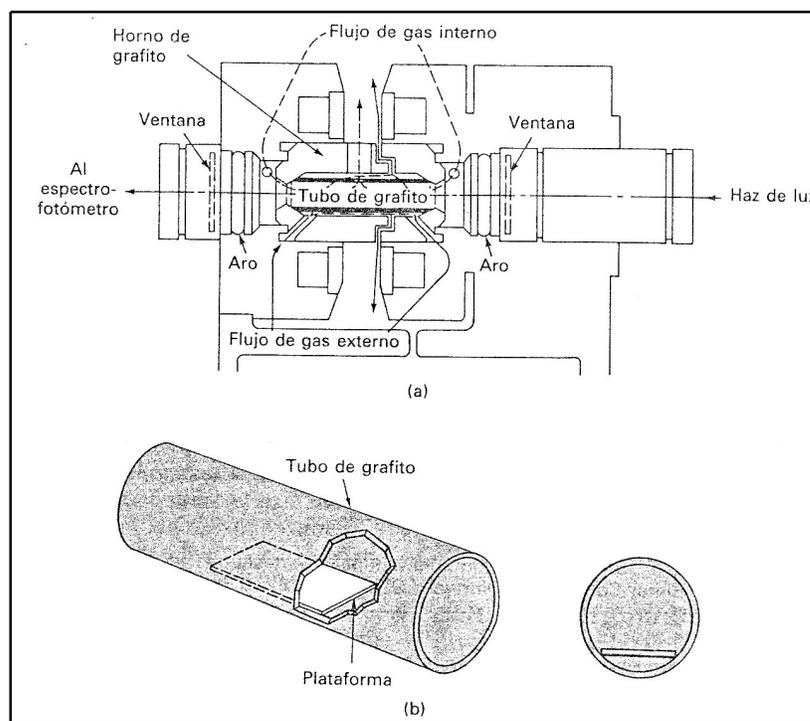
**Figura 8-** Esquema de una llama de acetileno/aire

### 1.3.2.2- Atomizadores discretos

Los atomizadores electrotérmicos son generalmente del tipo discreto, en los que un volumen medido de una disolución se introduce en el dispositivo. La desolvatación se lleva

a cabo al aumentar la temperatura hasta el valor en el que tiene lugar la evaporación rápida del disolvente. A continuación, la temperatura del aparato se aumenta drásticamente de tal forma que las otras etapas de la atomización se producen en un breve período de tiempo. En estas circunstancias, la señal espectral adquiere la forma de un pico bien definido. [20]

Un horno de grafito, como podemos observar en la figura 9, no es más que un tubo de grafito calentado eléctricamente, que permite mayor sensibilidad que las llamas y requiere menor cantidad o volumen de muestra, ya que el volumen de inyección en el horno es de 1 a 100  $\mu\text{L}$ . Por el interior del tubo, de unos 38 mm de longitud y con sendas ventanas en sus extremos, se hace pasar la luz procedente de la lámpara de cátodo hueco. Para evitar la oxidación del grafito, se pasa gas Ar alrededor del horno, siendo la temperatura máxima recomendada de 2500  $^{\circ}\text{C}$  durante no más de 7 segundos. Cuando se inyecta la muestra, la gotita debe depositarse en el fondo del horno, ocupando una pequeña superficie. Si se inyecta una gotita demasiado grande, se derramaría, empeorando la precisión. Incluso puede ocurrir que una gota adherida a la punta de la pipeta se deposite en el borde del orificio de entrada al sacar la pipeta. El automuestreador permite una introducción más reproducible de muestra que la inyección manual y es muy recomendable para obtener una buena precisión.



**Figura 9-** (a) Sección transversal de un horno de grafito. (b) La plataforma L'vov y su posición en el horno de grafito.

En los atomizadores electrotérmicos se evaporan primero unos pocos microlitros de muestra a baja temperatura, y luego se calcinan a una temperatura algo más alta en el horno de grafito, calentado eléctricamente. Después de la calcinación, la corriente se incrementa a varios cientos de amperios, lo que eleva la temperatura aproximadamente a unos 2000 o 3000 °C; la atomización de la muestra se produce en un período de unos pocos milisegundos a segundos. En estas condiciones, se mide la absorción de las partículas atomizadas en la zona situada inmediatamente por encima de la superficie calentada.

La figura 9 b ilustra la denominada plataforma L'vov, que se utiliza con frecuencia en los hornos de grafito. La plataforma también es de grafito y se encuentra debajo del orificio de entrada de la muestra. La muestra se evapora y calcina sobre esta plataforma de la manera usual. Sin embargo, cuando la temperatura se eleva con rapidez, la atomización no se completa porque la muestra no está el suficiente tiempo en contacto directo con la pared del horno. En consecuencia, la atomización tiene lugar en un medio en el cual no se produce un cambio tan rápido de temperatura, y de este modo se obtienen picos más reproducibles.

Los atomizadores electrotérmicos proporcionan una mayor sensibilidad debido a que toda la muestra se atomiza en un período muy breve y el tiempo promedio de residencia de los átomos en el camino óptico es de un segundo o más. Por lo general se utilizan para las medidas de absorción. Sin embargo, se están empezando a utilizar para la vaporización de muestras en espectroscopia de emisión óptica por plasma acoplado inductivamente.

Comparados con las llamas, los hornos con inyección automática requieren menos pericia por parte del operario para determinar las condiciones adecuadas para cada tipo de muestras. El horno se purga con Ar o N<sub>2</sub> durante cada uno de los pasos, excepto en el de atomización, para eliminar el material volátil. El flujo gaseoso se interrumpe durante la atomización para evitar que el analito salga del horno. Cuando se pone a punto un método con un nuevo tipo de muestra, es importante registrar la señal en función del tiempo, porque en la señal observada también aparece la del humo que se produce durante la calcinación y el color rojo del horno por el calor en la última parte de la atomización. Un analista experto debe interpretar qué parte de la señal se debe al analito, integrando el pico de forma adecuada.

El horno se calienta transversalmente, de un lado a otro, y así suministra una temperatura casi uniforme a lo largo de todo el tubo. [20-21]

### 1.3.2.2.1- Modificadores de matriz para hornos

Idealmente, el medio que contiene el analito, todo lo que hay en la muestra distinto del analito se llama matriz, se descompone y vaporiza durante el paso de calcinación. Un modificador de matriz es una sustancia que se añade a la muestra para reducir las pérdidas de analito durante la calcinación, haciendo la matriz más volátil o menos volátil al analito. [21]

## 1.3.3- Tipos y Fuentes de Espectros Atómicos

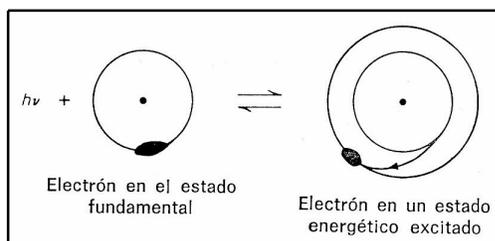
Cuando una muestra se atomiza por cualquiera de los procedimientos indicados en la tabla 2, una importante fracción de los constituyentes metálicos se transforma en átomos gaseosos. Además, según la temperatura del atomizador, una cierta fracción de esos átomos se ioniza, originando así una mezcla gaseosa de átomos e iones elementales.

### 1.3.3.1- Fuentes de espectros atómicos

Los espectros de emisión o absorción de las partículas atómicas gaseosas, átomos o iones, están constituidos por líneas estrechas y bien definidas que provienen de las transiciones de los electrones más externos. En el caso de los metales, las energías de esas transiciones son tales que implican a la radiación ultravioleta, visible y a la infrarroja cercana. [20, 22]

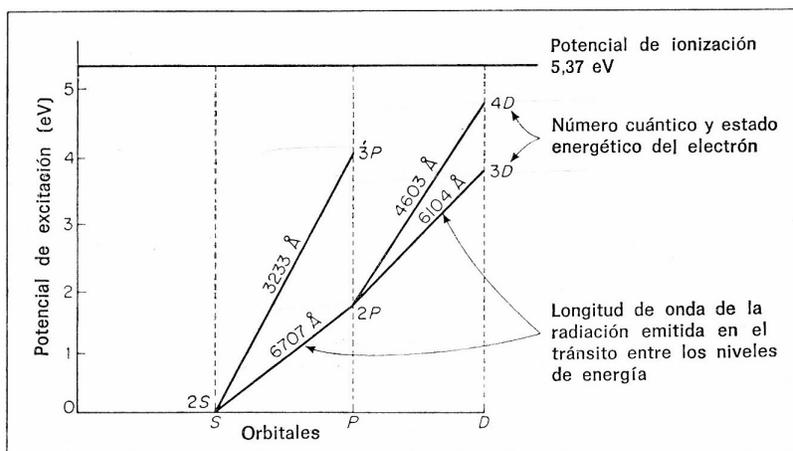
### 1.3.3.2- Absorción de energía radiante por los átomos

La espectroscopia de absorción atómica estudia la absorción de energía radiante por los átomos. En el proceso de absorción, un átomo pasa de un estado a otro de mayor energía, como puede apreciarse en la figura 10.



**Figura 10-** Absorción de radiación por los átomos.

A diferencia de las moléculas, los átomos no vibran ni poseen energía de rotación. Por consiguiente, la excitación electrónica de los átomos no implica energía vibratoria o rotatoria y en consecuencia, los espectros de absorción atómica constan de unas pocas líneas de absorción muy estrechas, como pueden observarse en el diagrama de los niveles energéticos para el Li en la figura 11.



**Figura 11-** Diagrama parcial de los niveles energéticos del litio.

La frecuencia de las líneas de absorción se obtiene de la ecuación  $\Delta E = h \nu$  (ecuación 1), siendo  $\Delta E$  la energía de excitación del átomo, que es igual a  $E_2 - E_1$ .  $E_1$  es la energía del átomo en el nivel energético inferior y  $E_2$  su energía en el superior y  $\nu$  es la frecuencia. En definitiva, la energía  $\Delta E$  de la ecuación 1 es la diferencia de energía entre el estado final y el inicial.

En condiciones normales, la casi totalidad de los átomos se encuentran en el estado de mas baja energía, es decir, en el fundamental. Todos los demás estados de energía son estados excitados. [20-21]

### 1.3.3.3- Espectros de emisión atómica

A temperatura ambiente, todos los átomos de una muestra de una materia determinada se encuentran esencialmente en el estado fundamental. La excitación de un electrón a orbitales más altos se puede conseguir por el calor de una llama. El tiempo de vida de un átomo excitado es breve y su retorno al estado fundamental va acompañado de la emisión de un fotón de radiación.

### 1.3.3.4- Espectros de absorción atómica

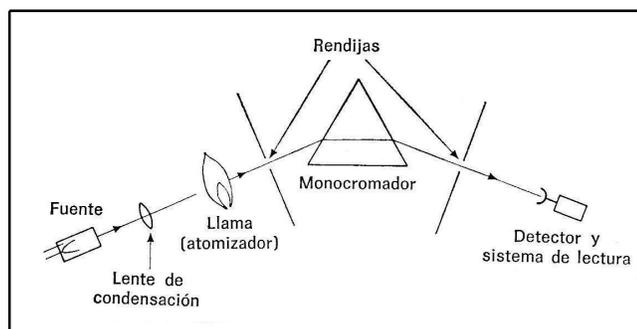
En un medio gaseoso a elevada temperatura, los átomos son capaces de absorber radiación de las longitudes de onda características de las transiciones electrónicas a estados excitados más elevados, generando de esta manera, un espectro de líneas de absorción, el cual será característico para cada elemento. Bajo este principio funciona la espectroscopia de absorción atómica. [21]

## 1.4- ESPECTROSCOPIA DE ABSORCIÓN ATÓMICA (AAS)

### 1.4.1- Introducción

La espectroscopia de absorción atómica constituye un método para el análisis elemental de soluciones y es de gran utilidad en la determinación de trazas de metales en líquidos. Con esta técnica puede determinarse el contenido total de metales en la muestra, independientemente del estado molecular en que se encuentre. El método es tan sensible que permite detectar elementos distintos a concentraciones tan bajas como 1 ppm. El creciente desarrollo de esta técnica es debido a su elevada sensibilidad y a la facilidad relativa con que se obtienen los resultados. Una de las ventajas más importantes, es el poder realizar determinaciones aún en presencia de otros muchos elementos. Al no existir interferencias no es necesario separar el elemento problema de los demás elementos presentes en la muestra, con lo que se gana mucho tiempo y se eliminan numerosas fuentes de error.

En la figura 12 se muestra el esquema de un equipo para espectroscopia de absorción atómica. El fundamento es similar al de otros métodos espectroscópicos de absorción.



**Figura 12-** Esquema del equipo utilizado en espectroscopia de absorción atómica

La luz, que procede de una fuente adecuada, alcanza el detector después de atravesar la muestra; la cantidad de luz absorbida se obtiene midiendo la intensidad de la radiación antes y después de atravesar la muestra. [20]

### 1.4.2- Fuente de Radiación

Los métodos analíticos que se basan en la absorción atómica, son potencialmente muy específicos debido a que las líneas de absorción son muy estrechas (de unos 0,002 a 0,005 nm) y las energías de transición electrónicas son únicas para cada elemento.

El problema de trabajar con líneas tan estrechas se ha resuelto utilizando un cátodo hueco como fuente de radiación.

#### 1.4.2.1- Lámparas de cátodo hueco

Los monocromadores no pueden aislar líneas más estrechas de  $10^{-3}$  o  $10^{-2}$  nm. Para producir líneas estrechas de frecuencia correcta, se usa una lámpara de cátodo hueco que contenga el metal del mismo elemento que se quiera analizar.

Una lámpara de cátodo hueco como se describe en la figura 13, contiene en su interior, gas Ne o Ar a una presión de 130-700 Pa (1-5 torr). Cuando se aplica un alto voltaje entre el ánodo y el cátodo, parte del metal del cátodo se evapora por choques, al mismo tiempo que el metal se atomiza, y se excita de forma que emite luz en sus longitudes de onda características. Esta radiación atómica tiene la misma frecuencia que la absorbida por átomos de analito en la llama o en el horno. Las lámparas de cátodo hueco emiten espectros con líneas tan estrechas que pueden ser absorbidas completamente por las líneas de absorción de los átomos. De esta forma se puede detectar y medir fácilmente la absorción atómica. La lámpara de cátodo hueco emite el espectro del metal catódico.

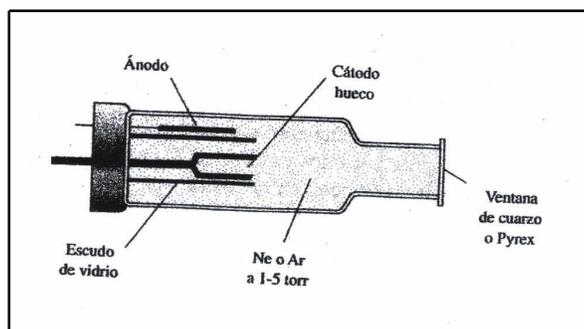


Figura 13- Sección transversal de una lámpara de cátodo hueco.

Se requiere una lámpara distinta para cada elemento, aunque algunas lámparas se fabrican con más de un elemento en el cátodo. En la práctica, esto es un inconveniente que, sin embargo, está compensado por la ventaja que supone el poder operar con líneas espectrales muy estrechas. El espectro emitido consta de todas las líneas de emisión del metal, incluyendo muchas líneas que no son de absorción, lo que, en general, no interfiere con el método analítico. [20-21]

La finalidad del monocromador en espectroscopia atómica es seleccionar una línea de la lámpara de cátodo hueco y eliminar la mayor parte de la emisión procedente de la llama o del horno. [21]

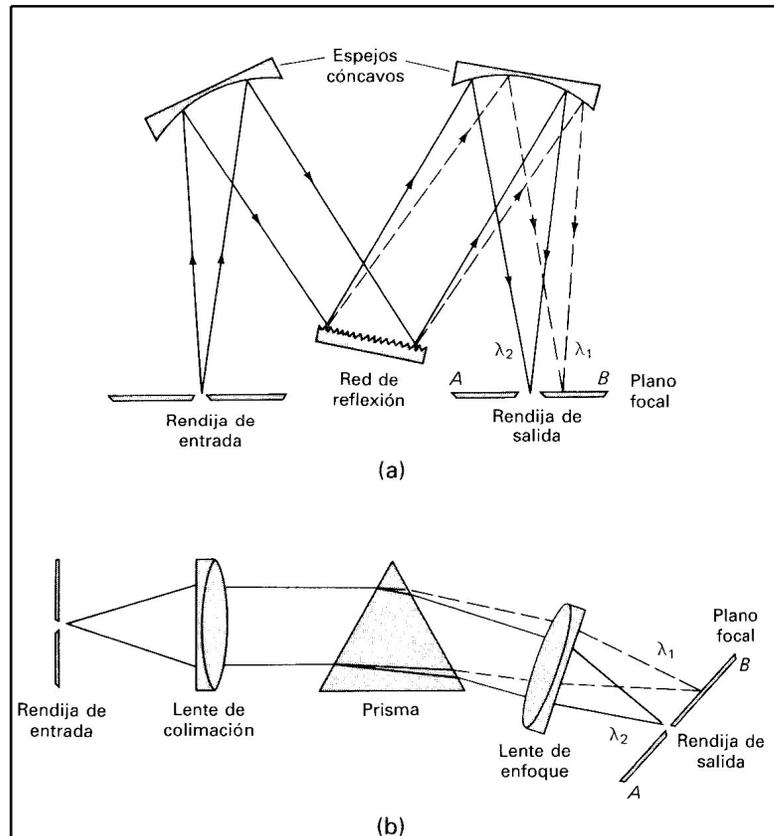
### **1.4.3- Rendijas y Lentes**

Las lentes se utilizan para condensar la radiación en diferentes partes del sistema óptico. La luz debe condensarse para evitar la pérdida de gran parte de la señal, consecuencia de que los rayos no sean paralelos. Las lentes de cuarzo dan resultados muy satisfactorios. También se utilizan espejos cóncavos, que reflejan la luz en sus caras absorbiendo poca radiación. En estos sistemas ópticos, como podemos observar en la figura 14, la luz atraviesa la rendija de entrada y llega al monocromador donde se dispersa y se orienta hacia la rendija de salida. Esta rendija deja pasar la línea de absorción deseada y bloquea las demás líneas del espectro. El sistema de rendijas del monocromador permite seleccionar la longitud de onda de la radiación que llega al atomizador. [20]

### **1.4.4- Monocromador**

Los monocromadores de uso más frecuentes en espectroscopia de absorción atómica utilizan prismas y redes de difracción como mecanismos dispersores de longitudes de onda. El monocromador es necesario para separar las líneas de absorción de las demás líneas espectrales emitidas por el cátodo hueco. Para gran parte de los elementos, no es necesario un elevado poder de dispersión, pero para ciertos metales de transición el espectro de emisión del cátodo hueco es tan complicado que es fundamental una elevada dispersión. Los aparatos de espectroscopia de absorción atómica de aplicación más general utilizan monocromadores de elevada dispersión. El diseño de monocromador casi utilizado en forma universal, es el que se muestra en la figura 14 a, conocido como Czerny Turner, que corresponde a un diseño óptico simple sin muchas piezas mecánicas y con muy buena

capacidad resolutive. Este diseño utiliza normalmente redes de difracción holográficas. Un segundo diseño de monocromadores es el de Bunsen, que se describe en la figura 14 b, que utiliza un prisma de cuarzo como elemento dispersivo de longitudes de onda. Este diseño se encuentra en desuso por la complejidad mecánica del mismo y por el costo del prisma de cuarzo. [20, 24]

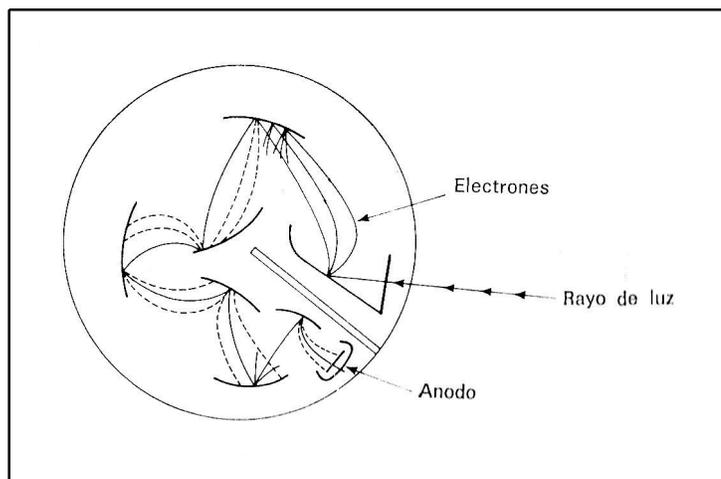


**Figura 14-** *Sistemas de rendijas, espejos y lentes para dos tipos de monocromadores: (a) monocromador de red de Czerny-Turner; (b) monocromador de prisma de Bunsen. (En ambos casos,  $\lambda_1 > \lambda_2$ .)*

#### 1.4.5- Detectores

En espectroscopia ultravioleta los detectores más frecuentes son los tubos fotomultiplicadores. La señal de la fuente es intensa y después de la absorción es ligeramente menor. Su función como detectores es satisfactoria, se mantienen estables y permiten comparar líneas intensas.

El diagrama de un fotomultiplicador se muestra en la figura 15. Los electrones liberados en la superficie metálica son atraídos por un dínodo mantenido a potencial positivo. Estos electrones chocan contra la superficie emitiéndose nuevos electrones, que son atraídos por un segundo dínodo en el que se produce una nueva emisión electrónica y así sucesivamente, hasta que alcancen el detector un número suficiente de electrones. Este número de electrones que se producen en cascada a lo largo de todos los dínodos, es una medida de la intensidad de luz que incide sobre el detector. De esta forma, un simple fotón puede generar una gran cantidad de electrones y producir una señal intensa, pero si el voltaje es demasiado elevado, el detector capta radiación de fondo y la señal posee un elevado ruido. Existe, pues, un potencial óptimo entre los dínodos, que generalmente es de 90 V, con el que se obtiene la señal más adecuada. [21, 24]



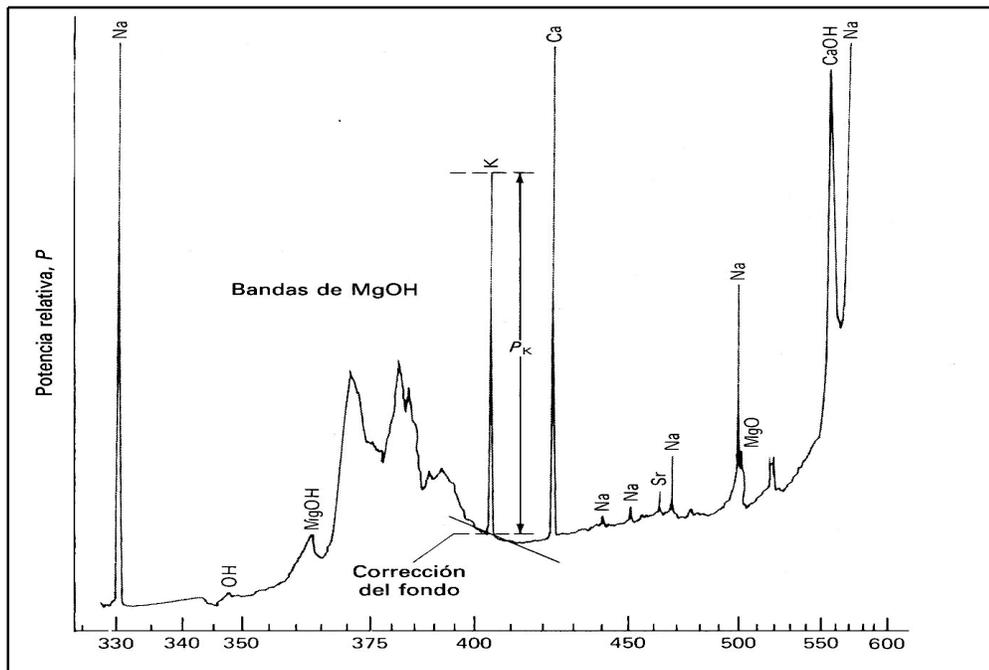
**Figura 15-** Corte transversal de un tubo fotomultiplicador

#### 1.4.6- Interferencias

Una interferencia es cualquier efecto que produce cambios en la señal instrumental, produciendo variaciones en la cuantificación del analito. Las interferencias son frecuentes en espectroscopia atómica y fáciles de pasar inadvertidas, pero se pueden corregir contrarrestando la fuente de la interferencia o preparando patrones que tengan la misma interferencia.

## 1.4.6.1- Interferencias espectrales

Se presentan interferencias espectrales cuando la señal del analito se solapa con señales debidas a otros elementos o moléculas que hay en la muestra o con señales debidas a la llama o al horno. Este tipo de interferencia, en cierto modo, se divide en dos categorías: las interferencias debidas al fondo y las interferencias debidas a las características espectrales en o próximas a la misma longitud de onda. La diferencia entre el fondo y una característica espectral es la variación de la magnitud de la señal con la longitud de onda. El fondo varía lentamente en relación con la señal deseada. En la figura 16 se muestra un espectro de emisión de llama de una salmuera.



**Figura 16-** Espectro de emisión de llama de una salmuera.

Las interferencias debidas a la llama se pueden sustraer usando un corrector de deuterio, Smith-Hieftje o de Zeeman. El mejor medio para tratar solapamiento de líneas de diferentes elementos contenidos en la muestra es escoger otra longitud de onda para hacer el análisis.

#### 1.4.6.2- Interferencias químicas

La interferencia química se presenta cuando el analito a determinar no se encuentra en la misma forma química en todo el intervalo de concentración del análisis o la forma varía significativamente con los cambios en la matriz.

Una de las más importantes interferencias químicas, es causada por los aniones que acompañan a los iones metálicos en la muestra. Estos aniones afectan la estabilidad de los compuestos metálicos formados durante la atomización, y por tanto, modifican la eficacia del atomizador para producir átomos metálicos. Algún componente de la muestra puede disminuir el grado de atomización del analito. Por ejemplo,  $\text{SO}_4^{2-}$  y  $\text{PO}_4^{3-}$  dificultan la atomización del  $\text{Ca}^{2+}$  formando quizá sales no volátiles. En esos casos es importante el uso de los agentes liberadores, los cuales son sustancias químicas que se añaden a una muestra para disminuir una interferencia química. Así, el EDTA y la 8-hidroxiquinoleína protegen el  $\text{Ca}^{2+}$  de efectos interferentes del  $\text{SO}_4^{2-}$  y del  $\text{PO}_4^{3-}$ . El  $\text{La}^{3+}$  también se puede usar como agente liberador, aparentemente reacciona preferentemente con  $\text{PO}_4^{3-}$  y libera al  $\text{Ca}^{2+}$ . Se recomienda una llama rica en combustible para reducir ciertas especies oxidadas de analito que de lo contrario podrían impedir la atomización. Temperaturas altas de llama eliminan muchos tipos de interferencias químicas.

La interferencia de ionización puede ser un problema en el análisis de metales alcalinos a la temperatura relativamente baja de la llama y en el análisis de otros elementos a temperaturas mayores.

Un supresor de ionización es un elemento que se añade a la muestra para disminuir el grado de ionización del analito. Por ejemplo, en el análisis de K se recomienda que las disoluciones contengan 1000 ppm de CsCl, porque el Cs se ioniza más fácilmente que el K. Esto produce una gran concentración de iones y electrones en la llama y de esta manera, la ionización del Cs suprime la ionización del K. La supresión de ionización es deseable en una llama de baja temperatura en la que se necesita observar los átomos neutros.

La autoabsorción se produce como consecuencia de la absorción de la radiación ( $h\nu$ ) por parte de los átomos no excitados presentes en la llama, ocurre cuando la concentración del elemento a determinar es alta, y se traduce en la aparición de curvas de calibrado en forma cóncava, en lugar de una recta.

Un fenómeno que produce la depresión de la señal es la formación de óxidos refractarios y compuestos intermetálicos. Es una interferencia que se produce o puede

producirse cuando se trabaja con llama de aire-acetileno. Elementos con propiedades físicas semejantes se forman sin puente  $O_2$ . [21]

#### 1.4.6.3- Interferencias físicas

Otra fuente de interferencia es el disolvente. En general, para una misma concentración, las soluciones acuosas generan valores de absorbancia menores que los disolventes orgánicos. La razón es que el metal se atomiza con más dificultad en la solución acuosa.

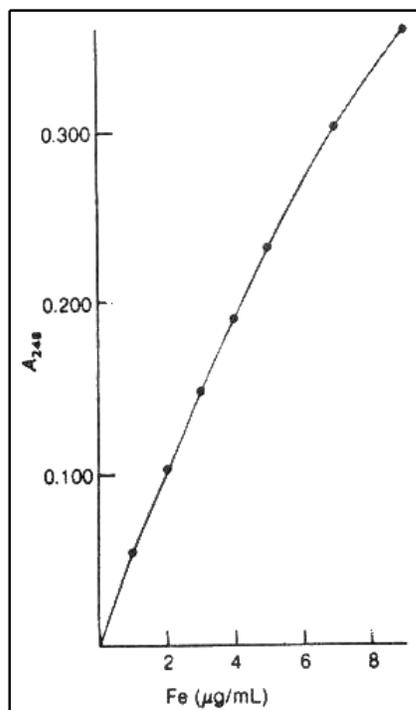
Las interferencias físicas aparecen como consecuencia de variaciones, cambios o diferencias en ciertas propiedades físicas de las soluciones que se procesan: tensión superficial ( $\sigma$ ), la viscosidad ( $\eta$ ) y densidad ( $\delta$ ) ya que influyen directamente sobre la velocidad de entrada de la muestra y la eficiencia de atomización. Para corregir estos problemas es habitual preparar patrones que posean una composición lo más cercana posible a la de la muestra.

### 1.5- MÉTODOS ANALÍTICOS DE CUANTIFICACIÓN

La mayoría de los elementos de la tabla periódica pueden analizarse por absorción o por emisión atómica, o por ambas. Los elementos más comúnmente analizados por emisión atómica con llama son Li, Na y K. La elección del método (ICP-OES y AAS) dependerá esencialmente de los límites de detección requeridos, así como de los costos instrumentales y de mantenimiento. [21]

#### 1.5.1. Curva de Calibración

La técnica más común para el análisis cuantitativo se basa en la construcción de una curva patrón, estándar o de calibración como la representada en la figura 17, utilizando cantidades conocidas del elemento deseado en una solución con concentración semejante a la de la muestra problema. La curva de calibración se emplea para encontrar la concentración de problema a partir de su señal de absorbancia o emisión. Es esencial que la composición de los patrones sea lo más cercana posible a la del problema, porque soluciones diferentes tienen diferentes tipos de interferencias que afectan la señal. [21]



**Figura 17** – Curva de Calibración en Absorción Atómica para Fe.

### 1.5.2. Método del Sobreagregado

El método del sobreagregado consiste en construir una curva de calibrado con soluciones puras del analito, similar a la mostrada en la figura 17. Luego se procede a leer una alícuota de la muestra problema y otra alícuota igual del problema pero a la que se le adiciona una cantidad perfectamente conocida del analito.

Si la concentración del analito encontrada es igual a la adicionada significa que no hay interferencia de radiación o de matriz, es decir, ni depresión ni exaltación de la señal.

La concentración más conveniente es duplicar la concentración inicial. Por ejemplo, si se encuentran 2 ppm como la concentración del analito, se le agrega 2 ppm para que al final sean 4 ppm. Para resolver se opera de la manera siguiente:

$$CR = CE \cdot \frac{SR}{SE}$$

Donde:

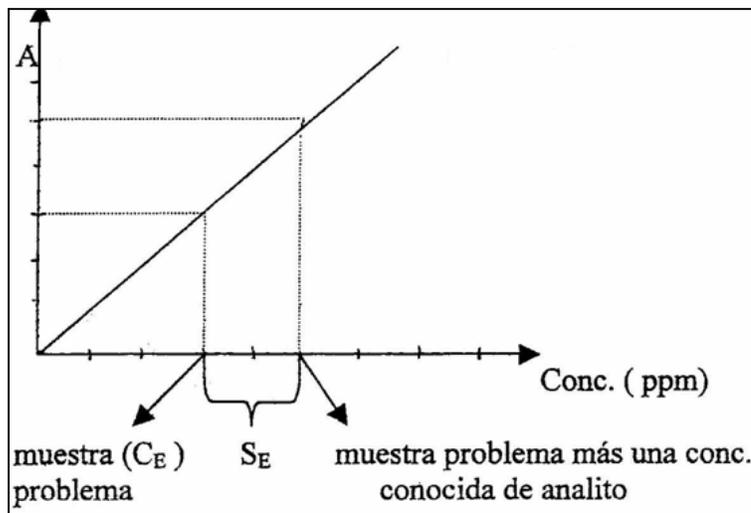
CR : Concentración real

CE: Concentración encontrada

SR : Sobreagregado real

SE: Sobreagregado encontrado

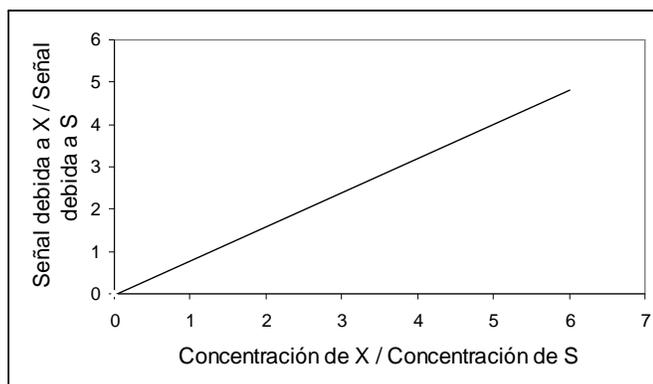
Si SR es menor que SE, hay exaltación de la señal; pero si por el contrario SR es mayor que SE hay depresión de la señal. La figura 18 representa gráficamente la cuantificación de un analito por el método del sobreagregado.



**Figura 18** – Curva de calibrado para el método del sobreagregado

### 1.5.3. Método del Patrón Interno

Un patrón interno es una cantidad conocida de un compuesto, diferente del analito, que se añade a una muestra desconocida. La señal del analito se compara con la del patrón interno, y de ese modo se determina el analito presente en la muestra problema. En la etapa de calibración se grafica la relación de señal analito (X)/señal patrón interno (S) en función de la concentración del analito (X)/concentración de patrón interno (S), tal como se observa en la figura 19.



**Figura 19** – Curva de calibración para un patrón interno

Los patrones internos tienen su máxima utilidad cuando se esperan pérdidas inevitables de la muestra. Si se agrega un patrón a una mezcla antes de cualquier pérdida, entonces la fracción de patrón que se pierde es la misma que la fracción de muestra que se pierde, y el cociente (concentración de problema) / (concentración de patrón) permanece constante. Los patrones internos son útiles también cuando no es posible controlar la matriz de la muestra. [21]

#### 1.5.4. Método de Adición de Patrón

También llamado Método de Adición Estándar o Método de Adición Sucesiva. Este método se aplica cuando no hay interferencias químicas o espectrales y la muestra y patrones cumplen con la Ley de Beer.

Se agregan cantidades conocidas y crecientes del analito bajo estudio a iguales alícuotas de muestra y se mide el incremento de la señal. Todas las soluciones se diluyen al mismo volumen total, y deben tener la misma composición final (excepto por la concentración del analito añadido). Si la concentración del problema es [X] y la del patrón agregado es [S], puede decirse que:

$$\frac{[X]}{[X] + [S]} = \frac{[Ax]}{[As + x]}$$

Donde:

$A_X$ : Absorbancia del problema y,

$A_{S+x}$ : Absorbancia del problema más el patrón.

La ecuación es válida sólo si la absorbancia o la emisión guardan una relación lineal con la concentración. La mayoría de los elementos tienen un intervalo en el que esto se cumple.

En la ecuación, [X] puede despejarse directamente. O bien es posible efectuar una serie de adiciones de patrón y graficar los resultados a fin de hallar la concentración de la muestra problema. En este gráfico, el eje de las x es la concentración del analito agregado después de que se ha mezclado con la muestra. La abscisa al origen de la recta extrapolada es igual a la concentración del problema después de que éste se ha diluido al volumen final. Estadísticamente, el intervalo más adecuado para efectuar adiciones de patrón es aquel en el que ocurre un incremento en la concentración del analito de entre 1,5 y 3 veces

su valor inicial. La principal ventaja del método de adición de patrón es que la matriz es la misma para todas las muestras. [21]

## ***2. Objetivos del Trabajo Propuesto***

---

## **Capítulo 2- OBJETIVOS DEL TRABAJO PROPUESTO**

### **2.1- IMPORTANCIA DE LA CUANTIFICACIÓN DE ELEMENTOS DE TRANSICIÓN EN SUELOS BIORREMEDIADOS**

En virtud de ausencia de antecedentes científicos referidos a la cuantificación de elementos de transición en suelos biorremediados, sumado a la ausencia de normativa vigente que regule el contenido de dichos elementos, resulta de importancia conocer la concentración de dicho contenido a los fines de poder realizar una evaluación de impacto ambiental en la zona petrolera 25 de Mayo-Medanito (La Pampa) a los fines de analizar dicho impacto para futuros usos del suelo con fines agrícolas, forestales, ganadero, asentamientos humanos etc.

Los derrames de petróleo ocurridos en la zona, son remediados a través de procedimientos biológicos [25], en sitios abiertos y delimitados, utilizando diferentes tipos de cepas de bacterias capaces de degradar el material petrolífero derramado. Este procedimiento permite una reducción significativa del contenido de hidrocarburos totales en el suelo tratado. Sin embargo, el aporte de especies inorgánicas presentes en el petróleo, podrían generar contaminación a largo plazo y no son evaluadas ni se encuentran legisladas aún en el país. Tal es el caso de ciertos elementos de transición, los cuales podrían permanecer en el suelo por largos períodos de tiempo sin degradarse, escurrir a la cuenca del Río Colorado por lixiviación, infiltrarse en napas subterráneas o movilizarse a otros cursos de agua. Estas especies conforman un pasivo ambiental cuyo impacto es aún poco conocido.

El presente trabajo busca ahondar en aspectos referidos al impacto ambiental [26, 27] causado por el contenido de hierro, cobre y manganeso que pudiera aportar el petróleo al suelo biorremediado, en las denominadas áreas de biorremediación correspondientes a la zona de explotación petrolera 25 de Mayo-Medanito (La Pampa).

# *3. Materiales y Métodos*

---

## Capítulo 3- MATERIALES Y MÉTODOS

### 3.1- INSTRUMENTAL Y MATERIALES UTILIZADOS

#### 3.1.1- Material de Laboratorio

- Vasos de Precipitado de 50 mL.
- Cápsulas de Porcelana.
- Matraces de 100 mL, 50 mL y 25 mL para preparación de muestras y patrones.
- Pipetas doble aforo de 1mL, 2 mL, 3 mL, 4 mL, 5 mL, 10 mL, 15 mL, 20 mL, 25 mL y 50 mL.
- Pipetas de 10 mL.
- Varillas de Vidrio.
- Vidrios de Reloj.
- Telas de Amianto.
- Mecheros.

#### 3.1.2- Reactivos

- Ácido Nítrico fumante al 65 % p/p p.a. marca Carlo Erba.
- Ácido Clorhídrico al 38 % p/p p.a. marca Ciccarelli.
- Solución de Ácido Nítrico 2 mol.L<sup>-1</sup>.
- Estándares Metálicos de Calidad Espectroscopia:
  - Fe: 1000 mg.L<sup>-1</sup>, en ácido clorhídrico al 15 %. Titrisol. Marca MERCK.
  - Cu: 1000 mg.L<sup>-1</sup>. Titrisol. Marca MERCK.
  - Mn: 1000 mg.L<sup>-1</sup>. Tritisol. Marca MERCK.
- Agua ultrapura (Resistencia = 18 MΩ).

#### 3.1.3- Preparación de los Estándares Metálicos

Cada uno de los estándares metálicos comerciales fueron diluidos y llevados a volumen de 1000 mL con agua ultrapura obteniéndose, de esta manera, las soluciones

madres respectivas a partir de las cuales se prepararon posteriormente los patrones de calibración.

### **3.1.4- Medidas de Absorbancia**

Las medidas de absorbancia fueron realizadas con un espectrofotómetro de Absorción Atómica marca Metrolab, modelo RC 250 AA, equipado con un fotomultiplicador.

### **3.1.5- Medidas de Masa**

- Balanza Granataria Ohaus, modelo T54KD (precisión estándar).
- Balanza Analítica Mettler, modelo H 20.

### **3.1.6- Instrumental Adicional**

- Estufa marca Dalvo Instrumentos, modelo CHR F 1.
- Mufla marca Dalvo Instrumentos.
- Equipo de filtración de vacío con filtros de membrana marca Millipore de 0,45 micras.
- Purificador de Agua EASYpure II UV / UF, modelo D8611.

## *4. Resultados y Discusión*

---

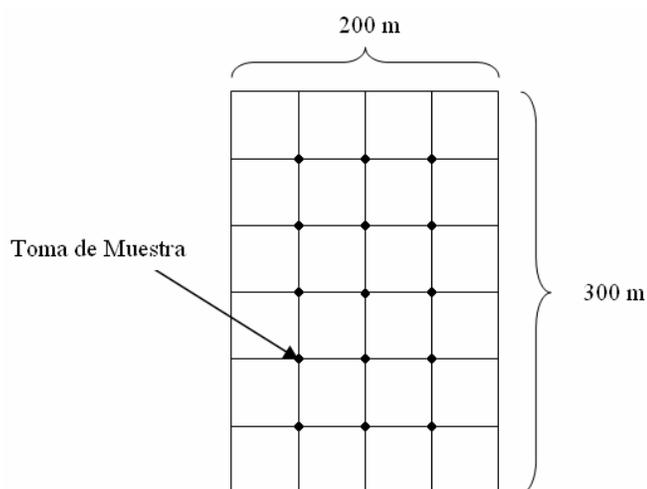
## Capítulo 4 – RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 4.1- TOMA DE MUESTRA

El muestreo fue llevado a cabo en la zona de Medanito-25 de Mayo, departamento de Puelén, provincia de La Pampa.

La zona en estudio corresponde a la región fisiográfica Occidental, caracterizada por tener un clima, régimen hídrico, de árido a semiárido. Su paisaje está compuesto por amplias planicies recortadas y controladas por sedimentos superficiales bien consolidados, costras calcáreas, basaltos y rodados, cuya presencia le otorga heterogeneidad; superficialmente esta región se encuentra cubierta por una delgada capa arenosa que constituye en términos generales el material originario de los suelos, denominados Aridisoles. Los mismos son muy poco desarrollados, no tienen diferenciación apreciable de horizontes y son de textura arenosa. [28].

Un total de 15 muestras de suelos biorremediados y 3 muestras de suelos testigos se recolectaron de la zona en estudio mediante un muestreo aleatorio sistemático [29, 30], realizando sobre la superficie a muestrear, un trazado perpendicular de distancias regulares y tomando las muestras en los puntos de intersección. La zona de toma de muestra de suelo remediado consistió en un rectángulo de 200 x 300 metros, mientras que los suelos testigos se tomaron en las adyacencias de dicha zona.



**Figura 20** – Diagrama del muestreo

## 4.2-PRETRATAMIENTO DE MUESTRA

Cada muestra fue mineralizada pesando 2 gramos de 2 mm de diámetro, previo secado en estufa a una temperatura de 100 °C. Posteriormente se llevó a 550 °C en mufla durante 2 horas. Luego se agregaron 24 ml de ácido clorhídrico al 38 % p/p y 8 mL de ácido nítrico fumante al 65 % p/p; se homogeneizó la mezcla y se llevó a baño de arena a 115 °C durante 2 horas. El extracto resultante se filtró y se enrasó a 100 mL con ácido nítrico 2 mol L<sup>-1</sup>. [31, 32]

Con este método se obtienen como resultado los elementos totales.

El contenido de hierro, cobre y manganeso que pudiera aportar el petróleo al suelo biorremediado, en las denominadas áreas de biorremediación correspondientes a la zona de explotación petrolera Medanito-25 de Mayo (La Pampa), se determinó a través de la cuantificación de estos elementos en el suelo biorremediado, comparándolos con suelos testigos de la región.

Si se quisieran determinar los elementos disponibles habría que realizar una extracción con EDTA. [31]

## 4.3- PREPARACIÓN DE PATRONES

A partir de cada uno de los estándares metálicos, de calidad espectroscópica, de 1000 mg.L<sup>-1</sup>, se prepararon los correspondientes patrones de calibración. [33]

Alícuotas de volúmenes apropiados de las soluciones estándares de hierro, manganeso y cobre, fueron transferidos a matraces de 50 mL para hierro y 25 mL para manganeso y cobre. Los mismos fueron llevados a volumen con agua ultrapura.

Los niveles de concentración empleados para la confección de las rectas de calibración correspondientes a hierro, manganeso y cobre fueron los siguientes:

- Fe: 3, 4, 5, 6, 8, 10 y 12 mg L<sup>-1</sup>.
- Mn: 1, 2, 3, 4, 5, 8 y 10 mg L<sup>-1</sup>.
- Cu: 1, 2, 3, 4, 5, 8 y 10 mg L<sup>-1</sup>.

## **4.4-PROCEDIMIENTO ANALÍTICO**

### **4.4.1- Condiciones Instrumentales de Operación**

El contenido de Fe, Mn y Cu se determinó mediante Espectroscopia de Absorción Atómica con Atomización de Llama (AF-AAS) por nebulización directa, seleccionando las longitudes de onda 213,8; 403,3 y 324,7 nm para Fe, Mn y Cu respectivamente [33].

Se utilizó una llama oxidante de acetileno – aire con una velocidad de flujo entre 2 y 3 divisiones en los correspondientes rotámetros.

La intensidad de la corriente de cada una de las lámparas de cátodo hueco utilizadas en la cuantificación de los tres elementos en estudio fue de 10 mA.

### **4.4.2- Procedimiento**

Para la cuantificación de los tres elementos se utilizó el método del sobreagregado, descrito en la sección 1.5.2, que consiste en determinar la absorbancia de la muestra, con y sin agregado de patrón de concentración conocida. Las determinaciones analíticas se realizaron por triplicado en estándares y muestras.

#### **4.4.2.1- Muestras de Fe**

En dos matraces de 50 mL se colocó 1 mL de extracto. Uno de ellos fue adicionado con una alícuota de solución estándar a fin de obtener una concentración final de  $6 \text{ mg L}^{-1}$  de agregado, mientras que el segundo no fue adicionado. Ambos se enrasaron con agua ultrapura.

#### **4.4.2.2- Muestras de Mn**

En dos matraces de 25 mL se colocó 10 mL de extracto. Uno de ellos fue adicionado con una alícuota de solución estándar a fin de obtener una concentración final de  $4 \text{ mg L}^{-1}$  de agregado, mientras que el segundo no fue adicionado. Ambos se enrasaron con agua ultrapura.

#### 4.4.2.3- Muestras de Cu

En dos matraces de 25 ml se colocó 20 mL de extracto. Uno de ellos fue adicionado con una alícuota de solución estándar a fin de obtener una concentración final de  $4 \text{ mg L}^{-1}$  de agregado, mientras que el segundo no fue adicionado. Ambos se enrasaron con agua ultrapura.

#### 4.4.2.4. Blancos

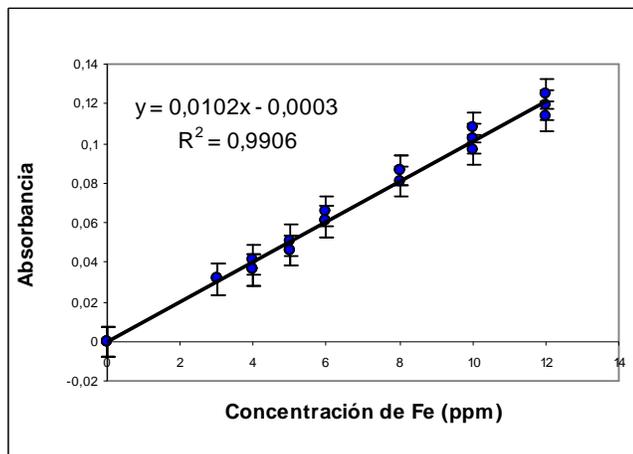
A los fines de contrarrestar interferencias de absorción por eventuales aportes debidos al uso de ácido nítrico y ácido clorhídrico en el pretratamiento de la muestra, se prepararon soluciones de blancos de reactivos, analizándose dichos blancos por triplicado.

### 4.5- CUANTIFICACIÓN DE Fe, Mn y Cu

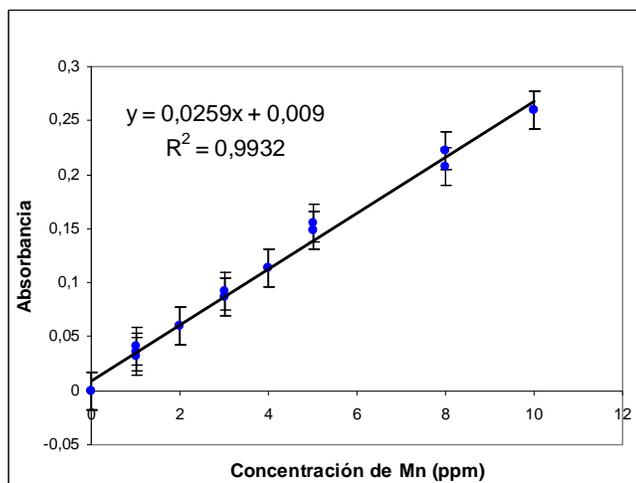
Las muestras bajo estudio, tuvieron una concentración inicial de petróleo de entre el 3 al 6 % en base a peso seco. Dicho contenido fue determinado de acuerdo a la Norma EPA Método 9071B, cuantificación gravimétrica de material extraíble con n-hexano (% MEH) en base a peso seco de muestra. [34]

#### 4.5.1- Curvas de Calibración de Fe, Mn y Cu

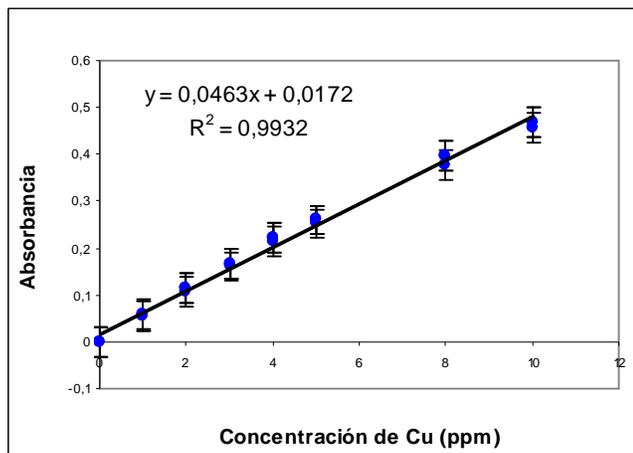
Las figuras 21, 22 y 23 muestran las rectas de calibración de Fe, Mn y Cu con sus respectivas ecuaciones de regresión. En los tres casos, se observa un adecuado ajuste lineal, con coeficientes de regresión de 0,9906 para Fe y 0,9932 para Mn y Cu. Estas rectas de calibración fueron luego utilizadas para la cuantificación de estos elementos en las muestras reales utilizando el método del sobreagregado.



**Figura 21:** Curva de Calibración de Fe.



**Figura:** Curva de calibración de Mn.



**Figura 23:** Curva de Calibración de Cu.

En la tabla 4, se observan los resultados hallados para las concentraciones de Fe, Cu y Mn, expresadas en  $\text{mg kg}^{-1}$ , en los suelos testigo y suelos biorremediados.

**Tabla 4:** Concentraciones de Fe, Mn y Cu.

Muestras Biorremediadas	Fe ( $\text{mg kg}^{-1}$ )	Mn ( $\text{mg kg}^{-1}$ )	Cu ( $\text{mg kg}^{-1}$ )
M1	24450	352	43
M2	29350	536	10
M3	17675	244	23
M4	17200	536	21
M5	23175	532	105
M6	24450	631	33
M7	43125	820	22
M8	22975	696	8
M9	19575	356	23
M10	18375	1070	23
M11	23175	404	21
M12	21875	373	22
M13	33450	303	9
M14	18375	353	47
M15	26900	430	17
<b>Media</b>	<b>24275</b>	<b>509</b>	<b>28</b>
<b>Desviación estándar</b>	<b>6904</b>	<b>221</b>	<b>24</b>
Muestras Testigo	Fe ( $\text{mg kg}^{-1}$ )	Mn ( $\text{mg kg}^{-1}$ )	Cu ( $\text{mg kg}^{-1}$ )
B1	13675	357	7
B2	19575	283	8
B3	16550	285	6
<b>Media</b>	<b>16600</b>	<b>308</b>	<b>7</b>
<b>Desviación estándar</b>	<b>2409</b>	<b>34</b>	<b>1</b>

Referencias:

M: Muestras de suelos biorremediados.

B: Suelos testigo.

Mediante tratamiento estadístico de significación [35], utilizando la prueba t para comparación de medias con varianzas desiguales entre suelos testigos y suelos biorremediados, a un nivel de confianza del 95 %, se hallaron diferencias altamente significativas ( $p < 0,01$ ) en el contenido mineral entre ambos grupos, lo cual puede observarse en la tabla 5. Por otra parte, se informa en dicha tabla, el promedio de Fe, Mn y Cu ( $\text{mg kg}^{-1}$ ) aportados por el petróleo en el suelo biorremediado.

**Tabla 5:** Resultados de la pruebas de significación t.

Elemento	t calculado	t crítico	Promedio de aporte ( $\text{mg kg}^{-1}$ )	p
<b>Fe</b>	3.11	1.89	<b>7675</b>	0,0081
<b>Mn</b>	3.23	1.75	<b>201</b>	0,0027
<b>Cu</b>	3.44	1.76	<b>21</b>	0,0053

# ***5. Conclusiones***

---

## **Capítulo 5 - CONCLUSIONES**

El impacto ambiental que la actividad humana produce en el suelo, debido a la contaminación con petróleo, es un aspecto que está recibiendo una creciente atención en los últimos años. Esto es debido a los riesgos directos que los suelos contaminados podrían ejercer sobre la salud humana. Por otra parte existen implicancias económicas derivadas de su limitación de uso con fines agrícolas, ganaderos, forestales, etc. Ambos aspectos podrían traer como consecuencia, una eventual devaluación de los terrenos contaminados.

En la provincia de La Pampa, por el momento, aún no existe legislación que involucre procedimientos de control relativos al aporte de elementos de transición por parte del petróleo en suelos biorremediados. Si bien dichos suelos son tratados biológicamente con bacterias, estas solo degradarían la materia orgánica, dejando inalterado el contenido de metales pesados provenientes del petróleo.

A partir del presente trabajo, se pueden alcanzar las siguientes conclusiones:

- Se ha aportado nuevo conocimiento sobre la contribución de Fe, Mn y Cu por parte del petróleo, en suelos biorremediados en la zona Medanito-25 de Mayo, provincia de La Pampa, los cuales han sido significativamente superiores de los suelos naturales de la región. Es necesario aclarar que las muestras testigo pertenecían al terreno adyacente al destinado a la biorremediación, mientras que las muestras de suelo biorremediado provenían de diferentes lugares. El  $\text{Fe}^{+3}$  puede estar formando parte de la estructura octahédrica de los filosilicatos, esmectitas o vermiculitas, por lo cual puede estar siendo aportado por la abundante cantidad de bentonitas presentes en el suelo de la región. Esta situación es solo válida para el  $\text{Fe}^{+3}$ , debido a que los cationes  $\text{Mn}^{+2}$  y  $\text{Cu}^{+2}$  raramente se encuentran saturando las cargas negativas de estos minerales.
  
- La exactitud de los resultados fue evaluada a través de la utilización del método de sobregregado para minimizar efectos de exaltación o depresión de la señal analítica.

- La precisión de los resultados puede estar afectada debido a la heterogeneidad del material donde se realizó la biorremediación, a pesar de que el número de muestras analizado (n=15) puede ser considerado suficiente.
- La legislación provincial fija, con respecto a los niveles guía de calidad de suelos, tanto para uso agrícola, residencial y/o industrial, que el Fe y el Mn no son considerados constituyentes peligrosos. Sin embargo el Cu es considerado como un constituyente peligroso cuando su concentración, en  $\mu\text{g g}^{-1}$  (lo que equivale a  $\text{mg kg}^{-1}$ ) supera los valores límites de 150 para uso agrícola, 100 para uso residencial y 500 para uso industrial. Es decir, que la cantidad de Cu, que en el presente trabajo se obtuvo como resultado del aporte del petróleo al suelo, no superaría los valores límites establecidos por la legislación, no constituyendo, al menos por el momento, un riesgo a nivel agrícola, residencial y/o industrial. De todas formas, los indicios de Cu encontrados, hacen necesario un seguimiento de estos suelos a lo largo del tiempo, dado que los niveles de este elemento podrían incrementarse debido a efectos acumulativos en el tiempo y ser potencialmente riesgoso para alguno de los fines a los que se destinen estos terrenos.
- Que se hace necesaria la cuantificación de elementos tóxicos aportados por el petróleo, a fin de evaluar fehacientemente su presencia. Dicha cuantificación debe realizarse a través de metodologías analíticas avanzadas, no asequibles en la UNLPam.
- Que, en virtud de lo expuesto, el presente trabajo ha tenido como intención, demostrar aportes significativos de Fe, Mn y Cu a fin de realizar estudios más profundos sobre aspectos referidos a la contaminación y evitar eventuales riesgos ambientales para las actuales y futuras generaciones.

## ***6. Bibliografía***

---

## Capítulo 6 - BIBLIOGRAFÍA

- [1] Morrison, R.T.; Boyd, R.N. “Química Orgánica. Quinta Edición”. Fondo Educativo Interamericano. Estados Unidos. 1990.
- [2] Manahan, S.E. “Environmental Chemistry. Sixth Edition”. Lewis Publishers. Estados Unidos. 1994.
- [3] Pratt, L.M.; Comer, J.B.; Brasell, S.C. “Geochemistry of organic matter in sediments and sedimentary rocks”. Society for Sedimentary Geology. Estados Unidos. 1992.
- [4] Wrightson, F.M. “Determination of Traces of Iron, Nickel and Vanadium in Petroleum Oils”. Analytical Chemistry. Vol. 21, (12), 1543-1545. Diciembre 1949.
- [5] Karchmer, J.H.; Gunn, E.L. “Determination of Trace Metals in Petroleum Fractions”. Analytical Chemistry. Vol. 24, (11), 1733-1741. Noviembre 1952.
- [6] Gamble, L.W.; Jones, W.H. “Determination of Trace Metals in Petroleum”. Analytical Chemistry. Analytical Chemistry. Vol. 27, (9), 1456-1459. Septiembre 1955
- [7] Forrester, J.S.; Jones, J.L. “Rapid Chemical determination of iron, Nickel and Vanadium in Petroleum Oils”. Analytical Chemistry. Vol. 32, (11), 1443-1446. Octubre 1960.
- [8] Shott, J.E. Jr.; Garland, T.J.; Clark, R.O. “Determination of Traces of Nickel and Vanadium in Petroleum Distillates”. Analytical Chemistry. Vol. 33, (4), 506-510. Abril 1961.
- [9] Fish, R.H.; Komlenic, J.J. “Molecular Characterization and Profile Identifications of Vanadyl Compounds in Heavy Crude Petroleums by Liquid Chromatography / Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrometry”. Analytical Chemistry. Vol. 56, (3), 510-517. Marzo 1984.

- [10] Fish, R.H.; Komlenic, J.J.; Wines, B. K. “Characterization and Comparison of Vanadyl and Nickel Compounds in Heavy Crude Petroleums and Asphaltenes by Reverse – Phase and Size- Exclusion Liquid Chromatography / Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrometry”. *Analytical Chemistry*. Vol. 56, 2452-2460. Noviembre 1984.
- [11] Lord, C.J. “Determination of Trace Metals in Crude Oil by Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry with Microemulsion Sample Introduction”. *Analytical Chemistry*. Vol. 63, (15), 1594-1599. Agosto 1991.
- [12] Vilhunen, J.K.; von Bohlen, A.; Schmeling, M.; Klockenkämper, R.; Klockow, D. “Total Reflection X – Ray Fluorescence analyses of samples from oil refining and Chemical Industries”. *Spectrochimica Acta Part B*. Vol. 52, 953-959. Septiembre 1996.
- [13] Guidroz, J. M.; Sneddon, J. “Fate of Vanadium Determined by Nitrous Oxide – Acetylene Flame Atomic Absorption Spectrometry in Unburned and Burned Venezuelan Crude Oil”. *Microchemical Journal*. Vol. 73, 363-366. Abril 2002.
- [14] Aucélio, R.Q.; Doyle, A.; Pizzorno, B.S.; Tristao, M.L.; Campos, R.C. “Electrothermal Atomic Absorption Spectrometry Method for the Determination of Vanadium in Diesel and Asphaltene Prepared as Detergentless Microemulsions”. *Microchemical Journal*. Vol. 78, 21-26. Febrero 2004.
- [15] Vale, M.G.R.; Damin, I.C.F.; Klassen, A.; Silva, M.M.; Welz, B.; Silva, A.F.; Lepra, F.G.; Borges, D.L.G.; Heitmann, U. “Method Development for the Determination of Nickel in Petroleum using Line – Source and High – Resolution Continuum – Source Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrometry”. *Microchemical Journal*. Vol. 77, 131-140. Febrero 2004.
- [16] De Souza, R.M.; Meliande, A.L.S.; Da Silveira, C.L.P.; Aucélio, R.Q. “Determination of Mo, Zn, Cd, Ti, Ni, V, Fe, Mn, Cr and Co in Crude Oil using Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry and Sample

- Introduction as Detergentless Microemulsions”. *Microchemical Journal*. Vol. 82, 137-141. Enero 2006.
- [17] República Argentina. Ley Nacional N° 24.051 : Residuos Peligrosos.
- [18] Provincia de La Pampa. Decreto N° 2054 /00 : Reglamentación de la Ley Provincial N° 1.466, adhiriendo la provincia de La Pampa a la Ley Nacional N° 24.051, referida al tratamiento de los Residuos Peligrosos.
- [19] Provincia de La Pampa. Decreto N° 298 /06 : aprobando la Reglamentación de la Ley N° 1.914 : Ley Ambiental Provincial.
- [20] Skoog, D.A; Leary, J.J. “Análisis Instrumental. Cuarta Edición”. McGraw Hill. 228-268. España. 1994.
- [21] Harris, D.C. “Análisis Químico Cuantitativo”. Grupo Editorial Iberoamérica. 580 – 597. México 1992.
- [22] Lajunen, L.H.J. “Spectrochemical Análisis by Atomic Absorption and Emission”. Royal Society of Chemistry. Cambridge. 1992.
- [23] Ximenez Herraiz, L. “Espectroscopia de Absorción Atómica”. Publicaciones Analíticas. Madrid. 1980.
- [24] Skoog, D.A; West, D.M; Holler, F.J. “Química Analítica. Sexta Edición”. McGraw-Hill. México. 1997.
- [25] Donati, E.: “Biorremediación de metales pesados utilizando bacterias azufre oxidantes y sulfato-reductoras”. Centro de Investigación y Desarrollo en Fermentaciones Industriales (CINDEFI-CONICET). Facultad de Ciencias Exactas, Universidad Nacional de La Plata, La Plata, Argentina. *Acta Toxicológica Argentina* (2003) 11 (1): 7-47.

- [26] Barrenetxea, C.O.; Pérez Serrano, A.; González Delgado, M.A.; Rodríguez Vidal, F.J. “Contaminación Ambiental. Una visión desde la Química”. Editorial Thomson. Madrid. 2004.
- [27] Marr, I.L.; Cresser, M.S.; Gomez Ariza, J.L. “Química Analítica del Medio Ambiente”. Universidad de Sevilla. Sevilla. 1983.
- [28] Moscatelli, G. “Atlas de Suelos de la República Argentina. Escala 1:500000 y 1:1000000. Tomo I y II”.Secretaría de Agricultura, Ganadería y Pesca. INTA. Centro de Investigaciones de Recursos Naturales. Buenos Aires. 1990.
- [29] Cámara, C.; Fernández Hernando, P.; Martín-Estaban, A.; Pérez-Conde, C.; Vidal, M. “Toma y Tratamiento de Muestras”. Editorial Síntesis S.A. Madrid. 2004.
- [30] Kellner, R.; Mermet, J.M.; Otto, M.; Valcárcel, M.; Widmer, H.M. “Analytical Chemistry”. Wiley-VCH. Weinheim. Germany. 2004.
- [31] Smith, K.A.; Mullins, C.E. “Soil Analysis”. Edited by Marcell Dekker. New York.1991.
- [32] Schiliching, E.; Blume, H.P.; Sthar, K. “Bodenkundliches Praktikum. Pareys Studentext 81”. Blackwell Wissenschafts – Verlag. Berlin. 1995.
- [33] Haswell, S.J. “Atomic Absorption Spectrometry. Theory, Design and Applications”. Edited by Elsevier. Oxford. 1991.
- [34] Norma EPA Método 9071B.
- [35] Miller, J.M.; Miller, J.C. “Estadística y Quimiometría para Química Analítica”. Editorial Pearson. Madrid. 2002.

Como resultado del presente trabajo de tesis se realizó la siguiente presentación a un Congreso Nacional:

- *“Evaluación de impacto ambiental en la zona petrolera 25 de Mayo – Medanito (La Pampa): Determinación del contenido de Hierro, Cobre y Manganeso en suelos biorremediados”*. M. A. Cantarelli, L. A. Iturri, M. S. Boeris, J. M. Camiña, E. J. Marchevsky. XXVII Congreso Argentino de Química. 17 al 19 de septiembre de 2008, Tucumán, Argentina.