

Información Importante

La Universidad Santo Tomás, informa que el(los) autor(es) ha(n) autorizado a usuarios internos y externos de la institución a consultar el contenido de este documento a través del Catálogo en línea de la Biblioteca y el Repositorio Institucional en la página Web de la Biblioteca, así como en las redes de información del país y del exterior con las cuales tenga convenio la Universidad.

Se permite la consulta a los usuarios interesados en el contenido de este documento, para todos los usos que tengan **finalidad académica**, nunca para usos comerciales, siempre y cuando mediante la correspondiente cita bibliográfica se le dé crédito al trabajo de grado y a su autor.

De conformidad con lo establecido en el Artículo 30 de la Ley 23 de 1982 y el artículo 11 de la Decisión Andina 351 de 1993, la Universidad Santo Tomás informa que “los derechos morales sobre documento son propiedad de los autores, los cuales son irrenunciables, imprescriptibles, inembargables e inalienables.”

Bibliotecas Bucaramanga
Universidad Santo Tomás

**DETERMINACIÓN DE LOS COMPUESTOS BENCENO, TOLUENO,
ETILBENCENO Y XILENOS (BTEX) EN MATRICES ACUOSAS APLICANDO
EXTRACCIÓN LÍQUIDO-LÍQUIDO Y GC-FID**

JULY ADRIANA TORRES VELÁSQUEZ

**UNIVERSIDAD SANTO TOMÁS
DIVISIÓN DE INGENIERÍAS Y ARQUITECTURA
FACULTAD DE QUÍMICA AMBIENTAL
BUCARAMANGA
2015**

**DETERMINACIÓN DE LOS COMPUESTOS BENCENO, TOLUENO,
ETILBENCENO Y XILENOS (BTEX) EN MATRICES ACUOSAS APLICANDO
EXTRACCIÓN LÍQUIDO-LÍQUIDO Y GC-FID**

JULY ADRIANA TORRES VELÁSQUEZ

Trabajo de grado para optar el título de Química Ambiental

**Director del proyecto
Julio Roberto Pinzón Joya
Químico, PhD**

**Codirector del proyecto
Javier Mauricio Pabón Mora
Químico**

**UNIVERSIDAD SANTO TOMÁS
DIVISIÓN DE INGENIERÍAS Y ARQUITECTURA
FACULTAD DE QUÍMICA AMBIENTAL
BUCARAMANGA
2015**

DEDICATORIA

Dedico este proyecto a mis padres y hermanos por su amor, comprensión y enseñanzas quienes de muchas formas me han ayudado a seguir adelante y a lograr muchas metas como esta.

A mi futuro esposo Oscar Claro por su paciencia, amor, bondad y por ser la principal razón de mi felicidad.

July Adriana Torres Velásquez

AGRADECIMIENTOS

Agradezco profundamente a Dios quien ha sido mi guía en cada meta que me he propuesto y por estar siempre en cada decisión de mi vida. A la virgen María por su intersección y por ayudarme a tener paz en mi corazón.

Quiero agradecer especialmente a mi director Julio Pinzón por ser una guía, por compartirme sus amplios conocimientos, por su tiempo y por alentarme a progresar desarrollando este proyecto.

Agradezco a PSL PROANALISIS LTDA y a mis jefes Amleto León y Liliana Rincón por permitirme desarrollar este proyecto de grado en su empresa y por darme su apoyo y recursos para lograr este objetivo, a Javier Pabón por sus enseñanzas instrumentales y tiempo, agradezco también a mis compañeros de trabajo por su compañía y apoyo.

Agradezco a mi amigui Angélica y a todas esas hermosas personas que conocí gracias a la carrera Química Ambiental; profesores y estudiantes, quienes han ayudado a formarme y a divertirme y están en mi corazón habiendo dejado tan bellos recuerdos.

Agradezco a mi prometido Oscar por su paciencia, colaboración, cariño, palabras de aliento y sobre todo su apoyo incondicional.

Agradezco a todas las personas que me han ayudado con sus conocimientos o palabras de aliento en este duro trabajo.

CONTENIDO

Pág.

INTRODUCCIÓN	20
1 DETERMINACIÓN DE LOS COMPUESTOS BENCENO, TOLUENO, ETILBENCENO Y XILENOS (BTEX) EN MATRICES ACUOSAS APLICANDO EXTRACCIÓN LÍQUIDO-LÍQUIDO Y GC-FID	21
1.1 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	21
1.2 JUSTIFICACIÓN	22
1.3 OBJETIVOS	23
1.3.1 OBJETIVO GENERAL	23
1.3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	23
2 MARCO REFERENCIAL	24
2.1 MARCO TEÓRICO	24
2.1.1 Identificación y estructura.	24
2.1.2 Fuentes de BTEX (Producción, aplicaciones y usos).	24
2.1.3 Toxicidad (efectos en la salud y el medio ambiente).	24
2.1.4 Importancia ambiental y social.	25
2.1.5 Marco legal nacional y extranjero.	28
2.1.6 Tratamiento o degradación.	29
2.1.7 Métodos para la extracción y determinación de BTEX en muestras de aguas.	30
2.1.8 Atributos de la estandarización.	33
2.2 ANTECEDENTES	37
3 DISEÑO METODOLÓGICO	42
3.1 REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	42
3.2 DEFINICIÓN DEL MÉTODO DE EXTRACCIÓN Y ANÁLISIS, MATRIZ, MATERIALES Y REACTIVOS	42
3.3 ENSAYOS PRELIMINARES (ACONDICIONAMIENTO Y PRE-ESTANDARIZACIÓN)	42
3.4 DETERMINACIÓN DE LOS ATRIBUTOS (ESTANDARIZACIÓN)	43
3.5 CÁLCULOS ESTADÍSTICOS Y ANÁLISIS DE RESULTADOS	44
4 RESULTADOS Y DISCUSIÓN	45
4.1 EQUIPOS	45
4.2 REACTIVOS Y MATERIALES	46
4.3 DEFINICIÓN DEL MÉTODO DE EXTRACCIÓN Y ANÁLISIS	46
4.4 ENSAYOS PRELIMINARES (ACONDICIONAMIENTO Y PRE-ESTANDARIZACIÓN)	47

4.4.1	Acondicionamiento de la columna.	47
4.4.2	Optimización de flujo.	47
4.4.3	Optimización de rampa de calentamiento.	48
4.4.4	Selección del solvente.	48
4.4.5	Determinación de la resolución, el factor de capacidad y de selectividad.	48
4.4.6	Curva de calibración y sensibilidad del método.	49
4.4.7	Límites de detección y cuantificación del método.	53
4.4.8	Método de extracción.	54
4.5	DETERMINACIÓN DE LOS ATRIBUTOS (ESTANDARIZACIÓN)	54
4.5.1	Blanco de extracción.	55
4.5.2	Rango de aplicación del método.	55
4.5.3	Linealidad del método de análisis.	56
4.5.4	Muestras y adicionados.	57
4.5.5	Control medio.	58
4.6	CÁLCULOS ESTADÍSTICOS Y ANÁLISIS DE RESULTADOS	59
4.6.1	Precisión del método de extracción y análisis.	59
4.6.2	Exactitud del método de extracción y análisis.	62
4.6.3	Límites del método extracción y análisis.	64
4.6.4	Incertidumbre del método extracción y análisis.	64
5	CONCLUSIONES	70
6	DIVULGACIÓN DE RESULTADOS	71
	BIBLIOGRAFÍA	72
	ANEXOS	76

LISTA DE TABLAS

	Pág.
Tabla 1. Métodos de extracción de BTEX en muestras acuosas	30
Tabla 2. Tipos de detectores que se usan para la determinación de BTEX en muestras acuosas empleando cromatografía de gases	32
Tabla 3. Atributos de la estandarización	33
Tabla 4. Coeficiente de correlación, rango lineal y límite de detección obtenido por HS-GC-MS.	37
Tabla 5. Límite de detección y límite de cuantificación de los BTEX en muestras de agua por cromatografía de gases realizando inyección directa.	38
Tabla 6. Coeficiente de correlación, el rango de la curva de calibración y el límite de detección obtenido por HS-GC-PID-FID.	39
Tabla 7. Porcentajes de recuperación de los BTEX para la extracción en fase sólida en agua des-ionizada	39
Tabla 8. Coeficiente de correlación, límite de detección y porcentaje de recuperación obtenido	41
Tabla 9. Contenido de los lotes para la estandarización	43
Tabla 10. Rampa de calentamiento del método	48
Tabla 11. Resolución (R) y selectividad (α)	49
Tabla 12. Factor de capacidad (k')	49
Tabla 13. Curva de calibración promedio para el benceno y el tolueno	50
Tabla 14. Curva de calibración promedio para el etilbenceno y xilenos	50
Tabla 15. Hipótesis de la correlación para el benceno y tolueno	52
Tabla 16. Hipótesis de la correlación para el etilbenceno y xilenos	52
Tabla 17. Sensibilidad del método	53
Tabla 18. Límite de detección del método	53
Tabla 19. Límite de cuantificación del método	54
Tabla 20. Blancos de extracción	55
Tabla 21. Estándar de máxima dilución(2000 mg/L)	56
Tabla 22. Estándar bajo (0,090 mg/L)	56
Tabla 23. Estándar alto (4,0 mg/L)	57
Tabla 24. Resultados de la muestra de agua de pozo de formación	57
Tabla 25. Resultados de la muestra de agua de pozo de formación adicionada	58
Tabla 26. Resultados del blanco fortificado	58
Tabla 27. Control medio	59
Tabla 28. Desviación estándar relativa del método por precisión intermedia	59
Tabla 29. Desviación estándar relativa del método por repetibilidad	60
Tabla 30. Promedio de la diferencia porcentual relativa para los BTEX	61
Tabla 31. Porcentajes de recuperación promedio para los BTEX	63

Tabla 32. Porcentaje de error más alto para los BTEX en patrones	64
Tabla 33. Límites relativos y absolutos del método	64
Tabla 34. Incertidumbre combinada de los BTEX	67
Tabla 35. Incertidumbre expandida de los BTEX	68

LISTA DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1. Toma de muestras por parte de Greenpeace	26
Figura 2. Soporte digital de las consecuencias del derrame presentado sobre el río Umia (Caldas de Reis - España)	26
Figura 3. Emergencia de derrame de hidrocarburo en la Bahía de Cartagena	27
Figura 4. Emergencia de derrame de hidrocarburo sobre el río Pamplonita (Norte de Santander)	28
Figura 5. Cromatógrafo de gases <i>Agilent</i> 6820 GC System (Disponible en el laboratorio PSL PROANALISIS LTDA, Bucaramanga)	45
Figura 6. Columna HP-INNOWax	46
Figura 7. Curva de calibración de los BTEX	51
Figura 8. Gráfico del % RPD para el benceno	61
Figura 9. Gráfico del porcentaje de recuperación para el benceno	63
Figura 10. Fuentes de incertidumbre	65
Figura 11. Contribución de la incertidumbre	69

LISTA DE ANEXOS

	Pág.
Anexo 1. Estructura química de los BTEX	76
Anexo 2. Identificación y propiedades fisicoquímicas de los compuestos BTEX	77
Anexo 3. Resolución 0631 MINAMBIENTE. Valores límites máximos permisibles para BTEX en cuerpos de aguas.	78
Anexo 4. Fórmulas para calcular los atributos	79
Anexo 5. Certificado de calidad de la Columna	80
Anexo 6. Extracción de las muestras	81
Anexo 7. Certificado del patrón de referencia CLP-BTEX-10	82
Anexo 8. Certificado del diclorometano	83
Anexo 9. Instalación y acondicionamiento de la columna HP-INNOWAX	84
Anexo 10. Curvas de calibración del benceno y tolueno	85
Anexo 11. Curvas de calibración del etilbenceno y xilenos	85
Anexo 12. Contribución de las fuentes en la incertidumbre para el tolueno	86
Anexo 13. Contribución de las fuentes en la incertidumbre para el etilbenceno	86
Anexo 14. Contribución de las fuentes en la incertidumbre para el <i>p</i> -Xileno	87
Anexo 15. Contribución de las fuentes en la incertidumbre para el <i>m</i> -Xileno	87
Anexo 16. Contribución de las fuentes en la incertidumbre para el <i>o</i> -Xileno	88
Anexo 17. Registro fotográfico. Curva y extracción	89
Anexo 18. Registro fotográfico. Patrón BTEX y Jeringas	90
Anexo 19. Cromatograma Blanco	91
Anexo 20. Cromatograma límite de detección 0,02 ppm	91
Anexo 21. Cromatograma límite de cuantificación 0,05 ppm	92
Anexo 22. Cromatograma estándar bajo 0,09 ppm	92
Anexo 23. Cromatograma estándar alto 4,0 ppm	93
Anexo 24. Cromatograma control medio 1,0 ppm	93
Anexo 25. Cromatograma estándar máximo 2000 ppm	94
Anexo 26. Cromatograma muestra de agua de producción	94
Anexo 27. Cromatograma muestra de agua de producción adicionada	95

LISTA DE ABREVIATURAS Y ACRÓNIMOS

% RSD	Coeficiente de variación o porcentaje de desviación estándar relativa
α	Factor de selectividad
k'	Factor de capacidad o factor de retardo
ACS	(<i>American Chemical Society</i>) Sociedad estadounidense de química
AML	(<i>Acute myeloid leukemia</i>) Leucemia mieloide aguda
Bk	Blanco
BTEX	Benceno, tolueno, etilbenceno, <i>o</i> -, <i>m</i> -, <i>p</i> - xilenos
C	Límite máximo de concentración del analito
CAS	(<i>Chemical abstracts service</i>) Registro único para identificación de sustancias químicas
CARDIQUE	Corporación autónoma regional del canal del Dique
CORPONOR	Corporación autónoma regional de la frontera nororiental
CWA	(<i>Clean water act</i>) Ley de agua limpia
Ealto	Estándar de concentración alto
Ebajo	Estándar de concentración bajo
EE.UU.	Estados Unidos
EPA	(<i>Environmental Protection Agency</i>) Agencia de protección ambiental de EE.UU
FID	(<i>Flame ionization detector</i>) Detector de ionización por llama
gl	Grados de libertad
GLC	(<i>Gas-liquid chromatography</i>) Cromatografía gas/líquido
GUM	(<i>Guide to the expression of uncertainty in measurement</i>) Guía para la expresión de la incertidumbre en la medición

GSC	<i>(Gas-solid chromatography)</i> Cromatografía gas/sólido
HF-LPME	<i>(hollow-fiber liquid phase microextraction)</i> Microextracción en fase líquida con membrana de fibra hueca
HS	<i>(Headspace)</i> Espacio de cabeza
HS-SPME	<i>(headspace solid phase microextraction)</i> Microextracción en fase sólida del espacio de cabeza
HRSD	<i>(Hampton roads sanitation district)</i> nombre de empresa para tratamiento de aguas residuales
IARC	<i>(International Agency for Research on Cancer)</i> Agencia internacional para la investigación contra el cáncer
LDM o LOD	Límite de detección del método <i>(limit of detection)</i>
LCM o LOQ	Límite de cuantificación del método <i>(limit of quantitation)</i>
MADS	Ministerio de ambiente y desarrollo sostenible
min	Minutos
MS	<i>(Mass spectrometry)</i> Espectrometría de masas
NFPA	<i>(National fire protection association)</i> Asociación nacional de protección contra incendios de EE. UU.
NPDES	<i>(National pollutant discharge elimination system)</i> Sistema nacional para la descarga de contaminantes
NTC-ISO/IEC 17025	Norma técnica Colombiana. “requisitos generales para la competencia de los laboratorios de ensayo y calibración”
OSHA	<i>(Occupational Safety and Health Administration)</i> Administración de seguridad y salud ocupacional de EE.UU.
P&T	<i>(Closed-system purge and trap)</i> Sistema cerrado de purga y trampa
PBPK	<i>(Physiologically based pharmacokinetic)</i> Modelo farmacocinético basado en la fisiología del individuo

PID	<i>(Photo-ionization detector)</i> Detector fotométrico por llama
PSI	<i>(Pounds-force per square inch)</i> Unidad de presión que es una libra fuerza por pulgada cuadrada lbf/in ²
R	Resolución
RRD o RPD	Rango relativo entre duplicados o diferencia porcentual relativa
Relación S/N	<i>(Signal to noise ratio)</i> Relación señal a ruido
SPE	<i>(Solid-phase extraction)</i> Extracción en fase sólida
VOC's	Compuestos orgánicos volátiles

GLOSARIO

AGUAS RESIDUALES DOMÉSTICAS - ARD: son las procedentes de los hogares, así como las de las instalaciones en las cuales se desarrollan actividades industriales, comerciales o de servicios y que correspondan a: primero: descargas de los retretes y servicios sanitarios y segundo: descargas de los sistemas de aseo personal (duchas y lavamanos), de las áreas de cocinas y cocinetas, de las pocetas de lavado de elementos de aseo y lavado de paredes y pisos y del lavado de ropa (No se incluyen las de los servicios de lavandería industrial).

AGUAS RESIDUALES NO DOMÉSTICAS – ARnD: son las procedentes de las actividades industriales, comerciales o de servicios distintas a las que constituyen aguas residuales domésticas.

AGUAS SERVIDAS: residuos líquidos provenientes del uso doméstico, comercial e industrial.

ATRIBUTO: cada una de las cualidades o propiedades de un ser. Comprende variables que se determinan en la estandarización y que se atribuyen solo al parámetro o parámetros evaluados.

BIOMARCADOR: indicación de un acontecimiento o condición en un sistema biológico o muestra que proporciona una medida de exposición, efecto o susceptibilidad. Debe poder cuantificarse un compuesto u alteración bioquímica, fisiológica, conductual o de otro tipo en un organismo.

CAS: es una división de *American Chemical Society*, organización mundial cuyo objetivo es buscar, recopilar y organizar toda la información de sustancias químicas a conocer públicamente.

COEFICIENTE DE PARTICIÓN: es la relación entre dos concentraciones, es una constante de equilibrio, depende de la temperatura y de la naturaleza de los solventes y soluto involucrados, y no de la cantidad de los solventes y soluto involucrados.

CROMATOGRAFÍA DE GASES: es una técnica de separación que utiliza como fase móvil un gas portador inerte y los compuestos eluyen a través de una columna que contiene la fase estacionaria. La cromatografía de gases se puede clasificar de acuerdo a la fase estacionaria en: cromatografía gas/sólido (GSC) en la que la fase estacionaria es un sólido con abundante área superficial y cromatografía gas/líquido (GLC) en donde la fase estacionaria es un líquido que está inmovilizado por adsorción o enlaces químicos a la columna.

DETECTOR DE IONIZACIÓN POR LLAMA (FID): detector de ionización por llama es el más usado debido a su buena sensibilidad; es mayormente empleado para muestras con compuestos orgánicos ya que a la temperatura de la llama de hidrógeno/aire producen productos intermedios iónicos y electrones que facilitan el paso de la corriente eléctrica a través de la llama.

ESPECIFICIDAD: es la capacidad de evaluar inequívocamente la presencia de un analito en componentes que se espere que pueda estar como impurezas, productos de degradación o excipientes. Puede ser determinada realizando un estudio con blancos o muestras placebo y conociendo las impurezas pueden ser analizadas para determinar posibles interferencias; también puede ser demostrada realizando un estudio de degradación.

EXACTITUD: es el grado de aproximación entre el valor obtenido experimentalmente y el valor real o aceptado.

FACTOR DE CAPACIDAD k' : es un valor adimensional empleado para describir la retención de un compuesto. Se calcula teniendo en cuenta el tiempo de retención del compuesto de interés y el tiempo muerto.

FACTOR DE SELECTIVIDAD (α): es el coeficiente de los factores de retención o capacidad para dos picos; un factor de selectividad de 1,1 indica que el tiempo de retención del segundo pico es 10 % mayor que el tiempo de retención del primero.

FITOREMEDIACIÓN: es un proceso que utiliza plantas, microalgas y algas para remover, transferir, estabilizar, concentrar y/o destruir contaminantes (orgánicos e inorgánicos) en suelos, lodos y sedimentos. Entre los mecanismos de fitorremediación están: la fitoextracción, la fitodegradación y la fitoestabilización.

GREENPEACE: es una organización mundial que trabaja para defender el medio ambiente, promover la paz y estimular a la gente para que cambie actitudes y comportamientos que ponen en riesgo a la naturaleza.

INCERTIDUMBRE: parámetro, asociado al resultado de una medición, que caracteriza la dispersión de los valores que podrían ser razonablemente atribuidos al midiendo, es expresado como una desviación estándar.

INCERTIDUMBRE TIPO A: método de evaluación de la incertidumbre por el análisis estadístico de una serie de observaciones bajo condiciones de repetitividad y se estima en base a la dispersión de los resultados individuales.

INCERTIDUMBRE TIPO B: método de evaluación de la incertidumbre por medios distintos al análisis estadístico de series de observaciones, puede ser calculada

usando información externa u obtenida por experiencia (certificados de calibración, especificaciones de los instrumentos o especificaciones del fabricante como la pureza).

INCERTIDUMBRE COMBINADA: es igual a la raíz cuadrada de la suma de los cuadrados de las varianzas.

INCERTIDUMBRE EXPANDIDA: intervalo dentro del cual se cree que está el valor del mensurando para un cierto nivel de confianza. Se calcula a partir de los valores obtenidos para todas las fuentes individuales de incertidumbre.

LÍMITE DE CUANTIFICACIÓN: corresponde a la cantidad más baja de analito en una muestra que puede ser cuantificada con adecuada precisión y exactitud. Para métodos cromatográficos su valor puede ser basado en la relación señal a ruido (*Signal to noise ratio* S/N), cuyo valor genera una S/N de 10:1.

LÍMITE DE DETECCIÓN: corresponde a la cantidad más baja de analito en una muestra que puede ser detectada pero no necesariamente cuantificada con un valor exacto. Para métodos cromatográficos su valor puede ser basado en la relación señal a ruido (*Signal to noise ratio* S/N), cuyo valor genera una S/N de 3:1.

LINER: tubo de vidrio por donde pasa la muestra después de atravesar la septa y es en donde se vaporiza y arrastra la muestra hacia la columna.

MODELO DE INTERACCIÓN PBPK: es un modelo matemático para estimar la incertidumbre y variabilidad de la farmacocinética de un individuo basándose en su fisiología.

PLATOS TEÓRICOS: es un valor adimensional que se usa para expresar la eficiencia o rendimiento de una columna bajo condiciones específicas.

PRECISIÓN: es el grado de aproximación mutua entre resultados independientes de una muestra. La precisión consiste en dos componentes: repetibilidad y precisión intermedia o reproducibilidad.

PRUEBA O DISTRIBUCIÓN DE T-STUDENT: es una prueba para el tratamiento estadístico de grupos de pocos datos que permite hallar los límites de confianza de una población normal y evaluar los datos respecto a los límites definidos.

QUIMIOMETRÍA: es una disciplina química que utiliza métodos y técnicas matemáticas, estadísticas y de lógica formal para: diseñar y seleccionar procedimientos experimentales óptimos y extraer la máxima información relevante a partir del análisis de datos.

RECUPERACIÓN: es la capacidad que tiene un procedimiento analítico para determinar cuantitativamente una especie química que ha sido adicionada a una muestra.

REPETIBILIDAD: es la variación experimental de un solo analista y un solo instrumento, se realiza analizando muchas replicas bajo las mismas condiciones de medición.

REPRODUCIBILIDAD O PRECISIÓN INTERMEDIA: es la variación experimental de los datos obtenidos en un laboratorio realizados bajo diferentes condiciones de medición como: diferentes analistas, ocasiones distintas, diferentes laboratorios, diferente material o equipos.

RESOLUCIÓN: es una medida de la eficiencia en la separación de dos componentes. Indica si dos picos están separados entre sí por una línea base.

RUIDO: respuestas erráticas producidas por cortos espacios de tiempo y que dependen de factores experimentales (propiedades eléctricas, cambios de temperatura, cambios en el flujo del gas de arrastre, etc), permite determinar el límite de detección.

SELECTIVIDAD: es el grado en que un método puede cuantificar o cualificar al analito en presencia de interferentes. Estos interferentes normal o frecuentemente se encuentran en la matriz de interés.

SENSIBILIDAD: mide la capacidad de un método para distinguir pequeñas variaciones en las concentraciones del analito. Para determinar la sensibilidad se tiene en cuenta la pendiente de la curva de calibración y la precisión como coeficiente de variación.

SPLITLESS: corresponde a una técnica de inyección de la muestra, en la que todo el volumen inyectado entra a la columna siendo antes lentamente vaporizada; a diferencia del modo *Split* en el que sólo del 0,1 % a 10 % de volumen inyectado entra a la columna y la vaporización es rápida.

DETERMINACIÓN DE LOS COMPUESTOS BENCENO, TOLUENO, ETILBENCENO Y XILENOS (BTEX) EN MATRICES ACUOSAS APLICANDO EXTRACCIÓN LÍQUIDO-LÍQUIDO Y GC-FID

J. A. Torres, J. R. Pinzón.

RESUMEN

El aumento en el uso de sustancias químicas sintéticas que involucran en su proceso de producción compuestos como los BTEX (benceno, tolueno, etilbenceno y xilenos) ha llamado la atención a su estudio, principalmente por los efectos adversos que se ha demostrado que causan al medio ambiente. En los últimos años se han presentado derrames de hidrocarburos en Colombia y sumado al mal manejo de los residuos ha incrementado los efectos negativos que probablemente está siendo afectado nuestro ambiente; a razón de ello, es necesario cuantificar el contenido de los BTEX en el ambiente. El objetivo del documento es presentar una alternativa para cuantificar los BTEX empleando la cromatografía de gases con detector de ionización por llama (FID – *flame ionization detector*). La metodología empleada para el desarrollo del proyecto consiste en la extracción de los BTEX en muestras de aguas servidas y superficiales empleando la técnica extracción líquido-líquido definida por la agencia de protección ambiental de Estados Unidos de América (USEPA) y determinación con ayuda de un cromatógrafo de gases con detector FID. Los resultados se evaluaron mediante la precisión y la exactitud de controles de calidad como: el límite de detección (LDM), el límite de cuantificación (LCM), el rango lineal, la sensibilidad, el rango relativo entre duplicados (RRD), porcentaje de recuperación de los adicionados y la incertidumbre analítica del método. En conclusión, se desarrolló una metodología para la determinación de BTEX en muestras de aguas servidas y superficiales empleando la extracción líquido-líquido y la determinación por cromatografía de gases en donde el límite de detección absoluto fue de 0,010 mg/L de BTEX (10 ppb) y límite de cuantificación absoluto fue de 0,025 mg/L de BTEX (25 ppb).

PALABRAS CLAVE: Cromatografía, benceno, tolueno, etilbenceno, *p*-xileno, *m*-xileno, *o*-xileno, BTEX, estandarización, extracción líquido-líquido, FID.

DETERMINATION OF BTEX IN AQUEOUS MATRIX APPLYING GC-FID AND LIQUID-LIQUID EXTRACTION

J. A. Torres, J. R. Pinzón.

ABSTRACT

The increment in the use of synthetic chemicals as the BTEX (benzene, toluene, ethylbenzene and xylenes) in process of production have drawn attention to the study of the BTEX in the environment, mainly by the adverse effects that cause in the environment. In recent years have taken place oil spills in Colombia and with the mismanagement of the wastes to induced the increase of the negative effects that are probably the cause of our environment is affected; because of that, it is necessary to quantify the content of BTEX in the environment. The objective of the paper is to present an alternative to quantify the BTEX in samples of water using extraction liquid-liquid and gas chromatography with flame ionization detector (FID) and calculate the precision, accuracy and uncertainty of the method. The methodology involves the technique liquid-liquid extraction to waters samples (sewages and surfaces) based on the methodology of the United States Environmental Protection Agency of USA (EPA), after, the samples were injected into a gas chromatograph with flame ionization detector and the results were evaluated by the precision and accuracy of quality checks as the detection limit (LOD), the limit of quantification (LOQ), the linear range, sensitivity, the relative percent difference of duplicates (RPD), percentage of recovery of the spiked and the uncertainty of the analytical method. In conclusion, a methodology was developed for the determination of BTEX in samples of sewage and surface waters applying the technique liquid-liquid extraction and the determination using the gas chromatography technique then the detection limit found in 0,010 mg/L (10 ppb) and the limit of quantification in 0,025 mg/L (25 ppb) of BTEX.

KEYWORDS: Chromatography, benzene, toluene, ethylbenzene, *p*-xylene, *m*-xylene, *o*-xylene, BTEX, standardization, liquid-liquid extraction, FID.

INTRODUCCIÓN

La exposición a sustancias químicas ha aumentado drásticamente, debido al crecimiento y desarrollo desmesurado de los países, esto ha generado efectos adversos a corto, mediano y largo plazo en el hombre y en el medio ambiente, es por ello que se han aumentado los estudios para conocer su toxicidad.

Los BTEX son compuestos aromáticos de baja masa molecular, los podemos encontrar fácilmente en el ambiente; muchas de las sustancias u objetos que utilizamos los contienen, esto se debe a su uso como disolventes: en la fabricación de pinturas, plásticos, cauchos, pegantes, removedores de esmaltes, como aditivo en la gasolina y en muchos compuestos elaborados a base de petróleo.

El estudio de los BTEX tiene gran importancia ambiental y social ya que se han presentado casos de intoxicación por exposición y también vertidos al ambiente, bien sea por el mal tratamiento de los residuos, explotación no controlada de petróleo, daños en tuberías que transportan combustibles, entre otros. En consecuencia de la toxicidad en el ambiente y seres humanos, organismos como la EPA (agencia de protección ambiental de Estados Unidos) y OSHA (administración de seguridad salud ocupacional de Estados Unidos) han fijado límites permisibles para exposición y concentraciones en el ambiente. En Colombia el ministerio de ambiente y desarrollo sostenible establece que se debe reportar el valor de BTEX en muestras de aguas superficiales y sistemas de alcantarillado público según el uso del agua; adicionalmente la normatividad Colombiana regula la concentración del benceno y tolueno en la calidad del aire. La estandarización de este método pretende ofrecer una alternativa para cuantificar el contenido de los BTEX en el agua y de esta manera prestar este servicio a la comunidad que lo solicite.

La cromatografía de gases con detector FID es una técnica adecuada para la determinación de los BTEX en muestras de agua, teniendo como base los antecedentes en los que se ha demostrado que se obtienen buenos resultados para la identificación cuantitativa, aunque en la mayoría de los estudios no se logra la separación de los isómeros *p*-xileno y *m*-xileno.

Este proyecto de grado se centró en estandarizar la determinación de los BTEX por cromatografía de gases con detector FID mediante extracción líquido-líquido para muestras de agua de tipo residual doméstica, agua residual no doméstica y superficial para ello se optimizó el método y se estimaron los atributos del método como LCM, LDM, rango lineal, sensibilidad, RRD, porcentaje de recuperación de aditivos, precisión, exactitud e incertidumbre analítica realizando análisis estadísticos para el tratamiento de los datos.

1. DETERMINACIÓN DE LOS COMPUESTOS BENCENO, TOLUENO, ETILBENCENO Y XILENOS (BTEX) EN MATRICES ACUOSAS APLICANDO EXTRACCIÓN LÍQUIDO-LÍQUIDO Y GC-FID

1.1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Los compuestos BTEX presentan un interés ambiental, debido a su uso en la industria y a los efectos que generan en el medio ambiente y en el ser humano. El incremento de la concentración de estos compuestos en el medio ambiente ha generado la necesidad de cuantificarlos. La cromatografía de gases es la técnica más usada para su cuantificación.

Recientemente se han presentado derrames de hidrocarburos en cuerpos de agua, principalmente por la mala disposición de residuos en las industrias y atentados a oleoductos; entre los derrames ocurridos en Colombia tenemos: el derrame de hidrocarburo presentado en la bahía de Cartagena en septiembre del año 2013, presuntamente por la empresa Carman Internacional SAS, el derrame de hidrocarburo se suscitó tras ser dinamitado el oleoducto de caño Limón Coveñas en dos tramos que ocasionó contaminación sobre el río Colorado y Margua.¹ En diciembre del 2012 se presentó un vertido accidental de 200 galones de crudo sobre el río Sumapaz en Melgar Tolima² y los atentados ecológicos ocasionados por grupos al margen de la ley, como las recientes voladuras de oleoductos en el país, en junio del 2015 ocurrió un atentado al oleoducto de Tumaco (Nariño) en donde 410.000 galones de crudo se vertieron en la quebrada Pianulpi que desemboca en el río Mira y posteriormente en el mar pacífico,³ y los múltiples atentados que se han realizado en el oleoducto caño limón-coveñas en Norte de Santander durante el año 2015;⁴ es de resaltar que todos estos vertidos han ocasionado daños graves en la flora y fauna. La exposición a los BTEX genera un gran número de efectos adversos como lo son: mayor riesgo de contraer cáncer, desordenes hematológicos, inmunológicos y reproductivos en los seres humanos;⁵ es por ello que en el auge del desarrollo se requiere la estandarización de la técnica analítica por cromatografía de gases con detector FID para cuantificar el contenido de BTEX en muestras de aguas servidas y aguas superficiales aplicando la extracción líquido-líquido; la estandarización del método teniendo como base a los antecedentes y normas EPA para realizar la metodología de la extracción y análisis de los compuestos.

Ante el escaso número de laboratorios en el país que tengan mediciones trazables de estos compuestos en relación a la creciente demanda en el servicio (análisis de BTEX), es necesario estandarizar el método teniendo en cuenta la norma NTC-ISO/IEC 17025 “requisitos generales de competencia de laboratorios de ensayo y calibración”, versión 2005.

1.2. JUSTIFICACIÓN

La normatividad colombiana en cumplimiento con el decreto 3930 del 2010 en el que se establecen los usos del agua y residuos líquidos⁶ y mediante la resolución 0631 del 17 de marzo del 2015 que establece los parámetros y los valores límites máximos permisibles en los vertimientos puntuales a cuerpos de aguas superficiales y a los sistemas de alcantarillado público establece que se debe medir y reportar el valor de la concentración de los BTEX en aguas residuales dependiendo de la actividad de la industria⁷ (Ver anexo 3). La “*Occupational Safety and Health Administration*” - OSHA estableció límites para la exposición ocupacional de: 1 mg/L para el benceno, 200 mg/L para el tolueno, 100 mg/L para el etilbenceno y 100 mg/L para los xilenos en un período de ocho horas por día⁸ y la EPA ha fijado límites de concentración para los BTEX en 0,005 mg/L para benceno, 1 mg/L para el tolueno, 0,7 mg/L para etilbenceno y 10 mg/L para los xilenos en el agua de consumo humano.⁹ La presencia de los compuestos orgánicos volátiles VOC's como los BTEX pueden ocasionar efectos adversos en el ser humano de tipo: cancerígeno, teratogénico, mutagénico, daños en los sistemas: respiratorio, cardiovascular, gastrointestinal, neurológico y dérmico;⁵ además, de daños al medio ambiente y los efectos sinérgicos que se dan entre los compuestos, todo ello genera un gran interés por conocer el contenido de estos en el medio ambiente.

Mediante el desarrollo de este proyecto se presenta una alternativa para la cuantificación de los compuestos BTEX mediante extracción en matrices acuosas y cuantificación aplicando como técnica analítica la cromatografía de gases con detector FID; esta técnica fue implementada para el laboratorio PSL PROANALISIS LTDA el cual solicitó la estandarización del método ya que es un servicio que es cotizado por los clientes y que el laboratorio no tenía implementado.

La estandarización del método permitirá al laboratorio ampliar el portafolio de servicios acreditados y prestarlo a la comunidad que lo requiera ya que hasta el momento no se encuentran laboratorios acreditados en la región de los Santanderes que presten el servicio de análisis de BTEX para muestras en matriz acuosa.

1.3. OBJETIVOS

1.3.1. OBJETIVO GENERAL

✓ Estandarizar un método para la determinación de los compuestos benceno, tolueno, etilbenceno y *o*-, *m*-, *p*- xilenos (BTEX) en muestras de aguas servidas y superficiales por medio de la extracción líquido-líquido y determinación mediante GC-FID.

1.3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

✓ Acondicionar el método de extracción líquido-líquido para la determinación de los compuestos BTEX en muestras de aguas servidas y superficiales, teniendo en cuenta el porcentaje de recuperación y el rango relativo entre duplicados.

✓ Implementar el método de análisis por GC-FID para cuantificar el contenido de BTEX y establecer variables del método como: el rango relativo entre duplicados, rango lineal, sensibilidad, porcentaje de recuperación y los límites de detección y cuantificación que permiten determinar los atributos del método como la precisión, exactitud e incertidumbre analítica.

✓ Diseñar un protocolo para la extracción y análisis de BTEX en muestras de aguas servidas y superficiales empleando la extracción líquido-líquido y determinación mediante cromatografía de gases con detector FID.

2. MARCO REFERENCIAL

2.1. MARCO TEÓRICO

2.1.1. Identificación y estructura. Los BTEX son compuestos orgánicos volátiles de amplio uso a nivel industrial debido a sus propiedades fisicoquímicas; como consecuencia de su amplio uso, estos compuestos pueden estar presentes en el agua, aire y suelo; en el anexo 1 se puede observar la estructura química de cada uno de los BTEX, las cuales se caracterizan por tener un anillo aromático y en el anexo 2 se presenta la información de la identificación y propiedades físicas y químicas principales de los BTEX.

2.1.2. Fuentes de BTEX (Producción, aplicaciones y usos). Los BTEX los podemos encontrar en el ambiente debido a fuentes naturales e industriales. Entre las fuentes naturales están principalmente emisiones de gases en volcanes, incendios forestales y petróleo; a nivel industrial son usados principalmente en la fabricación de cauchos, lubricantes, colorantes, detergentes, medicamentos y pesticidas. Los BTEX también se pueden encontrar en la gasolina, estaciones de servicio, gases de escape de los vehículos y el humo de cigarrillo.¹⁰

Las emisiones de los BTEX se acumulan primordialmente en el aire debido a su naturaleza volátil y permanecen en menor proporción en el agua y suelo. Los BTEX llegan al agua principalmente por vertidos accidentales de gasolinas o derrames de hidrocarburos y en menor proporción debido a la actividad antropogénica. A causa de la volatilidad, su tiempo de vida media en el agua superficial es bajo y varía de acuerdo a las condiciones medioambientales, pero cuando llegan a las aguas subterráneas, bien sea por infiltración a través del suelo o descarga directa, permanecen un tiempo de vida mayor ya que no hay evaporación; otros factores que influyen en la disminución de la prevalencia de estos compuestos son: la foto-oxidación, biodegradación aerobia, biodegradación aerobia-anaerobia, entre otros.¹¹

2.1.3. Toxicidad (efectos en la salud y el medio ambiente). No se encontraron datos registrados de estudios en personas o animales sobre los efectos en la salud de los seres humanos o animales expuestos exclusivamente a BTEX; para conocer la toxico-cinética se realizó un modelo de interacción (PBPK), se evaluó la exposición de BTEX en pintores y se encontró que los principales efectos son anemia macrocítica leve, trombocitopenia o disminución de las plaquetas, disminución de leucocitos de la fosfatasa alcalina, típicos de la toxicidad del benceno. De acuerdo con el estudio se encuentra que los compuestos se absorben bien en el ser humano y animales, posteriormente se distribuyen en los tejidos ricos en lípidos y vasculari-

zados, como el cerebro, la médula ósea y grasa corporal; luego son metabolizados y eliminados rápidamente del cuerpo.⁵ De los BTEX, el benceno causa mayores repercusiones ya que afecta principalmente la sangre y médula ósea, también perjudica el sistema inmunitario disminuyendo la defensa del cuerpo contra el cáncer. Según la agencia internacional para la investigación contra el cáncer (IARC) y la EPA han determinado que el benceno es un carcinógeno, asociado principalmente a la leucemia mieloide aguda (AML).¹⁰

Feng-Chiao *et al.* publicaron un artículo sobre la modelación y análisis de la exposición de personas a mezclas de compuestos orgánicos volátiles aplicando técnicas estadísticas (copulas) como: Gaussian, t, Gumbel, Clayton, y Frank con el objetivo de evaluar los riesgos a estas sustancias; aplicando modelos multivariados se calculó el riesgo de contraer cáncer. Las principales mezclas trabajadas fueron vapor de gasolina (benceno y metil tert-butil éter), gases de vehículos (tolueno, etilbenceno, xileno y estireno), disolventes clorados y subproductos para desinfección y limpieza; en conclusión se determinó que los VOC's están relacionados con daños en el hígado y tumores renales.¹²

2.1.4. Importancia ambiental y social. A continuación se mencionan algunos casos de derrames BTEX o alguno de los compuestos:

Se presentó un derrame sobre el río Umia ubicado en Caldas de Reis (España); se dio como consecuencia del incendio de la fábrica de productos químicos Brenntag, el grupo Greenpeace al analizar muestras del río encontró sustancias como tolueno, xileno, tetracloroetileno y benceno entre otras, en la Figura 1 se presenta al equipo *Greenpeace* realizando la toma de las muestras.¹³ El derrame ocasionó que el río se tiñera de un color azul turquesa y afectó la flora y fauna del río como se puede apreciar en la Figura 2.¹⁴

Figura 1. Toma de muestras por parte de Greenpeace



FUENTE: Página web - Greenpeace denuncia a la empresa Brenntag responsable del vertido tóxico en el río Umia (Pontevedra)

Figura 2. Soporte digital de las consecuencias del derrame presentado sobre el río Umia (Caldas de Reis - España)



FUENTE: Campos, P. Un vertido “muy tóxico” avanza por el río Umia camino del mar en Galicia

El 05 de septiembre del 2013 se presentó una emergencia por derrame de hidrocarburo en la Bahía de Cartagena (Colombia) el cual se afectó el agua, suelo, vegetación, animales y la salud de habitantes del municipio de Turbana, en el departamento de Bolívar (Figura 3). La corporación autónoma regional del canal del Dique (CARDIQUE), mencionó que el incidente ocurrió cuando se desbordó un tanque de almacenamiento artesanal en el predio La Gloria, ubicado en el corregimiento de Pasacaballos.¹⁵

Figura 3. Emergencia de derrame de hidrocarburo en la Bahía de Cartagena



FUENTE: Corporación Autónoma Regional del Canal del Dique (CARDIQUE)

En diciembre del 2011 se presentó una ruptura en el Oleoducto Caño Limón Coveñas en el municipio de Chinácota, Norte de Santander. El derrame se desplegó sobre la Quebrada Iscalá y continuó su recorrido por el Río Pamplonita y finalmente combinarse con el río La Grita de Venezuela; en la Figura 4 se presentan imágenes de la quebrada Iscalá donde se presentó el derrame de hidrocarburo. Este desastre ocasionó grandes consecuencias para Cúcuta y algunos municipios de Norte de Santander ya que el río Pamplonita es la fuente de captación de agua para el acueducto de Cúcuta y los Patios.¹⁶ CORPONOR (Corporación autónoma regional de la frontera nororiental) realizó estudios para cualificar y cuantificar los daños ambientales ocasionados a los recursos flora, fauna, agua y suelo del Río Pamplonita y cuantificar el contenido de grasas y aceites, fenoles e hidrocarburos.¹⁷

Figura 4. Emergencia de derrame de hidrocarburo sobre el río Pamplonita (Norte de Santander)



FUENTE: Corporación Autónoma Regional de la frontera Nororiental (CORPONOR)

2.1.5. Marco legal nacional y extranjero. A continuación se presenta la normatividad para la calidad del agua.

✓ Normatividad colombiana para la calidad del agua. El Ministerio de Ambiente y Desarrollo Sostenible – MINAMBIENTE, en la resolución 0631 del 17 de marzo del 2015 establece los parámetros y los valores límites máximos permisibles en los vertimientos puntuales a cuerpos de aguas superficiales y a los sistemas de alcantarillado público y se dictan otras disposiciones; de acuerdo con la resolución se adoptan dos definiciones: aguas residuales domésticas – ARD y aguas residuales no domésticas – ARnD, la resolución no reglamenta un valor fijo como límite máximo para la concentración de BTEX en aguas, pero establece que se debe realizar el análisis y reporte de los BTEX en muestras de aguas de acuerdo con la actividad; en el anexo 3 se presenta una tabla en la que se describe en que tipo de actividad se requiere la medición de los BTEX.⁷

✓ Ley de agua limpia (CWA – *Clean water act*). En ella se establece la estructura básica para regular las descargas de contaminantes en las aguas de Estados Unidos y la regulación de las normas de calidad de las aguas superficiales. La CWA hace ilegal descargar cualquier contaminante a las aguas superficiales sin tener el permiso NPDES (*National Pollutant Discharge Elimination System*) de acuerdo con el artículo 301 de la CWA. La división de aplicación de agua “*Water Enforcement Branch*” cuenta con tres divisiones para regular el cumplimiento de los permisos NPDES, estas divisiones son: primera sección (Texas y Nuevo México), segunda sección (Luisiana, Arkansas y Oklahoma) y tercera sección (monitoreo de cumplimiento). La regulación de los permisos para vertimientos en EEUU se hace a través

de estas divisiones y se emiten permisos NPDES de acuerdo a los tipos de vertimientos teniendo en común parámetros como demanda bioquímica de oxígeno, sólidos suspendidos, pH y metales pesados;¹⁸ sin embargo, en la documentación disponible de la planta de tratamiento de aguas residuales HRSD (*Hampton roads sanitation district*) se encuentra la regulación para aguas residuales, en la parte III sección 301 descargas de desechos prohibidos (*prohibited waste discharges*) inciso W se establece que la concentración de los BTEX no debe superar el valor de 1 mg/L.¹⁹ Por otra parte, de acuerdo con el departamento de calidad ambiental de Arkansas se presentan los valores de referencia que se deben cumplir para descargas de aguas pluviales, estos valores son: benceno 0,01 mg/L, tolueno 10 mg/L, etilbenceno 3,1 mg/L y no se contempla valor para los xilenos. Sin embargo aclaran que si se supera el valor de referencia no implica la violación de los permisos NPDES ya que estos pueden contemplar valores mayores.²⁰

2.1.6. Tratamiento o degradación. Hoy en día existen varias investigaciones encargadas de estudiar el tratamiento de estos compuestos en el agua y suelo principalmente. Para la degradación de estos compuestos se emplean generalmente microorganismos (*Bacillus* sp. y *Pseudomonas* sp.).^{11,21,22}

En el agua, la remoción se ha hecho con minerales de arcilla y carbón activado, ya que es un tratamiento muy eficiente. Sin embargo, no se conoce claramente la capacidad de adsorción del carbón activado para estos compuestos. Las esmectitas son un tipo de mineral de arcilla de origen natural que contiene cationes como calcio, sodio, aluminio y magnesio, entre ellas están: la montmorillonita, beidelita y la saponita; algunas esmectitas son eficaces para el tratamiento de compuestos orgánicos, en el tratamiento los cationes metálicos de la arcilla son intercambiados por los compuestos orgánicos como los BTEX; las esmectitas se caracterizan por tener un área superficial relativamente alta lo que mejora su adsorción, sin embargo, debido a la formación de esferas de hidratación con los cationes calcio y sodio dificultan su capacidad de adsorción en el agua.²³

La fotodegradación con dióxido de titanio disperso en cemento, es un método usado para la degradación de los BTEX en el aire, el método se basa en un reactor de flujo, con un diseño especial recubierto con dióxido de titanio el cual es eficiente para la degradación de varios tipos de compuestos orgánicos.²⁴

La fitoremediación es una buena alternativa para la degradación de los BTEX presentes en aguas subterráneas y suelo, un estudio realizado por Weishaar *et al.* evaluó la eficacia de híbridos de álamo en suelos contaminados con BTEX y no contaminados y su capacidad de adsorción de la planta; se logró demostrar que la fitorremediación contribuye en el aumento de poblaciones degradadoras, aumento de la entrada de oxígeno a las aguas subterráneas y transporte de contaminantes al perfil del suelo.²⁵

Un estudio realizado con sedimentos altamente salinizados en *Rozel Point* en *Great Salt Lake* en EE UU, demostró que los microorganismos presentes tienen la capacidad de degradar los BTEX en un amplio rango de salinidad, en este lago el hidrocarburo migra hacia la superficie del lago a través de las fallas geológicas pero es muy costosa la refinación de este petróleo; en el estudio se encontró que la degradación del benceno se da entre 1 y 5 semanas en concentraciones de 14 %, 23 % y 29 % de cloruro de sodio.^{22,26}

2.1.7. Métodos para la extracción y determinación de BTEX en muestras de aguas. En la Tabla 1 se presentan algunos de los métodos que se usan para la extracción de BTEX en muestras acuosas y en la Tabla 2 se presentan algunos de los tipos de detectores que se usan para la determinación de BTEX en muestras acuosas empleando cromatografía de gases.

Tabla 1. Métodos de extracción de BTEX en muestras acuosas

Técnica	Descripción	Funcionamiento
P&T(<i>Closed-system purge and trap</i>) Sistema cerrado de purga y trampa ²⁷	Este método se emplea mayormente para separar analitos volátiles de líquidos o sólidos, y concentrarlos para después ser analizados por cromatografía de gases; una de las ventajas del método es que permite aislar el 100 % de los analitos presentes en la muestra. ²⁷⁻³⁰	Fase de purga: consiste en burbujear la muestra a temperatura ambiente con un gas inerte, los compuestos volátiles pasan a la fase vapor el cual es llevado a través de una columna de sorbente donde los analitos son adsorbidos. Fase de trampa: la columna de sorbente se calienta y se hace pasar gas inerte para desorber los compuestos y hacerlos pasar al cromatógrafo. ^{29,30}
SPE, (<i>Solid-phase extraction</i>) Extracción en fase sólida ³¹	Los principales objetivos de este método son: retirar interferencias, cambio de la matriz del analito y concentración y aislamiento de los analitos. El método no es apropiado para muestras acuosas que tengan más de 1 % de sólidos suspendidos. ^{31,32}	Consiste en hacer pasar la muestra a través de una fase sólida (pequeña columna que en el fondo está compactada) que adsorbe los analitos de interés, después de la adsorción los analitos eluyen de la fase estacionaria con ayuda del solvente de extracción. ^{31,32}

Continúa en la siguiente página ...

Tabla 1. (Continuación)

Técnica	Descripción	Funcionamiento
HF-LPME (<i>hollow-fiber liquid phase microextraction</i>) Microextracción en fase líquida con membrana de fibra hueca ^{33,34}	Se emplea una membrana de polipropileno generalmente de 0,2 µm de tamaño de poro, (600–1200) µm de diámetro interno y 200 µm de espesor. Es una técnica que permite usar bajo volumen de solvente que generalmente debe tener un punto de ebullición más alto que los analitos. Es adecuada para muestras biológicas y ambientales; se emplea entre (0,1–4,0) µL de volumen de la muestra acuosa. ³³⁻³⁵	Se inyecta el volumen de muestra en la membrana del polímero hidrófobo poroso y con ayuda de la polaridad del solvente que debe ser equivalente a la de la fibra, se extraen los analitos. La impregnación del solvente en la fibra es una parte esencial para para que quede inmovilizado en la superficie. ³⁵
HS (<i>Headspace</i>) Espacio de cabeza ^{36,37}	No requiere uso de solvente. El <i>headspace</i> es aconsejable cuando la matriz puede interferir en la determinación de los analitos y la extracción no requiere mucho tiempo. ^{38,39}	La muestra es colocada en un vial que contiene un volumen de gas por encima de ella y luego se tapa. El vial se coloca en un baño termostático a una temperatura constante hasta que se alcance un equilibrio entre las dos fases luego se toma un volumen del gas y se inyecta en el cromatógrafo. ³⁹
HS-SPME (<i>Headspace HS, Solid-phase microextraction, SPME</i>) microextracción en fase sólida del espacio de cabeza ^{38,40}	Es la combinación de dos técnicas para lograr una mejor extracción de los analitos de interés, puede ser empleada para muestras sólidas y líquidas. ^{38,40}	El funcionamiento consiste en tomar la muestra del espacio libre de cabeza después de haber realizado la extracción en fase sólida. Cuando se usa SPME con HS se coloca una fibra de sílice fundida sobre el vial que contiene la muestra. ³⁸⁻⁴⁰
Optimización de adsorción - desorción (<i>Optimization of sorption -desorption</i>) ⁴¹	El sistema de optimización de adsorción y desorción evita que entre agua a la columna cuando se hacen inyecciones directas de la muestra. Es más rápido ya que no se requiere tiempo para realizar la extracción. ⁴¹	Una vez es inyectada la muestra acuosa, el agua es adsorbida en la superficie mientras los analitos pasan a la columna y luego el agua residual es purgada usando flujo tipo <i>Split</i> . ⁴¹
Extracción líquido - líquido ^{42,43}	La extracción líquido-líquido es un procedimiento común para la extracción de compuestos orgánicos en muestras acuosas. ^{42,43}	En general, se toma un volumen de muestra, luego se ajusta el pH cuando es necesario y se extrae con el solvente adecuado empleando un embudo de separación. Algunos métodos recomiendan concentrar la muestra después de la extracción. ^{42,43}

FUENTE: Autora

Tabla 2. Tipos de detectores que se usan para la determinación de BTEX en muestras acuosas empleando cromatografía de gases

Método de análisis	Descripción del método	Norma de referencia
Detector de ionización por llama (<i>Flame ionization detector-FID</i>) ^{31,34,41}	Es el tipo de detector más usado para compuestos orgánicos, es insensible para la determinación de sustancias inorgánicas, porque no generan iones en la llama. Su funcionamiento se basa en hacer pasar los compuestos orgánicos en una llama de aire – hidrógeno en donde se producen los iones y electrones que conducen electricidad; se aplica una diferencia de potencial y la corriente producida se dirige a un amplificador; el número de iones producidos es proporcional al número de átomos de carbono producidos en la llama. El detector FID es sensible a la masa y no a la concentración, se destruye la muestra durante el análisis. ^{31,34,41,44}	Método EPA 8015D Determinación de compuestos orgánicos no halogenados por cromatografía de gases con detector FID (<i>Nonhalogenated organics using GC/FID</i>) ⁴⁵
Detector fotométrico por llama (<i>Photo-ionization detector-PID</i>) ²⁷	El detector está equipado con una lámpara ultravioleta que trabaja en longitudes de onda entre (106–149) nm. La lámpara emite fotones que luego pasan a la cámara de ionización en donde los compuestos que eluyen de la columna absorben los fotones; las especies con potenciales de ionización menores a la energía de la lámpara, la corriente producida por los iones se mide con un electrómetro y es proporcional a la concentración. Entre las características del PID están: no se destruye la muestra, se emplea para análisis de trazas, es selectivo a fenoles, gases de azufre e hidrocarburos halogenados. ⁴⁴	Método EPA 8020 Determinación de compuestos orgánicos volátiles por cromatografía de gases (<i>Aromatic volatile organics by gas chromatography</i>) ⁴⁶
Detectores en series PID -FID ³⁶	El objetivo de colocar los detectores en serie es lograr una mejor sensibilidad en la detección de los compuestos. Presenta buena sensibilidad para compuestos orgánicos con la ventaja de determinar compuestos orgánicos halogenados. ³⁶	Métodos EPA 8020 y EPA 8015 D ^{45,46}

Continúa en la siguiente página ...

Tabla 2. (Continuación)

Método de análisis	Descripción del método	Norma de referencia
Espectrometría de masas (<i>Mass spectrometry - MS</i>) ³⁷	Esta técnica permite estudiar las masas de los átomos, moléculas o fragmentos de moléculas. La espectrometría de masas es el detector más potente en la cromatografía, suministra información tanto cuantitativa como cualitativa de los compuestos que eluyen de la columna. Su mayor uso es la determinación de isótopos y descifrar estructuras orgánicas. El principio de su funcionamiento se basa en la relación masa/carga (m/Z) de los iones que han sido acelerados en un campo eléctrico, estos iones provienen de la ionización de las moléculas gaseosas. ^{28,37}	Método EPA 8260B Determinación de compuestos orgánicos volátiles por cromatografía de gases – espectrometría de masas (<i>Volatile organic compounds by gas chromatography/mass spectrometry (GC/MS)</i>) ⁴⁷

FUENTE: Autora

2.1.8. Atributos de la estandarización. En la Tabla 3 se presentan los atributos que se calculan al realizar una estandarización de un método aplicando cromatografía.^{48,49} Las fórmulas que se emplean para realizar los cálculos se presentan en el anexo 4.

Tabla 3. Atributos de la estandarización

Atributo	Criterio	Descripción
Blanco	Analizar un blanco con frecuencia del 5 %, uno por cada 20 muestras. El resultado del blanco debe ser menor que el valor del límite de detección del método. Si no se cumple el criterio se debe corregir la fuente de contaminación, volver a extraer y analizar las muestras asociadas a la contaminación. ⁴⁸	El análisis del blanco permite demostrar que no se está contribuyendo con contaminación por parte de la extracción. Se recomienda realizar un blanco después de analizar una muestra de concentración muy alta. ⁴⁸

Continúa en la siguiente página ...

Tabla 3. (Continuación)

Atributo	Criterio	Descripción
Curva de calibración, linealidad y rango	El coeficiente de correlación para la curva de calibración debe ser mayor a 0,995. El porcentaje de diferencia (desviación estándar relativa) para verificar la curva de calibración debe ser menor o igual a 20 % para cada patrón de la curva de calibración, si el límite es superado se debe realizar una nueva curva de calibración. ⁴⁸	Linealidad: permite evaluar la capacidad del método para obtener una respuesta que es directamente proporcional a la concentración del analito en la muestra. Rango: es el intervalo entre la concentración superior e inferior de analito en una muestra y que se ha demostrado que el procedimiento de análisis tiene una adecuada precisión, exactitud y linealidad. ⁴⁹
Límite de detección del método –LDM (<i>Detection limit</i> – DL ó <i>limit of detection</i> – LOD)	La concentración evaluada debe generar una relación S/N (<i>Signal to noise ratio</i>) de al menos 3:1. ⁴⁹	Corresponde a la cantidad más baja de analito en una muestra que puede ser detectada pero no necesariamente cuantificada con un valor exacto. Para métodos cromatográficos su valor puede ser basado en la relación señal a ruido (<i>Signal to noise ratio</i> , S/N). ⁴⁹
Límite de cuantificación del método LCM (<i>Quantitation limit</i> – QL ó <i>limit of quantitation</i> –LOQ)	La concentración evaluada debe generar una relación S/N de al menos 10:1 y un coeficiente de variación menor a 10 %. ⁴⁹	Corresponde a la cantidad más baja de analito en una muestra que puede ser cuantificada con adecuada precisión y exactitud. Para métodos cromatográficos su valor puede ser basado en la relación señal a ruido (<i>Signal to noise ratio</i> , S/N). ⁴⁹
Exactitud	Se evalúa por el Porcentaje de recuperación que debe estar dentro del rango 70 % a 130 %. ⁴⁸	Es el grado de aproximación entre el valor obtenido experimentalmente y el valor real o aceptado. ⁴⁹

Continúa en la siguiente página ...

Tabla 3. (Continuación)

Atributo	Criterio	Descripción
Precisión	Se evalúa por medio de la desviación estándar relativa, debe ser menor del 20 %. ⁴⁸	La precisión es el grado de aproximación mutua entre resultados independientes de una muestra. La precisión consiste en dos componentes: repetibilidad y precisión intermedia o reproducibilidad.^{49,50} Repetibilidad: es la variación experimental de un solo analista y un solo instrumento, se realiza analizando muchas replicas bajo las mismas condiciones de medición.^{49,50} Reproducibilidad o precisión intermedia: es la variación experimental de los datos obtenidos en un laboratorio realizados bajo diferentes condiciones de medición como: diferentes analistas, ocasiones distintas, diferentes laboratorios, diferente material o equipos.^{49,50}
Rendimiento del método – Precisión y Exactitud	Se analiza una muestra adicionada (<i>Matrix spike</i> - MS) y el duplicado de una muestra no adicionada o duplicado de la muestra adicionada. Se analiza una muestra control del laboratorio (<i>Laboratory control sample</i> – LCS). La exactitud se evalúa con el porcentaje de recuperación que debe estar entre 70 % a 130 % para los adicionados y para el control. La precisión se evalúa con el rango relativo entre duplicados o diferencia porcentual relativa (<i>Relative percent difference</i> – RPD) y por medio de la desviación estándar relativa, debe ser menor del 20 %.⁴⁸	Se evalúa el rendimiento del método mediante la precisión y exactitud. Cuando se obtengan 15 a 20 resultados de los adicionados y/o del control se determina el promedio de los porcentajes de recuperación (p) y la desviación estándar (S), con ello se establecen los límites de control y de alerta para elaborar la carta de control; de forma similar se realizan los cálculos para elaborar la carta de control de rango relativo entre duplicados.⁴⁸ Cálculo de límites de control (99 % de confianza): Límite de control superior = $p + 3S$ Límite de control inferior = $p - 3S$ Cálculo de límites de alerta (95 % de confianza): Límite de alerta superior = $p + 2S$ Límite de alerta inferior = $p - 2S$

Continúa en la siguiente página . . .

Tabla 3. (Continuación)

Atributo	Criterio	Descripción
Sensibilidad	El coeficiente de variación no debe ser mayor que el 20 %. ⁴⁸	Mide la capacidad de un método para distinguir pequeñas variaciones en las concentraciones del analito. Para determinar la sensibilidad se tiene en cuenta la pendiente de la curva de calibración y la precisión como coeficiente de variación. La sensibilidad del método se puede evaluar como: Sensibilidad de la calibración: Es la pendiente de la curva de calibración. Sensibilidad analítica: es la pendiente de la recta de calibración dividida entre la desviación estándar de las medidas.⁵¹
Incertidumbre	Se identifican todas las fuentes de incertidumbre, posteriormente se cuantifican los componentes de la incertidumbre y se determina la incertidumbre combinada y expandida. Entre las principales fuentes de incertidumbre están: las relacionadas con medidas de peso, las medidas volumétricas, las relacionadas con las lecturas del equipo, los materiales de referencia o patrones certificados, la curva de calibración, las diluciones, entre otras.⁵²	Es un parámetro asociado al resultado de una medición, que caracteriza la dispersión de los valores que podrían ser razonablemente atribuidos al mesurando, es expresado como una desviación estándar. Incertidumbre tipo A: método de evaluación de la incertidumbre por el análisis estadístico de una serie de observaciones bajo condiciones de repetitividad y se estima en base a la dispersión de los resultados individuales. Incertidumbre tipo B: método de evaluación de la incertidumbre por medios distintos al análisis estadístico de series de observaciones, puede ser calculada usando información externa u obtenida por experiencia (certificados de calibración, especificaciones de los instrumentos o especificaciones del fabricante como la pureza). Incertidumbre combinada: es igual a la raíz cuadrada de la suma de los cuadrados de las varianzas. Incertidumbre expandida: intervalo dentro del cual se cree que está el valor del mensurando para un cierto nivel de confianza. Se calcula a partir de los valores obtenidos para todas las fuentes individuales de incertidumbre.⁵²

FUENTE: Autora

2.2. ANTECEDENTES

A continuación se presenta el estado del arte para la determinación de BTEX aplicando cromatografía de gases para muestras en matrices acuosas, se presentan varios métodos de extracción y de determinación de los BTEX.

Rosas *et al.* realizaron una tesis para determinar la toxicidad de los BTEX en muestras de aguas subterráneas y suelos contaminados con hidrocarburos; la cuantificación de los BTEX se realizó aplicando como base el método EPA 8020 en el que se describe el análisis de compuestos orgánicos purgables no halogenados; experimentalmente se empleó un cromatógrafo HP-5890 serie II con purga y trampa con columna megaboro de 0,53 mm de diámetro interno y longitud de 30 m; la metodología empleada para la extracción de las muestras fue mediante el método EPA 5035 el cual describe la extracción de compuestos orgánicos volátiles utilizando el sistema de purga y trampa. De acuerdo con los resultados obtenidos los suelos no requieren restauración y algunos puntos de las aguas subterráneas presentaron concentraciones moderadas de BTEX por lo cual si se presentó infiltración a través del suelo.²⁷

Serrano *et al.* diseñaron un método para la determinación de BTEX en muestras de aguas, el método fue desarrollado empleando un cromatógrafo de gases equipado con automuestreador HP 7694 con *headspace* y detector selectivo de masas HP 5973 (*Agilent technologies*, Palo Alto, CA, USA). La inyección se realizó a modo Split 1:15, columna HP-5MS (5 %)-*phenyl* (95 %) *methyldpolysiloxane* (30 m x 0,25 µm x 0,32 mm) y un flujo constante de helio en 2,0 mL/min. La rampa de temperatura del horno inició en 40 °C y se mantuvo por 3 min posteriormente incremento a 60 °C a razón de 5 °C/min y se mantuvo 1 min y luego aumento hasta 200 °C a razón de 20 °C/min y permaneció a esta temperatura 2 min. En la Tabla 4 se presenta el coeficiente de correlación, el rango lineal y el límite de detección del método empleando HS-GC-MS.³⁷

Tabla 4. Coeficiente de correlación, rango lineal y límite de detección obtenido por HS-GC-MS.

Parámetro	Coeficiente de correlación (r)	Rango de la curva de calibración (mg/L)	Límite de detección (mg/L)
Benceno	0,997	0,0006 – 0,750	0,000 20
Tolueno	0,998	0,0006 – 0,750	0,000 19
Etilbenceno	0,998	0,0005 – 0,750	0,000 14
<i>m,p</i> -Xileno	0,998	0,0005 – 0,750	0,000 15

Continúa en la siguiente página . . .

Tabla 4. (Continuación)

Parámetro	Coeficiente de correlación (r)	Rango de la curva de calibración (mg/L)	Límite de detección (mg/L)
<i>o</i> -Xileno	0,998	0,0005 – 0,750	0,000 15

FUENTE: Elaborado de Serrano *et al.*³⁷

Kubinec *et al.* realizaron la determinación de BTEX en muestras de agua por cromatografía de gases empleando detector FID e inyección directa de 250 µL de muestra, utilizando la capacidad de adsorción (*Chromosorb P NAW 60-80 mesh*), que evita el paso del agua a la columna (DB 130 m x 5 µm x 0,32 mm, *J&W Scientific, Blue Ravine Road, Folsom - USA*). Se usó helio como gas de arrastre y se manejó una presión de 65 KPa y 70 °C en el puerto de inyección; la temperatura del detector se mantuvo a 250 °C y la rampa de temperatura en el horno inició a 20 °C y se mantuvo por 3 minutos luego aumentó a 120 °C a razón de 50 °C/min y por último hasta 150 °C a razón de 1,5 °C/min. Los límites de detección y cuantificación del método se presentan en la Tabla 5.⁴¹

Tabla 5. Límite de detección y límite de cuantificación de los BTEX en muestras de agua por cromatografía de gases realizando inyección directa.

Parámetro	Límite de detección (mg/L)	Límite de cuantificación (mg/L)
Benceno	0,0006	0,0020
Tolueno	0,0009	0,0030
Etilbenceno	0,0009	0,0030
<i>m,p</i> -Xileno	0,0010	0,0033
<i>o</i> -Xileno	0,0011	0,0036

FUENTE: Elaborado de Kubinec *et al.*⁴¹

Rivelino *et al.* diseñaron un método para la determinación de VOC's en muestras acuosas en la costa de Fortaleza, Brasil. El método se desarrolló empleando cromatógrafo de gases con inyector automático equipado con *headspace* y detectores PID-FID conectados en serie para mejorar la sensibilidad del método. Las muestras fueron inyectadas a modo *splitless* empleando una columna OV-624 Ohio Valley (60 m x 1,8 µm x 0,32 mm); la rampa de trabajo inició a una temperatura de 40 °C por 2 minutos posteriormente incrementó 40 °C/min hasta 140 °C y luego hasta 200 °C incrementando a razón de 7 °C/min y se empleó nitrógeno como gas de arrastre. En la Tabla 6 se presentan los valores de coeficiente de correlación, el rango de la curva de calibración y el límite de detección obtenido.³⁶

Tabla 6. Coeficiente de correlación, el rango de la curva de calibración y el límite de detección obtenido por HS-GC-PID-FID.

Parámetro	Coeficiente de correlación (r)	Rango de la curva de calibración (mg/L)	Límite de detección (mg/L)
Benceno	0,9986	0,0005 - 0,250	0,000 22
Tolueno	0,9987	0,0005 - 0,250	0,007 48
Etilbenceno	0,9989	0,0005 - 0,250	0,000 33
<i>m,p</i> -Xileno	0,9990	0,0005 - 0,250	0,000 31
<i>o</i> -Xileno	0,9989	0,0005 - 0,250	0,000 47

FUENTE: Elaborado de Rivelino *et al.*³⁶

Arroyave *et al.* realizaron la estandarización para la determinación de BTEX en matrices acuosas por cromatografía de gases con extracción en fase sólida. Se analizaron muestras de trampas de grasas de estaciones de servicio, se empleó el cromatógrafo de gases con detector FID marca *Shimadzu* GC-2014, equipado con una columna MXT5 serie 508529G1 (30 m x 0,50 µm x 0,25 mm) empleando como gas de arrastre helio, flujo total 2,5 mL/min, inyectando 1 µL a modo *split*, la rampa de temperatura de trabajo inicia a 40 °C por 2 min, aumenta a 100 °C a razón de 10 °C/min y permanece 2 min, luego es llevada a 190 °C a razón de 30 °C/min; se realizó una curva de calibración de 0,25 mg/L a 50 mg/L preparada con un patrón mixto de BTEX y solvente diclorometano en el cual no se logró separar los isómeros *m*-xileno y *p*-xileno; se evaluó por medio del porcentaje de recuperación de tres muestras de agua desionizada que fueron adicionadas con un patrón de BTEX en concentraciones de 1 mg/L, 20 mg/L y 50 mg/L; en la Tabla 7 se presentan los porcentajes de recuperación obtenidos con su porcentaje desviación estándar relativa y el rango de la curva de calibración.³¹

Tabla 7. Porcentajes de recuperación de los BTEX para la extracción en fase sólida en agua des-ionizada

Parámetro	Porcentaje de recuperación (%)				Rango de la curva de calibración (mg/L)
	Patrón de 1 mg/L	Patrón de 20 mg/L	Patrón de 50 mg/L	Precisión (% RSD)	
Benceno	69,43	62,95	75,28	8,91	0,25 - 50
Tolueno	73,45	70,26	79,92	6,60	0,25 - 50

Continúa en la siguiente página ...

Tabla 7. (Continuación)

Parámetro	Porcentaje de recuperación (%)			Precisión (% RSD)	Rango de la curva de calibración (mg/L)
	Patrón de 1 mg/L	Patrón de 20 mg/L	Patrón de 50 mg/L		
Etilbenceno	75,14	76,84	72,75	2,74	0,25 - 50
<i>m,p</i> -Xileno	77,57	79,80	70,74	6,21	0,25 - 50
<i>o</i> -Xileno	81,27	82,54	76,21	4,19	0,25 - 50

FUENTE: Elaborado de Arroyave *et al.*³¹

Xiaoguo *et al.* realizaron la determinación de BTEX en muestras de aguas empleando un cromatógrafo de gases con detector FID y microextracción en fase líquida con fibra hueca (*Hollow fiber supported liquid-phase microextraction*) para concentrar las muestras. La separación se llevó a cabo con una columna capilar SPB – Shimadzu, Japan (25 m x 0,25 µm x 0,25 mm) La temperatura del inyector se mantuvo en 200 °C y el detector en 250 °C. La inyección se realizó a modo *Split* 10:1, gas de arrastre nitrógeno a un flujo de 1,0 mL/min y la rampa de temperatura en el horno inició a 45 °C por 2 min, incrementó a 70 °C a razón de 5 °C/min y se mantuvo por 3 min luego incremento hasta 140 °C a razón de 35 °C/min y se mantuvo a 140 °C por 1 min. El rango lineal del método para benceno y xilenos es de 0,01 mg/L a 0,50 mg/L y para el tolueno y etilbenceno 0,005 mg/L a 0,50 mg/L.³⁴

Moliner-Martínez *et al.* evaluaron la influencia de las variaciones de temperatura y precipitación en relación con los niveles de BTEX en aguas naturales. Para la determinación de BTEX en las muestras se utilizó HS-SPME combinada con cromatografía de gases y detector FID; se empleó el cromatógrafo de gases (Focus GC, Thermo Finnigan, Waltham, MA, USA) con la columna TRB-5 (30 m x 0,25 mm de diámetro interno y espesor 0,25 µm) y gas de arrastre nitrógeno, la inyección se realizó a modo *splitless*; las condiciones para el análisis fueron flujo de 2 mL/min y se inició con la temperatura del horno en 35 °C por 4 min, luego se aumentó a razón de 30 °C/min hasta 80 °C y se mantuvo 7,5 min posteriormente se aumentó a razón de 30 °C/min hasta 150 °C y se mantuvo 7 min. Se determinó el contenido de BTEX en muestras de agua de los estuarios Jucar, Cullera y Santa Paola, ubicados en Valenciana, España y en el mar mediterráneo durante un periodo de tres años tomando muestras en las cuatro estaciones. Se encontró que los niveles de BTEX en el agua dependen de la temperatura y precipitación de agua. El rango de trabajo del método fue hasta 0,010 mg/L, en la Tabla 8 se presentan los coeficientes de correlación y el límite de detección del método de análisis y el porcentaje de recuperación obtenido en las muestras.³⁸

Tabla 8. Coeficiente de correlación, límite de detección y porcentaje de recuperación obtenido

Parámetro	Coeficiente de correlación (r)	Límite de detección (mg/L)	Porcentaje de recuperación (%)
Benceno	0,995	0,000 005	101 ± 1
Tolueno	0,997	0,000 020	85 ± 8
Etilbenceno	0,998	0,000 020	96 ± 3
<i>m,p</i> -Xileno	0,996	0,000 010	94 ± 2
<i>o</i> -Xileno	0,997	0,000 015	97 ± 1

FUENTE: Elaborado de Moliner-Martínez *et al.*³⁸

Hyun *et al.* realizaron un estudio que consiste en el aislamiento de la bacteria “Jani-bacter sp SB2” presente en aguas de mar, para emplearla en la biodegradación de los BTEX. Las concentraciones de BTEX se cuantificaron mediante un cromatógrafo de gases (*Agilent* 6890N) con FID, la columna empleada fue HP-5 (J&W Scientific, Folsom, CA, USA; 30 m x 0,32 mm de diámetro interno y espesor 0,25 µm); la rampa de calentamiento comenzó en 60 °C y se incrementó 10 °C/min hasta 220 °C y se mantuvo en esa temperatura por 3 min con gas de arrastre hidrógeno (40 mL/min) y aire (450 mL/min). La temperatura de inyección fue de 260 °C y se inyectó 1 µL de muestra a modo *splitless*; los compuestos *m,p*-xilenos no fueron separados ya que presentaron el mismo tiempo de retención. Se evidenció que los xilenos se degradan más lentamente que el benceno, tolueno y etilbenceno.²¹

3. DISEÑO METODOLÓGICO

El proceso de la estandarización se llevó a cabo siguiendo las actividades descritas a continuación.

3.1. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

Esta actividad se realizó periódicamente, permitió tener en cuenta las actualizaciones de la normatividad colombiana para niveles permisibles de los BTEX en la calidad del agua, estudios realizados por otras universidades, publicaciones y demás documentos afines al presente trabajo.

3.2. DEFINICIÓN DEL MÉTODO DE EXTRACCIÓN Y ANÁLISIS, MATRIZ, MATERIALES Y REACTIVOS

De acuerdo con los antecedentes se determinó el método de extracción, método de análisis, materiales y reactivos necesarios para realizar la estandarización del método.

3.3. ENSAYOS PRELIMINARES (ACONDICIONAMIENTO Y PRE-ESTANDARIZACIÓN)

En esta actividad se realizó el acondicionamiento de la columna y se evaluó: el solvente, el tiempo de retención de los analitos, la rampa de trabajo, la relación de flujos, los puntos de la curva de calibración y el tiempo aproximado para realizar la estandarización. Adicionalmente se calculó el factor de capacidad, la resolución y el factor de selectividad de los compuestos para conocer la sensibilidad del método.

Se evaluó el intervalo de concentraciones entre las cuales se puede aplicar el método analítico con el fin de encontrar la linealidad del método y se prepararon las curvas de calibración para realizar el test de hipótesis de correlación y la sensibilidad de las curvas de calibración respecto a la pendiente.

También se determinó el límite de detección y de cuantificación del método calculando la relación señal a ruido, coeficiente de variación y porcentaje de error relativo a las lecturas de las concentraciones en estudio.

3.4. DETERMINACIÓN DE LOS ATRIBUTOS (ESTANDARIZACIÓN)

Durante la etapa de estandarización se determinaron atributos como precisión y exactitud por medio de los valores obtenidos del rango relativo entre duplicados, estándar de control del método y porcentaje de recuperación de los adicionados. Una vez finalizada la parte práctica se calculó la incertidumbre analítica del método de extracción y análisis. Para calcular las variables anteriormente mencionadas se prepararon cuatro lotes de muestras, cada lote está conformado por las muestras que se presentan en la Tabla 9.

Tabla 9. Contenido de los lotes para la estandarización

Muestra	Objetivo
Un blanco de reactivos (BK)	Detectar contaminación
Un estándar para estimar el rango de aplicación preparando la concentración más alta que se pueda analizar, que al aplicar un factor de dilución se encuentre con una adecuada precisión y exactitud.	Permite establecer el rango de aplicación del método.
Dos estándares de concentración conocida uno de concentración alta (Ealto) y uno de concentración baja (Ebajo). La concentración se puede estimar con el valor del límite máximo de concentración de los BTEX (C), siendo el Ealto el 90 % de C y Ebajo comprendido entre el (9–20) % del valor de C y que no supere la mitad del rango de trabajo del método.	Verificar la linealidad del método.
Una muestra rutinaria para cada tipo de matriz a estandarizar y su respectivo duplicado: agua residual doméstica, agua residual no doméstica y agua superficial.	Evaluar la precisión del método.
Una muestra adicionada preparada de una muestra rutinaria o un estándar con un adicionado y su respectivo duplicado y que no supere la mitad del rango de trabajo del método.	Evaluar la exactitud y precisión del método.
Un estándar de control que puede estar entre la mitad del rango de trabajo del método.	Evaluar la exactitud del método.

FUENTE: Autora basado en el método EPA 8000C⁴⁸

3.5. CÁLCULOS ESTADÍSTICOS Y ANÁLISIS DE RESULTADOS

Al terminar la etapa de estandarización se realizaron los cálculos estadísticos y análisis de los resultados, teniendo en cuenta los criterios establecidos por el método EPA 8000C⁴⁸ y las recomendaciones publicadas por Bliesner, David M.⁴⁹ La estimación de la incertidumbre se realizó de acuerdo con la metodología establecida por la *Guide to the Expression of Uncertainty in Measurement* (GUM)⁵² y la guía EURACHEM/CITAC *Guide Quantifying Uncertainty in analytical Measurement*.⁵³

Una vez terminados todos los cálculos estadísticos y después de haber verificado el cumplimiento de los criterios se elaboró el procedimiento técnico de ensayo (PTE).

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

A continuación se presentan los resultados obtenidos en el proceso de estandarización del método para la determinación de los compuestos BTEX empleando la extracción líquido-líquido de muestras acuosas y determinación por cromatografía de gases con detector FID.

4.1. EQUIPOS

La determinación de los BTEX se realizó utilizando un cromatógrafo de gases *Agilent Technologies 6820 GC System* (Figura 5) intervalo de trabajo desde temperatura ambiente hasta 425 °C, posee dos inyectores, tres reguladores de presión, puerto de inyección *split/splitless*, el detector de ionización de llama (FID), Software *Agilent-Cerity A.04.05* utilizado para la recepción e integración de la señal enviada desde el cromatógrafo de gases al computador. Para procesar los datos cromatográficos se empleó el software *IGOR Pro 6.3* licenciado a la universidad Santo Tomás.

Figura 5. Cromatógrafo de gases *Agilent 6820 GC System* (Disponible en el laboratorio PSL PROANALISIS LTDA, Bucaramanga)



FUENTE: Autora

El cromatógrafo se equipó con una columna de separación (19091N-216 *Agilent Technologies* HP-INNOWax de 60 metros de longitud, 0,32 mm de diámetro interno y 0,50 μm de espesor (Figura 6). El rango de temperatura de la columna es de (40–260) °C. En el anexo 5 se encuentra el certificado de la columna.

Figura 6. Columna HP-INNOWax



FUENTE: Autora

4.2. REACTIVOS Y MATERIALES

Los reactivos empleados para la determinación de los BTEX son: diclorometano para cromatografía de gases FID CH_2Cl_2 (MERCK), sulfato de sodio anhidro granulado (0,63–2,0) mm Na_2SO_4 (MERCK), ácido clorhídrico 37 % HCl (MERCK), patrón para cromatografía de gases CLP-BTEX-10 2,0 mg/mL (RESTEK), acetona $\text{C}_3\text{H}_6\text{O}$ (MERCK), metanol CH_3OH (MERCK), agua destilada, gas de arrastre helio grado 5 (99,9990 % pureza), gas combustible hidrógeno, gas comburente aire.

Los materiales empleados fueron: jeringas para inyección marca *Agilent*, papel filtro franja azul grado 391 con diámetro de poro de $3\mu\text{m}$, embudos de separación de 250 mL y material volumetrico como balones aforados, probetas y vasos de precipitado.

4.3. DEFINICIÓN DEL MÉTODO DE EXTRACCIÓN Y ANÁLISIS

El método que se tomó como referencia para la extracción de las muestras es el EPA 3510C extracción líquido-líquido con embudo de separación (*separatory funnel liquid-liquid extraction*)⁴² en el cual se describe el procedimiento para aislar compuestos orgánicos en muestras acuosas. En el anexo 6 se presenta el diagrama de

flujo para el proceso de extracción de los BTEX en muestras acuosas. El método de extracción no especifica las condiciones de preservación y almacenamiento para determinación de los BTEX, debido a ello se tomó como referencia el método 6010B *Sample collection and preservation* del *STANDARD METHODS*,⁵⁴ recomienda agregar a muestras de agua no cloradas cuatro gotas de ácido clorhídrico 6N por cada 40 mL de muestra (aproximadamente hasta pH <2) para prevenir la biodegradación; para muestras cloradas se debe reducir el cloro con 3 mg de tiosulfato de sodio por cada 40 mL de muestra y luego proceder con la acidulación, las muestras se deben mantener a una temperatura de 4 °C y almacenar en un lugar libre de vapores de solventes orgánicos hasta su análisis; normalmente las muestras pueden ser almacenadas hasta 14 días después del muestreo.

La determinación del análisis se realizó tomando como método de referencia EPA 8015D (*Nonhalogenated organics using GC/FID*)⁴⁵ el cual aplica para determinación de compuestos orgánicos no halogenados por cromatografía de gases con detector FID; la estandarización del método se aplicó en muestras de aguas servidas y aguas superficiales provenientes de la zona nororiental de Colombia, empleando el cromatógrafo de gases *Agilent 6820 GC system* con gas de arrastre helio y columna capilar HP-INNOWax (Véase el certificado en el anexo 5). La preparación de las soluciones de trabajo se realizó empleando el patrón de referencia CLP-BTEX-10 de concentración 2,0 mg/mL en metanol (Véase el certificado en el anexo 7) y como solvente para las soluciones diclorometano para cromatografía de gases FID (Véase el certificado en el anexo 8).

4.4. ENSAYOS PRELIMINARES (ACONDICIONAMIENTO Y PRE-ESTANDARIZACIÓN)

4.4.1. Acondicionamiento de la columna. Se realizó el acondicionamiento de la columna teniendo en cuenta las recomendaciones de *Agilent* (Ver anexo 9), este se debe realizar siempre que la columna sea nueva y cuando se observa sangrado en la columna o valores de ruido muy altos. Se recomienda pasar el método de limpieza cuando se realice cambios en: la columna, la septa, las férulas, el cilindro de gas de arrastre, transferencia líneas o conexiones, limpieza del detector o cuando se lean muestras contaminadas.

4.4.2. Optimización de flujo. De acuerdo con la gráfica de Van Deemter se recomienda como gas de arrastre helio o hidrógeno, se decide emplear helio ya que es más seguro y se obtienen buenos resultados. Se tomó en cuenta la relación de flujo para columnas de 60 metros de longitud reportada por *Agilent*. Después de veinte ensayos en los que se evaluó el factor de capacidad de pico y el tiempo de análisis se determinó como flujo una relación *split* de 1:11, en donde, el flujo total está alrededor de 50 mL/min y el gas de arrastre en 5 mL/min generando una presión de 27

psi. La relación de los gases de ignición es de 1:10 en donde el hidrógeno tiene un flujo de 40 mL/min y el aire 400 mL/min.

4.4.3. Optimización de rampa de calentamiento. Para determinar la rampa de calentamiento se tuvo en cuenta los puntos de ebullición de los compuestos BTEX. La temperatura en el inyector se fijó en 240 °C y la temperatura en el detector 250 °C, durante el proceso se realizaron diez pruebas con rampas de calentamiento de diferente duración, de 9 min en donde no se obtuvo buena resolución para los xilenos y otras con duración de 25 min con buena separación de los analitos, sin embargo, para ofrecer un método con un corto tiempo de corrida y buena resolución, se estableció como rampa de calentamiento la que se observa en la Tabla 10, con una duración de 12,63 min.

Tabla 10. Rampa de calentamiento del método

Rampa #	°C/min	Temperatura final (°C)	Mantener (min)	Tiempo de análisis (min)
0	-	50	2,00	2,00
1	3	60	0,20	5,53
2	6	75	0,20	8,23
3	10	100	0,20	10,93
4	30	145	0,20	12,63

FUENTE: Autora

4.4.4. Selección del solvente. Al definir el solvente se tuvo en cuenta la solubilidad y/o afinidad con los analitos de interés y el punto de ebullición; de acuerdo con lo anterior, se realizaron pruebas con el hexano (punto de ebullición 68 °C) y con el diclorometano (punto de ebullición 39,6 °C); se obtuvieron mejores resultados con el diclorometano ya que el pico del benceno presentó mejor resolución.

4.4.5. Determinación de la resolución, el factor de capacidad y de selectividad. Se optimizó evaluando la resolución, el factor de capacidad y el factor de selectividad por medio de los datos obtenidos del patrón de 1,0 mg/L de BTEX. En la Tabla 11 y en la Tabla 12 se presentan los resultados.

Tabla 11. Resolución (R) y selectividad (α)

Compuesto	Resolución (R >1,5)	Factor de selectividad (α)
<i>p</i> -Xileno y Etilbenceno	4,720	1,023
<i>m</i> -Xileno y <i>p</i> -Xileno	4,253	1,020

FUENTE: Autora

Tabla 12. Factor de capacidad (k')

Variable	Compuesto	Valor
Factor de capacidad (k') Rango 0,5 a 20	Benceno	1,774
	Tolueno	2,849
	Etilbenceno	3,908
	<i>p</i> -Xileno	3,997
	<i>m</i> -Xileno	4,077
	<i>o</i> -Xileno	4,520

FUENTE: Autora

De acuerdo con los resultados obtenidos del cálculo de: factor de capacidad, resolución y factor de selectividad, el método cumple con los criterios establecidos; para el factor de selectividad lo más recomendado es que el valor esté entre 1 y 2, ya que mayor a dos se necesitaría periodos muy largos para realizar la corrida. Se evaluó la resolución y el factor de selectividad entre etilbenceno, *p*-xileno y *m*-xileno ya que son los compuestos que visualmente se observan más cercanos, se encontró que presentan muy buena separación respecto a su línea base y adecuada separación entre sí.

4.4.6. Curva de calibración y sensibilidad del método. Se evaluó el intervalo de concentraciones entre las cuales se puede aplicar el método analítico, se realizó una corrida de 15 patrones de concentración entre 0,003 mg/L y 200 mg/L de BTEX; luego se observó en que parte presentó mayor linealidad, seleccionando entre 5 y 6 patrones para la curva de calibración y calculando el coeficiente de correlación. Se adoptaron como curvas de calibración para etilbenceno, *p*-xileno, *m*-xileno y *o*-xileno los patrones de concentración: 0,050 mg/L, 0,100 mg/L, 0,500 mg/L, 1,0 mg/L, 5,0 mg/L y 10 mg/L, para los compuestos benceno y tolueno no se toma el patrón de 10 mg/L ya que afectaba negativamente el coeficiente de correlación de la curva; en

la Figura 7 se pueden observar las señales de los patrones de las curva de calibración.

Posteriormente, se preparó la curva de calibración por triplicado para cada compuesto, en la Tabla 13 se presentan los resultados de la curva de calibración promedio para el benceno y tolueno y en la Tabla 14 para el etilbenceno y xilenos, los cuales se usaron para realizar el test de hipótesis de la correlación. En el anexo 10 y en el anexo 11 se presentan las gráficas de la curva de calibración de los BTEX.

Tabla 13. Curva de calibración promedio para el benceno y el tolueno

Patrón de la curva (mg/L)	Área del benceno (pA*S)	Área del tolueno (pA*S)
0,05	1,101 98	4,670 31
0,1	3,768 14	7,827 51
0,5	23,6626	38,6452
1	57,4923	81,3923
5	362,046	425,391

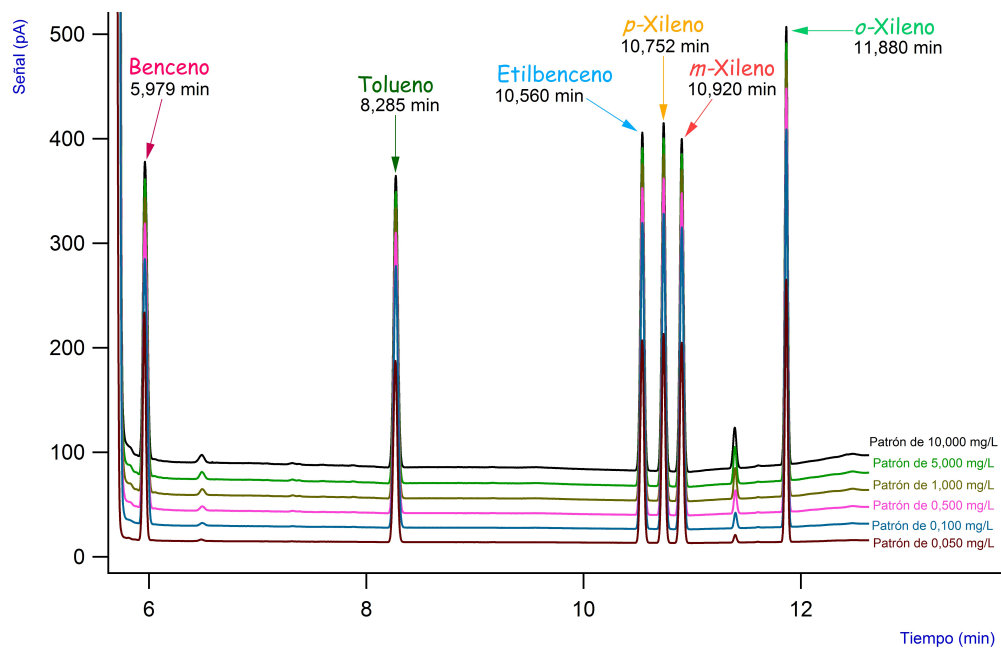
FUENTE: Autora

Tabla 14. Curva de calibración promedio para el etilbenceno y xilenos

Patrón de la curva (mg/L)	Área del etilbenceno (pA*S)	Área del <i>p</i> -xileno (pA*S)	Área del <i>m</i> -xileno (pA*S)	Área del <i>o</i> -xileno (pA*S)
0,05	2,856 73	1,749 41	2,637 80	4,132 25
0,1	3,464 31	2,477 93	3,608 74	5,997 44
0,5	22,4386	13,5394	20,7634	33,6332
1	51,2119	31,2414	46,4922	69,0294
5	365,362	300,774	333,664	406,921
10	763,207	662,785	719,516	829,214

FUENTE: Autora

Figura 7. Curva de calibración de los BTEX



FUENTE: Autora

Los resultados de las curvas de calibración se verificaron por medio de la regresión lineal aplicando el método de los mínimos cuadrados y la existencia de una correlación lineal evaluado con la prueba t de *Student* con el 95 % de confianza (Ver ecuación 1) en donde el t-experimental debe ser mayor al t-teórico.⁵⁵

$$t_{\text{experimental}} = \frac{|r| \sqrt{(n-2)}}{\sqrt{(1-r^2)}} \quad (1)$$

Donde:

r = coeficiente de correlación

n = número de patrones empleados en la curva de calibración

En la Tabla 15 se muestran los resultados del test de hipótesis de correlación para el benceno y el tolueno y en la Tabla 16 para el etilbenceno y los xilenos.

Tabla 15. Hipótesis de la correlación para el benceno y tolueno

Compuesto	Coefficiente de correlación (r)	Coefficiente de determinación (r^2)	t experimental	t teórico (n=15, n-2gl)
Benceno	0,9985	0,9970	65,9908	2,1604
Tolueno	0,9983	0,9966	61,5916	2,1604

FUENTE: Autora

Tabla 16. Hipótesis de la correlación para el etilbenceno y xilenos

Compuesto	Coefficiente de correlación (r)	Coefficiente de determinación (r^2)	t experimental	t teórico (n=15, n-2gl)
Etilbenceno	0,9990	0,9980	89,6828	2,1199
<i>p</i> -Xileno	0,9981	0,9962	64,7496	2,1199
<i>m</i> -Xileno	0,9989	0,9978	84,6065	2,1199
<i>o</i> -Xileno	0,9996	0,9993	149,1484	2,1199

FUENTE: Autora

De acuerdo con los resultados del test de hipótesis de correlación se encuentra que cumple con el criterio, ya que el valor del t experimental es mayor al t teórico. El valor del t teórico es diferente para los compuestos benceno y tolueno ya que la curva de calibración es de cinco patrones analizados por triplicado, por lo tanto se obtienen 15 datos, el t teórico es calculado de acuerdo al número de datos menos dos grados de libertad (gl) por ello el valor para benceno y tolueno es 2,1604 y para los demás compuestos es 2,1199.

Por otra parte, se evaluó la sensibilidad del método para conocer la capacidad de respuesta del método respecto a pequeñas variaciones en la concentración y se determinó la desviación estándar relativa o coeficiente de variación (% RSD) de los datos de la curva de calibración, el valor obtenido no superó el 20 % por ello cumple el criterio, los datos se presenta en la Tabla 17.

Tabla 17. Sensibilidad del método

Compuesto	Parámetros de la curva de calibración promedio			
	Intercepto (b)	Pendiente (m) (Sensibilidad)	Coefficiente de correlación (r)	% RSD
Benceno	-8,4331	73,7198	0,9992	4,11
Tolueno	-1,9316	85,3509	0,9999	6,17
Etilbenceno	-12,3756	77,0447	0,9991	1,25
<i>p</i> -Xileno	-17,0341	66,9533	0,9981	0,52
<i>m</i> -Xileno	-13,0621	72,3757	0,9990	1,30
<i>o</i> -Xileno	-6,3789	83,3154	0,9997	1,08

FUENTE: Autora

4.4.7. Límites de detección y cuantificación del método. Los límites se establecieron evaluando la señal a ruido y el coeficiente de variación de los datos. La determinación del ruido se realizó siguiendo las recomendaciones de las normas ASTM E685-93⁵⁶ y ASTM E840-95,⁵⁷ las medidas de ruido se realizaron midiendo la distancia vertical en los periodos de tiempo de la corrida en donde no se presentaba señal de pico de los compuestos y se calculó el valor promedio de los segmentos el cual se relacionó con la altura del pico de los compuestos de interés, adicionalmente se calculó el coeficiente de variación y el porcentaje de error de los datos; en la Tabla 18 se presentan los resultados obtenidos de la evaluación del límite de detección y en la Tabla 19 se presentan los resultados obtenidos de la determinación del límite de cuantificación del método.

Tabla 18. Límite de detección del método

Compuesto	Patrón de 0,020 mg/L		
	% Coeficiente de Variación - % RSD	% Error relativo	Relación señal a ruido promedio
Benceno	14,75	3,13	1 : 21,6
Tolueno	15,05	0,79	1 : 19
Etilbenceno	5,35	15,44	1 : 9,6
<i>p</i> -Xileno	4,41	24,09	1 : 8,6
<i>m</i> -Xileno	5,47	15,26	1 : 9,2

Continúa en la siguiente página ...

Tabla 18. (continuación)

Compuesto	Patrón de 0,020 mg/L		
	% Coeficiente de Variación - % RSD	% Error relativo	Relación señal a ruido promedio
<i>o</i> -Xileno	10,62	12,75	1 : 11,5

FUENTE: Autora

Tabla 19. Límite de cuantificación del método

Compuesto	Patrón de 0,050 mg/L		
	% Coeficiente de Variación - % RSD	% Error relativo	Relación señal a ruido promedio
Benceno	5,94	2,48	1 : 57,8
Tolueno	6,08	2,79	1 : 41,0
Etilbenceno	7,13	4,97	1 : 25,9
<i>p</i> -Xileno	6,09	1,02	1 : 20,6
<i>m</i> -Xileno	5,09	1,51	1 : 21,9
<i>o</i> -Xileno	7,37	8,59	1 : 31,2

FUENTE: Autora

4.4.8. Método de extracción. Se acondicionó el método de extracción EPA 3510C⁴² con el fin de emplear un bajo volumen de solvente en la extracción, el método recomienda extraer 1 litro de muestra con tres porciones de 60 mL de solvente, se adecuó el método para emplear porciones de 10 mL de solvente para 100 mL de muestra. La descripción de los pasos para la extracción se presentan en el anexo 6.

4.5. DETERMINACIÓN DE LOS ATRIBUTOS (ESTANDARIZACIÓN)

Durante la etapa de estandarización se determinaron atributos como precisión y exactitud por medio de los valores obtenidos del rango relativo entre duplicados, estándar de control del método y porcentaje de recuperación de los adicionados.

En la determinación de los atributos se realizó la medición de cuatro lotes en días diferentes, conformados por: el blanco, los controles, las muestras, el adicionado y duplicados (Tabla 9). Durante la lectura del primer lote se determinó que las muestras de agua superficial, agua residual doméstica y agua residual no doméstica no

contenían cantidad cuantificable de los analitos, debido a ello se procedió a dopar una muestra de agua residual no doméstica con una concentración desconocida de BTEX para después realizar el adiciónado; los restantes lotes se realizaron leyendo las mismas muestras y adicionalmente se analizaron: el control, estándar bajo, estándar alto, estándar de dilución máxima por duplicado, con el fin de evaluar la precisión y exactitud del método.

4.5.1. Blanco de extracción. Se realizó el proceso de extracción según los pasos descritos en el anexo 6 empleando agua destilada como muestra. No se presentó contaminación por parte del material empleado para la extracción ya que antes y al finalizar la extracción de las muestras se realizó la lectura de un blanco de extracción, todos los resultados obtenidos están por fuera del límite de cuantificación del método o no detectado cuando no se presentó señal en el instrumento, los resultados se pueden ver en la Tabla 20.

Tabla 20. Blancos de extracción

Blanco #	Benceno mg/L	Tolueno mg/L	Etilbenceno mg/L	<i>p</i> -Xileno mg/L	<i>m</i> -Xileno mg/L	<i>o</i> -Xileno mg/L
Blanco 1	0,009	0,017	ND	ND	ND	ND
Blanco 2	0,009	0,018	0,011	0,006	0,010	0,019
Blanco 3	0,009	0,019	ND	ND	ND	ND
Blanco 4	0,014	0,020	ND	ND	ND	ND
Blanco 5	ND	0,014	ND	ND	ND	ND
Blanco 6	0,005	0,014	ND	ND	ND	ND
Blanco 7	0,019	0,015	ND	ND	ND	ND
Blanco 8	0,020	0,010	ND	ND	ND	ND
Blanco 9	ND	0,006	0,014	0,010	0,013	0,016
Blanco 10	ND	ND	ND	ND	ND	ND

FUENTE: Autora

4.5.2. Rango de aplicación del método. El rango de aplicación del método se evaluó con un patrón de 2000 mg/L de BTEX al cual se le realizó un factor de dilución de 500. De acuerdo con los resultados en la Tabla 21 se puede evidenciar que presentan buena precisión y exactitud, ya que el porcentaje de desviación estándar relativo (% RSD) es inferior al 20 %⁴⁸ y el porcentaje de error (% E) es menor al 10 %.

Tabla 21. Estándar de máxima dilución(2000 mg/L)

Compuesto	Concentración experimental mg/L							Concentración promedio	% RSD	% E
Benceno	2108	2007	2005	1976	2020	1973	1953	2006	2,5	0,3
Tolueno	2058	1988	1999	2025	2003	1985	1999	2008	1,3	0,4
Etilbenceno	2131	2056	2049	2077	2076	2029	2052	2067	1,6	3,4
<i>p</i> -Xileno	2135	2038	2040	2089	2057	2027	2065	2064	1,8	3,2
<i>m</i> -Xileno	2133	2060	2052	2089	1921	2043	2065	2052	3,2	2,6
<i>o</i> -Xileno	2146	2081	2063	2113	2104	2043	2096	2092	1,6	4,6

FUENTE: Autora

4.5.3. Linealidad del método de análisis. Se evaluó la linealidad del método leyendo dos estándares de BTEX, cada uno en los extremos de la curva lineal. Se analizó como estándar bajo un patrón de concentración 0,090 mg/L y como estándar alto un patrón de 4,0 mg/L. El estándar bajo presentó mayor porcentaje de desviación estándar en comparación con el patrón alto y el estándar alto presentó mayor porcentaje de error que el estándar bajo; sin embargo en ambos casos se cumple con la meta de precisión y exactitud ya que los resultados son menores al 20 % del % RSD y menor al 10 % de error.^{48,49} En la Tabla 22 se presentan los resultados del estándar bajo y en la Tabla 23 los resultados del estándar alto.

Tabla 22. Estándar bajo (0,090 mg/L)

Compuesto	Concentración experimental mg/L							Concentración promedio	% RSD	% E
Benceno	0,092	0,094	0,091	0,093	0,092	0,087	0,091	0,091	2,5	1,5
Tolueno	0,090	0,090	0,094	0,095	0,096	0,094	0,094	0,093	2,4	3,9
Etilbenceno	0,091	0,085	0,091	0,093	0,092	0,082	0,095	0,090	5,0	0,1
<i>p</i> -Xileno	0,088	0,089	0,095	0,094	0,096	0,082	0,098	0,092	6,1	1,9
<i>m</i> -Xileno	0,090	0,090	0,092	0,093	0,092	0,082	0,093	0,090	4,3	0,4
<i>o</i> -Xileno	0,090	0,092	0,096	0,091	0,086	0,084	0,084	0,089	5,0	1,3

FUENTE: Autora

Tabla 23. Estándar alto (4,0 mg/L)

Compuesto	Concentración experimental mg/L							Concentración promedio	% RSD	% E
Benceno	4,0	3,9	3,9	3,9	3,9	3,7	3,8	3,9	2,3	3,4
Tolueno	3,9	3,8	3,8	3,9	3,9	3,6	3,9	3,8	2,8	4,2
Etilbenceno	4,0	3,9	3,9	4,0	4,0	3,7	4,0	3,9	3,2	2,1
<i>p</i> -Xileno	4,0	3,9	3,8	4,0	3,9	3,7	4,1	3,9	3,2	1,9
<i>m</i> -Xileno	4,0	3,8	3,9	4,0	4,0	3,7	4,1	3,9	3,1	1,9
<i>o</i> -Xileno	4,0	3,9	3,9	4,0	4,0	3,7	4,1	3,9	3,4	1,6

FUENTE: Autora

4.5.4. Muestras y adicionados. Durante la etapa de estandarización se realizó la lectura de cuatro tipos de muestras; un agua natural (Río frío), agua residual doméstica (Entrada de una planta de tratamiento residual), agua residual no doméstica (Entrada de una estación de servicio) y un agua residual no doméstica (Agua de pozo de formación). A la muestra del agua de pozo de formación se le adicionó una cantidad desconocida de BTEX, debido a que las muestras no reportaron concentración de BTEX y el objetivo era realizar el adiciónado en una muestra para evaluar las interferencias. En la Tabla 24 se presentan los resultados de la muestra de agua de pozo de formación y en la Tabla 25 se presentan los resultados de la muestra adiciónada; también se realizó adiciónado de blanco (blanco fortificado), los resultados se presentan en la Tabla 26.

Tabla 24. Resultados de la muestra de agua de pozo de formación

Compuesto	Concentración experimental mg/L								Concentración promedio	% RSD
Benceno	0,418	0,444	0,463	0,467	0,420	0,422	0,440	0,427	0,438	4,4
Tolueno	0,433	0,435	0,445	0,440	0,426	0,430	0,447	0,437	0,437	1,7
Etilbenceno	5,741	5,663	5,877	5,891	5,743	5,520	5,705	5,687	5,728	2,1
<i>p</i> -Xileno	0,436	0,444	0,438	0,426	0,406	0,435	0,434	0,423	0,430	2,8
<i>m</i> -Xileno	0,427	0,441	0,454	0,445	0,409	0,432	0,446	0,431	0,436	3,2
<i>o</i> -Xileno	0,441	0,449	0,452	0,449	0,442	0,443	0,450	0,443	0,446	1,0

FUENTE: Autora

Tabla 25. Resultados de la muestra de agua de pozo de formación adicionada

Compuesto	% de recuperación del agua de pozo de formación adicionada								% de recuperación promedio
Benceno	103,9	104,2	100,7	97,4	96,3	95,4	87,8	91,2	97,1
Tolueno	105,3	106,2	99,9	106,6	104,1	104,8	100,7	98,6	103,3
Etilbenceno	149,0	125,6	307,3	162,7	31,8	195,5	139,9	186,7	162,3
<i>p</i> -Xileno	105,3	105,4	107,4	103,7	109,3	109,4	109,5	109,1	107,4
<i>m</i> -Xileno	108,8	101,0	108,3	101,7	104,9	105,1	107,0	106,0	105,4
<i>o</i> -Xileno	110,3	103,7	107,2	105,2	108,2	112,0	110,5	107,4	108,1

FUENTE: Autora

Tabla 26. Resultados del blanco fortificado

Compuesto	Porcentaje de recuperación adicionado del blanco							% de recuperación promedio	% RSD
Benceno	96,3	97,5	99,6	102,0	101,7	96,2	95,0	98,4	2,8
Tolueno	92,9	104,4	103,8	101,2	101,9	98,1	96,7	99,9	4,2
Etilbenceno	100,9	102,0	102,8	101,0	104,0	95,1	95,4	100,2	3,5
<i>p</i> -Xileno	101,1	100,7	100,8	101,2	104,1	95,7	96,3	100,0	3,0
<i>m</i> -Xileno	96,0	102,3	103,0	101,7	104,6	95,7	96,7	100,0	3,7
<i>o</i> -Xileno	99,3	101,5	105,4	102,8	105,5	96,4	97,5	101,2	3,6

FUENTE: Autora

4.5.5. Control medio. Durante el proceso de estandarización se realizó la lectura del control medio el cual se leyó ocho veces consecutivas para evaluar la precisión por repetibilidad del método. En la Tabla 27 se presentan los resultados del control con el porcentaje de desviación estándar y porcentaje de error relativo, lo cual permite evaluar precisión y exactitud del método.

Tabla 27. Control medio

Compuesto	Concentración experimental del control medio (mg/L)								Concen- tración promedio	% RSD	% E
Benceno	1,045	0,964	0,958	1,025	1,050	1,039	0,976	1,003	1,008	3,7	0,8
Tolueno	1,068	0,987	0,975	1,029	1,069	1,063	1,020	1,018	1,028	3,5	2,8
Etilbenceno	1,086	0,995	0,981	1,049	1,081	1,067	1,002	0,971	1,029	4,5	2,9
<i>p</i> -Xileno	1,080	0,993	0,979	1,044	1,073	1,057	0,989	0,953	1,021	4,7	2,1
<i>m</i> -Xileno	1,082	0,990	0,979	1,046	1,061	1,055	0,981	1,013	1,026	3,9	2,6
<i>o</i> -Xileno	1,087	0,995	0,992	1,060	1,040	1,071	0,990	1,026	1,033	3,7	3,3

FUENTE: Autora

4.6. CÁLCULOS ESTADÍSTICOS Y ANÁLISIS DE RESULTADOS

4.6.1. Precisión del método de extracción y análisis. La precisión del método se evaluó por medio del porcentaje de desviación estándar relativa y el rango relativo entre duplicados. Se calculó la desviación estándar relativa por precisión intermedia para: el estándar máximo de dilución, el estándar bajo, el estándar alto, las muestras de análisis y el blanco fortificado los resultados del valor más alto para cada compuesto se presentan en la Tabla 28. Se calculó la desviación estándar relativa por repetibilidad con los datos obtenidos del control medio, en la Tabla 29 se presentan los valores promedio de desviación estándar para cada compuesto.

Tabla 28. Desviación estándar relativa del método por precisión intermedia

Compuesto	Valor más alto del % RSD por precisión intermedia	Tipo de muestra
Benceno	4,4	Agua de pozo de formación
Tolueno	4,2	Blanco fortificado
Etilbenceno	5,0	Estándar bajo (0,090 mg/L)
<i>p</i> -Xileno	6,1	Estándar bajo (0,090 mg/L)
<i>m</i> -Xileno	4,3	Estándar bajo (0,090 mg/L)
<i>o</i> -Xileno	5,0	Estándar bajo (0,090 mg/L)

FUENTE: Autora

Tabla 29. Desviación estándar relativa del método por repetibilidad

Compuesto	Valor más alto del % RSD por repetibilidad
Benceno	3,7
Tolueno	3,5
Etilbenceno	4,5
<i>p</i> -Xileno	4,7
<i>m</i> -Xileno	3,9
<i>o</i> -Xileno	3,7

FUENTE: Autora

De acuerdo con los datos reportados en la Tabla 28 se puede evidenciar que se presenta mayor variación de los datos para concentraciones más bajas, la EPA 8000 establece como meta inicial de precisión el 20 % de RSD, pero, se demostró que el método tiene la capacidad de ofrecer una precisión menor a la recomendada, siendo que el valor más alto obtenido fue de 6,1 % en el compuesto *p*-Xileno, para los demás compuestos se obtuvieron valores igual o menor al 5 % de RSD, cumpliendo a su vez con la meta propia del laboratorio que es precisión menor al 10 % de RSD. La precisión determinada por precisión intermedia y la precisión por repetibilidad no presentan variación significativa.

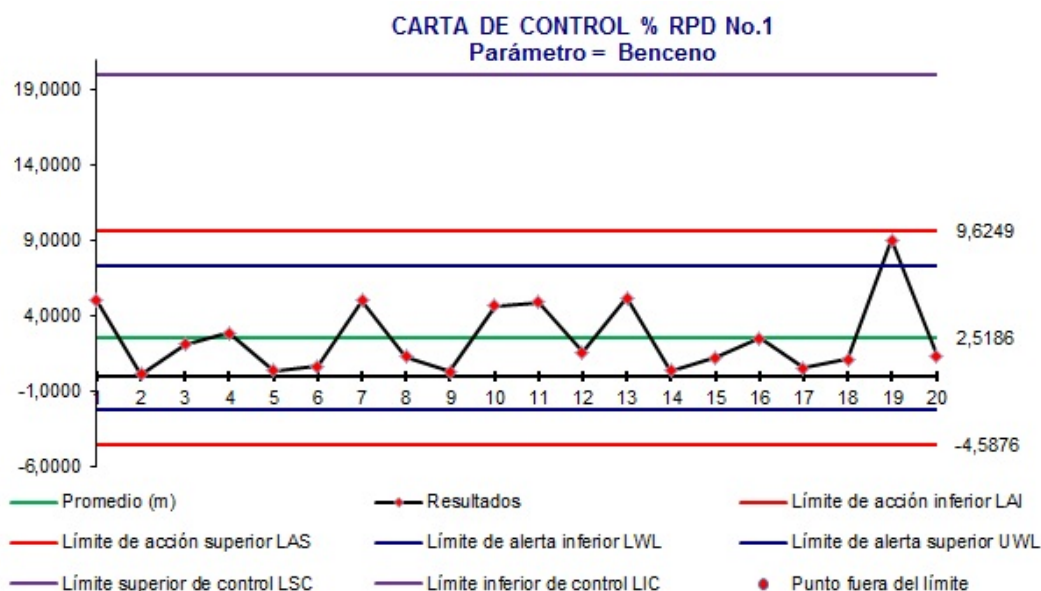
Se calculó el rango relativo entre duplicados para cada pareja de muestras analizadas en los lotes; las parejas son: estándar bajo, estándar alto, estándar de máxima dilución, blanco fortificado, muestra de agua de producción y su adicionado. Los datos obtenidos se capturaron en la carta de control de %t RPD (*Relative percent difference* – Diferencia porcentual relativa). En la Tabla 30 se presentan los resultados obtenidos del % RPD promedio y la desviación estándar de los 20 datos para cada compuesto de BTEX y en la Figura 8 se presenta el gráfico de la carta de control de % RPD obtenido para el benceno.

Tabla 30. Promedio de la diferencia porcentual relativa para los BTEX

Compuesto	Promedio de % RPD	Desviación estándar (s)	Límite de alerta inferior LWL (m-2s)	Límite de alerta superior UWL (m+2s)	Límite de acción inferior LAI (m-3s)	Límite de alerta superior LAS (m+3s)
Benceno	2,52	2,37	-2,22	7,26	-4,59	9,62
Tolueno	1,42	1,56	-1,70	4,53	-3,26	6,09
Etilbenceno	2,79	2,48	-2,16	7,74	-4,64	10,22
<i>p</i> -Xileno	2,29	3,41	-4,52	9,10	-7,93	12,51
<i>m</i> -Xileno	2,67	2,67	-2,67	8,00	-5,34	10,67
<i>o</i> -Xileno	2,81	3,14	-3,47	9,10	-6,61	12,24

FUENTE: Autora

Figura 8. Gráfico del % RPD para el benceno



FUENTE: Autora

De acuerdo con los resultados de % RPD obtenidos experimentalmente para la primera carta de control de cada compuesto se observa que el valor promedio no supera el 3 % RPD, lo que demuestra que en términos de precisión el método tiende

a ser estable para la ejecución del análisis en muestras rutinarias.

4.6.2. Exactitud del método de extracción y análisis. La exactitud del método se evaluó por medio del porcentaje de recuperación en la muestra adicionada y del blanco fortificado, también, se calculó el porcentaje de error de los patrones analizados.

Se determinó el porcentaje de recuperación a los adicionados, los resultados obtenidos se registraron en la carta de control y son evaluados por medio de la desviación estándar, en la Tabla 25 se presentan los porcentajes de recuperación obtenidos para la muestra adicionada y en la Tabla 26 se presentan los porcentajes de recuperación obtenidos para el blanco fortificado; el porcentaje de recuperación para el blanco fortificado de los BTEX fue de 98 % al 101 %.

Al analizar los resultados de la Tabla 25 se destaca que el porcentaje de recuperación del etilbenceno para la muestra adicionada no cumple con la meta ya que el rango máximo definido por el método según la EPA 8000C⁴⁸ es 70 % a 130 %. El adicionado se realizó en un 75 % de la concentración de los analitos de baja concentración pero realizando el porcentaje alto de adición respecto a lo recomendado (20 % al 80 %); el porcentaje de adición del etilbenceno fue de 5,3 %. Sin embargo, se da aceptación del etilbenceno para la ejecución de los análisis rutinarios ya que a todos los analitos se les realiza la misma técnica de preparación y tratamiento de muestras como a los estándares demostrando la equivalencia del método en el analito de interés y también se realizó un blanco fortificado demostrando buena recuperación.

Se puede realizar el adicionado a uno de los analitos y no es necesario realizar un adicionado por cada compuesto ya que las muestras pueden diferir en las concentraciones; se realizará el adicionado de manera que cumpla para la mayoría de los analitos de interés. El adicionado se realiza a la porción de muestra a la que se le ha realizado la extracción teniendo en cuenta de realizar la adición entre el 20 % y 80 % de la concentración del analito de interés. En el caso de que ninguna muestra presente concentración mayor al límite de los compuestos se realizará el adicionado a un blanco o patrón.

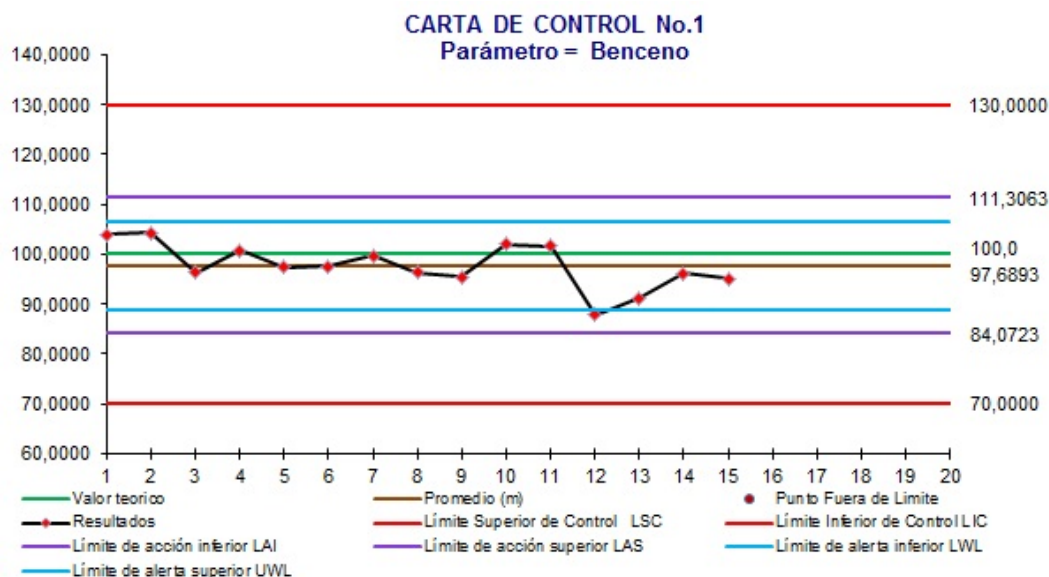
En la Tabla 31 se presentan los resultados del promedio del porcentaje de recuperación, la desviación estándar y límites de los límites de alerta y acción a dos y tres desviaciones estándar para las cartas de recuperación de los BTEX y en la Figura 9 se presenta la gráfica de control del benceno para los porcentajes de recuperación.

Tabla 31. Porcentajes de recuperación promedio para los BTEX

Compuesto	Promedio de % Recuperación	Desviación estándar (s)	Límite de alerta inferior LWL (m-2s)	Límite de alerta superior UWL (m+2s)	Límite de acción inferior LAI (m-3s)	Límite de alerta superior LAS (m+3s)
Benceno	97,7	4,5	88,6	106,8	84,1	111,3
Tolueno	101,7	3,9	93,9	109,5	90,0	113,4
Etilbenceno	100,2	3,5	93,1	107,3	89,6	110,8
<i>p</i> -Xileno	103,9	4,6	94,8	113,1	90,2	117,7
<i>m</i> -Xileno	102,9	4,2	94,5	111,2	90,3	115,4
<i>o</i> -Xileno	104,9	4,7	95,5	114,3	90,7	119,0

FUENTE: Autora

Figura 9. Gráfico del porcentaje de recuperación para el benceno



FUENTE: Autora

Se realizó el cálculo del porcentaje de error para los patrones analizados durante la lectura de los lotes, los cuales son: blanco fortificado (0,50 mg/L), estándar bajo (0,090 mg/L), estándar alto (4,0 mg/L), estándar máxima dilución (2000 mg/L) y con-

tol medio (1,0 mg/L). En la Tabla 32 se presentan los resultados del valor más alto obtenido para el porcentaje de error de los patrones analizados.

Tabla 32. Porcentaje de error más alto para los BTEX en patrones

Compuesto	Valor más alto del porcentaje de error (% E)	Tipo de muestra
Benceno	4,7	Estándar alto
Tolueno	5,3	Estándar bajo
Etilbenceno	3,9	Estándar de dilución alta
<i>p</i> -Xileno	3,8	Estándar de dilución alta
<i>m</i> -Xileno	4,2	Estándar de dilución alta
<i>o</i> -Xileno	5,9	Estándar bajo

FUENTE: Autora

4.6.3. Límites del método extracción y análisis. Se evaluaron los límites de cuantificación y detección teniendo en cuenta la relación señal a ruido y el porcentaje de error de los resultados; sin embargo al incluir el método de extracción los límites cambian en un factor de 0,5, ya que se toma un volumen de 100 mL de muestra y se obtienen 50 mL. En la Tabla 33 se presentan los límites relativos que son los expresados de acuerdo a la determinación del método y los límites absolutos que son los expresados teniendo en cuenta el método de extracción.

Tabla 33. Límites relativos y absolutos del método

Compuesto	Límite de detección relativo	Límite de detección absoluto	Límite de cuantificación relativo	Límite de cuantificación absoluto
Benceno, Tolueno, Etilbenceno, <i>p</i> -Xileno, <i>m</i> -Xileno, <i>o</i> -Xileno. (BTEX)	0,020 mg/L	0,010 mg/L	0,050 mg/L	0,025 mg/L

FUENTE: Autora

4.6.4. Incertidumbre del método extracción y análisis. El cálculo de la incertidumbre se realizó de acuerdo con la metodología establecida por la GUM (*Guide to the Expression of Uncertainty in Measurement*)⁵² y la guía EURACHEM/CITAC *Guide*

Quantifying Uncertainty in analytical Measurement;⁵³ se realizaron cuatro pasos:

Paso 1. Determinar las posibles fuentes de incertidumbre

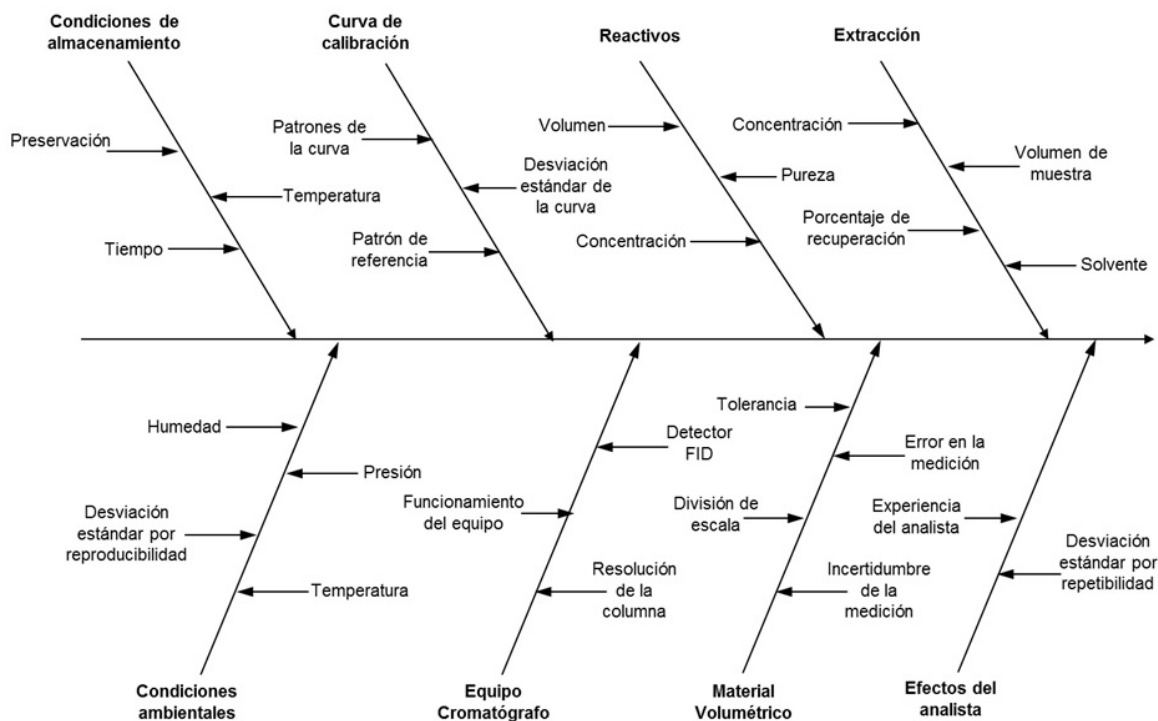
Paso 2. Convertir los componentes en incertidumbre estándar

Paso 3. Determinar la incertidumbre combinada

Paso 4. Determinar la incertidumbre expandida

Paso 1. Determinar las posibles fuentes de incertidumbre: Se identificaron las posibles fuentes de incertidumbre por medio del diagrama de causa-efecto o diagrama de “Ishikawa” en la Figura 10 se presentan las fuentes de incertidumbre para la determinación de BTEX empleando extracción líquido-líquido y determinación por cromatografía de gases con detector FID. La incertidumbre es afectada por errores sistemáticos y errores aleatorios, los errores sistemáticos son evaluados por la recuperación y los errores aleatorios son los que no podemos controlar como lo son las condiciones ambientales, estos son calculados por medio de la repetibilidad y reproducibilidad.

Figura 10. Fuentes de incertidumbre



FUENTE: Autora

Paso 2. Convertir las componentes de las fuentes en incertidumbre estándar:

Para calcular la incertidumbre estándar relativa se aplicó la ecuación 2:

$$u_{i(x)} = \frac{s}{\sqrt{n}} \quad (2)$$

Donde:

$u_{i(x)}$ = incertidumbre estándar relativa

s = desviación estándar

n = número de datos o replicas

A continuación se presenta la descripción de las fuentes de incertidumbre.

Condiciones de almacenamiento: Son una fuente de incertidumbre que se cualifica y se controla cuando se reciben las muestras, se debe verificar el pH, temperatura y tiempo transcurrido desde la toma de muestra.

Condiciones ambientales: Es una fuente aleatoria, puede ser influenciada por la humedad, presión y temperatura ambiental, durante el proceso de estandarización se realizó la lectura de cuatro lotes en días diferentes manteniendo todas las demás variables constantes; mediante la desviación estándar por reproducibilidad podemos estimar la contribución de estas fuentes a la incertidumbre.

Curva de calibración: Es una fuente sistemática, se determina la contribución de la curva de calibración con los datos de los patrones de la curva y sus áreas.

Contribución del equipo (cromatógrafo de gases): El funcionamiento adecuado del cromatógrafo de gases, el detector FID y la capacidad de resolución de la columna son una fuente de incertidumbre, esta se controla con el acondicionamiento del equipo y columna antes de realizar el análisis, realizar limpieza del equipo y lectura del blanco antes de iniciar el análisis; de esta manera se cualifica esta fuente de incertidumbre.

Reactivos: La contribución de la incertidumbre por el patrón de referencia se calcula teniendo en cuenta la concentración del reactivo, pureza y error presente en el certificado de reactivos.

Material volumétrico: se calcula la incertidumbre teniendo en cuenta los datos establecidos en los certificados del material volumétrico empleado, las variables para estimar la incertidumbre son: la tolerancia, error y la división de escala.

Extracción: Para estimar la incertidumbre en el proceso de extracción se tuvo en cuenta la desviación estándar de los resultados obtenidos de la extracción muestra

de agua de pozo de formación y la contribución del volumen en el tratamiento de la muestra.

Efectos del analista: La experiencia del analista contribuye en la incertidumbre del resultado, se estimó la incertidumbre por medio de la desviación estándar por repetibilidad, obtenida de la lectura de ocho replicas de un patrón realizadas bajo las mismas condiciones.

Paso 3. Determinar la incertidumbre combinada: Se realizó la determinación de la incertidumbre combinada aplicando la ecuación 3, los valores de la incertidumbre combinada de los BTEX por fuente se presentan en la Tabla 34.

$$u_{c(y)} = \sqrt{\sum_{i=1}^N [u_{i(x)}]^2} \quad (3)$$

Donde:

$u_{c(y)}$ = incertidumbre combinada

$u_{i(x)}$ = incertidumbre estándar relativa

N = número de datos

Tabla 34. Incertidumbre combinada de los BTEX

Fuente de incertidumbre	Incertidumbre combinada del compuesto					
	Benceno	Tolueno	Etilbenceno	<i>p</i> -Xileno	<i>m</i> -Xileno	<i>o</i> -Xileno
Condiciones ambientales	$2,5 \times 10^{-4}$	$2,5 \times 10^{-4}$	$3,6 \times 10^{-4}$	$5,3 \times 10^{-4}$	$2,7 \times 10^{-4}$	$3,5 \times 10^{-4}$
Curva de calibración	$3,1 \times 10^{-3}$	$3,6 \times 10^{-3}$	$1,7 \times 10^{-3}$	$3,3 \times 10^{-3}$	$1,9 \times 10^{-3}$	$6,2 \times 10^{-4}$
Solución patrón BTEX	$1,1 \times 10^{-5}$	$1,1 \times 10^{-5}$	$1,1 \times 10^{-5}$	$1,1 \times 10^{-5}$	$1,1 \times 10^{-5}$	$1,1 \times 10^{-5}$
Medidas volumétricas	$1,9 \times 10^{-4}$	$1,9 \times 10^{-4}$	$1,9 \times 10^{-4}$	$1,9 \times 10^{-4}$	$1,9 \times 10^{-4}$	$1,9 \times 10^{-4}$
Extracción	$2,8 \times 10^{-4}$	$7,3 \times 10^{-5}$	$9,2 \times 10^{-5}$	$1,3 \times 10^{-4}$	$1,7 \times 10^{-4}$	$4,9 \times 10^{-5}$
Efectos del analista	$1,7 \times 10^{-4}$	$1,5 \times 10^{-4}$	$2,6 \times 10^{-4}$	$2,8 \times 10^{-4}$	$1,9 \times 10^{-4}$	$1,7 \times 10^{-4}$
Incertidumbre combinada (Uc)	0,064	0,065	0,051	0,067	0,053	0,037

FUENTE: Autora

Paso 4. Determinar la incertidumbre expandida: La incertidumbre expandida corresponde al valor de la incertidumbre combinada multiplicada por el factor de cobertura $K=2$ que equivale a un 95 % de confianza, en la Tabla 35 se presenta los valores de la incertidumbre expandida; el resultado en términos de incertidumbre se expresa de la siguiente manera:

1. Se calcula la incertidumbre en la medición

$$U_{medición} = \pm C * U_{ex} \quad (4)$$

Donde:

$U_{medición}$ = incertidumbre de la medición

C = resultado obtenido de la muestra en mg/L

U_{ex} = incertidumbre expandida

2. Se expresa el resultado final

$$R = C \pm U_{medición} \quad (5)$$

Donde:

R = resultado final

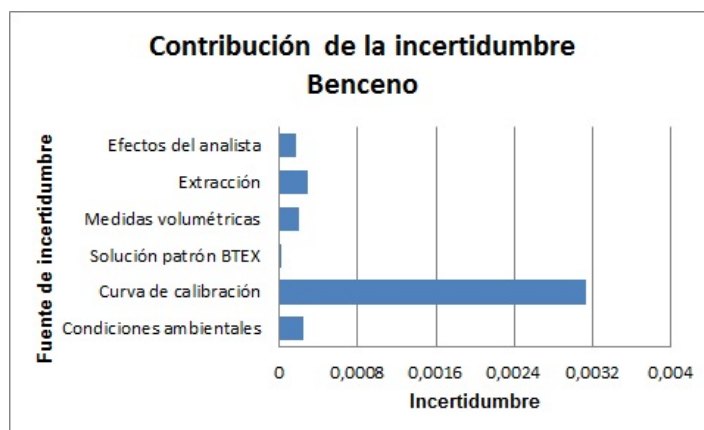
Tabla 35. Incertidumbre expandida de los BTEX

Variable	Incertidumbre del compuesto					
	Benceno	Tolueno	Etilbenceno	<i>p</i> -Xileno	<i>m</i> -Xileno	<i>o</i> -Xileno
Incertidumbre combinada total (U_c)	0,064	0,065	0,051	0,067	0,053	0,037
Factor de cobertura (k)	2	2	2	2	2	2
Incertidumbre expandida (U_{ex})	0,127	0,131	0,103	0,133	0,105	0,075

FUENTE: Autora

En la Figura 11 se presenta el gráfico de la contribución de las fuentes de incertidumbre para el benceno y en los anexos 12 a 16 se presentan los gráficos para los demás compuestos.

Figura 11. Contribución de la incertidumbre



FUENTE: Autora

5. CONCLUSIONES

- ✓ Se estandarizó el método para la determinación de los compuestos benceno, tolueno, etilbenceno y *o*-, *m*-, *p*- xilenos (BTEX) en muestras de aguas acuosas por medio de la extracción líquido-líquido y determinación mediante GC-FID empleando un corto tiempo para el análisis y adecuados límites de cuantificación.
- ✓ Se logró separar los isómeros *p*-xileno y *m*-xileno con una resolución de 4,3 y se optimizó el método para un tiempo de corrida de 12,63 min.
- ✓ Se verificó el alcance del método por medio del análisis estadístico a los resultados obtenidos durante el proceso de estandarización permitiendo definir la precisión, exactitud e incertidumbre del método.
- ✓ Se logró acondicionar los flujos, la rampa de calentamiento y la metodología de extracción, de manera que el límite de cuantificación absoluto es de 0,025 mg/L y el límite de detección en 0,010 mg/L.
- ✓ Se implementó el método de extracción líquido-líquido empleando un volumen bajo de diclorometano como solvente, el método ofrece un bajo costo para la realización del análisis en comparación con otros métodos de extracción como: P&T, HF-LPME y HS-SPME.
- ✓ Se elaboró un protocolo o procedimiento técnico de ensayo para la extracción y análisis de BTEX en muestras acuosas empleando la extracción líquido-líquido y determinación mediante cromatografía de gases con detector FID y se definieron las condiciones del ensayo.
- ✓ La curva de calibración es la fuente de mayor aporte a la incertidumbre analítica del método.

6. DIVULGACIÓN DE RESULTADOS

Los resultados obtenidos se documentarán para la universidad en el documento final o proyecto de grado. Por otra parte, se realizó un procedimiento técnico de ensayo para el laboratorio PSL PROANALISIS LTDA y divulgación en la empresa.

Se está elaborando un artículo para publicar los resultados obtenidos en la revista *Journal of Chromatography A*.

Se pretende divulgar los resultados en la conferencia de *American Chemical Society*, que se realizará en San Diego, California en Marzo del 2016.

BIBLIOGRAFÍA

1. UNIVERSAL, E. Cardique abre proceso sancionatorio contra empresa Carman International., Cartagena de Indias, sep. de 2013.
2. TIEMPO, E. Un tractocamión con 200 galones de crudo se volcó en la vía que une a ese balneario con Bogotá., Bogotá, 2012.
3. Ministerio de Ambiente y desarrollo sostenible No se ha determinado el tiempo que puede durar la recolección del crudo., 2015.
4. UNIVERSAL, E. Nuevo atentado contra el oleoducto Caño Limón-Coveñas., Bogotá D.C., jul. de 2015.
5. U.S. Public Health Service, U. D. o. H. y Human Services Atlanta, G. INTERACTION PROFILE FOR : Benzene , Toluene , Ethylbenzene , and Xylenes (BTEX), 2004.
6. Uribe Botero, B. Decreto 3930 de 2010., Bogotá D.C., 2010.
7. Vallejo López, G. Resolución 0631 de 2015., Bogotá D.C., 2015.
8. Occupational Safety & Health Administration. Toxic and Hazardous Substances., 2012.
9. National primary drinking water regulations., 2009.
10. U.S. Public Health Service, U. D. o. H. y Human Services Atlanta, G. TOXICOLOGICAL PROFILE FOR BENZENE., 2007.
11. Amor Cambon, J. M. Eliminación biológica de compuestos monoaromáticos en presencia de metales pesados., Tesis doct., Universidade da Coruña, 2007, pág. 194.
12. Su, F.-C.; Mukherjee, B. y Batterman, S. *Environ Int* **2014**, 63, 236-245.
13. Greenpeace denuncia a la empresa Brenntag responsable del vertido tóxico en el río Umia (Pontevedra)., 2006.
14. Campos, P. Un vertido "muy tóxico." avanza por el río Umia camino del mar en Galicia., 2006.
15. Ministerio de Ambiente y desarrollo sostenible Minambiente interviene en emergencia por derrame de hidrocarburo producido en la Bahía de Cartagena., 2013.
16. CORPONOR El río Pamplonita nuevamente fue víctima de la mancha negra., 2011.
17. CORPONOR El río Pamplonita está de luto., 2011.
18. Agency, U. S. E. P. Clean Water Act., 2011.
19. HRSD INDUSTRIAL WASTEWATER DISCHARGE REGULATIONS., 2010.

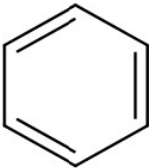
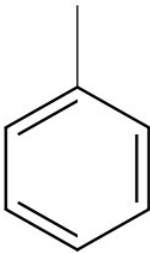
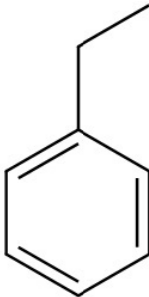
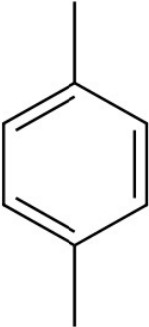
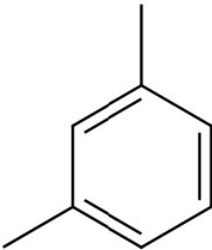
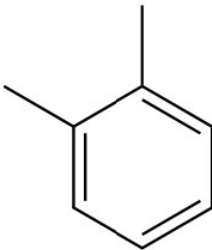
20. Quality, A. D. o. E. STORMWATER GENERAL PERMITS Water Division - Permits Branch., 2013.
21. Jin, H. M.; Choi, E. J. y Jeon, C. O. *Bioresour. Technol.* **2013**, *145*, 57-64.
22. Sei, a y Fathepure, B. Z. *J. Appl. Microbiol.* **2009**, *107*, 2001-8.
23. J. P. Ray, F. R. E., *Produced Water: technological, environmental issues and solutions*, Ilustrada; Ray, J. P. y Engelhardt, F. R., eds.; Springer: California (Estados Unidos), 1992, pág. 616.
24. Strini, a.; Cassese, S. y Schiavi, L. *Appl. Catal., B: Environmental* **2005**, *61*, 90-97.
25. Weishaar, J. a.; Tsao, D. y Burken, J. G. *Int. J. Phytorem.* **2009**, *11*, 509-23.
26. Milligan, M. Bubblin Crude at Rozel Point, Box Elder County, Utah., 2005.
27. Rosas Molina, A. El análisis de toxicidad BTEX en agua, un elemento a considerar en la normatividad de suelos contaminados por hidrocarburos y en los criterios ambientales para aguas subterráneas en México., Tesis doct., Instituto politécnico nacional, 2004, pág. 141.
28. Harris, D. C., *Análisis químico cuantitativo*, Sexta; Reverte, ed.; W.H. FREEMAN, COMPANY, New York y Basingstoke: Barcelona (España), 2006, pág. 924.
29. EPA Method 5035 - Closed-system purge and trap and extraction for volatile organic in soil and waste samples., 1996.
30. EPA Method 5030C - Purge and trap for aqueous samples., 2003.
31. Arroyave García, J. E. y Villa Flórez, L. M. Estandarización de la técnica de cromatografía de gases con detector de ionización por llama para la determinación de BTEX en matrices acuosas., Tesis doct., Universidad tecnológica de pereira, 2011, pág. 125.
32. EPA Method 3535A - Solid-phase extraction (SPE)., 2007.
33. Sarafray-Yazdi, a; Amiri, a. H. y Eshaghi, Z *Chemosphere* **2008**, *71*, 671-676.
34. Ma, X.; Huang, M.; Li, Z. y Wu, J. *J. Hazard. Mater.* **2011**, *194*, 24-9.
35. Antonio Moreda-Piñeiro Jorge Moreda-Piñeiro, P. B.-B., *Speciation Studies in Soil, Sediment and Environmental Samples*, Ilustrada; Bakirdere, S., ed., Chapter 2. Sample Pre-treatment Methods for Organometallic Species Determination; CRC Press: Estambul, Turquía, 2013, pág. 612.
36. Cavalcante, R. M.; de Andrade, M. V.; Marins, R. V. y Oliveira, L. D. *Microchem. J* **2010**, *96*, 337-343.
37. Serrano, A y Gallego, M *J. Chromatogr. A* **2004**, *1045*, 181-188.
38. Moliner-Martínez, Y; Herraes-Hernandez, R; Verdú-Andres, J; Campíns-Falcó, P; Garrido-Palanca, C; Molins-Lagua, C y Seco, A *J. Hazard. Mater.* **2013**, *263 Pt 1*, 131-8.

39. Kolb, B. y Ettre, L. S., *Static Headspace-Gas Chromatography: Theory and Practice*, 2.^a ed.; Sons, J. W. ., ed.; John Wiley & Sons: Hoboken (Estados Unidos), 2006, pág. 376.
40. Arambarri, I.; Lasa, M.; Garcia, R. y Millán, E. *J. Chromatogr. A* **2004**, *1033*, 193-203.
41. Kubinec, R.; Adamuscin, J.; Jurdakova, H.; Foltin, M.; Ostrovsky, I.; Kraus, A. y Sojak, L. *J. Chromatogr. A* **2005**, *1084*, 12th International Symposium on Advances and Applications of Chromatography in Industry 12th International Symposium on Advances and Applications of Chromatography in Industry, 90-94.
42. EPA Method 3510C - Separatory funnel liquid-liquid extraction., 1996.
43. EPA Method 3520C - Continuous liquid-liquid extraction., 1996.
44. Barquero Quirós, M., *Principios y Aplicaciones de la Cromatografía de Gases. Volumen 10 de serie química*; de Costa Rica, E. U., ed.; Editorial Universidad de Costa Rica: Costa Rica, 2006, pág. 56.
45. EPA Method 8015D - Nonhalogenated organics using GC/FID., 2003.
46. EPA Method 8020A - Aromatic volatile organics by gas chromatography., 1994.
47. EPA Method 8260B - Volatile organic compounds by gas chromatography / mass spectrometry (GC/MS)., 1996.
48. EPA Method 8000C - determinative chromatographic separations., 2003.
49. Bliesner, D. M., *Validating Chromatographic Methods: A Practical Guide*, ilustrada; Bliesner, D. M., ed.; A JOHN WILEY & SONS, INC: Hoboken (Estados Unidos), 2006, pág. 354.
50. Miller, J. N. y Miller, J. C., *Estadística y quimiometría para química analítica*, Ilustrada; Educación, P., ed.; Educación, Pearson: Madrid (España), 2002, pág. 278.
51. Gómez Ruiz, S.; Sierra Alonso, M. I. y Pérez Quintanilla, D., *Análisis Instrumental, Volumen 1*; Netbiblo, ed.; Netbiblo: Coruña (España), 2009, pág. 256.
52. BIPM; IEC; IFCC; ILAC; ISO; IUPAC; IUPAP y OIML *JCGM 100:2008 Evaluation of Measurement Data - Guide to the Expression of Uncertainty in Measurement*; inf. téc. September; Working group 1 of the joint committee for guides in metrology, 2008, pág. 134.
53. Citac y Eurachem *Citac and Eurachem* **2000**, *2nd*, 126.
54. Rice, E. W. A. C.; Baird, R. B. W.; Eaton, A. D. A. y Clesceri, L. S. W., *Standard Methods for the Examination of Water & Wastewater 22nd edition*; Rice, E. W. A. C., Baird, R. B. W., Eaton, A. D. A. y Clesceri, L. S. W., eds.; American Public Health Association: 800 I Street, NW Washington, 2012, pág. 1469.

55. Mongay Fernández, C., *Quimiometría*; de Valencia, U., ed.; Juli Capilla: Valencia (España), 2011, pág. 424.
56. Chromatography, L. E685-93 Standard Practice for Testing Fixed-Wavelength Photometric Detectors Used in Liquid Chromatography., Estados Unidos, 2005.
57. Chromatography, L. E840-95 Standard Practice for Testing Fixed-Wavelength Photometric Detectors Used in Gas Chromatography., 2005.

ANEXOS

Anexo 1. Estructura química de los BTEX

Benceno	Tolueno	Etilbenceno
		
<i>p</i> -xileno	<i>m</i> -xileno	<i>o</i> -xileno
		

Anexo 2. Identificación y propiedades fisicoquímicas de los compuestos BTEX

Compuesto	Característica	Información
BENCENO	Formula química Número de registro CAS Masa molecular Punto de fusión Punto de ebullición Densidad a 15 °C Solubilidad en agua a 25 °C Presión de vapor a 20 °C	C ₆ H ₆ 71-43-2 78,11 g/mol 5,5 °C 80,1 °C 0,8787 g/cm ³ w/w: 0,188 % 75 mmHg
TOLUENO	Formula química Número de registro CAS Masa molecular Punto de fusión Punto de ebullición Densidad a 20 °C Solubilidad en agua a 25 °C Presión de vapor a 25 °C	C ₆ H ₅ CH ₃ 108-88-3 92,14 g/mol -95 °C 110,6 °C 0,8669 g/cm ³ 534,8 mg/L 28,4 mmHg
ETILBENCENO	Formula química Número de registro CAS Masa molecular Punto de fusión Punto de ebullición Densidad a 20 °C Solubilidad en agua a 25 °C Presión de vapor a 20 °C	C ₈ H ₁₀ 100-41-4 106,17 g/mol -94,975 °C 136,19 °C 0,8670 g/cm ³ 160 mg/L 7 mmHg
XILENOS	Formula química Número de registro CAS Masa molecular Punto de fusión Punto de ebullición Densidad a 20 °C Solubilidad en agua a 25 °C Presión de vapor a 21 °C	C ₈ H ₁₀ 1330-20-7 106,16 g/mol <i>m</i> -xileno: - 47,8 °C <i>o</i> -Xileno: - 25,2 °C <i>p</i> -Xileno: 13,2 °C <i>m</i> -xileno: 139,1 °C <i>o</i> -Xileno: 144,5 °C <i>p</i> -Xileno: 138,4 °C 0,864 g/cm ³ 106 mg/L 6,72 mmHg

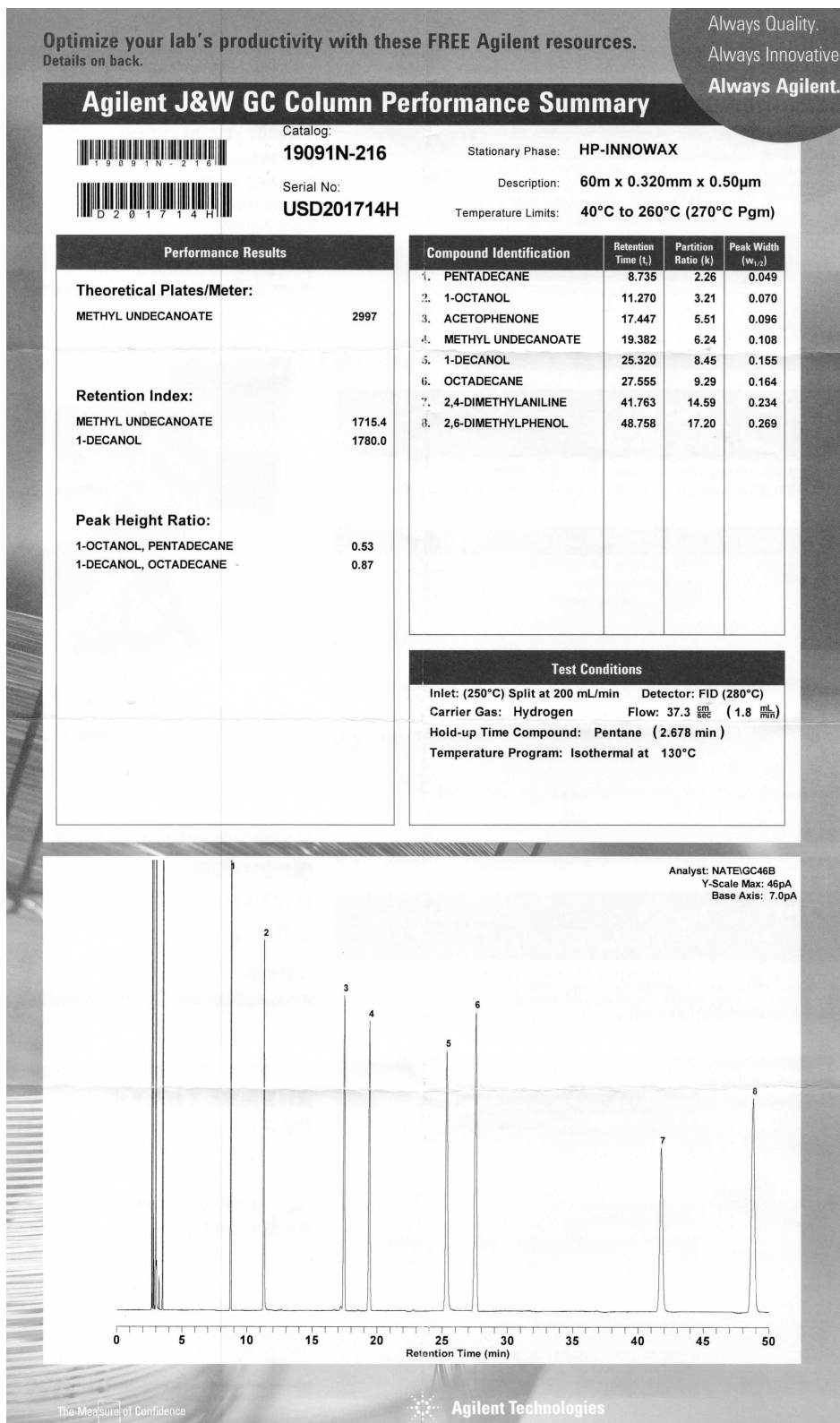
Anexo 3. Resolución 0631 MINAMBIENTE. Valores límites máximos permisibles para BTEX en cuerpos de aguas.

Resolución N° 0631 del 17 de marzo del 2015	Límite máximo permisible
Capítulo V. Artículo 8. Parámetros fisicoquímicos y sus valores límites máximos permisibles en los vertimientos puntuales de ARD y ARnD de los prestadores del servicio público de alcantarillado a cuerpos de aguas superficiales.	Análisis y reporte
Capítulo VI. Sector: Actividades de minería Artículo 10. Parámetros fisicoquímicos a monitorear y sus valores límites máximos permisibles en los vertimientos puntuales de ARnD a cuerpos de aguas superficiales de actividades de minería.	Análisis y reporte
Sector: Actividades de hidrocarburos Artículo 11. Parámetros fisicoquímicos a monitorear y sus valores límites máximos permisibles en los vertimientos puntuales de ARnD a cuerpos de aguas superficiales de actividades asociadas con hidrocarburos (Petróleo crudo, gas natural y derivados).	Análisis y reporte
Sector: Actividades de fabricación y manufactura de bienes Artículo 13. Parámetros fisicoquímicos a monitorear y sus valores límites máximos permisibles en los vertimientos puntuales de ARnD a cuerpos de aguas superficiales de actividades asociadas con fabricación y manufactura de bienes.	Análisis y reporte
Sector: Actividades asociadas con servicios y otras actividades Artículo 14. Parámetros fisicoquímicos a monitorear y sus valores límites máximos permisibles en los vertimientos puntuales de ARnD de actividades asociadas con servicios u otras actividades	Análisis y reporte
Capítulo VII Artículo 15. Parámetros fisicoquímicos y sus valores límites máximos permisibles en los vertimientos puntuales de ARnD para las actividades industriales, comerciales o de servicios diferentes a las contempladas en los capítulos V y VI con vertimientos puntuales a cuerpos de aguas superficiales.	Análisis y reporte
Capítulo VIII Artículo 16. Vertimientos puntuales de ARnD al alcantarillado público	Se aplican los mismos valores límites permisibles que los establecidos para la actividad específica para los vertimientos puntuales a cuerpos de aguas superficiales (Análisis y reporte)

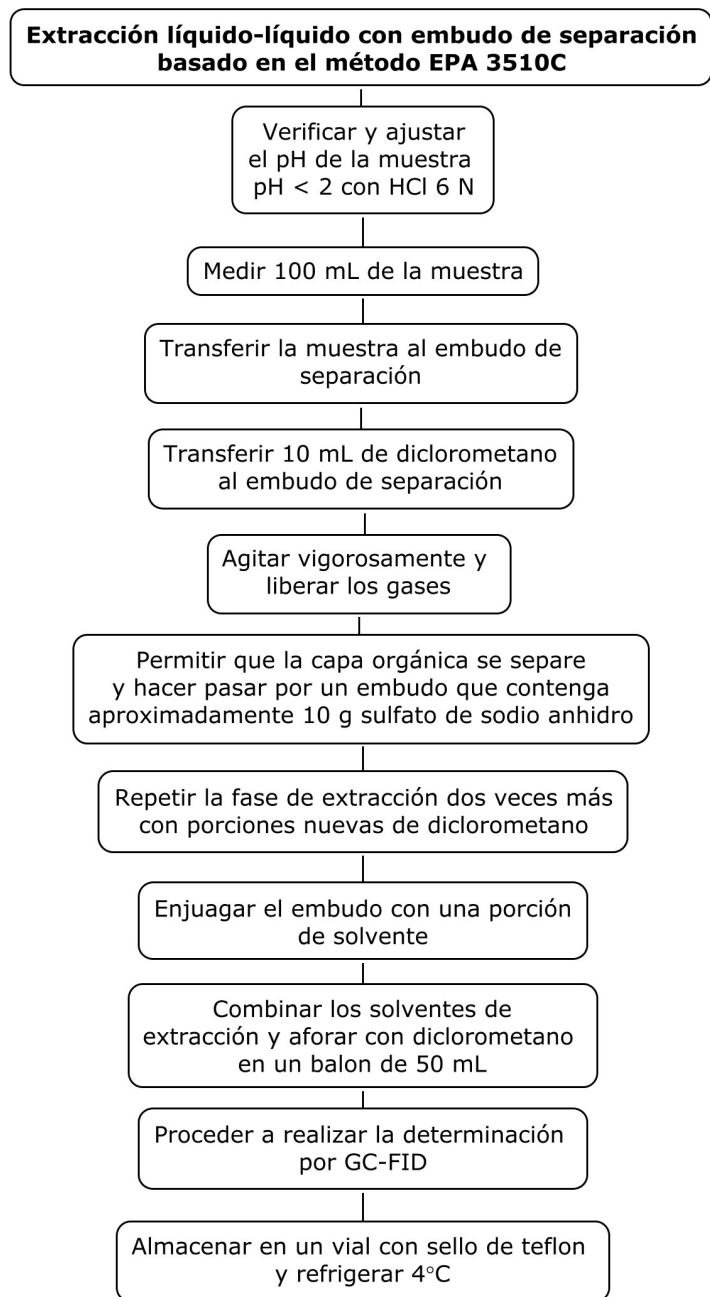
Anexo 4. Fórmulas para calcular los atributos

Factor de capacidad (k')	Resolución (R)	Factor de selectividad (α)
$k' = \frac{t_S}{t_M}$ $t_R = t_M + t_S$ t_S = diferencias en las interacciones de las sustancias con la fase estacionaria para diferentes tiempos de retención o tiempo de retención corregido t_M = tiempo requerido por un eluyente para recorrer la columna, corresponde al tiempo en aparecer el primer pico en el cromatograma t_R = tiempo transcurrido desde la inyección del soluto y su salida de la columna	$R = 1.18 * \left(\frac{t_{R2} - t_{R1}}{w_{250\%} + w_{150\%}} \right)$ t_{R2} = tiempo de retención para el segundo analito t_{R1} = tiempo de retención para el primer analito $w_{250\%}$ = ancho de pico dividido en 2 para el segundo analito $w_{150\%}$ = ancho de pico dividido en 2 para el primer analito	$\alpha = \frac{k'_2}{k'_1}$ K'_1 = factor de capacidad del primer analito K'_2 = factor de capacidad del segundo analito
Media o promedio ($\bar{X}$)	Desviación estándar (S)	Coefficiente de variación o % de desviación estándar relativa (%RSD)
$\bar{X} = \frac{\sum x_i}{n}$ $\sum x_i$ = sumatoria del valor de todas las medidas n = número de medidas	$S = \sqrt{\sum_i \frac{(x_i - \bar{x})^2}{(n - 1)}}$ x_i = valor de la medida n = número de medidas $\bar{x}$ = media o promedio	$\%RSD = \frac{S}{\bar{x}} * 100$ S = desviación estándar $\bar{x}$ = media o promedio
Límites de confianza (LC)	% recuperación (%R)	Rango relativo entre duplicados (RRD o RPD)
$LC = \bar{X} \pm \frac{t_{n-1} * S}{\sqrt{n}}$ t_{n-1} = valor estadístico para n-1 grado de libertad con el 95 % de confianza	$\%R = \frac{Cs - Cu}{Cn} * 100$ Cs = Concentración de la alícuota de la muestra adicionada Cu = Concentración de la alícuota de la muestra no enriquecida Cn = Concentración nominal o teórica del incremento de la muestra	$\%RRD = \frac{ C1 - C2 }{\left(\frac{C1 + C2}{2}\right)} * 100$ $C1$ = medida de la concentración de la primera muestra $C2$ = medida de la concentración de la segunda muestra
Pendiente por el método de los mínimos cuadrados (b)	Coefficiente de correlación (r)	Varianza (V)
$b = \frac{\sum_i \{(x_i - \bar{x})(y_i - \bar{y})\}}{\sum_i (x_i - \bar{x})^2}$ b = intercepto $\bar{x}$ = media entre los valores de x $\bar{y}$ = media entre los valores de y	$r = \frac{\sum_i \{(x_i - \bar{x})(y_i - \bar{y})\}}{\{[\sum_i (x_i - \bar{x})^2][\sum_i (y_i - \bar{y})^2]\}^{1/2}}$ $\bar{x}$ = media entre los valores de x $\bar{y}$ = media entre los valores de y	$V = S^2$ S = desviación estándar

Anexo 5. Certificado de calidad de la Columna



Anexo 6. Extracción de las muestras



Anexo 7. Certificado del patrón de referencia CLP-BTEX-10



110 Benner Circle
Bellefonte, PA 16823-8812
Tel: (800)356-1688
Fax: (814)353-1309

www.restek.com

CERTIFIED REFERENCE MATERIAL

Certificate of Analysis



FOR LABORATORY USE ONLY-READ SDS PRIOR TO USE.

This Reference Material is intended for Laboratory Use Only as a standard for the qualitative and/or quantitative determination of the analyte(s) listed.

Catalog No.: 30213 Lot No.: A0102208
Description: BTEX Standard
BTEX Std 2000µg/mL, P&T Methanol, 1mL/ampul
Container Size: 2 mL Pkg Amt: > 1 mL
Expiration Date: April 30, 2021 Storage: 0°C or colder

CERTIFIED VALUES

Elution Order	Compound		Grav. Conc. (weight/volume)	Expanded Uncertainty (95% C.L.; K=2)		
1	Benzene	71-43-2 Purity 99%	2,003.6 µg/mL	+/- 11.6491	µg/mL	Gravimetric
	(Lot SHBD4617V)			+/- 22.5935	µg/mL	Unstressed
				+/- 25.9985	µg/mL	Stressed
2	Toluene	108-88-3 Purity 99%	2,002.6 µg/mL	+/- 11.6433	µg/mL	Gravimetric
	(Lot SHBD2207V)			+/- 22.5822	µg/mL	Unstressed
				+/- 25.9856	µg/mL	Stressed
3	Ethylbenzene	100-41-4 Purity 99%	2,009.4 µg/mL	+/- 11.6828	µg/mL	Gravimetric
	(Lot SHBC9001V)			+/- 22.6589	µg/mL	Unstressed
				+/- 26.0738	µg/mL	Stressed
4	p-Xylene	106-42-3 Purity 99%	2,006.2 µg/mL	+/- 11.6642	µg/mL	Gravimetric
	(Lot SHBC5759V)			+/- 22.6228	µg/mL	Unstressed
				+/- 26.0323	µg/mL	Stressed
5	m-Xylene	108-38-3 Purity 99%	2,003.2 µg/mL	+/- 11.6468	µg/mL	Gravimetric
	(Lot SHBC0701V)			+/- 22.5890	µg/mL	Unstressed
				+/- 25.9934	µg/mL	Stressed
6	o-Xylene	95-47-6 Purity 99%	2,002.4 µg/mL	+/- 11.6421	µg/mL	Gravimetric
	(Lot SHBC4667V)			+/- 22.5799	µg/mL	Unstressed
				+/- 25.9830	µg/mL	Stressed

Anexo 8. Certificado del diclorometano



Certificate of Analysis

1.06054.2500 Dichloromethane for gas chromatography ECD and FID SupraSolv®
Batch I766754

Batch Values		
Purity (GC)	≥ 99.8	%
Identity (IR)	conforms	
Evaporation residue	≤ 5.0	mg/l
Water	≤ 0.01	%
Colour	≤ 10	Hazen
GC/ECD (retention range 1,2,4-tri-chlorobenzene to decachlorobiphenyle, individual signals (lindane standard))	≤ 3	pg/ml
GC/FID (retention range n-undecane to n-tetracontane, individual signals (n-tetradecane standard))	≤ 3	

Suitable for residue analysis.

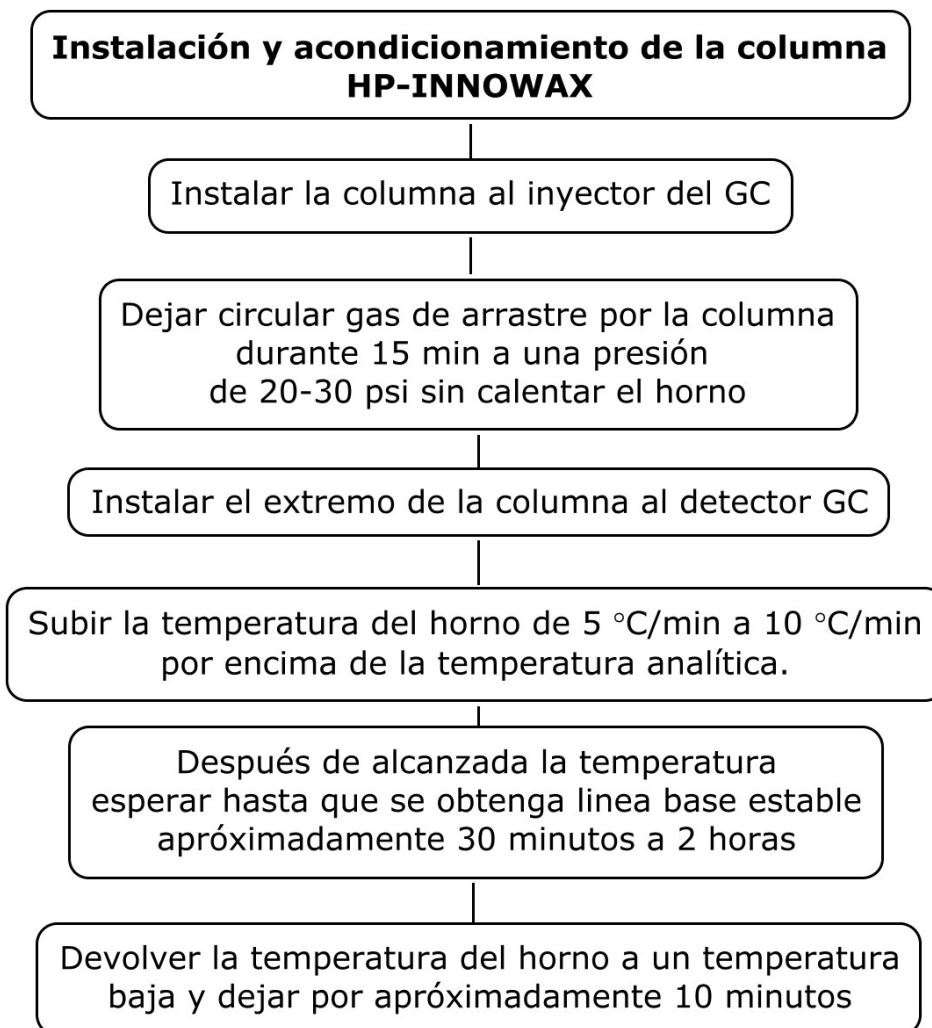
The product is stabilized with 2-Methyl-2-buten.

Date of release (DD.MM.YYYY) 27.01.2015
Minimum shelf life (DD.MM.YYYY) 31.01.2018

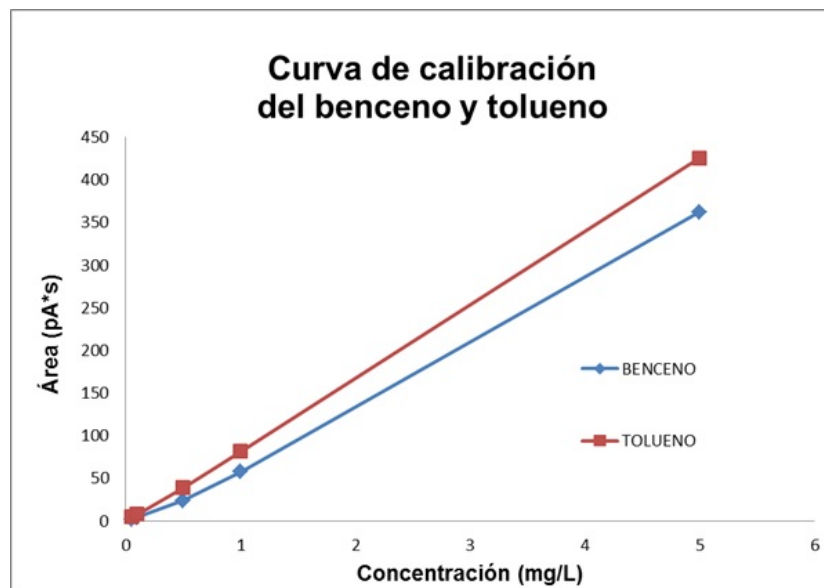
Dr. Michael Savelsberg
Responsible laboratory manager quality control

This document has been produced electronically and is valid without a signature.

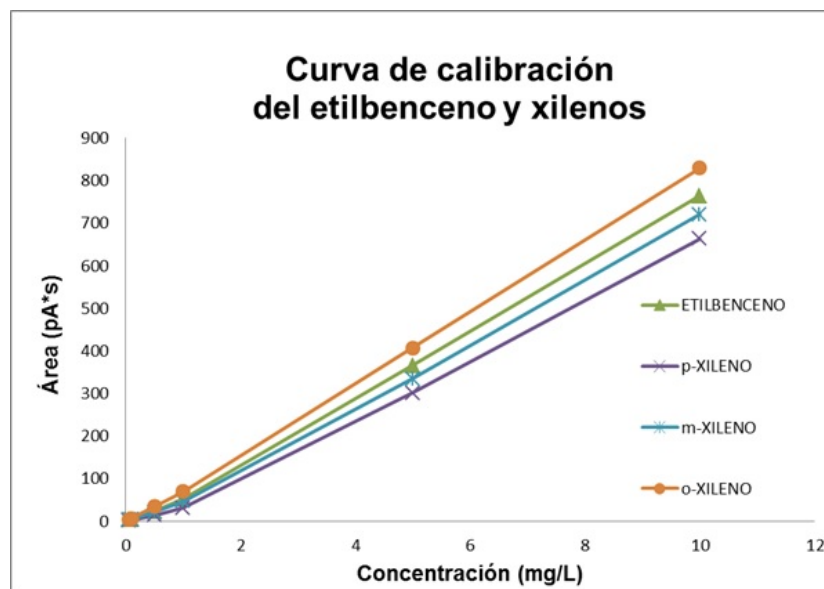
Anexo 9. Instalación y acondicionamiento de la columna HP-INNOWAX



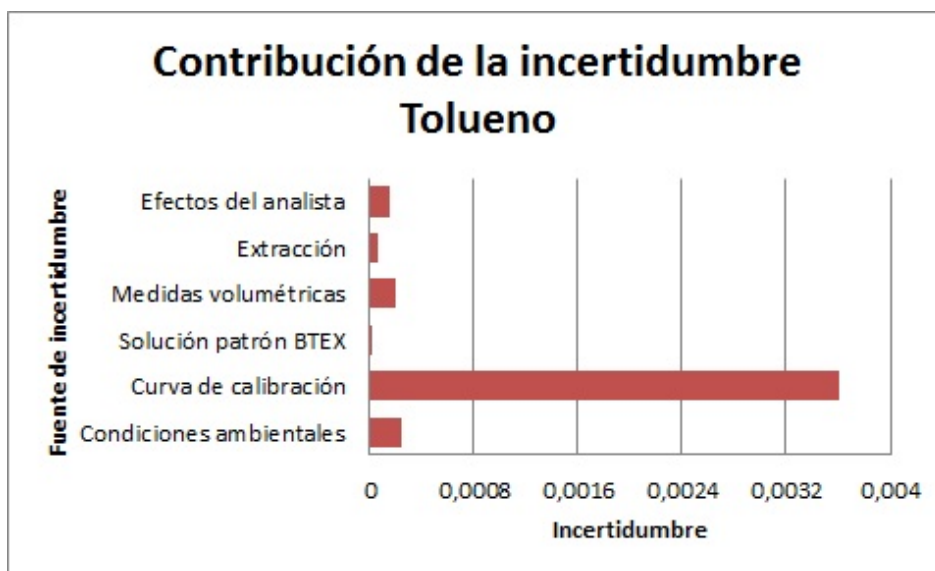
Anexo 10. Curvas de calibración del benceno y tolueno



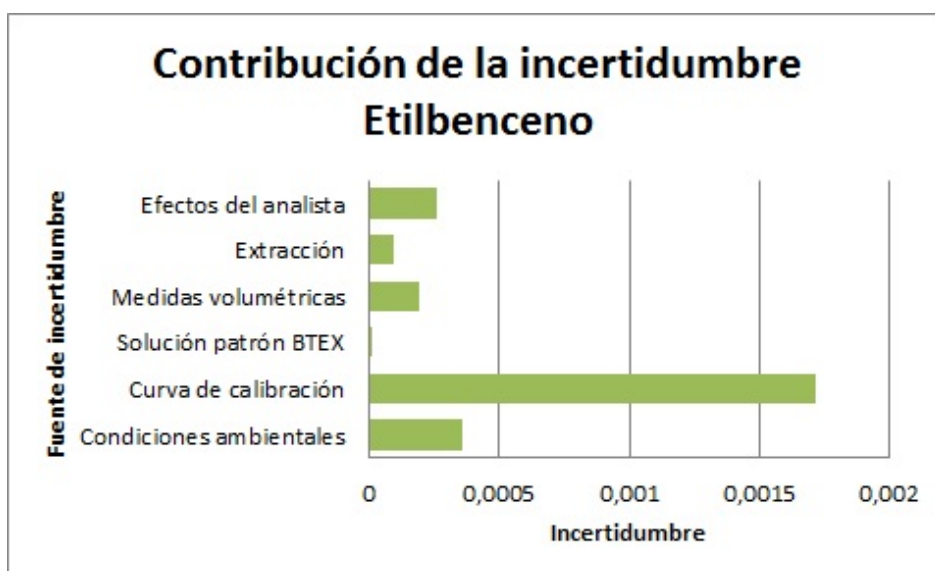
Anexo 11. Curvas de calibración del etilbenceno y xilenos



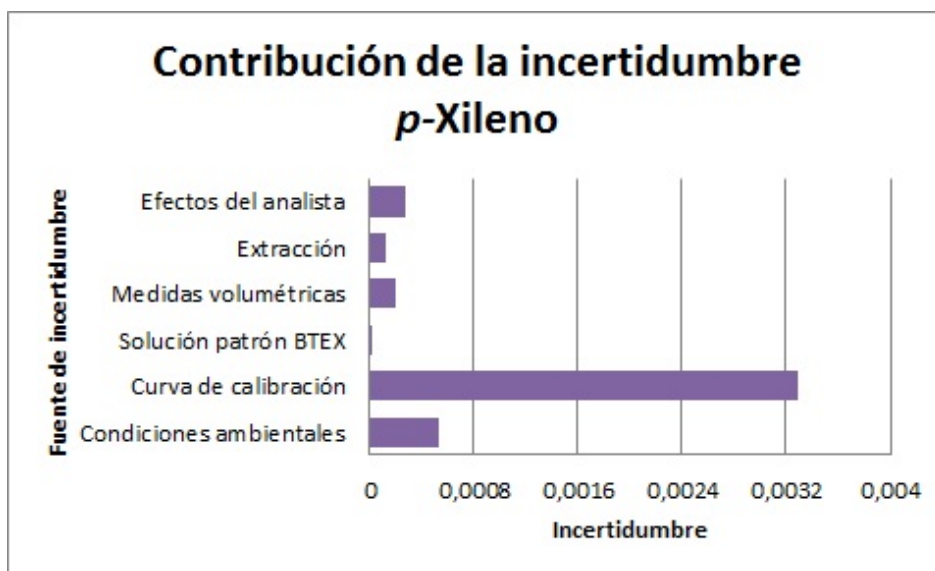
Anexo 12. Contribución de las fuentes en la incertidumbre para el tolueno



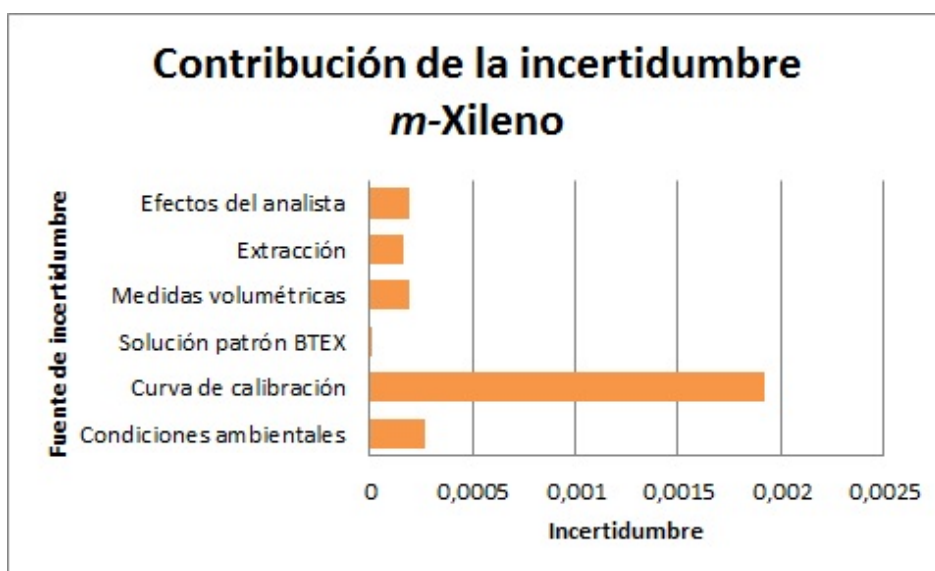
Anexo 13. Contribución de las fuentes en la incertidumbre para el etilbenceno



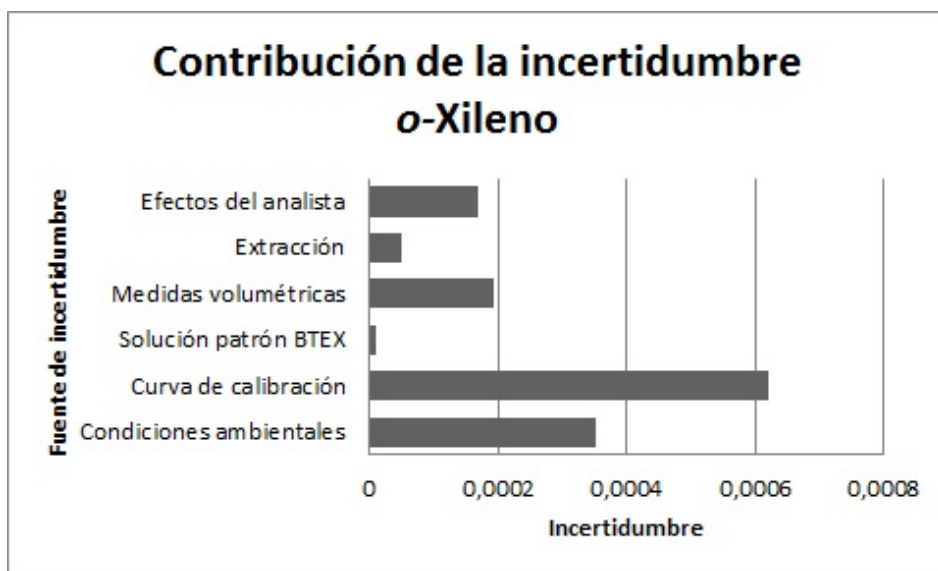
Anexo 14. Contribución de las fuentes en la incertidumbre para el *p*-Xileno



Anexo 15. Contribución de las fuentes en la incertidumbre para el *m*-Xileno



Anexo 16. Contribución de las fuentes en la incertidumbre para el *o*-Xileno



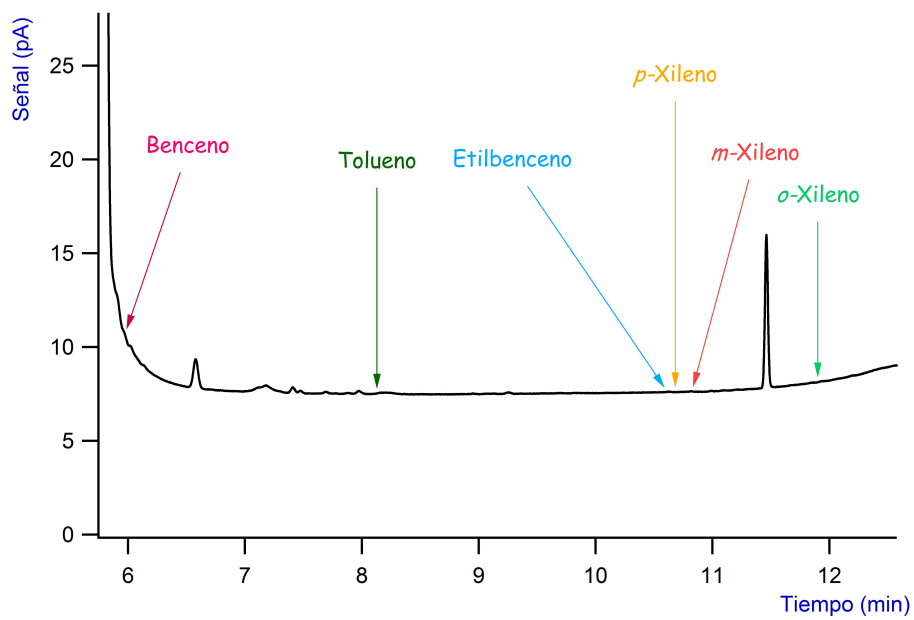
Anexo 17. Registro fotográfico. Curva y extracción



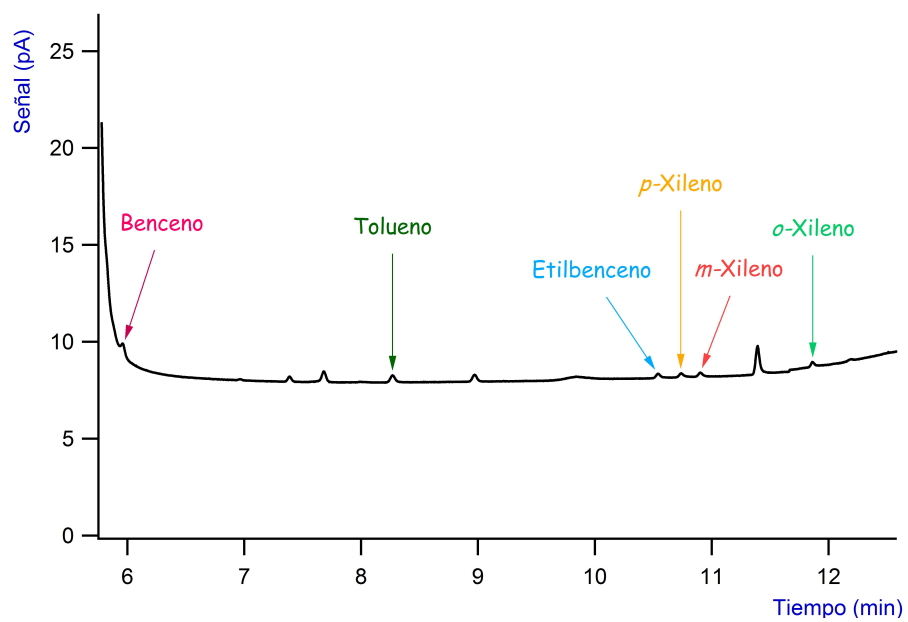
Anexo 18. Registro fotográfico. Patron BTEX y Jeringas



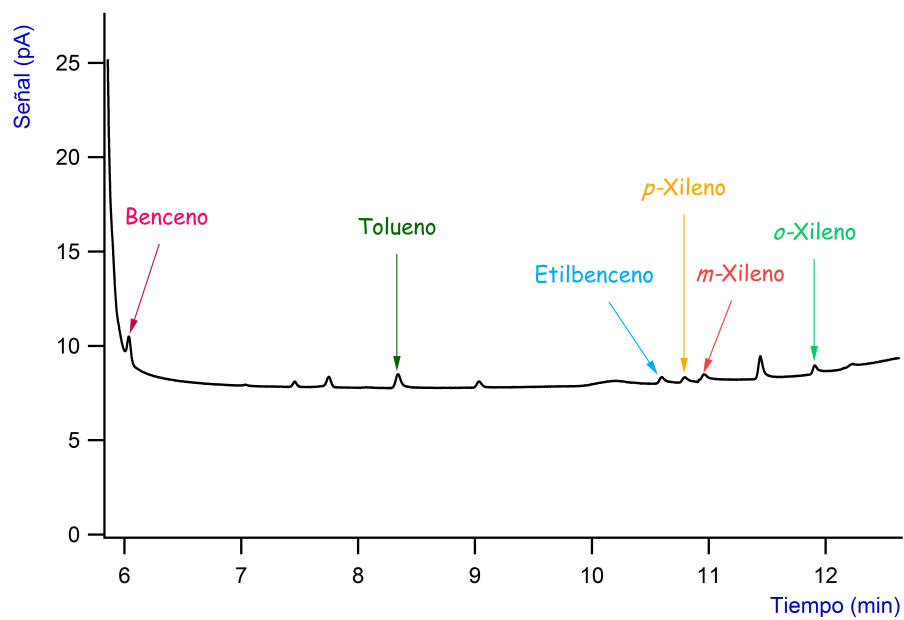
Anexo 19. Cromatograma Blanco



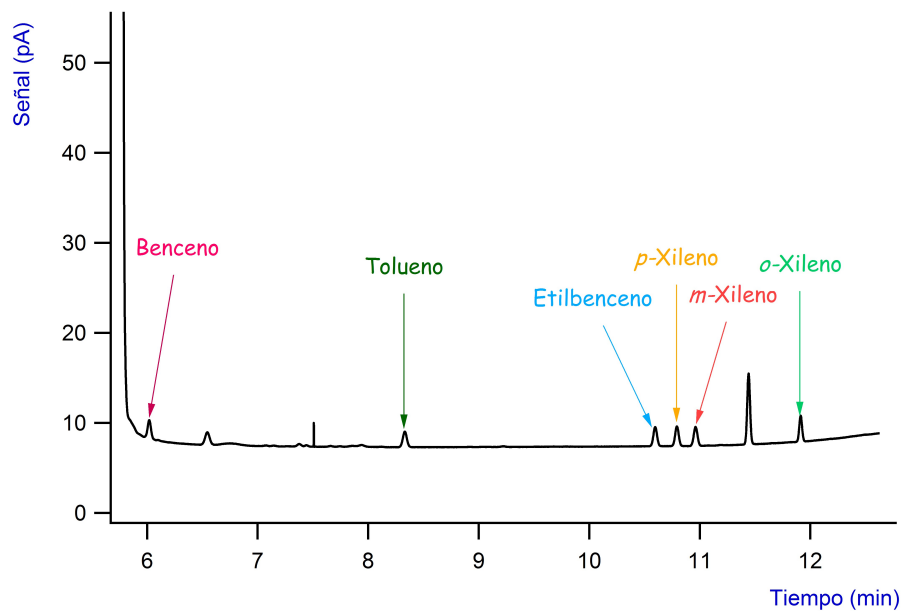
Anexo 20. Cromatograma límite de detección 0,02 ppm



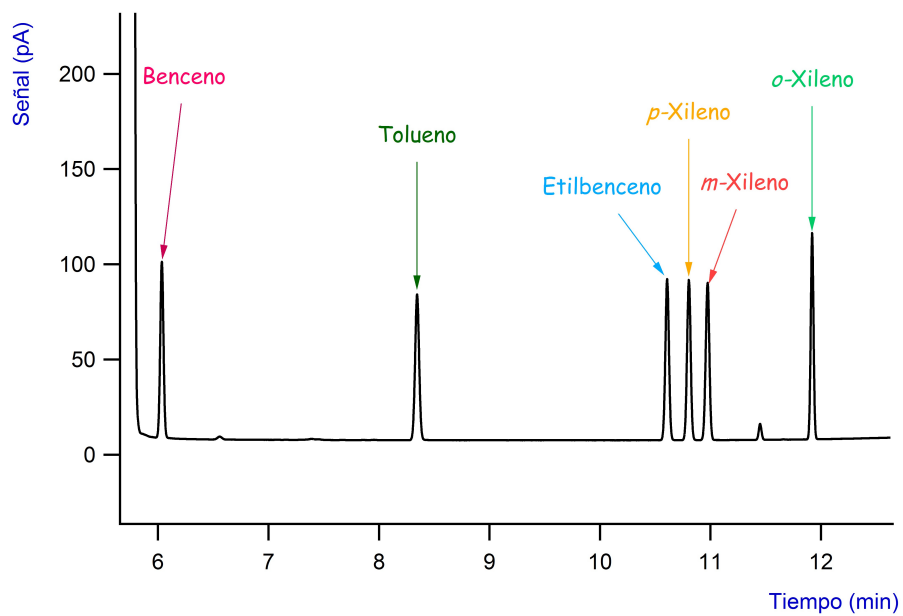
Anexo 21. Cromatograma límite de cuantificación 0,05 ppm



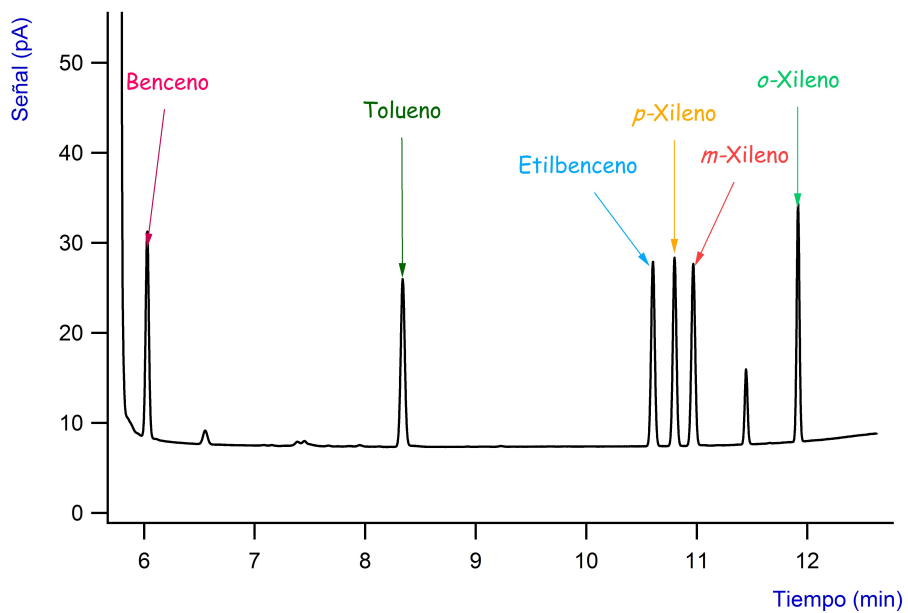
Anexo 22. Cromatograma estándar bajo 0,09 ppm



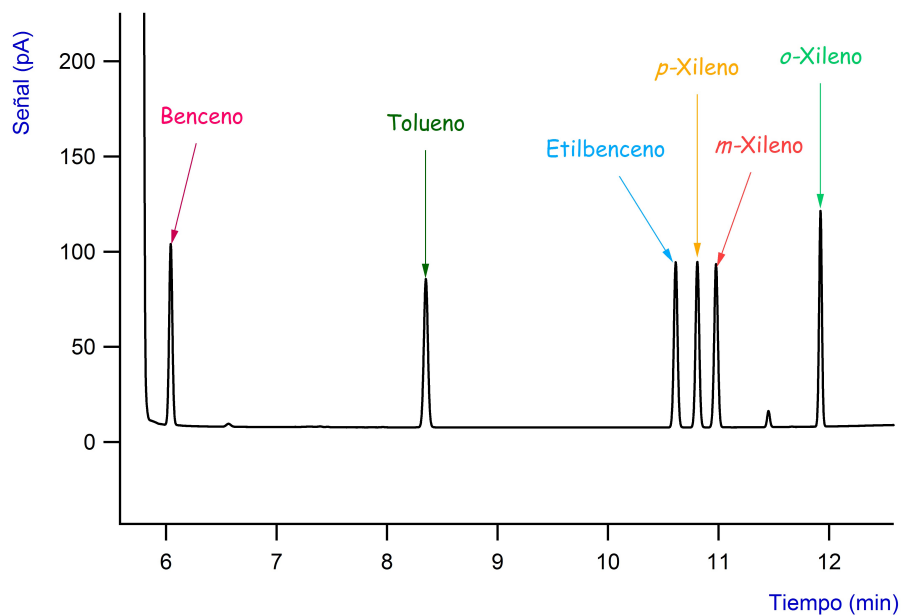
Anexo 23. Cromatograma estándar alto 4,0 ppm



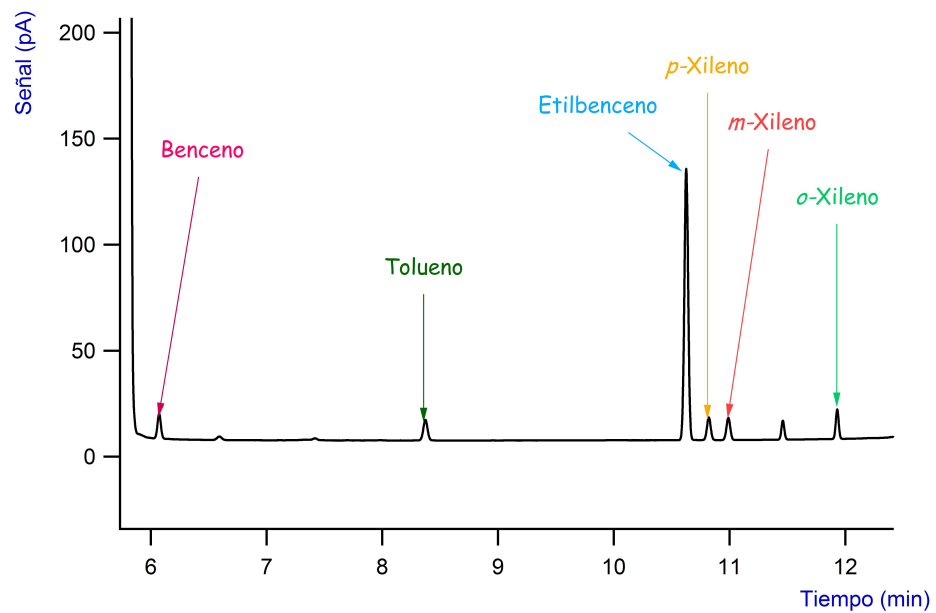
Anexo 24. Cromatograma control medio 1,0 ppm



Anexo 25. Cromatograma estándar máximo 2000 ppm



Anexo 26. Cromatograma muestra de agua de producción



Anexo 27. Cromatograma muestra de agua de producción adicionada

