

**COMPARACIÓN DE LOS PORCENTAJES DE RECUPERACIÓN DE
HIDROCARBUROS POLICICLICOS AROMÁTICOS EN SUELOS
CONTAMINADOS OBTENIDOS MEDIANTE EXTRACCIÓN SOXHLET Y
EXTRACCIÓN ACELERADA CON SOLVENTE**

**Olga Liliana Díaz Fajardo
Qca. UIS**

**UNIVERSIDAD INDUSTRIAL DE SANTANDER
FACULTAD DE CIENCIAS
ESCUELA DE QUÍMICA
ESPECIALIZACIÓN EN QUÍMICA AMBIENTAL
BUCARAMANGA
2010**

**COMPARACIÓN DE LOS PORCENTAJES DE RECUPERACIÓN DE
HIDROCARBUROS POLICICLICOS AROMÁTICOS EN SUELOS
CONTAMINADOS OBTENIDOS MEDIANTE EXTRACCIÓN SOXHLET Y
EXTRACCIÓN ACELERADA CON SOLVENTE**

Olga Liliana Díaz Fajardo

Qca. UIS

**Monografía presentada para optar el título de especialista en química
ambiental**

Directora: Dra. Marianny Yajaira Combariza

**UNIVERSIDAD INDUSTRIAL DE SANTANDER
FACULTAD DE CIENCIAS
ESCUELA DE QUÍMICA
ESPECIALIZACIÓN EN QUÍMICA AMBIENTAL
BUCARAMANGA**

2010

Dedicatoria

A mis padres y hermanos por enseñarme el amor al estudio

Agradecimiento

A la doctora Marianny yajaira, por su guía.

Un agradecimiento especial a mi jefe, Maribel Castañeda, por hacer posible este trabajo, y por su apoyo brindado.

A Dianita por brindarme su amistad, por sus consejos y apoyo.

A mis compañeritos de clase quienes me acompañaron en esta trayectoria de aprendizaje.

A mis compañeros de trabajo que hicieron posible la confección y elaboración de este trabajo

CONTENIDO

	Pág.
INTRODUCCIÓN	15
1. ANTECEDENTES	16
1.1. CLASIFICACIÓN Y ESTRUCTURA DE LOS HIDROCARBUROS AROMÁTICOS POLICÍCLICOS (PAHS).....	16
1.2. LOS PAHS	19
1.3. PROPIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS.	21
1.4. PROCEDENCIA, MODOS DE INTRODUCCIÓN Y DISTRIBUCIÓN EN EL MEDIO AMBIENTE DE LOS PAHs.....	23
1.4.1. Fuentes De Exposición	23
1.4.2. Fuentes naturales	24
1.4.2.1. Los incendios forestales.....	24
1.4.2.2. Erupciones volcánicas	24
1.4.2.3. Fugas naturales de petróleo	24
1.4.3. Origen antropogénicos.....	24
1.4.3.1. Plantas de generación de energía	24
1.4.3.2. Incineradoras de residuos industriales y municipales	25
1.4.3.3. Navegación y vertidos accidentales de petróleo	25
1.4.4. Modos de introducción	25
1.4.5. Distribución en el medio ambiente	25
2. METODOLOGÍA	27
2.1. PARTE EXPERIMENTAL	28

2.1.1. Reactivos Químicos, Patrones Certificados E Instrumentación	28
2.1.1.1. Solventes	28
2.1.2. Patrones Certificados.....	28
2.1.3. Instrumentación	29
2.2. PREPARACIÓN DE LAS SOLUCIONES PATRÓN	31
2.3. TÉCNICAS DE EXTRACCIÓN	31
2.3.1. Extracción Soxhlet	32
2.3.2. Extracción Acelerada con Solvente.....	33
2.4. LIMPIEZA DE LOS EXTRACTOS.....	34
2.5. ANÁLISIS DE LOS EXTRACTOS POR GC-FID.....	34
3. ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS	35
3.1. VALIDACIÓN DE LA TÉCNICA DE EXTRACCIÓN	35
4. CONCLUSIONES	45
BIBLIOGRAFIA.....	47

LISTA DE TABLAS

	Pág.
Tabla 1. Propiedades físico-químicas de algunos hidrocarburos poliaromáticos. .	23
Tabla 2. Solvente empleado en el desarrollo del presente trabajo.	28
Tabla 3. Patrón puro de los 16 compuestos estudiados.	28
Tabla 4. Condiciones de extracción para el Soxhlet, según EPA 3540C	32
Tabla 5. Condiciones de extracción para el ASE, según EPA 3545A	33
Tabla 6. Porcentajes de recuperación y S.D de blancos dopados con PAHs y extraídos por soxhlet y ASE.	35
Tabla 7. Porcentajes de recuperación y S.D de suelos dopados con PAHs y extraídos por Soxhlet y ASE.	37
Tabla 8. Concentración y S.D de una muestra de suelo recolectado en la ATB a (1-2m de profundidad).	39
Tabla 9. Concentración y S.D de una muestra de suelo recolectada en la ATB a (2.5-3.5m de profundidad).....	40
Tabla 10. Concentración y S.D de una muestra de suelo recolectada en los alrededores del pozo Cupiagua (50m aguas arriba de la Quebrada la Cachiza)...	42
Tabla 11. Concentración y S.D de una muestra de suelo recolectada en los alrededores del pozo Cupiagua a (50m aguas arriba de la quebrada Cupiagua)..	42

LISTA DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1. Estructura de los Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos (PAHS)	17
Figura 2. Diagrama de bloques para la metodología utilizada en este trabajo.....	27
Figura 3. Cromatógrafo de Gases con detector FID	30
Figura 4. Cromatógrafo de Gases acoplado a espectrometría de masas.	30
Figura 5. Equipo de extracción Soxhlet múltiple.	33
Figura 6. Equipo de extracción acelerada con solvente, DIONEX ASE 350	34

LISTA DE GRAFICAS

	Pág.
Gráfica 1. Cromatogramas de blancos dopados con PAHs y extraídos por Soxhlet y ASE.....	36
Gráfica 2. – Cromatogramas de suelos dopados con PAHs y extraídos por Soxhlet y ASE.....	38
Gráfica 3 – Cromatogramas de muestras de suelos reales (suelos de la ATB) y extraídos por Soxhlet y ASE.	41

ABREVIATURAS Y ACRÓNIMOS

ASE	<i>Accelerated solvent Extraction</i> (Extracción Acelerada con Solvente)
SFE	<i>Supercritical Fluid Extraction</i> (Extracción con Fluido supercritico)
MAE	<i>Microwave Assisted Extraction</i> (Extraction Asistida por Microondas)
PLE	<i>Pressurized Liquid Extraction</i> (Extracción con Líquido Presurizado)
PAHs	Aromatic Polycyclical hydrocarbons (Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos)
FID	<i>Flame Ionisation Detector</i> (Detector de ionización en llama)
GC-MS	<i>Gas Chromatography – Mass Spectrometry</i> (Cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas)

RESUMEN

TITULO: COMPARACION DE LOS PORCENTAJES DE RECUPERACION DE HIDROCARBUROS POLICICLICOS AROMATICOS EN SUELOS CONTAMINADOS OBTENIDOS MEDIANTE EXTRACCION SOXHLET Y EXTRACCION ACELERADA CON SOLVENTE*

Autor: Olga Liliana Díaz Fajardo**

Palabras claves: Extracción Soxhlet, Extracción acelerada con Solvente, Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos, porcentajes de recuperación.

En el presente trabajo se compararon los porcentajes de recuperación de los hidrocarburos aromáticos policíclicos (PAHs), de blancos y suelos dopados con patrón de PAHs.

Los PAHs fueron obtenidos mediante extracción Soxhlet y extracción acelerada con solvente (ASE); y analizados por cromatografía de gases con detector FID, e identificados en un cromatógrafo de gases acoplado a espectrometría de masas (GC-MS). Los porcentajes de recuperación de los 16 PAHs obtenidos de blancos dopados, mediante extracción Soxhlet y ASE están entre 45-75% y 25-88%, respectivamente. Los rangos encontrados para extracción Soxhlet y ASE en suelos dopados, fueron del 1-12% y 2 al 40%, respectivamente, siendo esta última técnica la que presentó el mejor porcentaje de recuperación.

Para evaluar la eficiencia de la extracción se analizaron dos muestras con carga contaminante alta, procedente de la ATB (área de tratamiento biológico de Barrancabermeja), una superficial (1-2m de profundidad) con un rango de concentración de PAHs totales de (21,3 para Soxhlet y 29,7 con ASE) y otra un poco más profunda de (2.5-3.5m de profundidad), con niveles de PAHs mucho menores (15,9 para Soxhlet y 23,5 con ASE). También se analizaron dos muestras con carga contaminante baja, recolectadas 50m aguas arriba de la quebrada la Cachiza y Cupiagua, las cuales presentaron concentraciones de 0,059 para Soxhlet y 0,430 para ASE; 2,38 con Soxhlet y 2,09 con ASE, respectivamente.

* Monografía de grado.

** Universidad Industrial de Santander, Facultad de Ciencias, Escuela de Química. Especialización en Química ambiental. Directora: Marianny Yajaira Combariza.

ABSTRACT

TITLE: COMPARISON OF THE PERCENTAGE OF RECOVERY OF POLYCYCLIC AROMATIC HYDROCARBONS IN CONTAMINATED SOIL OBTAINED BY EXTRACTION SOXHLET AND ACCELERATED SOLVENT EXTRACTION

Autor: Olga Liliana Díaz Fajardo**

Keywords: Extraction Soxhlet, Accelerated solvent extraction, Polycyclic Aromatic Hydrocarbons, Recovery percentage.

In the present work the percentage of recovery of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs), of targets and grounds drugged with landlrod of PAHs were compared.

The PAHs was obtained by Soxhlet extraction and accelerated solvent extraction (ASE) and analyzed by gas chromatography with mass detector FID, and identified in gas chromatograph with spectrometry (GC-MS). The percentage of recovery of the 16 PAHs obtained of drugged targets, obtained by extraction Soxhlet and ASE are between 45-75% and 25-88%, respectively. The ranks found for extraction Soxhlet and ASE in drugged grounds, were from 1-12% and 2 to 40%, respectively, being this last technique the that present the best percentage of recovery.

In evaluate the efficiency of the extraction, are analyze two samples with high polluting load, coming from the ATB (area of biological treatment of Barrancabermeja), a superficial one (1-2m of depth) with a rank of concentration of PAHs total of (21.3 for Soxhlet and 29.7 with ASE) and another a little deeper (2.5-3.5m of depth), with much smaller levels of PAHs (15.9 for Soxhlet and 23.5 with ASE). Also I analyze two samples with polluting load loss, collected 50m waters above of the gorge the Cachiza and Cupiagua, which concentrations of 0.059 for Soxhlet and 0.430 for AASE; 2.38 with Soxhlet and 2.09 with ASE, respectively.

* Monograph of degree.

** Industrial university of Santander, Faculty of Sciences, School of Chemistry. Specialization in environmental Chemistry. Directora: Marianny Yajaira Combariza.

INTRODUCCIÓN

La química analítica ambiental esta siempre en la búsqueda de nuevas técnicas o herramientas para la obtención de resultados más rápidos, confiables y eficientes. En los últimos años han aparecido nuevas técnicas de extracción automáticas mucho más rápidas y de poco consumo de solvente, que han reemplazado a las técnicas convencionales. Ejemplo de estas técnicas son la extracción con ultrasonido, extracción con fluido supercrítico, extracción asistida por microondas, y extracción acelerada con solvente [1].

El objetivo principal de esta monografía fue la extracción de 16 PAHs en suelos contaminados, blancos dopados con patrón de PAHs y suelos contaminados en el ambiente, procedentes de Yopal y Barrancabermeja mediante la técnica de Extracción Acelerada con Solvente (ASE). Por otra parte, el método ASE fue comparado en términos de eficiencia con el sistema de extracción tradicional sólido-líquido Soxhlet. Esta técnica se utiliza tradicionalmente como referencia para el análisis de PAHs en matrices sólidas.

Considerando factores como recuperación, consumo de solvente y, tiempo de extracción, el ASE resultó ser una técnica comparable en términos de eficiencia de extracción con la Soxhlet.

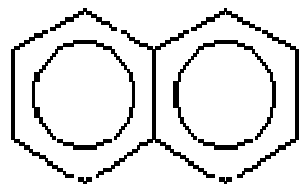
1. ANTECEDENTES

1.1. CLASIFICACIÓN Y ESTRUCTURA DE LOS HIDROCARBUROS AROMÁTICOS POLICÍCLICOS (PAHS)

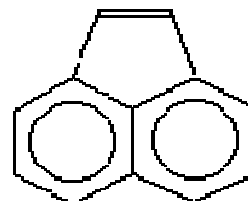
Los PAHs son un grupo de hidrocarburos lipofílicos que contienen dos o más anillos aromáticos condensados. En la actualidad se consideran sustancias contaminantes de procedencia natural (actividad volcánica) o antropogénica (combustión incompleta del carbón, petróleo, gasolina, procesos de las industrias, etc) [1, 2]. Los PAHs se encuentran en todos los compartimientos ambientales | hidrósfera, atmósfera, geósfera y biosfera.

Desde el punto de vista químico, los anillos aromáticos que componen los PAHs pueden estar organizados en forma recta, angulados o racimados. La estructura condensada más sencilla, formada por sólo dos anillos aromáticos, es el naftaleno. En la **Figura 1**, se ilustra la estructura de los 16 PAHs estudiados. De todos ellos, el B[a]P es sin duda el más examinado. Adicionalmente y debido a su abundancia y efectos tóxicos, es usado como marcador del grupo en el medio ambiente y en alimentos.

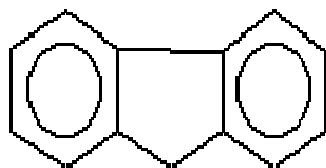
Figura 1. Estructura de los Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos (PAHS)



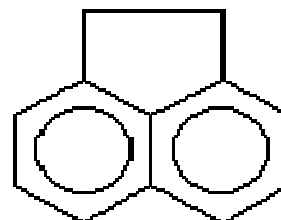
Naphthalene



Acenaphthylene



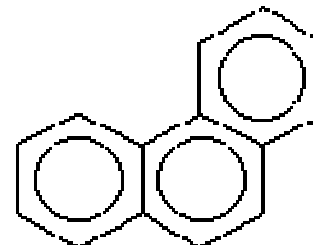
Fluorene



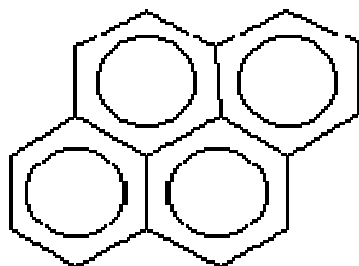
Acenaphthene



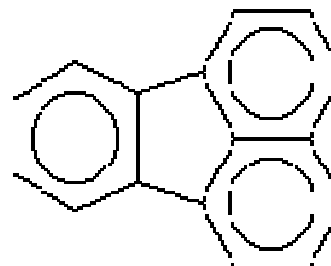
Anthracene



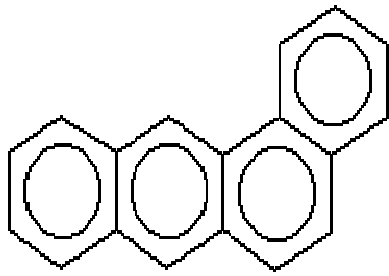
Phenanthrene



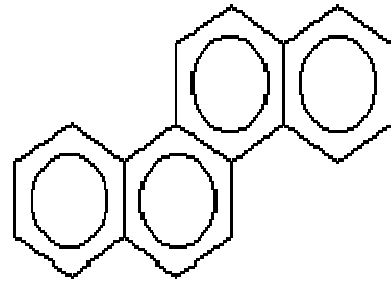
Pyrene



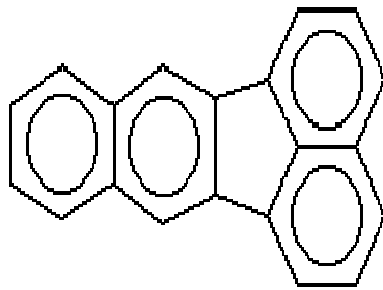
Fluoranthene



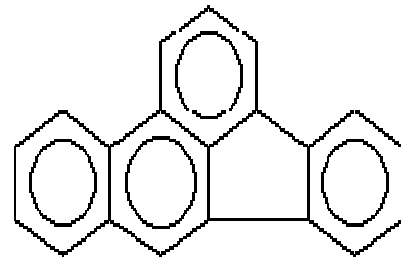
Benzo[a]anthracene



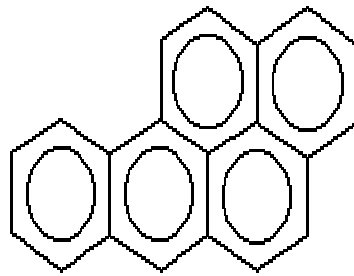
Chrysene



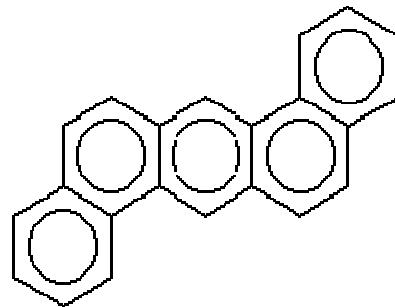
Benzo[k]fluoranthene



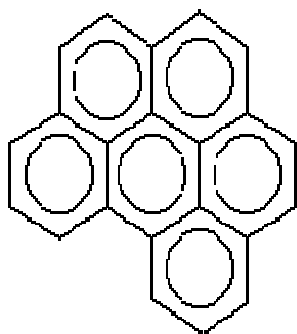
Benzo[b]fluoranthene



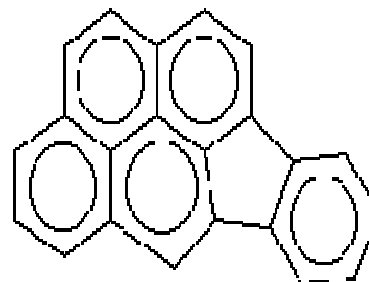
Benzo[a]pyrene



Dibenz[a,h]anthracene



Benzo[g,h,i]perylene



Indeno [1, 2, 3cd]pireno

1.2. LOS PAHS

Tienen poca solubilidad en agua y como consecuencia de su elevado carácter hidrofóbico son fácilmente bioacumulables en los organismos [3]. La biodisponibilidad de los PAHs varía de acuerdo con su origen. Por ejemplo, se ha observado que los PAHs provenientes del petróleo son más fácilmente acumulables por los organismos que los que se generan por combustión de materia orgánica [4].

En términos de efectos ambientales, los PAHs pertenecen al grupo de Contaminantes Orgánicos Persistentes (COPs), debido a que reúnen las cinco características fundamentales de estas sustancias: (i) toxicidad, (ii) persistencia, (iii) bioacumulación, (iv) posibilidad de transporte y deposición a larga distancia (v) inducción de efectos negativos sobre la salud humana y el medioambiente [5].

Los PAHs son frecuentemente detectados en suelos, sedimentos y, agua y por ello se han desarrollado múltiples estrategias analíticas para su extracción y análisis. La preparación de la muestra es un paso clave en el análisis, así como la limpieza y optimización de las técnicas de extracción. El objetivo de cualquier método de extracción en la química analítica es lograr separar los analitos de la

matriz. Con pasos más rápidos, menos cantidad de solvente y menos tiempo de extracción [2]. La técnica tradicional de extracción Soxhlet, a pesar de sus excelentes factores de recuperación, requiere del uso de grandes volúmenes de solvente, lo que la hace poco amigable con el medio ambiente. En los últimos años han aparecidos técnicas de extracción alternas, tales como la extracción con ultrasonido (UE), extracción con fluido supercrítico (SFE), extracción acelerada con solvente (ASE), extracción asistida por microondas (MAE) que pretenden facilitar la extracción de los PAHs y disminuir el gasto de solvente. La extracción asistida por microondas (MAE), fue introducida en 1986 por Ganzler *et al.* El equipo extrae simultáneamente 16 muestras, en tiempo de 15-30 min y un consumo de solvente de 30-40 mL [1]. La extracción con fluido supercrítico es un método popular para la extracción de PAHs. Más recientemente apareció la extracción acelerada con solvente (ASE) que utiliza solventes orgánicos líquidos a elevada temperatura y presión para extraer los analitos de la muestra, en un tiempo más corto y con menos consumo de solvente. Tal vez el mayor inconveniente de todas estas técnicas de extracción (MAE, SFE, ASE) es el costo de la técnica, sin embargo esto se compensa con el gran volumen de muestras que se pueden procesar automáticamente como consecuencia de la automatización de los equipos [2].

Dependiendo del nivel en que se encuentren los contaminantes en el ambiente y la variedad de la muestra, la técnica de extracción seleccionada debe ser exhaustiva. Por ejemplo la extracción Soxhlet es selectiva, pero esta selectividad depende en gran parte del analito y de la matriz. Técnicas como la MAE, SFE y ASE son generalmente más rápidas, y dependen menos del analito y la matriz; y producen extractos más limpios que los obtenidos por el método convencional [5].

Se han realizado varios estudios donde se comparan la eficiencia de recuperación de los PAHs en suelos contaminados, mediante diferentes técnicas. Por ejemplo Nor'ashikin Saim *et al* [9] realizaron la extracción de PAHs en suelos

contaminados por diferentes técnicas de extracción, como la extracción Soxhlet, MAE, SFE y ASE. Siendo estas dos últimas técnicas las que presentaron menor porcentaje de recuperación [9]. Noorashikin Md Saleh, *et al* [10] compararon la PLE y extracción Soxhlet en la determinación de PAHs en suelos contaminados. Se demostró que el PLE tiene buena reproducibilidad para la mayoría de los PAHs, siendo el Fluoranteno el de más alto porcentaje de recuperación (94.4%), seguido por el Fluoreno, Fenantreno y Naftaleno. En este caso el PLE, fue más eficiente que la extracción Soxhlet [10]. Otro de los trabajos realizados con PLE, fue el realizado por *Gfrerer M, et al* [6], donde indica que la PLE puede ser usada como una técnica alterna para la extracción de los polyarenos en suelos y sedimentos. Los porcentajes de recuperación y la desviación estándar están dentro de los límites aceptables y el resultado fue comparable con el de la extracción Soxhlet [6]. Cuatro métodos fueron comparados en términos de la eficiencia de extracción de 16 PAHs: el método de (VDLUFA), dos métodos estandarizados: ISO A, extracción Soxhlet (ISO B) y un método de extracción con ultrasonido. Los porcentajes de recuperación se determinaron en dos suelos y la eficiencia de la extracción se evaluó en cinco suelos y tres sedimentos. No existen diferencias significativas en la eficiencia de extracción de los cuatro métodos para suelos poco contaminados. Para suelos más contaminados la eficiencia de la extracción decrece en el orden de método VDLUFA > ISO A > método de ultrasonido [11]. *N. Barco-Bonilla, J.L. et al* [12], optimizaron el método de extracción PLE para la determinación de PAHs en suelos, el cual fue comparado con otra técnica como la extracción con ultrasonido. Los parámetros que optimizaron en el PLE fueron: el tipo de solvente, tiempo de extracción, temperatura de extracción, numero de extracciones. No se encontraron diferencias significativas entre los dos métodos de extracción, aunque fue mejor la eficiencia de extracción en la PLE. Se encontraron porcentajes de recuperación entre el 85 – 110%, excepto el naftaleno debido a que es el más volátil de todos los PAHs [12].

1.3. PROPIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS.

Los PAHS esenciales son un conjunto de moléculas hidrocarbonadas cuyas características afines son el carácter neutro y apolar que produce gran dificultad en su degradación. En condiciones normales son sólidos cristalinos que suelen ser de color blanco/amarillo, presentando altos puntos de fusión y ebullición y bajas presiones de vapor (Ver Tabla 1) [13]. Con un incremento en el peso molecular, su solubilidad en agua disminuye, además, las moléculas con una disposición lineal de anillos aromáticos fundidos (naftaleno, antraceno), son normalmente menos solubles que otras con estructuras angulares (criseno o fenantreno). La temperatura también juega un papel importante, aumentando la solubilidad al incrementarse ésta. Se trata de sustancias de alta estabilidad que aumentará con el número de anillos y el grado de insaturaciones de la molécula, pero en presencia de luz y O₂ rápidamente se produce la fotooxidación de las moléculas (en medio atmosférico y acuoso). Los productos de esta degradación son la rotura de anillos y la desalquilación [5].

Se pueden formar durante la descomposición de moléculas orgánicas y su subsecuente recombinación, combustión incompleta a alta temperatura (500 – 800°C) o de materia orgánica a baja temperatura (100- 300°C) por largos periodos resultan en la formación de PAHs [11]. La mayoría sufren fotooxidación, siendo ésta una forma para eliminarlos de la atmósfera. La reacción de fotooxidación más frecuente es la formación de endoperóxidos, que pueden convertirse a quinonas. Estos hidrocarburos reaccionan rápidamente con óxidos de nitrógeno o HNO₃. Por ejemplo, el antraceno puede oxidarse a antraquinona por acción del HNO₃ [5].

Tabla 1. Propiedades físico-químicas de algunos hidrocarburos poliaromáticos.

Compuesto	Fórmula molecular	Punto de fusión (°C)	Punto de ebullición (°C)	Presión de vapor (a 25°C)	Solubilidad en agua (mg/L)
Benzo[k]fluoranteno	C ₂₀ H ₁₂	215.7	480	5.3x10 ⁻⁸	-
Antraceno	C ₁₄ H ₁₀	216.4	342	1 x 10 ⁻³	0.015
Benzo[b]fluoranteno	C ₂₀ H ₁₂	168.3	481	6.7x10 ⁻⁵	-
Benzo[e]pyreno	C ₂₀ H ₁₂	178.7	493	4x10 ⁻⁷	-
Fluoranteno	C ₁₆ H ₁₀	108.8	375	1.2x10 ⁻³	0.25
Naftaleno	C ₁₀ H ₈	80.2	218	11	30
Fenantreno	C ₁₄ H ₁₀	100.5	340	2x10 ⁻²	1-2
Benzo[g,h,i]perileno	C ₂₂ H ₁₂	277	500	6x10 ⁻⁸	-
Pyreno	C ₁₆ H ₁₀	393	150.4	6.0x10 ⁻⁴	0.12-0.18

[Soriano José Antonio, 2009]

1.4. PROCEDENCIA, MODOS DE INTRODUCCIÓN Y DISTRIBUCIÓN EN EL MEDIO AMBIENTE DE LOS PAHs.

1.4.1. Fuentes De Exposición

En la actualidad, se sabe que los PAHs son producidos por fuentes naturales, como volcanes, incendios forestales, así como de fuentes antropogénicas entre las que se destacan: plantas coquizadoras, industrias de aluminio, procesos siderúrgicos, refinación del petróleo, carbón, combustión incompleta del diesel, humo de tabaco, procesos de ahumado y asado de la carne [4, 5].

1.4.2. Fuentes naturales

Una parte de los PAHs presentes en el medio ambiente tienen su origen en procesos naturales, la fuente principal son las actividades del hombre.

1.4.2.1. Los incendios forestales, en las zonas rurales o industriales puede ser la principal fuente de emisión de hidrocarburos aromáticos.

1.4.2.2. Erupciones volcánicas, debido a las elevadas temperaturas que se alcanzan en los magmas volcánicos hacen posible la formación de PAHs, fundamentalmente de elevado peso molecular.

1.4.2.3. Fugas naturales de petróleo, en los combustibles fósiles como crudo de petróleo o el carbón, los PAHs se encuentran de forma natural.

1.4.3. Origen antropogénicos

Más importantes resultan los PAHs que se forman durante la combustión incompleta de petróleo y de sus derivados, pero también en la de todo tipo de materia orgánica, como carbón, madera, tabaco o vegetación en general. Su formación se produce por un proceso de pirólisis de compuestos orgánicos a elevada temperatura (700°C), este origen constituye la principal fuente de contaminación del medio aéreo [5].

Principales fuentes antrópicas:

1.4.3.1. Plantas de generación de energía: Esta fuente, libera PAHs al medio ambiente a través de residuos líquidos, sólidos, gaseosos, que se generan durante el proceso de pirólisis de los combustibles. Estos PAHs no se degradan en la

atmósfera, sino que son adsorbidos sobre las partículas suspendidas en el aire, entrando en los medios acuáticos y terrestres por deposición atmosférica.

1.4.3.2. Incineradoras de residuos industriales y municipales. La incineración es una forma de eliminar y reducir residuos pero su principal inconveniente es la emisión de compuestos tóxicos, incluyendo los PAHs. Por ejemplo las aguas residuales de las incineradoras.

1.4.3.3. Navegación y vertidos accidentales de petróleo, son consecuencia del transporte de crudo de petróleo y productos petrolíferos refinados por el mar. Aunque el número de vertidos importantes ocurridos cada año ha descendido desde la década de los 70, vertidos y descargas operacionales constituyen una importante entrada de hidrocarburos al medio marino.

1.4.4. Modos de introducción

Los alimentos, el agua y el aire son las principales vías de exposición de los mamíferos a los PAHs. La concentración de PAHs no parece incrementarse a medida que se asciende en la cadena trófica (no sufren, por tanto, el fenómeno de biomagnificación) en parte, debido a la mayor capacidad metabolizadora de los depredadores superiores. La capacidad de metabolización de los PAHs está ampliamente distribuida en el reino animal, pero suele ser mayor en los organismos superiores. El principal objetivo de la metabolización de los PAHs, consiste en aumentar la polaridad de estos compuestos para convertirlos en sustancias más hidrosolubles y más fáciles de excretar [4, 5].

1.4.5. Distribución en el medio ambiente

Los PAHs fueron los primeros carcinógenos reconocidos en el ambiente. No se degradan fácilmente bajo condiciones naturales. Tienen presencia en todos los

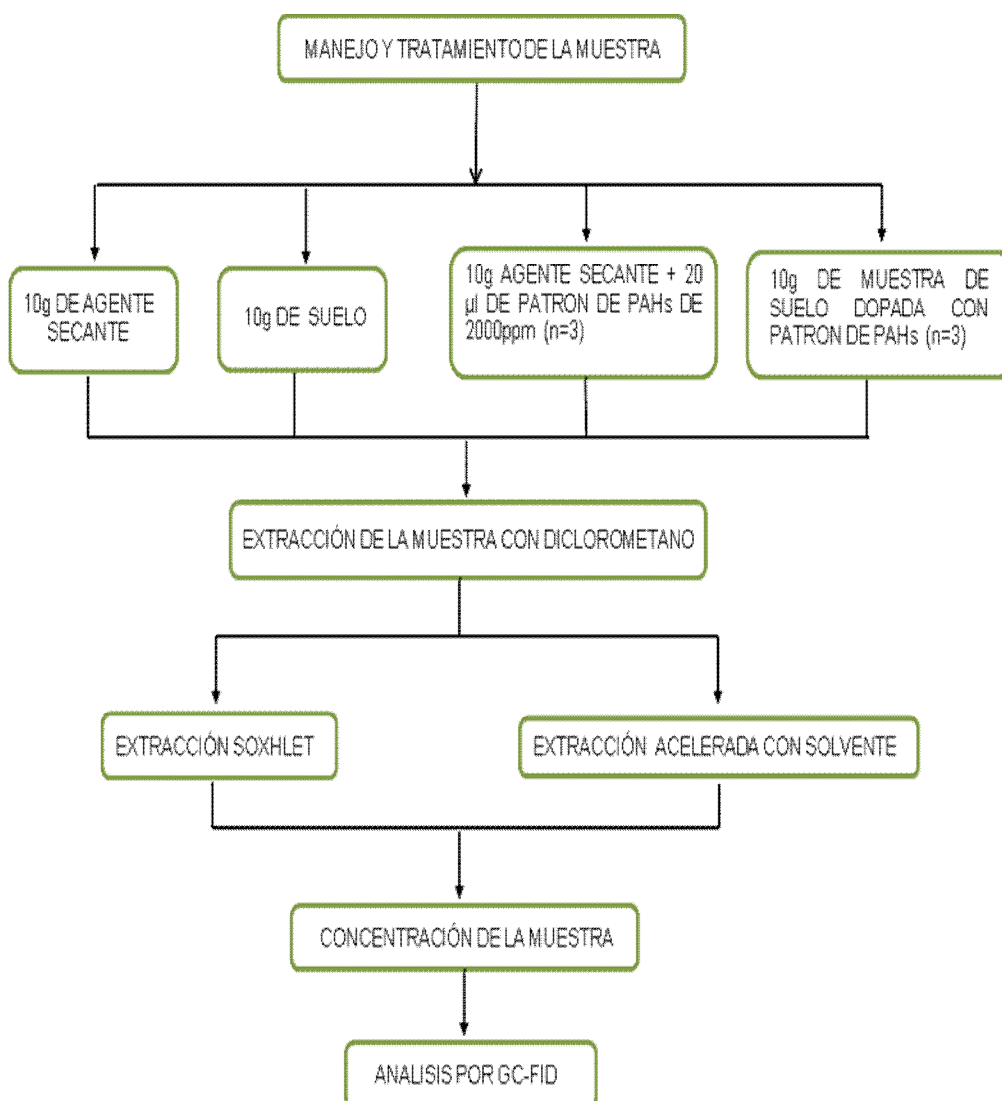
entornos del medio ambiente, son resistentes a la biodegradación, tienen potencial de bioacumulación y actividad cancerígena. Son los principales agentes contaminadores del aire, el suelo es su último depósito [13]. La contaminación del medio aéreo se debe a su relativa volatilidad o a su capacidad de adsorción a las partículas atmosféricas, los PAHs se transportan a través del aire, pudiendo ser depositados en lugares remotos a gran distancia de la fuente emisora. La deposición atmosférica de los PAHs junto con su migración a partir de suelos o fertilizantes contaminados, se consideran las principales fuentes de contaminación de los alimentos vegetales.

En el mar, los PAHs tienden rápidamente a asociarse a partículas. Los sedimentos son el depósito más importante de PAHs en el ambiente marino. Las concentraciones más altas de PAHs en los sedimentos marinos se han encontrado generalmente en las muestras de zonas costeras y en las muestras de estuarios, con concentraciones totales que van desde no detectables hasta 8500 ng/l. Romano *et al.* (2004) han encontrado en los sedimentos de la zona industrial del Puerto de Bagnoli unas concentraciones de PAHs de entre 0,092 – 12,561 mg/kg de peso seco de sedimento [8].

2. METODOLOGÍA

El desarrollo experimental de este estudio se llevó a cabo según el esquema que aparece en la **Figura 2**.

Figura 2. Diagrama de bloques para la metodología utilizada en este trabajo.



2.1. PARTE EXPERIMENTAL

2.1.1. Reactivos Químicos, Patrones Certificados E Instrumentación

2.1.1.1. Solventes: Los solventes comúnmente empleados para la extracción de PAHs en suelos, incluyen el n-hexano, n-hexano:acetona (2:1) y diclorometano. Aún así, la EPA considera que el Diclorometano, es el que tiene mayor poder de extracción.

Tabla 2. Solvente empleado en el desarrollo del presente trabajo.

Marca comercial	Solvente
MERCK	Diclorometano

2.1.2. Patrones Certificados

El patrón que contiene los compuestos determinados en el presente trabajo se encuentra en la siguiente **Tabla 3**.

Tabla 3. Patrón puro de los 16 compuestos estudiados.

Marca comercial	Compuesto
SUPELCO	Naftaleno
	Acenaftaleno
	Acenafteno
	Fluoreno
	Antraceno
	Fenantreno
	Fluoranteno
	Pireno
	Benzo[a]antraceno
	Criseno
	Benzo[k]fluoranteno

Marca comercial	Compuesto
	Benzo[b]fluoranteno
	Benzo[a]pireno
	Benzo(G,H,I)perileno
	Dibenzo(A,H)antraceno
	Indeno(1,2,3-CD)pireno

Otros reactivos

- Alúmina B-Super I, ICN Biomedical GMBH, Alemania. Para su activación se mantiene en mufla a 200°C durante 24 horas.
- Sulfato de sodio anhidro (marca Merck, Alemania). Para eliminar las trazas de agua se mantiene en mufla a 400°C durante 24 horas. Agente secante para la extracción Soxhlet.
- Tierra diatomácea, agente secante recomendado para el ASE.
- Muestras de suelo limpio.

2.1.3. Instrumentación

- Todos los extractos obtenidos se inyectaron en un cromatógrafo de Gases con detector FID (marca Agilent Technologies 6890), equipado con un inyector Split/splittles, una columna cromatografica apolar HP-5ms (30m x 0.25mm x 0.25m) (**Véase Figura 3**).

Figura 3. Cromatógrafo de Gases con detector FID



- Cromatógrafo de Gases con Detector de Masas con triple cuadrupolo (AGILENT TECHNOLOGY 7890A-5975C) empleado para la confirmación de los compuestos.

Figura 4. Cromatógrafo de Gases acoplado a espectrometría de masas.



- Para la concentración de las muestras se usó un Turbo Vap (CALIPER LifeSciences, Turbo Vap LV). Todas las muestras fueron evaporadas a 1 mL. Para posteriormente ser inyectadas en el cromatógrafo de gases.

2.2. PREPARACIÓN DE LAS SOLUCIONES PATRÓN

A partir de un patrón de PAHs de 2000 ppm, se prepararon soluciones patrón de concentraciones de: 10, 20, 40, 60, 80 y 100 ppm, cada una diluida en diclorometano a 1 mL y en frascos ámbar. Con estas soluciones se realizó la curva de calibración (concentración de patrones vs áreas de los picos cromatograficos).

2.3. TÉCNICAS DE EXTRACCIÓN

En este trabajo se evaluaron dos técnicas de extracción sólido/líquido: la extracción Soxhlet y extracción acelerada con solvente (ASE). La extracción Soxhlet es una técnica ya empleada por el laboratorio para la determinación de PAHs en muestras de suelos, la extracción con ASE es una técnica nueva y automatizable, que permite utilizar pequeños volúmenes de solvente y trabajar a presiones y temperaturas elevadas. Ésta es una técnica habitualmente utilizada para la extracción de PAHs en diferentes matrices como suelos, sedimentos [15].

Para realizar estos ensayos se empleo una muestra de suelo limpio adquirido en un vivero de Bucaramanga, una muestra de agente secante, dopadas con un patrón de PAHs, los cuales fueron extraídos por ASE y Soxhlet, cada una por triplicado.

2.3.1. Extracción Soxhlet

El equipo de Soxhlet consiste en un balón de 500 mL de fondo redondo, un condensador, un tubo de extracción y una manta de calentamiento (**Véase Figura 5**). El sulfato de sodio anhidro fue secado en una mufla a 400°C por 24 h y posteriormente enfriado en un desecador. 10 gramos de suelos fueron mezclados con 10 gramos de sulfato de sodio anhidro, la mezcla se introdujo en un cartucho de celulosa y se inserto en el cuerpo del Soxhlet, la extracción se llevó a cabo con 350 mL de diclorometano por 16 horas. El extracto obtenido fue concentrado a 1 mL. Las condiciones de extracción por el método Soxhlet se muestran a continuación en la **Tabla 4**.

Tabla 4. Condiciones de extracción para el Soxhlet, según EPA 3540C [16]

Parámetros	
Temperatura	80-100°C
Presión	Atmosférica
Tiempo de extracción	16-24 h
Solvente	Diclorometano
Volumen	350 mL

Figura 5. Equipo de extracción Soxhlet múltiple.



2.3.2. Extracción Acelerada con Solvente

La extracción fue hecha usando un equipo de extracción acelerada con solvente DIONEX ASE 350 (**Ver Figura 6**). 10 gramos de muestra fueron mezclados con tierra diatomácea, para homogenizarlo; y depositados en una celda de 66 mL. La celda fue cerrada y puesta en el carrusel del sistema ASE 350. La extracción fue hecha usando diclorometano. Las condiciones de operación del equipo se muestran en la **Tabla 5**, según la norma EPA 3545A [17]. El extracto obtenido fue concentrado a 1 mL usando un concentrador TURBOVAP.

Tabla 5. Condiciones de extracción para el ASE, según EPA 3545A [17]

Parámetros	
Presión	1500 psi
Temperatura	100°C
Flush volumen	60 %
Tiempo estático	5 min
Tiempo de Purga	60 s
N°. Ciclos	1
Solvente	Diclorometano
Volumen	70mL

Figura 6. Equipo de extracción acelerada con solvente, DIONEX ASE 350



2.4. LIMPIEZA DE LOS EXTRACTOS

Cuando el extracto es oscuro debido al contenido de hidrocarburos, se toman 10 μL u otro volumen dependiendo del color y se diluye a 1 mL con Diclorometano, esta dilución se debe tener en cuenta para la cuantificación de los PAHs. Cuando el extracto presenta interferencias en la interpretación de los analitos debido a la alta concentración de hidrocarburos, se realiza una limpieza, haciendo pasar el extracto a través de una microcolumna empaca con alúmina, según norma EPA 3630C [18].

2.5. ANÁLISIS DE LOS EXTRACTOS POR GC-FID

Todos los extractos (ASE, Soxhlet) fueron analizados por cromatografía de gases con detector FID, usando un equipo 6890 equipado con un inyector split-splitless. Todos los extractos fueron analizados usando las mismas condiciones. Para la confirmación de los compuestos, las muestras fueron inyectadas en un cromatógrafo de gases con detector de masas. La cuantificación se realizó mediante estandarización externa usando una curva de calibración de 0 a 100 ppm.

3. ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS

3.1. VALIDACIÓN DE LA TÉCNICA DE EXTRACCIÓN

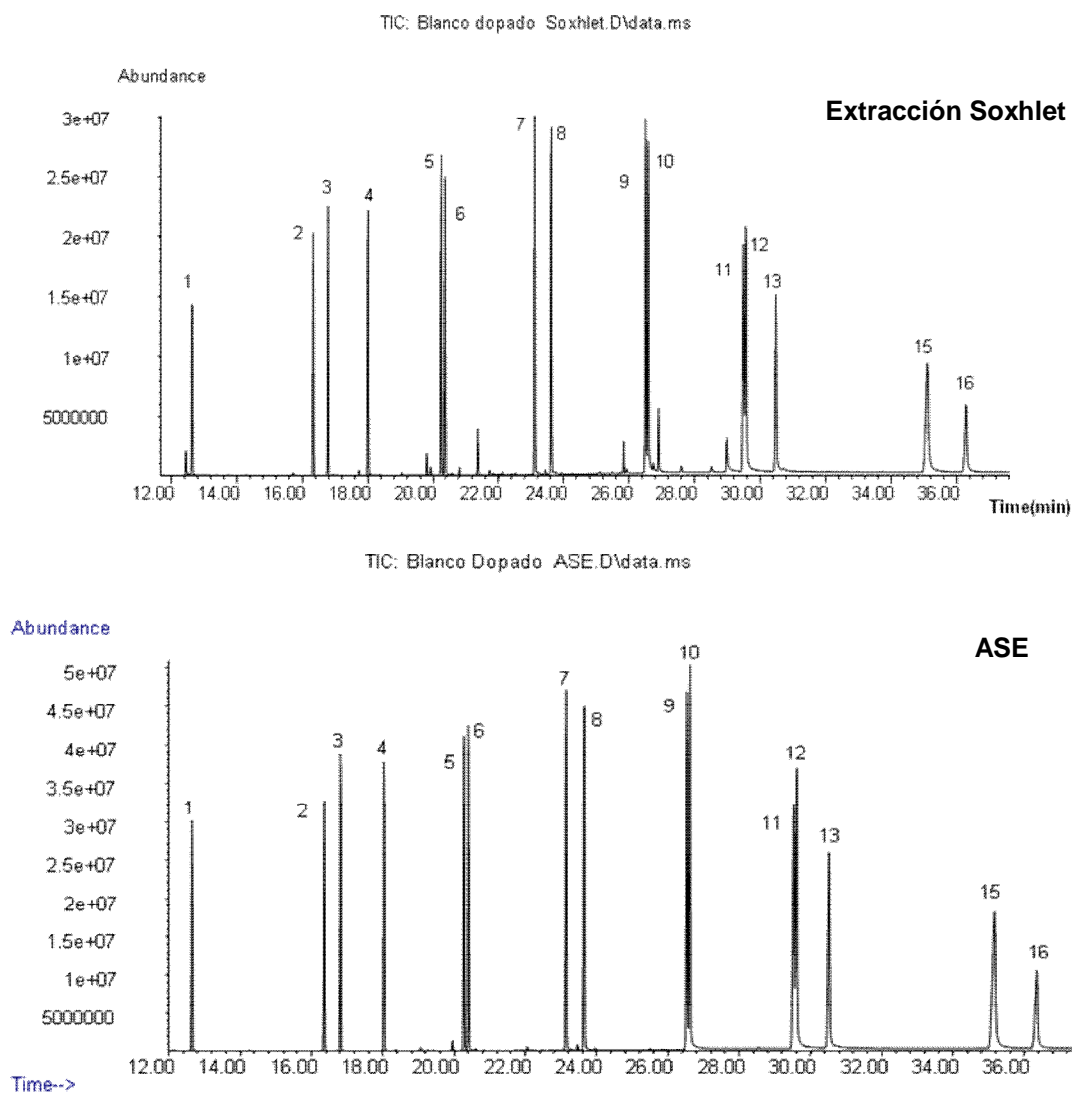
Además de realizar la extracción a muestras (agente secante, suelo limpio) dopadas con patrón de PAHs. Para evaluar la precisión (SD) de la técnica de extracción, se decidió analizar por triplicado dos muestras de suelos contaminadas por crudo (suelos de la ATB, suelos del área de tratamiento biológico de la refinería de Barrancabermeja) con carga contaminante grande y dos muestras de suelo, con niveles de PAHs mucho menores (suelos de los alrededores del pozo Cupiagua).

Tabla 6. Porcentajes de recuperación y S.D de blancos dopados con PAHs y extraídos por soxhlet y ASE.

Compuestos	Extracción soxhlet		ASE	
	% Recuperación	S.D (n=3)	% Recuperación	S.D (n=3)
Naftaleno	69,8	8,2	87,7	8,9
Acenaftaleno	59,8	7,4	79,3	8,5
Acenafteno	60,3	7,2	81,2	8,6
Fluoreno	57,8	6,4	77,8	8,1
Antraceno	53	5,5	82,3	8,8
Fenantreno	56,8	6,2	56,1	6,4
Fluoranteno	51,3	5,5	61,0	7,2
Pireno	50	5,3	57,5	6,8
Benzo[a]antraceno	45,5	4,7	34,5	4,2
Criseno	45,7	4,7	37,2	4,3
Benzo[b]fluoranteno	46,6	3,2	25,4	3,0
Benzo[k]fluoranteno	48,2	3,2	27,5	3,2
Benzo[a]pireno	48,9	2,8	31,1	3,2
Dibenzo[a,h]antraceno	68,9	4,9	32,8	4,4
Benzo[g,h,i]perileno	69,8	7,0	37,5	4,2
Indeno[1,2,3 CD]pireno	74,6	7,0	36,0	4,5

Gráfica 1. Cromatogramas de blancos dopados con PAHs y extraídos por Soxhlet y ASE.

Identificación de los picos: pico número 1 = naftaleno (NAP), 2 = acenaftileno (ACY), 3 = acenafteno (ACE), 4 = fluoreno (FLO), 5 = fenantreno (PHE), 6 = antraceno (ANT), 7 = fluoranteno (FLA), 8 = pireno (PYR), 9 = benz[*a*]antraceno (BaA), 10 = criseno (CHR), 11 = benzo[*b*]fluoranteno (BbF), 12 = benzo[*k*]fluoranteno (BkF), 13 = benzo[*a*]pireno (BaP), 14 = indeno[1,2,3-*cd*]pireno (IcdP), 15 = dibenzo[*a,h*]antraceno (DahA), and 16 = benzo[*ghi*]perileno (BghiP).



En la Tabla 6, se presentan los porcentajes de recuperación de los 16 PAHs extraídos de blancos dopados, mediante extracción Soxhlet y ASE. Los porcentajes de recuperación están entre el 45-75% y 25-88%, respectivamente.

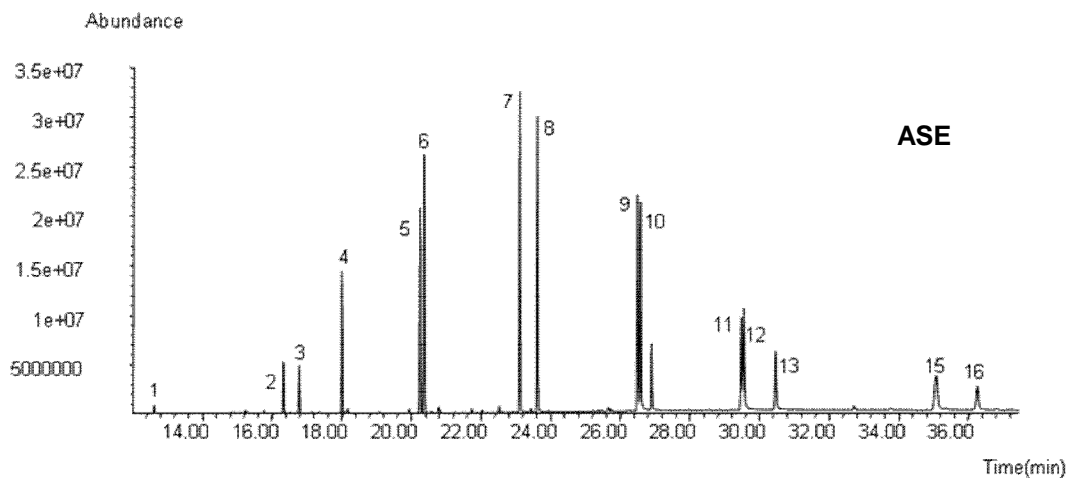
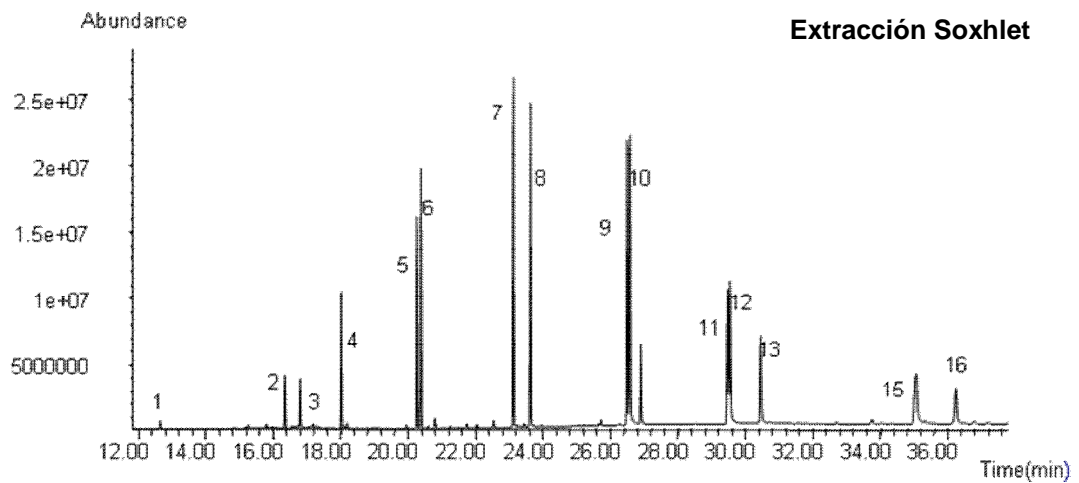
El porcentaje de recuperación obtenido del naftaleno fue mayor por ASE comparado con la otra técnica de extracción. Por ASE los mejores porcentajes de recuperación fueron para aquellos compuestos que son mas altamente volátiles, como el naftaleno, acenaftaleno y acenafteno, mientras que aquellos con elevado peso molecular (5 ó 6 anillos), la extracción Soxhlet resulto ser más efectiva.

Tabla 7. Porcentajes de recuperación y S.D de suelos dopados con PAHs y extraídos por Soxhlet y ASE.

Compuestos	Extracción Soxhlet		ASE	
	% Recuperación	S.D (n=3)	% Recuperación	S.D (n=3)
Naftaleno	0,53	0,05	1,71	0,1
Acenaftaleno	2,10	0,1	6,6	0,2
Acenafteno	1,65	0,1	5,16	0,2
Fluoreno	4,34	0,2	13,8	0,6
Antraceno	5,59	0,3	17,5	0,7
Fenantreno	6,69	0,4	20,9	0,9
Fluoranteno	8,28	0,3	25,8	0,7
Pireno	7,70	0,4	24,0	0,8
Benzo[a]antraceno	9,58	0,1	29,8	1,0
Criseno	9,70	0,1	30,3	1,1
Benzo[b]fluoranteno	10,5	0,1	32,8	1,4
Benzo[k]fluoranteno	9,86	0,1	31,1	1,3
Benzo[a]pireno	10,4	0,2	31,8	1,3
Dibenzo[a,h]antraceno	13,2	0,1	41,7	1,9
Benzo[g,h,i]perileno	10,9	0,2	34,6	1,7
Indeno[1,2,3 CD]pireno	12,8	0,2	40,6	2,2

Gráfica 2. – Cromatogramas de suelos dopados con PAHs y extraídos por Soxhlet y ASE.

Identificación de los picos: pico número 1 = naftaleno (NAP), 2 = acenaftileno (ACY), 3 = acenafteno (ACE), 4 = fluoreno (FLO), 5 = fenantreno (PHE), 6 = antraceno (ANT), 7 = fluoranteno (FLA), 8 = pireno (PYR), 9 = benz[*a*]antraceno (BaA), 10 = criseno (CHR), 11 = benzo[*b*]fluoranteno (BbF), 12 = benzo[*k*]fluoranteno (BkF), 13 = benzo[*a*]pireno (BaP), 14 = indeno[1,2,3-*cd*]pireno (IcdP), 15 = dibenzo[*a,h*]antraceno (DahA), and 16 = benzo[*ghi*]perileno (BghiP).



En la Tabla 7 se resumen los porcentajes de recuperación obtenidos de la extracción Soxhlet y ASE de suelos dopados con PAHs. Los rangos encontrados para la extracción Soxhlet fueron del 0,5 y 12% y por ASE de 1,7 y 40%, siendo esta última técnica la que presentó mejor porcentaje de recuperación. Compuestos pesados como el D[a,h]A, B[g,h,i]P, I[1,2,3 CD]P, exhiben porcentajes de recuperación altos. Los bajos porcentajes de recuperación en los suelos dopados, ya que ninguno excede el 100%, podrían deberse al proceso de limpieza que se realiza a los extractos a través de microcolumnas rellenas con alúmina. Este proceso puede generar pérdida de muestra, sobre todo para aquellos compuestos que son más volátiles.

En la Tabla 8-11, se presentan las concentraciones y desviaciones de PAHs extraídos de suelos recolectados, en dos zonas de Colombia. Las muestras de carga contaminante alta corresponden a suelos de la ATB muestreados a (1-2m de profundidad) y de (2.5-3.5m de profundidad). Las muestras con carga contaminante mucho menores corresponden a suelos de los alrededores del pozo Cupiagua, muestreados a 50m aguas arriba de la quebrada la Cachiza y 50m aguas arriba de la quebrada Cupiagua.

Tabla 8. Concentración y S.D de una muestra de suelo recolectado en la ATB a (1-2m de profundidad).

Compuestos	Extracción Soxhlet	ASE	
	Concentración	Concentración	S.D (n=3)
Naftaleno	N.D	N.D	-
Acenaftaleno	N.D	N.D	-
Acenafteno	N.D	N.D	-
Fluoreno	1,55	1,95	0,69
Antraceno	4,27	2,78	1,60
Fenantreno	2,99	2,23	0,67
Fluoranteno	3,50	5,79	2,14
Pireno	3,56	5,30	1,77
Benzo[a]antraceno	3,30	4,07	1,16

Compuestos	Extracción Soxhlet	ASE	
	Concentración	Concentración	S.D (n=3)
Criseno	2,09	2,79	0,41
Benzo[b]fluoranteno	N.D	N.D	-
Benzo[k]fluoranteno	N.D	N.D	-
Benzo[a]pireno	N.D	N.D	-
Dibenzo[a,h]antraceno	N.D	N.D	-
Benzo[g,h,i]perileno	N.D	N.D	-
Indeno[1,2,3 CD]pireno	N.D	N.D	-
PAHs TOTALES	21,29	29,72	-

Tabla 9. Concentración y S.D de una muestra de suelo recolectada en la ATB a (2.5-3.5m de profundidad).

Compuestos	Extracción Soxhlet	ASE	
	Concentración	Concentración	S.D (n=3)
Naftaleno	N.D	N.D	-
Acenaftaleno	N.D	N.D	-
Acenafteno	N.D	N.D	-
Fluoreno	1,81	3,71	0,59
Antraceno	1,42	3,48	0,72
Fenantreno	1,90	4,00	0,54
Fluoranteno	4,02	6,22	1,30
Pireno	3,99	6,07	0,29
Benzo[a]antraceno	N.D	N.D	-
Criseno	N.D	N.D	-
Benzo[b]fluoranteno	N.D	N.D	-
Benzo[k]fluoranteno	N.D	N.D	-
Benzo[a]pireno	N.D	N.D	-
Dibenzo[a,h]antraceno	N.D	N.D	-
Benzo[g,h,i]perileno	N.D	N.D	-
Indeno[1,2,3 CD]pireno	N.D	N.D	-
PAHs TOTALES	15,9	23,48	-

Gráfica 3 – Cromatogramas de muestras de suelos reales (suelos de la ATB) y extraídos por Soxhlet y ASE.

Identificación de los picos: pico número 1 = Naftaleno (NAP), 2 = Antraceno (ANT), 3 = Fenantreno (PHE), 4 = Fluoranteno (FLA), 5 = Pireno (PYR), 6 = Benz[*a*]antraceno (BaA), 7 = Criseno (CHR), 8 = Benzo[*b*]-fluoranteno (BbF), 9 = Benzo[*ghi*]perileno (BghiP).

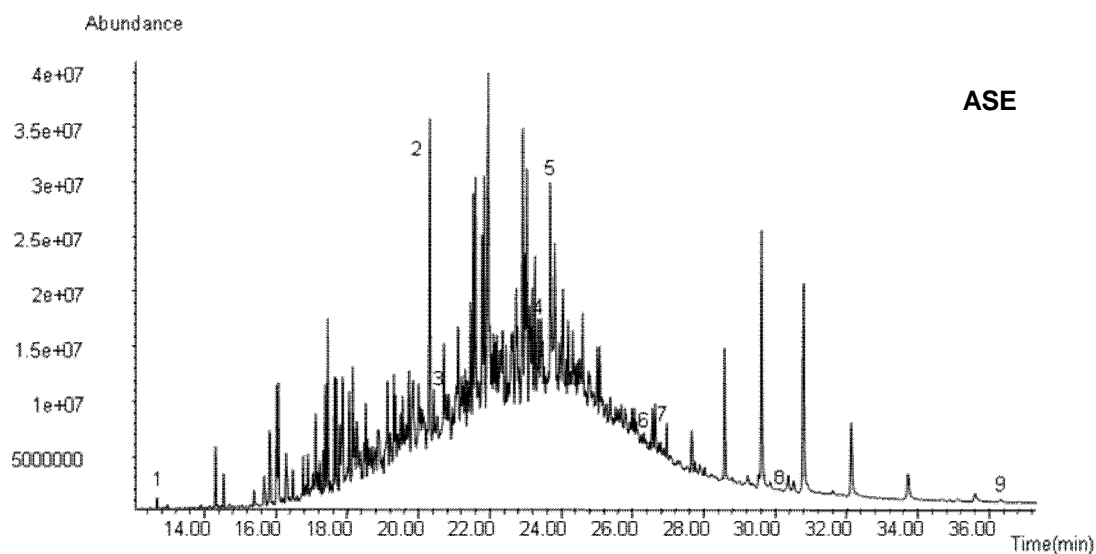
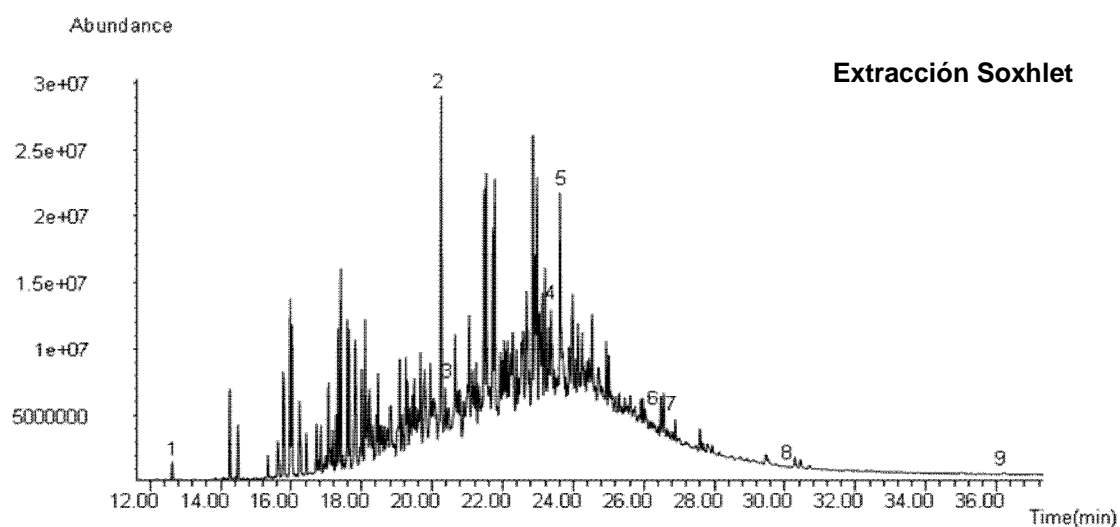


Tabla 10. Concentración y S.D de una muestra de suelo recolectada en los alrededores del pozo Cupiagua (50m aguas arriba de la Quebrada la Cachiza).

Compuestos	Extracción Soxhlet	ASE	
	Concentración (µg/L)	Concentración (µg/L)	S.D (n=3)
Naftaleno	0,028	0,34	0,022
Acenaftaleno	N.D	N.D	-
Acenafteno	N.D	N.D	-
Fluoreno	N.D	N.D	-
Antraceno	N.D	N.D	-
Fenantreno	0,0081	0,016	0,0056
Fluoranteno	N.D	N.D	-
Pireno	N.D	N.D	-
Benzo[a]antraceno	N.D	N.D	-
Criseno	0,023	0,064	0,013
Benzo[b]fluoranteno	N.D	N.D	-
Benzo[k]fluoranteno	N.D	N.D	-
Benzo[a]pireno	N.D	N.D	-
Dibenzo[a,h]antraceno	N.D	N.D	-
Benzo[g,h,i]perileno	N.D	N.D	-
Indeno[1,2,3 CD]pireno	N.D	N.D	-
PAHs TOTALES	0,059	0,430	-

Tabla 11. Concentración y S.D de una muestra de suelo recolectada en los alrededores del pozo Cupiagua a (50m aguas arriba de la quebrada Cupiagua).

Compuestos	Extracción Soxhlet	ASE	
	Concentración(µg/L)	Concentración(µg/L)	S.D (n=3)
Naftaleno	1,68	0,73	0,022
Acenaftaleno	N.D	N.D	-
Acenafteno	N.D	0,31	0,044

Compuestos	Extracción Soxhlet	ASE	
	Concentración(µg/L)	Concentración(µg/L)	S.D (n=3)
Fluoreno	0,23	0,37	0,011
Antraceno	N.D	0,067	0,012
Fenantreno	0,06	0,085	0,019
Fluoranteno	0,19	0,036	0,0074
Pireno	0,018	0,28	0,10
Benzo[a]antraceno	0,15	0,05	0,009
Criseno	0,037	0,14	0,012
Benzo[b]fluoranteno	N.D	N.D	-
Benzo[k]fluoranteno	N.D	N.D	-
Benzo[a]pireno	N.D	N.D	-
Dibenzo[a,h]antraceno	N.D	N.D	-
Benzo[g,h,i]perileno	N.D	N.D	-
Indeno[1,2,3 CD]pireno	N.D	N.D	-
PAHs TOTALES	2,38	2,09	-

En las tablas 8-11, se observa las concentraciones de muestras reales obtenidas mediante extracción Soxhlet y ASE. Para evaluar la eficiencia de la extracción se analizo dos muestras con carga contaminante alta, una superficial (1-2m de profundidad) con un rango de concentración de PAHs totales de (21,3 para Soxhlet y 29,7 con ASE) y otra un poco más profunda de (2.5-3.5m de profundidad), con niveles de PAHs mucho menores (15,9 para Soxhlet y 23,5 con ASE). También se analizo dos muestras con carga contaminante baja, recolectadas 50m aguas arriba de la quebrada la Cachiza y Cupiagua, las cuales presentaron concentraciones de 0,059 para Soxhlet y 0,430 para ASE; 2,38 con Soxhlet y 2,09 con ASE, respectivamente.

Una comparación adicional de las dos técnicas de extracción, fue realizada basada en los cromatogramas obtenidos por GC-MS, los cuales se observan en la gráfica 1, 2, 3. Los parámetros de la técnica ASE como temperatura y presión, proporcionan una buena eficiencia de extracción, pero a la vez conducen a la

extracción de otra cantidad de compuestos no importantes en el análisis (**Ver gráfica 3, ASE**).

4. CONCLUSIONES

- No se obtuvieron buenos porcentajes de recuperación, para suelos dopados con PAHs, siguiendo las condiciones de extracción que indica la EPA, para el uso del ASE. Sin embargo fueron mejores en comparación con el Soxhlet, resultando una buena alternativa como método de extracción de estos compuestos.
- Dos métodos fueron comparados en términos de la eficiencia de extracción de 16 PAHs, el Soxhlet y el ASE. Los porcentajes de recuperación se determinaron en blancos y suelos dopados con PAHs. Se observaron diferencias significativas en la eficiencia de extracción, la cual decrece de ASE > Soxhlet.
- El Soxhlet presenta una mejor eficiencia de extracción para PAHs de bajo peso molecular, mientras que los PAHs con alto peso molecular tienen mejor eficiencia de extracción por el método ASE. El cual puede ser atribuido a la elevada temperatura y presión con que se lleva a cabo la extracción.
- En comparación al método Soxhlet, la técnica de extracción acelerada con solvente, ofrece ventajas en un laboratorio como: disminución de los tiempos de extracción, bajo consumo y exposición a solventes orgánicos (generalmente tóxicos), extracciones simultáneas de muestras y fácil operación del sistema.
- Se observaron bajos porcentajes de recuperación en las dos técnicas de extracción, lo cual podría deberse a un segundo proceso adicional que se realiza a los extractos (limpieza). Por lo que se puede concluir que la

comparación de ambas técnicas es valedera, ya que en los dos se cometió el mismo error.

- Para muestras reales ambas técnicas resultaron ser buenas para extraer PAHs en suelos poco y muy contaminados.
- Fue necesario realizar la limpieza de los extractos usando sulfato de sodio anhidro, para remover agua y con alúmina para remover interferencias de los hidrocarburos.
- Se recomienda realizar más pruebas con el ASE, para proporcionar más información, por ejemplo se puede mirar el efecto de la composición de la matriz (suelo) sobre la extracción de PAHs, realizar pruebas de reproducibilidad, optimización del método ASE a nivel de laboratorio (tamaño de muestra, número de ciclos, tiempo de extracción, temperatura, etc.), antes de ser aplicado a las muestras reales.
- Se recomienda realizar pruebas con un tamaño de celda más pequeña (33 mL), de tal forma que la muestra tenga más contacto con el solvente, durante el proceso de extracción. Además esto permitirá reducir aún más el volumen de solvente de extracción.

BIBLIOGRAFIA

1. Wang, Wentao; Meng, Bingjun; Lu, Xiaoxia; Liu, Yu; Tao, Shu. Extraction of polycyclic aromatic hydrocarbons and organochlorine pesticides from soils: A comparison between Soxhlet extraction, microwave-assisted extraction and accelerated solvent extraction techniques. *Anal. Chim. A.* **2007**. 602. 211–222.
2. Gfrerer, M.; Serschen, M; Wenzl, T; Gawlik, B. M; Lankmayr, E. Fluidized-Bed Extraction of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons from Contaminated Soil Samples. *Chromatogr.* **2002**. 55. 467 – 473.
3. C. Mie`gea,; J. Dugayb,; M.C. Hennion. Optimization, validation and comparison of various extraction techniques for the trace determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in sewage sludges by liquid chromatography coupled to diode-array and fluorescence detection. *J. of Chromatogr. A.* **2003**. 995. 87–97.
4. José Antonio Soriano Sanz. EVALUACIÓN Y SEGUIMIENTO DEL CONTENIDO EN HIDROCARBUROS AROMÁTICOS POLICÍCLICOS (PAHs) EN MEJILLÓN SILVESTRE DE LA COSTA DE GALICIA Y CANTÁBRICO, ANTES Y DESPUÉS DEL VERTIDO DEL B/T PRESTIGE. 2009.
5. Leticia Rey Salgueiro. Factores que Determinan la Presencia de Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos como Contaminantes Agroambientales y Alimentarios. Tesis doctoral. 2008.

6. Marion Gfrerer, Markus Serschen, Ernst Lankmayr. Optimized extraction of polycyclic aromatic hydrocarbons from contaminated soil samples. *J. Biochem. Biophys.* **2002**. 53. 203–216.
7. METHOD 3545A. PRESSURIZED FLUID EXTRACTION (PFE).
8. L. Ramos, J.J. Vreuls, U.A.Th. Brinkman. Miniaturised pressurised liquid extraction of polycyclic aromatic hydrocarbons from soil and sediment with subsequent large-volume injection–gas chromatography. *J. of Chromatogr. A.* **2000**. 891. 275–286.
9. Nor'ashikin Saima; c, John R. Deanb; Md. Pauzi Abdulla; Zuriati Zakaria. Extraction of polycyclic aromatic hydrocarbons from contaminated soil using Soxhlet extraction, pressurised and atmospheric microwave-assisted extraction, supercritical fluid extraction and accelerated solvent extraction. *J. of Chromatogr. A.* **1997**. 791. 361–366
10. Noorashikin Md Saleh¹, M. Marsin Sanagi. COMPARISON OF PRESSURIZED LIQUID EXTRACTION WITH SOXHLET EXTRACTION IN THE DETERMINATION OF POLYCYCLIC AROMATIC HYDROCARBONS IN SOIL. *The Mal. J. of Anal. Sci.* **2009**. 13 (1). 141 – 145.
11. Y.F. Song a, X. Jing b, S. Fleischmann c, B.-M. Wilke. Comparative study of extraction methods for the determination of PAHs from contaminated soils and sediments. *Chemosph.* **2002**. 48. 993–1001.
12. N. Barco-Bonilla, J.L. Martínez Vidal, A. Garrido Frenich, R. Romero-González. Comparison of ultrasonic and pressurized liquid extraction for the analysis of polycyclic aromatic compounds in soil samples by gas chromatography. *J. of Chromatogr. A.* **2006**. 1132. 15–20.

13. A.K. Haritash, C.P. Kaushik. Biodegradation aspects of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs): A review. *J. of Haz. Mat.* **2009**. 169. 1–15.
14. Romano, E., A. Ausili, N. Zharova, M.C. Magno, B. Pavoni, M. Gabellini. Marine Pollution. Bulletin 49. Marine sediment contamination of an industrial site at Port of Bagnoli, Gulf of Naples, Southern Italy. **2004**. 487–495.
15. Methods Optimization in Accelerated Solvent Extraction (ASE). Technical Note 208.
16. METHOD 3540C. SOXHLET EXTRACTION
17. METHOD 3545A. PRESSURIZED FLUID EXTRACTION (PFE).
18. METHOD 3630C. SILICA GEL CLEANUP.