



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE QUERÉTARO

FACULTAD DE QUÍMICA

**“EVALUACIÓN DE DIFERENTES TÉCNICAS PARA LA
EXTRACCIÓN DE HIDROCARBUROS AROMÁTICOS
POLICÍCLICOS EN SUELO: MICROONDAS, SONICACIÓN Y
SOXHLET”**

TESIS

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
QUÍMICO EN ALIMENTOS**

PRESENTA

VÍCTOR MANUEL MONDRAGÓN OLGUÍN

DIRIGIDA POR

Dr. JOSÉ LUIS GALLEGOS PÉREZ

SANTIAGO DE QUERÉTARO, QUERÉTARO, 2008.

BIBLIOTECA CENTRAL, U.A.Q.

No. Adq., H72040

No. Título _____

Clas TS

547.61

M741e

DEDICATORIAS

A mis padres que siempre me han apoyado en todos mis proyectos, muchas gracias por todo y por siempre creer en mi.

Al Dr. José Luís Gallegos por todas sus enseñanzas, consejos durante el desarrollo del trabajo y sobre todo por ayudarme en mi desarrollo profesional.

Al maestro Pedraza por toda su ayuda a lo largo de la carrera, su paciencia y su amistad.

A la maestra Beatriz por su comprensión y apoyo.

A la Dra. Rosario por todas las oportunidades que me ha brindado y por enseñarme a ver las cosas de un punto de vista diferente.

Al Dr. Francisco Rojo por proporcionar materiales indispensables para el desarrollo de este trabajo.

A mis hermanas por entenderme, soportarme y ayudarme durante toda la vida.

A mis amigos en los que siempre he encontrado apoyo, consejos, muchas gracias por cada momento que he compartido al lado de cada uno.

ÍNDICE GENERAL

Contenido	Página
ÍNDICE GENERAL	i
ÍNDICE DE CUADROS	iii
ÍNDICE DE FIGURAS	vi
RESUMEN	
I. INTRODUCCIÓN	1
II. ANTECEDENTES	2
II.1 Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos (HAPs)	2
II.1.1 Formación de los HAPs	2
II.1.2 Usos de los HAPs	3
II.1.3 Principales fuentes de emisión	4
II.2 Problemática Ambiental	5
II.3 Toxicología	6
II.3.1 Vías de exposición	6
II.3.2 HAPs en los alimentos	7
II.3.3 HAPs en la vegetación y la fauna	7
II.4 HAPs y suelos	9
II.4.1 Degradación de los HAPs	9
II.5 Análisis y determinación de los HAPs	10
II.5.1 Métodos de extracción de HAPs	10
II.5.1.1 Extracción Sólido – Líquido	11
II.5.1.2 Extracción Soxhlet	11
II.5.1.3 Sonicación	11
II.5.1.4 Extracción por Fluidos Supercríticos	12
II.5.1.5 Extracción asistida por Microondas	12
II.5.1.6 Extracción por Solventes a Presión	13
II.5.2 Métodos de separación HAPs	13

Contenido	Página
II.5.2.1 Cromatografía de líquidos de alta eficiencia	13
II.5.3 Métodos de detección	14
II.5.3.1 Espectroscopia láser	15
II.5.3.2 Espectroscopia de fluorescencia	15
II.5.3.3 Espectroscopia de fluorescencia	15
II.6 Normativa	16
II.6.1 Legislación nacional	16
II.6.2 Legislación internacional	17
II.7 Diseño de experimentos	18
II.8 Toma de decisiones	19
III. HIPÓTESIS	21
IV. OBJETIVOS	22
IV.1 General	22
IV.2 Específicos	22
V. METODOLOGÍA	23
V.1 Materiales	23
V.2 Reactivos	24
V.3 Métodos	24
V.3.1 Equipo HPLC	24
V.3.1.1 Preparación de las soluciones madre de HAPs	25
V.3.1.2 Determinación del tiempo de retención de los HAPs	26
V.3.1.3 Condiciones del HPLC	26
V.3.1.4 Determinación del límite de detección del equipo	27
V.3.2 Preparación del suelo de referencia	28
V.3.2.1 Fortificación del suelo	29
V.3.3 Extracciones	29
V.3.3.1 Extracción Soxhlet	29
V.3.3.2 Extracción por microondas	30
V.3.3.3 Extracción por sonicación	31
V.4 Análisis de resultados	32

Contenido	Página
VI. RESULTADOS	34
VI.1 Determinación del tiempo de retención individual de los HAPs	34
VI.1.1 Optimización del método	36
VI.2 Curvas de calibración	38
VI.2.1 Límites de detección y cuantificación del equipo	40
VI.3 Preparación de la muestra	42
VI.3.1 Extracción Soxhlet	43
VI.3.2 Diseño experimental	45
VI.3.2.1 Análisis	45
VI.3.2.2 Microondas	46
VI.3.2.3 Sonicación	52
VI.4 Comparación entre métodos de extracción	53
VI.41 Proceso de Análisis Jerárquico	55
VIII. DISCUSIÓN	56
VII. CONCLUSIONES	60
VII. BIBLIOGRAFÍA	61
ANEXO I. Curvas de calibración para los HAPs analizados	66
ANEXO II. Gráficas y análisis para el diseño experimental en la extracción de HAPs por microondas	72
ANEXO III. Gráficas y análisis para el diseño experimental en la extracción de HAPs por sonicación	100
ANEXO IV. Proceso de Análisis Jerárquico	124

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro	Página
1. Límites máximos permisibles de HAPs en suelo	17
2. Estándares de HAPs y su límite de cuantificación en suelo	18
3. Preparación de las soluciones madres para la calibración del HPLC	25
4. Longitudes de onda para la excitación y emisión de HAPs en el detector de fluorescencia (FLD)	27
5. Concentraciones para la construcción de la curva de calibración	28
6. Valores codificados y reales de cada factor involucrado en el diseño experimental	30
7. Diseño experimental aleatorizado generado con el software JMP 5.0.1	31
8. Valores codificados y reales de cada factor involucrado en el diseño experimental	32
9. Diseño experimental aleatorizado generado con el software JMP 5.0.1	32
10. Tiempos de retención para los HAPs	35
11. Gradiente de elusión utilizado durante el análisis de HAPs en HPLC	36
12. Cambios realizados en el detector FLD durante el análisis	37
13. Tiempo de retención con el método optimizado	38
14. Parámetros de la regresión lineal	39
15. Límites de detección y cuantificación para los HAPs	41
16. Evaluación de la homogeneidad en muestras fortificadas	44
17. Matriz de efectos para el Floureno por extracción en microondas	46
18. Análisis de los efectos principales para Floureno	50
19. Resumen de los efectos estadísticamente significativos para los HAPs en la extracción por microondas	50
20. Componentes de la varianza	51
21. Condiciones de la extracción por microondas para la comparación entre métodos	51
22. Componentes de la varianza	52

Cuadro	Página
23. Condiciones de la extracción por sonicación para la comparación entre métodos	53
24. Resultados para las extracciones Soxhlet	53
25. Resultados para las extracciones por Microondas	54
26. Resultados para las extracciones por Sonicación	54
27. Porcentajes de recuperación de los HAPs	55
28. Calificaciones obtenidas en el proceso de análisis jerárquico	55

INDICE DE FIGURAS

Figura	Página
1. Estructura de los principales HAPs	2
2. Combinación de cromatogramas utilizando el software de análisis de datos	35
3. Cromatograma de la mezcla de HAPs	37
4. Curva de Calibración para el Naftaleno	40
5. Formulas utilizadas en el análisis de residuales	41
6. Cromatograma de solventes utilizados en la preparación de la muestra	42
7. Comparación de análisis a solventes utilizados para preparación de la muestra de referencia y los estándares analizados	43
8. Cromatograma de una muestra fortificada	44
9. Gráfica de efectos principales para Floureno $X_1(1)$, $X_2(2)$, $X_3(3)$, $X_1X_2(4)$, $X_1X_3(5)$, $X_2X_3(6)$, $X_1X_2X_3(7)$	47
10. Diseño cúbico del modelo experimental para la extracción de Floureno en microondas	48
11. Superficie de respuesta entre temperatura, volumen de solvente y tiempo para la extracción de Floureno en microondas	49

RESUMEN

En el presente trabajo se realizó una evaluación de diferentes técnicas de extracción para Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos (HAPs) en suelo, utilizando como técnica de referencia la extracción Soxhlet, dicha técnica es señalada por organismos internacionales como la agencia de protección al medio ambiente de los Estados Unidos de América (Environmental Protection Agency, EPA) debido a que de ella se obtienen los mejores porcentajes de recuperación de estos agentes contaminantes. Desafortunadamente la extracción por Soxhlet tiene grandes desventajas, como el tiempo excesivo de extracción y los grandes volúmenes de solventes que se requieren.

Se utilizó la extracción por microondas y sonicación como técnicas alternas para la preparación de la muestra, en las cuales se reducen tanto el tiempo de extracción para microondas hasta 15 minutos y sonicación 30 minutos, el volumen de los solventes utilizados se redujo en un 70 % para microondas y para sonicación en un 80% del utilizado en Soxhlet. Este análisis se realizó en suelos previamente sometidos a una extracción exhaustiva, con la finalidad de extraer el total de HAPs presentes de forma natural y contar con una porción de suelo libre de HAPs, se realizaron diseños experimentales para evaluar la influencia de diferentes factores en cada método de extracción, se cuantificó la influencia de la temperatura, el volumen de solvente y tiempo de extracción para microondas y el volumen de solvente y tiempo de extracción en el caso de sonicación. Los métodos no presentaron diferencias estadísticamente significativas para la extracción de HAPs, pero mediante un proceso de análisis jerárquico se demostró que al evaluar otros factores como el costo del equipo, el tiempo de análisis y el gasto de solventes, la mejor opción resulta ser la de microondas con un 53 % de preferencia, sonicación un 34 % y Soxhlet un 13 %.

I. INTRODUCCIÓN

Los Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos (HAPs) son contaminantes que se encuentran en todos los ecosistemas del medio ambiente, ya sea en la atmósfera, suelo o agua. Debido a su carácter carcinogénico y mutagénico de algunos HAPs, su determinación y cuantificación en muestras ambientales es de gran importancia.

Un gran número de diferentes técnicas son descritas en la literatura para llevar a cabo la extracción de HAPs en diferentes tipos de matrices ambientales. Dichas técnicas son realizadas tradicionalmente mediante extracción Soxhlet (Miège y col., 2003; Flotron y col., 2003), la cual desafortunadamente requiere un consumo excesivo de tiempo y grandes volúmenes de solventes orgánicos, los cuales son tóxicos, además del costo alto de adquisición de los mismos.

En los últimos años, nuevas técnicas de extracción han sido establecidas para reducir el volumen de los solventes requeridos, mejorar la precisión en el análisis de la recuperación de los analitos y sobre todo reducir el tiempo empleado en la preparación de la muestra y con esto tener una reducción en los costos.

A partir de un diseño experimental se analizarán los efectos de la variación de distintos factores en la extracción asistida por microondas y sonicación con la finalidad de optimizar estos métodos y poder realizar una comparación con el método oficial para la extracción de los HAPs y decidir cual de las tres opciones brinda los mejores resultados.

II. ANTECEDENTES

II.1 Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos (HAPs)

Los Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos (HAPs) son un grupo de sustancias químicas conformado por más de cien clases diferentes, que generalmente se encuentran en el ambiente como mezclas complejas y no como compuestos simples (Moiz, 1995), en la Figura 1 se muestra como su estructura se conforma típicamente por dos o hasta ocho anillos aromáticos (Barra, 2006).

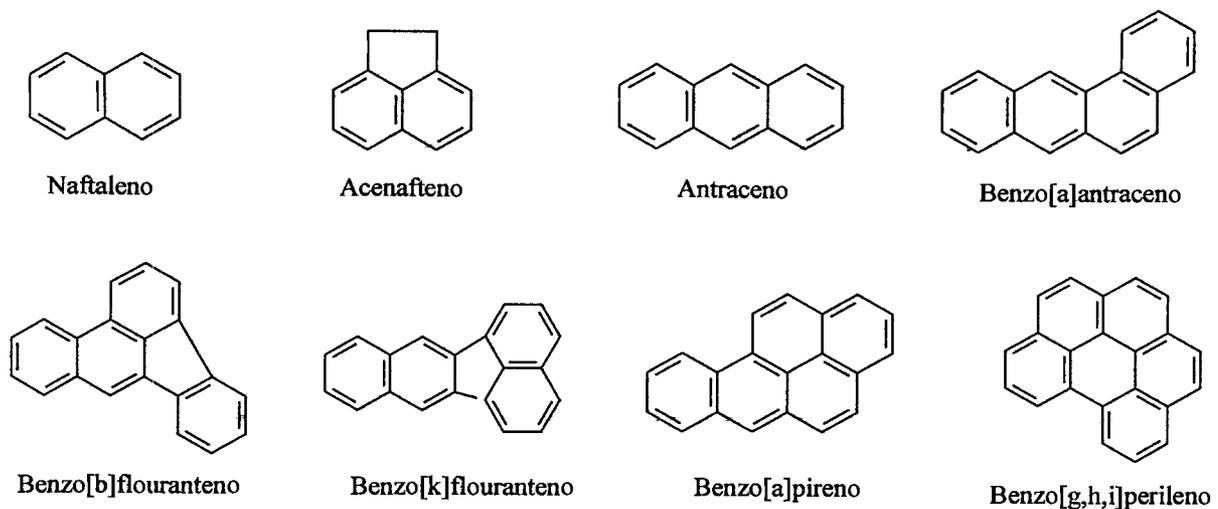


Figura 1. Estructura de los principales HAPs

II.1.1 Formación de los HAPs

Los HAPs se forman por pirólisis o combustión incompleta de materia orgánica o sintética que contenga carbono e hidrógeno (Siwinska, 2006). A elevadas temperaturas, la pirólisis de estos compuestos produce fragmentos de moléculas y radicales que se combinan para dar lugar a los HAPs (Mastandrea, 2005).

La clase de compuestos formados durante este proceso dependen de diversos factores, como la naturaleza del combustible, la temperatura y el tiempo durante el cual permanezca el combustible a una elevada temperatura. Los combustibles que forman HAPs son metano, otros hidrocarburos, ligninas y péptidos. Sin embargo, los compuestos que contienen cadenas laterales, los compuestos insaturados y las estructuras cíclicas suelen favorecer la formación de HAPs (OIT, 1998).

Los HAPs son compuestos que en su estructura contienen típicamente de dos a ocho anillos aromáticos y sus sistemas conjugados de orbitales π son los responsables de su estabilidad química y por los cuales muestran un carácter semivolátil e hidrofóbico (Barra, 2006). Son solubles en muchos disolventes orgánicos, pero muy poco solubles en agua, dicha solubilidad disminuye cuando aumenta el peso molecular, son sólidos a temperatura ambiente y su volatilidad es muy pequeña (OIT, 1998). Reaccionan rápidamente con óxidos de nitrógeno, ácido nítrico, óxidos de azufre y ácido sulfúrico, la mayoría de los HAPs sufren foto oxidación, siendo ésta una forma natural para eliminarlos de la atmósfera (Mastandrea, 2005). Debido a su comportamiento no polar, son adsorbidos principalmente por partículas sólidas suspendidas o bien tienden a acumularse en suelos y sedimentos de ríos (Leonhardt, 1998). Dependiendo de su carácter aromático, los HAPs absorben luz ultravioleta y producen un espectro fluorescente característico (Moiz, 1995).

II.1.2 Usos de los HAPs

La importancia económica de los hidrocarburos aromáticos ha aumentado progresivamente desde que a principios del siglo XIX se utilizaba la nafta de alquitrán de hulla como disolvente del caucho. En la actualidad, los principales usos de los compuestos aromáticos como productos puros son: la síntesis química de plásticos, caucho sintético, pinturas, pigmentos, explosivos, pesticidas, detergentes, perfumes y fármacos. También se utilizan, principalmente en forma de mezclas, como disolventes y como constituyentes en proporción variable de la gasolina.

De manera específica, el cumeno ($C_6H_5C_3H_7$) se utiliza como componente de alto octanaje en los combustibles de los aviones, como disolvente de pinturas y lacas de celulosa, como materia prima para la síntesis de fenol, acetona y para la producción de estireno por medio de la pirólisis.

La cumarina ($C_9H_6O_2$) se utiliza como desodorante o como potenciador del olor en jabones, tabaco, productos de caucho y perfumes. También se utiliza en preparados farmacéuticos.

El benceno (C_6H_6) se ha prohibido como componente de productos destinados al uso doméstico y en muchos países también se ha prohibido su uso como disolvente y componente de los líquidos de limpieza en seco. El benceno se ha utilizado ampliamente en la fabricación de estireno, fenoles, anhídrido maleico, detergentes, explosivos, productos farmacéuticos y colorantes. También se ha empleado como combustible, reactivo químico y agente de extracción para semillas y frutos secos.

En caliente y mezclado con etanol el tolueno es un disolvente de aceites, resinas, caucho natural y sintético, alquitrán de hulla, asfalto, brea y acetilcelulosas. También se utiliza como disolvente y diluyente de pinturas, barnices de celulosa y como diluyente de las tintas de fotograbado.

El naftaleno ($C_{10}H_8$) se utiliza como material de partida para la síntesis orgánica de una amplia gama de sustancias químicas, como antipolillas, y en conservantes de madera. También se emplea en la fabricación de índigo y se aplica externamente al ganado o las aves para controlar los insectos parásitos.

El estireno (C_8H_8) se utiliza en la fabricación de una amplia gama de polímeros (como el poliestireno) y elastómeros copolímeros, como el caucho (OIT, 1998).

II.1.3 Principales fuentes de emisión

Una de las principales fuentes de contaminación es la generada por los motores de combustión interna, en la cual los HAPs se emiten en grandes cantidades, para posteriormente distribuirse en los ecosistemas de acuerdo a sus propiedades fisicoquímicas (Crépineau y col., 2003).

Se incorporan al medio ambiente principalmente a través de las erupciones de los volcanes, incendios forestales, la quema de madera en los hogares y como consecuencia de la quema de combustibles utilizados en los automóviles. También pueden entrar a las aguas superficiales a través de las descargas de plantas industriales y plantas de tratamiento de aguas residuales, de igual forma pueden entrar en contacto con los suelos al ser liberados de los sitios de desechos peligrosos si se presenta una fuga en los contenedores donde se almacenan (Moiz, 1995).

II.2 Problemática Ambiental

La contaminación es un efecto colateral inevitable a lo largo del desarrollo humano. Dicho desarrollo trae como resultado la industrialización y un aumento en la carga de transporte, convirtiéndose en un problema que se perfila como un gran riesgo de vital importancia para los ecosistemas y la salud humana (Kluska, 2003). Como consecuencia de la contaminación algunos compuestos como los HAPs se encuentran ampliamente distribuidos por todo el planeta, a nivel de la atmósfera, en los alimentos, suelo, ambientes de trabajo (Koffi y col., 2005) e inclusive se encuentran presentes en el universo (Lovas y col., 2005).

A pesar de la gran distancia entre las fuentes de emisión, ya sean de carácter urbano o industrial, los HAPs se encuentran en concentraciones relativamente altas en áreas rurales alejadas, debido a su gran afinidad con algunas partículas estos pueden ser transportados distancias enormes, translocándolos inclusive a regiones polares y zonas montañosas (Wolfgang, 2004). Este comportamiento se atribuye a su capacidad de ser transportados a largas distancias como aerosoles y a su resistencia evidente a la degradación por partículas atmosféricas (Barra, 2006).

II.3 Toxicología

Los HAPs han generado un gran interés, no solamente por su amplia distribución en el ambiente, sino también debido a su alto poder carcinogénico y mutagénico. A estos compuestos se les asocia con problemas hemato-, cardio-, neuro-, e inmunotoxicidad tanto en humanos como en animales de laboratorio (Zheng y col., 2006).

II.3.1 Vías de exposición

La población se encuentra expuesta a estos contaminantes en diversos lugares, como el hogar (Moiz, 1995); por ejemplo, en Taiwan y China el cáncer de pulmón es el más frecuente en mujeres y esta incidencia se asocia al humo producido por los tipos de combustible utilizados durante la preparación de alimentos (Chen y Chen, 2003), así como al aire libre o en el propio ambiente de trabajo debido al humo de cigarro (Zheng y col., 2006).

En lo que respecta a las partículas suspendidas, los HAPs son considerados de alto riesgo, debido a que se encuentran clasificados de acuerdo a su diámetro molecular en una escala denominada Aitken, en la cual se relaciona el tamaño de estas partículas y su deposición en el sistema respiratorio de seres humanos y animales, específicamente en los alvéolos pulmonares (Aarantzazu y col., 2005).

Los HAPs se absorben por medio de la piel al entrar en contacto con suelos contaminados, mientras que para la mayoría de la gente la ingestión y la inhalación son las rutas más comunes de exposición (Zheng y col., 2006), representando la ingestión la vía más importante de exposición en un rango porcentual de 88 a 98% (Kluska, 2003); aunque cabe señalar que para ciertas ocupaciones laborales la absorción vía dérmica se convierte en la principal ruta de exposición (Zheng y col., 2006).

II.3.2 HAPs en los alimentos

Debido a sus propiedades físicas y químicas los HAPs se hacen presentes en la cadena alimenticia principalmente en compartimentos hidrofóbicos, acumulándose por consecuencia en los lípidos (Grova y col., 2002).

A través de diferentes vías se puede explicar la presencia de los HAPs en los alimentos, ya sea por medio de la deposición de las partículas presentes en la atmósfera, por el contacto con materiales fabricados a partir de hidrocarburos, o bien por la formación de los mismos durante el procesamiento de los alimentos a elevadas temperaturas (Koffi y col., 2006), tales como, el asado, el rostizado, el tostado o el ahumado de los alimentos (Pagluica y col., 2003).

II.3.3 HAPs en la vegetación y la fauna

El incremento en el tráfico vehicular puede generar problemas de contaminación en la vegetación y cultivos que crecen en zonas cercanas a autopistas, la cual en numerosas ocasiones es utilizada para la alimentación de animales rumiantes. De los cuales se sabe que no solamente consumen plantas, sino también ingieren una gran cantidad de suelo, entre 0.5 y 18% de la materia seca (Crépineau y col., 2003). El consumo diario de suelo puede rebasar 1.5 kg dependiendo del clima, estación del año, densidad del pasto y tamaño de la manada. En el caso de las vacas pueden ingerir más de 2 mg de HAPs diariamente, especialmente en pastizales cercanos a carreteras altamente transitadas. Los HAPs pueden ser transformados a hidroxi-HAPs en el rumen por actividad bacteriana y posteriormente ser secretados en la leche (Lutz y col., 2006). En esto radica su importancia, ya que como se conoce la leche es un alimento básico en la dieta humana, especialmente para los niños que son mas susceptibles a la presencia de estos compuestos carcinogénicos (Grova y col., 2002). Por lo tanto es importante saber como se comportan estos contaminantes y como son transferidos del animal a sus derivados alimenticios (Crépineau y col., 2003).

Otro hecho importante se presenta cuando se realiza la fertilización de suelos con ceniza, la cual se conoce que contiene altas concentraciones de metales pesados y otros contaminantes. El efecto adverso de esta práctica se presenta debido a que a la posterior adición de cenizas al suelo, hay un incremento en el pH, lo cual provoca un incremento en la cantidad de materia orgánica disuelta, así como un aumento de la mineralización. Debido a esto, se puede presentar una movilización de la materia orgánica ya acumulada y también de los contaminantes presentes ocasionando una redistribución, durante la cual los HAPs pueden adherirse a pequeñas partículas y ser arrastrados hasta corrientes de agua (Salguero y col., 2004).

En lo que respecta a la vegetación, los contaminantes orgánicos pueden entrar en contacto con las plantas por medio del suelo o agua contaminada. Dichos contaminantes pueden sufrir una translocación al interior de la planta, la cual se presentará de acuerdo a sus propiedades y condiciones ambientales. La mayoría de los contaminantes hidrofílicos con un $\log K_{oa}$ (coeficiente de partición del octanol en agua) < 4 , se acumulan en la raíz de la planta y pueden ser translocados al interior de la misma, mientras que los contaminantes de carácter lipofílico con un $\log K_{oa} > 4$, se acumulan en el exterior de la raíz y no pueden sufrir una translocación al interior de la planta. Los HAPs son compuestos orgánicos semivolátiles con un rango de $\log K_{oa}$ entre 3 y 7.

La principal forma en la que los contaminantes orgánicos lipofílicos entran en contacto con la planta es a través de las hojas (Lin, 2006), las cuales poseen una gran área superficial, donde se pueden acumular HAPs que se encuentran en el aire (Lin y col., 2004). Todo esto tiene su impacto cuando se trata de plantas utilizadas para la elaboración de té, la cual es considerada la bebida mas consumida a lo largo del planeta después del agua (Lin, 2006). No obstante, la migración de estos contaminantes al interior de la hoja es muy lenta; sin embargo Hustler y col. observaron que algunas especies como *C. pepo* acumularon y translocaron altas cantidades de pesticidas de suelos contaminados.

Cabe mencionar que también el uso de aguas residuales para el riego de campos agrícolas acarrea una alta posibilidad de contaminación por HAPs y su posterior

ingreso a la cadena alimenticia por medio de los productos obtenidos (Miège y col., 2003)

II.4 HAPs y suelos

Conocer las interacciones entre los analitos y la matriz que las contiene es de gran importancia para los procesos de análisis, con el fin de llegar a una mejor comprensión de los fenómenos que ocurren; así como para obtener mejores resultados durante la aplicación de métodos analíticos.

Especialmente en los suelos, los compuestos hidrofóbicos, como los HAPs, presentan una gran superficie de adsorción y conforme transcurre el tiempo, estos se particionan en las diferentes fases orgánicas, por medio de la generación de microvacíos. Este fenómeno, hace referencia al envejecimiento y es también asociado a ser el mayor obstáculo para obtener una recuperación completa de contaminantes orgánicos presentes en matrices sólidas complejas (Szolar y col., 2002). Por lo tanto un proceso de extracción más exhaustivo es requerido para liberar a los analitos enlazados a su matriz. En contraste, el uso de una extracción más exhaustiva tiene como desventaja la extracción de otros compuestos que pueden interferir durante el análisis (You y col., 2004).

II.4.1 Degradación de los HAPs

En los inicios del siglo pasado existía un balance entre la producción de HAPs y su degradación fotoquímica. Desafortunadamente en la actualidad se trata de un problema serio de contaminación. La cantidad de HAPs encontrados en el suelo es el resultado de los compuestos depositados por el polvo, desechos, sedimentos o compostas, así como también de los compuestos removidos por evaporación, lavado, biodegradación o descomposición química. Una de las características de los HAPs es que su degradación es relativamente rápida, su vida media en el medio ambiente es de un tiempo aproximado de un mes (Kluska, 2003).

Durante la degradación de los HAPs, existen una gran variedad de transformaciones y productos que pueden ser formados, incluyendo cetonas, quinonas, fenoles y ácidos carboxílicos. Muchos de estos compuestos presentan una mayor toxicidad que sus predecesores y aunque presentan una vida media relativamente corta, algunos de estos contaminantes son considerados como persistentes y generalmente son encontrados en concentraciones altas.

Principalmente las HAPs-cetonas y HAPs-quinonas son las principales formas subsistentes y que son encontrados con regularidad junto con los HAPs en suelos contaminados. Estos oxi-HAPs se forman a través de procesos tanto bióticos como abióticos, su formación puede incrementarse durante procesos en los cuales la degradación de los HAPs es acelerada, por ejemplo, durante la remediación de suelos. Por lo tanto, es necesario no solamente monitorear los HAPs durante la remediación de suelos, sino también tener en cuenta los productos de degradación durante la valoración de riesgos en sitios contaminados, sin embargo los Oxi-HAPs y otros productos han sido analizados en muy pocas ocasiones, debido al costo y complejidad de los métodos analíticos requeridos (Lundstedt y col., 2006).

II.5 Análisis y determinación de los HAPs

En los últimos años una gran variedad de métodos han sido desarrollados, con el fin de mejorar los porcentajes de recuperación, reducir los tiempos de análisis y el costo de los mismos (Szolar y col., 2002).

II.5.1 Métodos de extracción de HAPs

Debido a su naturaleza hidrofóbica, durante la extracción una parte puede ser adsorbida en las paredes de los contenedores, provocando que la cuantificación sea más difícil e incrementando los problemas de sensibilidad (Yoon y col., 2005). A continuación se presenta una reseña de los principales métodos de extracción para matrices como el suelo y sedimentos.

II.5.1.1 Extracción Sólido – Líquido

En esta técnica se coloca la muestra en un recipiente fijo y el solvente es añadido para disolver el analito de interés; la solución es separada del sólido por medio de filtración. El solvente puede ser calentado o utilizado en varias ocasiones para aumentar la cantidad soluble de analito; la muestra debe de estar finamente dividida para aumentar su superficie de contacto. También se puede agitar de forma manual o automática y para el proceso de separación se puede utilizar la filtración, decantación o centrifugación (Settle, 1997)

II.5.1.2 Extracción Soxhlet

Tradicionalmente la extracción Soxhlet ha sido utilizada para muestras sólidas. Las principales desventajas de esta técnica son los grandes volúmenes requeridos de solventes orgánicos, además de varios procesos en los cuales se tiene el riesgo de perder una cantidad significativa del analito (Sanz y col., 2006).

La muestra se coloca en un contenedor fabricado de material poroso; sometido a un reflujo constante de solvente que es calentado en un matraz. La extracción se realiza y es estable en el punto de ebullición de los solventes. El proceso es lento, pero es muy barato comparado con el costo de adquisición de un sistema de fluidos supercríticos o microondas y se obtienen excelentes porcentajes de recuperación (Settle, 1997).

II.5.1.3 Sonicación

La muestra se sumerge en un baño ultrasónico en el cual se somete la muestra a radiación ultrasónica, el proceso puede ser favorecido aumentando la temperatura del baño. Es un proceso rápido, seguro y óptimo para muestras granulares. Además, varias muestras pueden ser sometidas a este proceso al mismo tiempo (Settle, 1997). Una de las principales desventajas de esta técnica, se debe a la formación de burbujas en el líquido, cuando estas burbujas estallan se provoca una

concentración elevada de energía acústica en un volumen muy pequeño, dando como resultado altas presiones y temperaturas elevadas en tiempos muy cortos. Los radicales que se forman durante este proceso pueden reaccionar con algunos HAPs. Esta descomposición conocida como sonolítica puede tener como consecuencia la destrucción de los HAPs, afectando su cuantificación durante el análisis (Leonhardt, 1998).

II.5.1.5 Extracción por Fluidos Supercríticos

Se realiza en un recipiente fijo, donde se coloca la muestra y a través del cual se hace pasar un fluido supercrítico, como el CO₂. El analito extraído es colectado por medio de adsorción y posteriormente recuperado con la adición de solvente en la superficie adsorbente (Settle, 1997).

La extracción por medio de fluidos supercríticos (SFE) es una técnica que se considera poco agresiva con el medio ambiente ya que se utiliza CO₂ como medio de extracción a comparación de otras técnicas en las que se utilizan solventes orgánicos, SFE ofrece una eficiencia de extracción mejor o igual que otras técnicas. Los extractos obtenidos por medio de SFE son considerados limpios, dadas las bajas concentraciones de compuestos que interfieran con el CO₂. Esta característica permite la inyección directa de los extractos en sistemas de cromatografía sin procedimientos previos de limpieza. Además, la posibilidad de contaminación, volatilización o degradación de la muestra es mínima (Wang y col., 2003).

II.5.1.6 Extracción asistida por Microondas

La muestra se coloca en un recipiente abierto o cerrado y se somete a un calentamiento por medio de energía de microondas, por un periodo controlado de tiempo, causando la extracción del analito (Settle, 1997).

Para la extracción asistida por microondas, el solvente es elegido de acuerdo a la matriz que se desee tratar. El diclorometano es recomendable para el análisis de HAPs en pegamento, mientras que en otros estudios, el utilizar acetona brinda mejores resultados que las mezclas de hexano:acetona para la extracción de suelos contaminados y para sedimentos acuosos se obtienen mejores resultados utilizando un medio micelar como la N-metil-2-pirrolidona (Flotron y col., 2003).

II.5.1.7 Extracción por solventes a presión

La muestra se coloca en un contenedor sellado y calentado a una temperatura superior al punto de ebullición del solvente, causando un incremento en la presión al interior del contenedor; la muestra extraída es automáticamente removida y transferida a un vial para un tratamiento exhaustivo, es decir a presiones muy altas y tiempos prolongados (Settle, 1997).

Es una técnica en la que se requieren volúmenes muy pequeños de solventes y las extracciones se realizan en condiciones de 50 °C hasta 200 °C, con el fin de incrementar la velocidad de extracción y presiones de 5 a 200 atmósferas son utilizadas para mantener en estado líquido el solvente (Sanz y col., 2006).

II.5.2 Métodos de separación

II.5.2.1 Cromatografía de líquidos de alta eficiencia

La Cromatografía de líquidos de alta eficiencia (High Performance Liquid Chromatography, HPLC) es una técnica de separación, análisis y purificación de muestras ampliamente aceptada en diferentes áreas de investigación como la farmacéutica, medio ambiente, biotecnología, así como también en la industria alimenticia.

La cromatografía es una técnica en la cual los analitos son separados por un diferencial en sus velocidades de elusión cuando se hacen pasar a través de una columna cromatográfica. La separación que se lleva a cabo en la columna se

encuentra gobernada por la distribución de los analitos entre la fase móvil y una fase estacionaria. Para obtener una adecuada separación en una muestra en particular se requiere tener una combinación de varios factores de operación, como el tipo de columna utilizada, el diámetro, la longitud, la fase móvil, el flujo de la fase móvil, la temperatura y la cantidad de muestra inyectada.

El instrumento utilizado en HPLC consta de los siguientes componentes: Contenedores para la fase móvil, sistema para impulsar la fase móvil, inyector, columna, detector, contenedor de desechos, tubería, computadora y un recolector de los datos.

Algunas de las limitaciones que tiene esta técnica pueden referirse a la poca resolución en mezclas complejas y solo se puede realizar un análisis a la vez, los tiempos de análisis pueden ser muy grandes y actualmente aunque ya se encuentra este sistema acoplado con la espectrometría de masas aun no es ampliamente utilizado por su costo (Settle, 1997).

II.5.3 Métodos de detección

Es una necesidad constante la de mejorar los métodos analíticos existentes para la determinación de HAPs, pero no solamente limitándose a acortar el tiempo requerido para el análisis o disminuir el costo de estos; sino también enfocarse a obtener una mejor selectividad, límites de detección más bajos y construir equipos capaces de realizar las mediciones dentro del campo de investigación (Yoon y col., 2005).

Su cuantificación nos permite comprender su comportamiento en nuestro medio ambiente, así como, el nivel de contaminación de un determinado lugar y su posible remediación (Sanz y col., 2006).

II.5.3.1 Espectroscopia láser

En la espectroscopia láser de masas, no se requiere una preparación de la muestra y ofrece ventajas significativas, debido a su alta sensibilidad, puede ser utilizada para diversos tipos de análisis en matrices complejas como rocas, sedimentos, aerosoles o materiales provenientes del espacio exterior.

Su principal desventaja, es que hasta el momento los análisis cuantitativos no son posibles, solamente se obtiene una abundancia relativa de los diferentes HAPs (Kalberer y col., 2002).

II.5.3.2 Espectroscopia de fluorescencia

La espectroscopia de fluorescencia, es considerada la de más alta sensibilidad, evita el alto consumo de reactivos y es adaptable en las mediciones de campo, es una técnica analítica de alto alcance para el análisis de HAPs en muestras ambientales. Aunque la selectividad de la espectroscopia de fluorescencia esta basada en el hecho que relativamente algunos compuestos muestran fluorescencia intrínseca, y la intensidad de emisión depende de dos variables, relacionadas con la longitud de onda de emisión y excitación, el amplio campo de aplicación de las técnicas de fluorescencia se ve limitada de igual forma por la falta de selectividad en este tipo de espectroscopia (Yoon y col., 2005).

II.5.3.3 Espectrometría de masas

La espectrometría de masas (MS) no es una espectroscopia de absorción como infrarrojo (IR), resonancia magnética nuclear (RMN) y ultravioleta visible (UV). Es el registro de los fragmentos que se obtienen de una molécula al ser bombardeada con un haz de electrones.

Los principios básicos de la MS se deben a Wien, quien en 1898 demostró que los iones positivos pueden ser desviados por campos eléctricos y magnéticos. En 1912

J.J. Thomson registró los primeros espectros de moléculas sencillas. En 1918 Demster y Aston crearon los primeros aparatos. En 1950-1958 Beynon, Bieman, y Mc Lafferty demostraron la relación entre grupos funcionales y las señales derivadas de fragmentación. La alta resolución y procesamiento de datos mediante computadoras, permitió aumento de la sensibilidad y alto poder de resolución.

Algunas de las aplicaciones son la determinación rápida de pesos moleculares exactos con mínimas cantidades de producto, recaudar información sobre la estructura a partir de los fragmentos encontrados. Industrialmente la espectrometría de masas de alta resolución (HRMS, High resolution mass spectroscopy) es el método idóneo para la detección de impurezas, contaminantes y fraudes (Sepulveda, 2007).

II.6 Normativa

II.6.1 Legislación nacional

De acuerdo a la norma oficial mexicana NOM-138-SEMARNAT/SS-2003, se disponen los siguientes límites para los HAPs en diferentes tipos de suelos (Ver Cuadro 1), el 20 de agosto de 2002 se publicó en el Diario Oficial de la Federación, la Norma Oficial Mexicana de Emergencia: Límites máximos permisibles de contaminación en suelos por hidrocarburos, caracterización del sitio y procedimientos para la remediación (NOM-138, 2005).

Cuadro 1. Límites máximos permisibles de HAPs en suelo.

Hidrocarburos específicos	Uso de suelo predominante (mg/kg base seca)		
	Agrícola	Residencial	Industrial
Benceno	6	6	15
Tolueno	40	40	100
Etilbenceno	10	10	25
Xilenos	40	40	100
Benzo[a]pireno	2	2	10
Dibenzo[a,h]antraceno	2	2	10
Benzo[a]antraceno	2	2	10
Benzo[b]Fluoranteno	2	2	10
Benzo[k]Fluoranteno	8	8	80

II.6.2 Legislación internacional

De acuerdo al método 8310 publicado por la Agencia de Protección del Medio Ambiente de los Estados Unidos de América (Environmental Protection Agency, EPA), el cual especifica el método para la cuantificación de HAPs en aguas residuales, sedimentos y suelos, se utiliza exclusivamente para la detección de los compuestos reportados en el Cuadro 2 y establece los límites de cuantificación para cada compuesto en suelo (EPA, 1986).

Cuadro 2. Estándares de HAPs y su límite de cuantificación en suelo.

Compuesto	Límite de cuantificación (mg/L)
Naftaleno	18
Floureno	2.1
Fenantreno	6.4
Antraceno	6.6
Fluoranteno	2.1
Pireno	2.7
Benzo[a]Antraceno	0.13
Criseno	1.5
Benzo[b]Fluoranteno	0.18
Benzo[k]Fluoranteno	0.17
Benzo[a]Pireno	0.23
Dibenzo(a,h)Antraceno	0.3
Benzo(g,h,i)Perileno	0.76

II.7 Diseño de experimentos

Los modelos de diseño de experimentos son modelos estadísticos clásicos cuyo objetivo es averiguar si determinados factores influyen en la variable de interés y, si existe influencia de algún factor, cuantificarla.

La metodología de estos diseños se basa en la experimentación. Es conocido que si se repite un experimento, en condiciones indistinguibles, los resultados presentan variabilidad, la cual puede ser grande o pequeña. Si la experimentación se realiza en un laboratorio donde la mayoría de las causas de variabilidad están muy

controladas, el error experimental será pequeño. El objetivo del diseño de experimentos es estudiar si utilizar un determinado tratamiento produce una mejora en el proceso o no.

Los diseños factoriales estadísticos involucran la combinación de dos o más factores, cada uno a distintos niveles, lo que conduce a distintos tratamientos. Los factores son variables independientes de las cuales nos interesa medir su efecto sobre una variable dependiente o respuesta; los niveles son las categorías en las cuales se puede dividir un factor. El objetivo general de los diseños factoriales es determinar si existe efecto de los factores estudiados y también si existe interacción entre ellos (Barrera, 2003).

En resumen la metodología del diseño de experimentos estudia cómo variar las condiciones habituales de la realización de un proceso empírico para aumentar la probabilidad de detectar cambios significativos en la respuesta, de esta forma se obtiene un mayor conocimiento del proceso de interés (Universidad Coruña, 2005).

Para la extracción de los HAPs asistida por microondas y sonicación se evaluaron diferentes factores, para cuantificar su influencia y significancia en la recuperación de estos compuestos.

II.8 Toma de decisiones

El proceso de análisis jerárquico (AHP, *Analysis Hierarchic Process*) fue desarrollado por Satty en 1980 como un proceso para elegir la decisión más conveniente cuando existen múltiples criterios, además organiza y evalúa la influencia de los criterios u objetivos seleccionados y su importancia relativa en las alternativas de solución, mediante el desarrollo de la jerarquización del problema, identifica la importancia relativa de los factores, se obtienen mediciones del desempeño relativo de cada elemento en la jerarquía y se convierten estas medidas en mediciones globales de desempeño. El AHP trata directamente con

pares ordenados en base a prioridades de importancia, preferencia o probabilidad de pares de elementos en función de un atributo o criterio común representado en la jerarquía de decisión. Esta técnica se aplica en la predicción de criterios probables, ubicar recursos, apoyar decisiones en el diseño de un proceso, seleccionar alternativas y en el análisis de costo-beneficio (Lecona, 2005).

III. HIPÓTESIS

La extracción de Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos (HAPs) en muestras de suelo por medio de ondas ultrasónicas y microondas es más eficiente que por Soxhlet.

IV. OBJETIVOS

IV.1 General

Evaluar diferentes técnicas de extracción para Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos (HAPs) en muestras de suelo.

IV.2 Específicos

- Establecer los parámetros cromatográficos de HPLC para el análisis de HAPs.
- Evaluar el límite de detección y cuantificación del instrumento (HPLC)
- Evaluar la factibilidad de cada técnica en función del tiempo de preparación de la muestra, el porcentaje de recobro de cada compuesto, la inversión económica.

V. METODOLOGÍA

V.1 Materiales

- Equipo HPLC Agilent 1100.
- Columna Zorbax Eclipse AAA 150 x 4.6 mm.
- Matraces aforados 10 mL.
- Matraces aforados 5 mL.
- Matraces aforados 1 mL.
- Micropipeta 10 μ L – 100 μ L.
- Micropipeta 100 μ L – 1000 μ L.
- Micropipeta 1 mL – 5 mL.
- Puntas para micropipeta.
- Balanza analítica Sartorius 5450.
- Viales para Head Space Agilent 7694E.
- Pipetas Pasteur.
- Equipo Soxhlet.
- Plato caliente.
- Recirculador.
- Equipo Rotap W. S. Tyler RX-29.
- Sonicador Branson 2510.
- Horno de microondas Mars5.
- Roto evaporador.
- Campana de extracción.
- Filtros 0.25 μ m.
- Espátula.
- Jeringas 3 mL.
- Matraces Erlenmeyer 25 mL.
- Estufa Ríos HS-33
- Matraces bola de fondo plano.

V.2 Reactivos

- Acetonitrilo grado HPLC (J.T. Baker)
- Agua destilada grado HPLC
- Acetona grado HPLC (J.T. Baker).
- Hexano grado HPLC (J.T. Baker).
- Cloruro de Metileno (J.T. Baker).
- Etanol (J.T. Baker).
- Naftaleno(C₁₀H₈) Supelco.
- Floureno (C₁₃H₁₀) Chem Service.
- Fenantreno (C₁₅H₁₂) Chem Service.
- Antraceno (C₁₀H₁₄) Supelco.
- Fluoranteno (C₁₆H₁₀) Supelco.
- Pireno (C₁₀H₁₆) Chem Service.
- Criseno (C₁₈H₁₂) Supelco.
- Benzo(a)Antraceno (C₁₈H₁₂) Supelco.
- Benzo(b)Fluoranteno (C₂₀H₁₂) Supelco.
- Benzo(k)Fluoranteno (C₂₀H₁₂) Supelco.
- Benzo(a)Pireno (C₂₀H₁₂) Supelco.
- Dibenzo(a,h)Antraceno(C₂₂H₁₄) Supelco.
- Benzo(g,h,i)Perileno. (C₂₂H₁₂) Supelco.

V.3 Métodos

V.3.1 Equipo HPLC

El equipo que se utilizó para realizar los análisis es un cromatógrafo de líquidos de alta eficiencia modelo Agilent 1100, equipado con un degasificador G1322A, una bomba cuaternaria G1311A, inyector automático G1328B, detector de arreglo de diodos (DAD) G1315B y un detector de fluorescencia (FLD) G1313A.

V.3.1.1 Preparación de las soluciones madre de HAPs

Las soluciones madre de los estándares se prepararon en matraces aforados de 10 mL, en los cuales se pesaron las cantidades establecidas en el Cuadro 3 para cada estándar y se aforaron con acetonitrilo grado HPLC, guardándolas en viales, protegiéndolas con una tapa de teflón y manteniéndolas en refrigeración. El Cuadro 3 muestra la cantidad pesada de cada HAP y la concentración de cada solución en $\mu\text{g/mL}$.

Cuadro 3. Preparación de las soluciones madres para la calibración del HPLC.

Compuesto	Peso (mg)	Concentración ($\mu\text{g/mL}$)
Naftaleno	4.4	440
Floureno	6.0	600
Fenantreno	2.1	210
Antraceno	2.2	220
Fluoranteno	2.2	220
Pireno	3.8	380
Benzo[a]Antraceno	1.4	140
Criseno	2.1	210
Benzo[b]Fluoranteno	1.3	130
Benzo[k]Fluoranteno	1.5	150
Benzo[a]Pireno	1.3	130
Dibenzo(a,h)Antraceno	2.6	260
Benzo(g,h,i)Perileno	0.3	30

V.3.1.2 Determinación del tiempo de retención de los HAPs

A partir de cada solución madre de los HAPs, se tomó con la micropipeta 100 μ L de la solución y se colocó en un matraz aforado de 1 mL, se aforó con acetonitrilo y se almacenó en un vial ámbar de 2 mL, cada dilución se inyectó en el HPLC y se determinó el tiempo de retención individual de cada HAPs.

V.3.1.3 Condiciones del HPLC

Existen diversos factores que afectan la calidad de los resultados, por lo tanto para optimizar el método que fue utilizado durante el análisis de los HAPs en el HPLC fueron modificadas condiciones tales como el gradiente de elución, la temperatura a la cual se realizó la separación de los compuestos, el volumen de inyección y el flujo de solventes hasta determinar las condiciones óptimas para llevar a cabo el análisis de los HAPs. En el Cuadro 4 se citan las longitudes de onda en las que cada compuesto es excitado y detectado durante su análisis en el HPLC mediante detección de fluorescencia.

Cuadro 4. Longitudes de onda para la excitación y emisión de HAPs en el detector de fluorescencia (FLD).

Compuesto	Excitación (nm)	Emisión (nm)
Naftaleno	280	330
Floureno	280	330
Fenantreno	246	370
Antraceno	250	406
Fluoranteno	280	450
Pireno	270	390
Benzo[a]Antraceno	265	380
Criseno	265	380
Benzo[b]Fluoranteno	290	430
Benzo[k]Fluoranteno	290	430
Benzo[a]Pireno	290	430
Dibenzo(a,h)Antraceno	290	430
Benzo(g,h,i)Perileno	290	430

V.3.1.4 Determinación del límite de detección del equipo

Al determinar los tiempos de retención de cada HAPs, se inyectaron diluciones de mezclas de HAPs y se determinó el límite de detección para cada compuesto, es decir conocer la mínima cantidad detectable por el equipo realizando un análisis estadístico de residuales, al mismo tiempo se obtuvo una curva de calibración para cada compuesto dado que se conocerá la respuesta del equipo a cada HAPs a distintos niveles de concentración. En el Cuadro 5 se presenta un resumen de las diferentes concentraciones usadas para la elaboración de la curva de calibración.

Cuadro 5. Concentraciones para la construcción de la curva de calibración.

Compuesto	Concentración (ng/mL)				
Naftaleno	5.5	11.0	17.3	27.5	38.8
Floureno	5.8	11.5	18.1	28.8	40.3
Fenantreno	5.3	10.5	16.5	26.3	36.8
Antraceno	5.5	11.0	17.3	27.5	38.5
Fluoranteno	5.5	11.0	17.3	27.5	38.5
Pireno	8.5	19.0	29.9	47.5	66.5
Benzo[a]Antraceno	5.3	10.5	20.0	42.0	52.5
Criseno	3.5	7.0	11.0	17.5	24.5
Benzo[b]Fluoranteno	3.3	6.5	12.4	26.0	32.5
Benzo[k]Fluoranteno	3.8	7.5	14.3	30.0	37.5
Benzo[a]Pireno	6.5	13.0	24.8	52.0	65.0
Dibenzo(a,h)Antraceno	6.5	13.0	24.8	52.0	65.0
Benzo(g,h,i)Perileno	7.5	15.0	28.6	60.0	75.0

Para obtener las concentraciones reportadas en el cuadro anterior se hicieron las respectivas mezclas y diluciones, a partir de las soluciones madre citadas en el Cuadro 3. Todas las mezclas se inyectaron por triplicado.

V.3.2 Preparación del suelo de referencia

El suelo fue tomado de las instalaciones de la facultad de Química en la Universidad Autónoma de Querétaro.

Para el tratamiento del suelo, en primera instancia se realizó un tamizado en un equipo Rotap, se seleccionaron y mezclaron las partículas de suelo que se encontraron en las mallas 20, 30, 40, 50, 70 y 100.

Debido a la alta incidencia de los HAPs en el medio ambiente, se realizó una extracción a la muestra homogeneizada por medio de sonicación utilizando una

mezcla de Acetona:Hexano (1:1), utilizando 100 mL durante una hora y repitiendo el proceso 5 veces, con el fin de extraer completamente los HAPs presentes en el suelo, para verificar su completa extracción se realizaron análisis en el HPLC a la mezcla de solventes. Al finalizar, la muestra se colocó en una estufa a 80 °C durante 24 h para eliminar la humedad y cualquier remanente de solvente.

V.3.2.1 Fortificación del suelo

La fortificación del suelo con los HAPs, se realizó por triplicado con 20 gramos de suelo y con una solución que contenía una mezcla de todos los HAPs de interés a concentraciones conocidas y diferentes volúmenes de solvente (10, 25 y 50 mL de acetonitrilo). Dicha mezcla se agregó al suelo contenido en un matraz Erlenmeyer, se colocó en una campana de extracción durante 16 horas manteniendo una agitación constante para evaporar todo el solvente.

Para verificar que la muestra se fortificó de una manera adecuada, se realizó una extracción Soxhlet de cada muestra de suelo y se analizó por HPLC, todo esto con el fin de verificar que la muestra fuera homogénea.

V.3.3 Extracciones

V.3.3.1 Extracción Soxhlet

Se pesó en un cartucho de extracción aproximadamente 1 g de la muestra fortificada, se montó el equipo de extracción Soxhlet y se utilizaron 100 mL de una mezcla acetona:hexano (1:1), este proceso de extracción se realizó por 8 horas. Al concluir el tiempo se dejó enfriar la mezcla se evaporó en un rotavapor hasta obtener un volumen menor de 1 mL, el extracto se filtró con membranas de polipropileno para eliminar toda partícula que pueda dañar el instrumento y posteriormente se procedió a su análisis en el HPLC.

V.3.3.2 Extracción por microondas

En la extracción por microondas se utilizó 1 g de muestra y con un diseño experimental 2^k se propusieron tres factores como los más importantes durante el proceso de extracción: la temperatura (X_1), el volumen de solvente (X_2) y el tiempo de extracción (X_3), y de cada uno de ellos se utilizaron dos niveles, identificados con los valores -1 para el nivel inferior y +1 para el nivel superior, el cual nos sirve para ver la variabilidad de nuestro proceso. En el Cuadro 6 se especifican los valores codificados para cada factor y su valor real. Al finalizar cada extracción se procedió a tratar la muestra como se especifica en V.2.3.1. Los valores se establecieron a partir de notas de aplicación para el microondas MARSX de CEM.

Cuadro 6. Valores codificados y reales de cada factor involucrado en el diseño experimental.

Valor Codificado	-1	+1
Temperatura (°C)	75	115
Volumen de Solvente (mL)	10	30
Tiempo de Extracción (min)	10	30

El diseño experimental aleatorizado fue generado con el software JMP 5.0.1, a continuación en el Cuadro 7 se presenta el diseño experimental utilizado para la optimización del método de extracción por microondas.

Cuadro 7. Diseño experimental aleatorizado generado con el software JMP 5.0.1.

X_1	X_2	X_3
-1	1	1
1	-1	-1
-1	1	-1
-1	-1	1
-1	-1	-1
1	1	1
1	-1	1
1	1	-1

V.3.3.3 Extracción por sonicación

En la extracción por sonicación se utilizó 1 g de muestra colocando en un vial de head space y utilizando un diseño experimental 2^k , se propusieron dos factores como los más importantes durante el proceso de extracción: el volumen de solvente (X_1) y el tiempo de extracción (X_2), y de cada uno de ellos se utilizaron 3 niveles, identificados con los valores -1 para el nivel inferior y +1 para el nivel superior, el cual nos sirve para analizar la variabilidad del proceso. En el Cuadro 8 se especifican los valores codificados para cada factor y su valor real. Al finalizar cada extracción se procedió a tratar la muestra como se especifica en V.2.3.1. Los valores se establecieron a partir de los procedimientos reportados en Miège, 2003.

Cuadro 8. Valores codificados y reales de cada factor involucrado en el diseño experimental.

Valor Codificado	-1	+1
Volumen de Solvente (mL)	10	20
Tiempo de Extracción (min.)	30	60

El diseño experimental aleatorizado fue generado con el software JMP 5.0.1, a continuación en el Cuadro 9 se presenta el diseño experimental utilizado para la optimización del método de extracción por sonicación.

Cuadro 9. Diseño experimental aleatorizado generado con el software JMP 5.0.1.

X1	X2
-1	1
1	-1
-1	-1
1	1

V.4 Análisis de resultados

Los resultados obtenidos a partir del análisis en el HPLC fueron analizados para cada extracción y se calculó la cantidad de analito que se recobró para cada uno de los compuestos presentes en la mezcla, los métodos de extracción fueron optimizados y posteriormente se hizo una comparación final entre los tres métodos y se realizó un proceso de análisis jerárquico en función del costo, tiempo de

extracción y volumen de solvente utilizado para concluir cual método es el más factible a desarrollar en un laboratorio.

VI. RESULTADOS

VI.1 Determinación del tiempo de retención individual de los HAPs

Cada estándar se inyectó individualmente en el HPLC, con las siguientes condiciones:

Volumen de inyección: 10 μ L.

Temperatura de la columna: 20 °C.

Flujo: 1 mL/minuto.

Fase móvil: 85 % Acetonitrilo, 15 % H₂O.

Las condiciones para el detector FLD se establecieron a partir del cuadro 4 y para tener una mejor idea de cómo se podría comportar la mezcla bajo estas mismas condiciones, se utilizó el software para el manejo de datos el cual cuenta con una herramienta para combinar cromatogramas obtenidos individualmente y con esto poder determinar a qué tiempo se deben realizar los cambios en la longitud de onda tanto de excitación y emisión para determinar adecuadamente cada compuesto en una mezcla real. El tiempo de retención para cada HAP y las condiciones establecidas anteriormente se presentan en el Cuadro 10.

Cuadro 10. Tiempos de retención para los HAPs.

	Compuesto	Tiempo Retención (minutos)
1	Naftaleno	2.82
2	Floureno	3.84
3	Fenantreno	3.97
4	Antraceno	4.23
5	Fluoranteno	4.87
6	Pireno	5.45
7	Benzo[a]Antraceno	6.53
8	Criseno	6.48
9	Benzo[b]Fluoranteno	8.73

En la Figura 2 se presentan 9 cromatogramas obtenidos individualmente y combinándolos haciendo uso de la herramienta del software anteriormente mencionada.

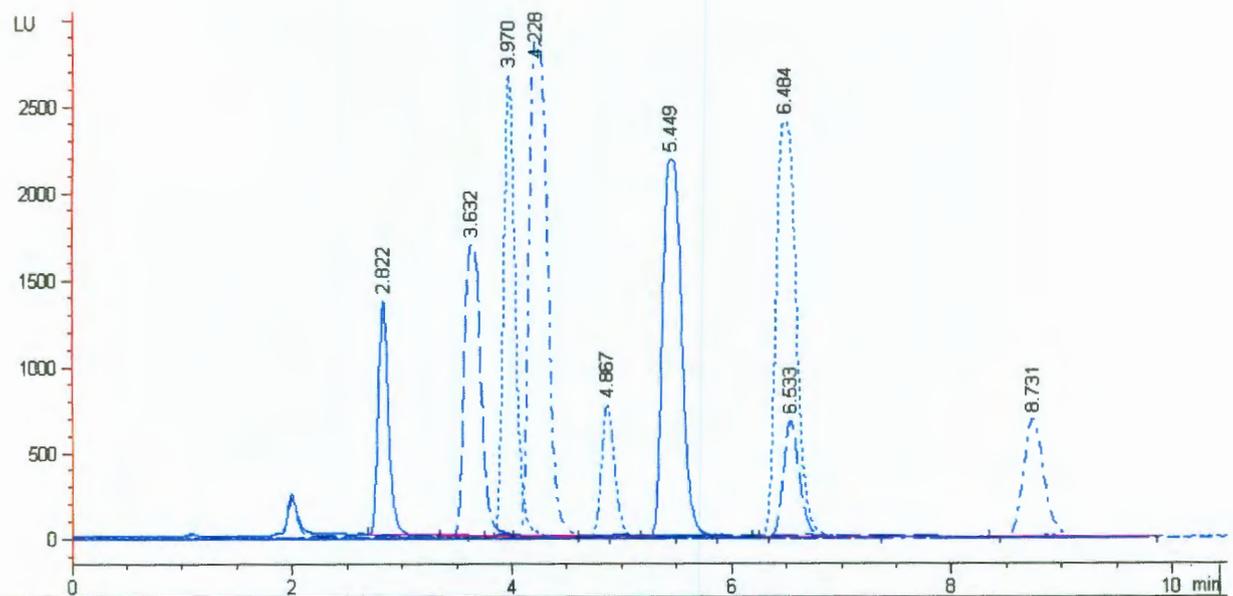


Figura 2. Combinación de cromatogramas utilizando el software de análisis de datos.

VI.1.1 Optimización del método

Debido a que en algunos de los compuestos no se lograba una buena separación utilizando un sistema isocrático, se realizaron pruebas modificando la composición de la fase móvil, hasta obtener una buena separación, bajo las siguientes condiciones:

Volumen de inyección: 10 μ L.

Temperatura de la Columna: 20 °C.

Flujo: 1 mL/minuto.

Se realizó un gradiente de elución para la fase móvil, presentándose las condiciones en el Cuadro 11.

Cuadro 11. Gradiente de elución utilizado durante el análisis de HAPs en HPLC.

Tiempo (Minutos)	Porcentaje Acetonitrilo	Porcentaje Agua
0.0	60	40
20.0	67	33
26.0	67	33
32.0	100	0

En el Cuadro 12 se presentan las condiciones para el detector FLD durante el análisis.

Cuadro 12. Cambios realizados en el detector FLD durante el análisis.

Tiempo (Minutos)	Longitud de onda, nm (Excitación)	Longitud de onda, nm (Emisión)
0.00	280	330
12.30	246	370
13.40	250	406
15.20	280	450
17.70	270	390
20.00	265	380
26.20	290	430

En la Figura 3 se muestra un cromatograma obtenido de una de las mezclas de los estándares de HAPs bajo las condiciones indicadas en el cuadro 11 y 12.

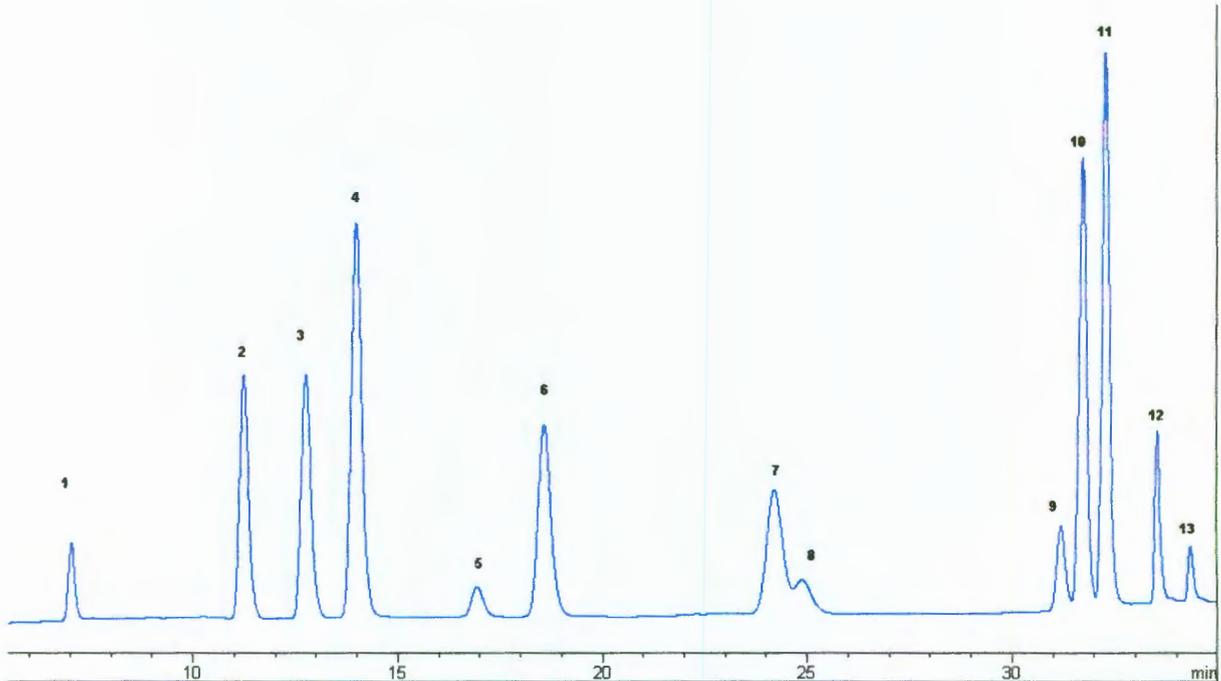


Figura 3. Cromatograma de la mezcla de HAPs.

En el Cuadro 13 se reportan los tiempos de retención para cada compuesto.

Cuadro 13. Tiempo de retención con el método optimizado.

	Compuesto	Tiempo Retención (minutos)
1	Naftaleno	7.053
2	Floureno	11.285
3	Fenantreno	12.794
4	Antraceno	14.018
5	Fluoranteno	16.984
6	Pireno	18.619
7	Benzo[a]Antraceno	24.266
8	Criseno	24.962
9	Benzo[b]Fluoranteno	31.249
10	Benzo[k]Fluoranteno	31.758
11	Benzo[a]Pireno	32.313
12	Dibenzo(a,h)Antraceno	33.567
13	Benzo(g,h,i)Perileno	34.369

VI.2 Curvas de calibración.

Para las curvas de calibración de los HAPs se hicieron cinco niveles de calibración, las concentraciones de cada compuesto se encuentran reportadas en el cuadro 5; enseguida en el Cuadro 14 se encuentran los valores obtenidos de la regresión lineal y adecuados a la ecuación de la recta de acuerdo a la fórmula $y= a + bx$ donde:

y= Respuesta del equipo.

b= Pendiente.

a= Ordenada al origen.

x= Concentración del analito.

Cuadro 14. Parámetros de la regresión lineal.

Compuesto	Pendiente (b)	Ordenada al origen (a)	Linealidad (r)	Coefficiente determinación (r ²)
Naftaleno	33.72	-23.62	0.9986	0.9972
Floureno	146.01	-175.17	0.9966	0.9932
Fenantreno	165.46	-80.05	0.9987	0.9974
Antraceno	287.20	-319.01	0.9989	0.9978
Fluoranteno	23.87	-17.86	0.9998	0.9996
Pireno	95.33	-58.68	0.9979	0.9958
Benzo[a]Antraceno	74.67	627.19	0.9994	0.9988
Criseno	61.42	-81.54	0.9997	0.9994
Benzo[b]Fluoranteno	50.07	-28.95	0.9987	0.9974
Benzo[k]Fluoranteno	219.73	-54.53	0.9977	0.9954
Benzo[a]Pireno	151.63	-69.72	0.9991	0.9982
Dibenzo(a,h)Antraceno	33.69	11.56	0.9997	0.9994
Benzo(g,h,i)Perileno	5.93	13.88	0.9994	0.9988

En la Figura 4 se presenta la curva de calibración para el Naftaleno en la que se muestra la cantidad del analito en ng/mL en el eje de las abscisas y en el eje de las ordenadas la respuesta del equipo a los cinco niveles de concentración mostrados en el Cuadro 5. Las curvas de calibración respectivas para cada HAP analizado se muestran en el Anexo I.

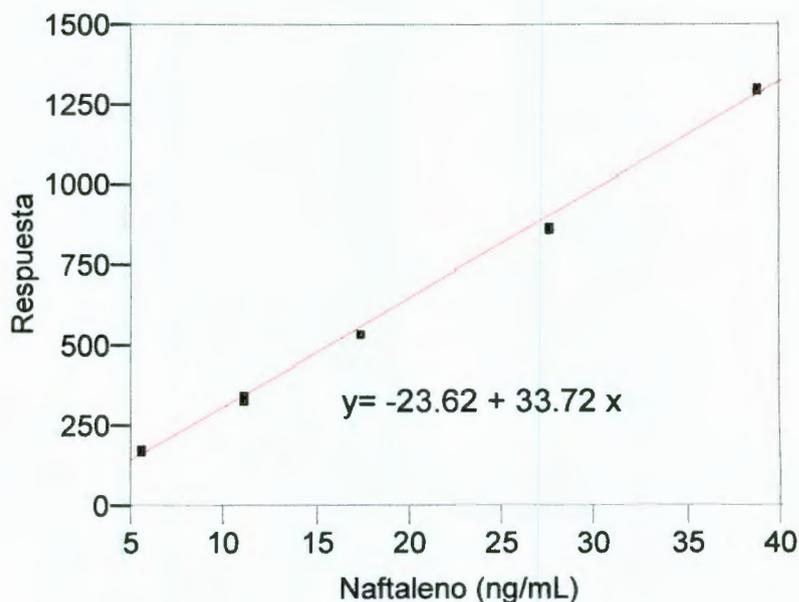


Figura 4. Curva de Calibración para el Naftaleno.

VI.2.1 Límites de detección y cuantificación del equipo

Para obtener el límite de detección y cuantificación del HPLC se realizó un análisis estadístico de residuales, en el cual se deben obtener para cada curva de calibración valores predcidos (\hat{y}) utilizando su respectiva ecuación de la recta de cada compuesto. Las Fórmulas utilizadas para el análisis de residuales se muestran en la Figura 5 donde:

$S_{x/y}$ = Desviación estándar de la recta de regresión.

b= Pendiente de la Recta.

y= Valor observado.

\hat{y} = Valor predcido por la ecuación de la recta.

L.D= Límite de Detección.

L.C= Límite de Cuantificación.

$$s_{x/y} = \left\{ \frac{\sum_i (y_i - \hat{y}_i)^2}{n-2} \right\}^{1/2} \quad L.D. = \frac{3s_{x/y}}{b} \quad L.C. = \frac{10s_{x/y}}{b}$$

Figura 5. Fórmulas utilizadas en el análisis de residuales.

Los valores obtenidos tanto para el límite de detección (L.D) y el límite de cuantificación (L.C) se encuentran en el Cuadro 15.

Cuadro 15. Límites de detección y cuantificación para los HAPs.

Compuesto	L.D. (ng/mL)	L.C. (ng/mL)
Naftaleno	2.47	4.11
Floureno	3.90	6.51
Fenantreno	2.19	3.64
Antraceno	2.18	3.63
Fluoranteno	0.91	1.52
Pireno	5.17	8.55
Benzo[a]Antraceno	2.51	4.19
Criseno	0.73	1.22
Benzo[b]Fluoranteno	2.25	3.76
Benzo[k]Fluoranteno	2.55	4.24
Benzo[a]Pireno	3.67	6.12
Dibenzo(a,h)Antraceno	2.26	3.76
Benzo(g,h,i)Perileno	3.43	5.72

VI.3 Preparación de la muestra

En la Figura 6 se muestra un cromatograma de los solventes utilizados durante la extracción previa a la fortificación, en este caso los solventes en la quinta extracción fueron los utilizados en este análisis, la cual se realiza con el fin de extraer los HAPs presentes en el suelo que se utilizo para la comparación de los métodos.

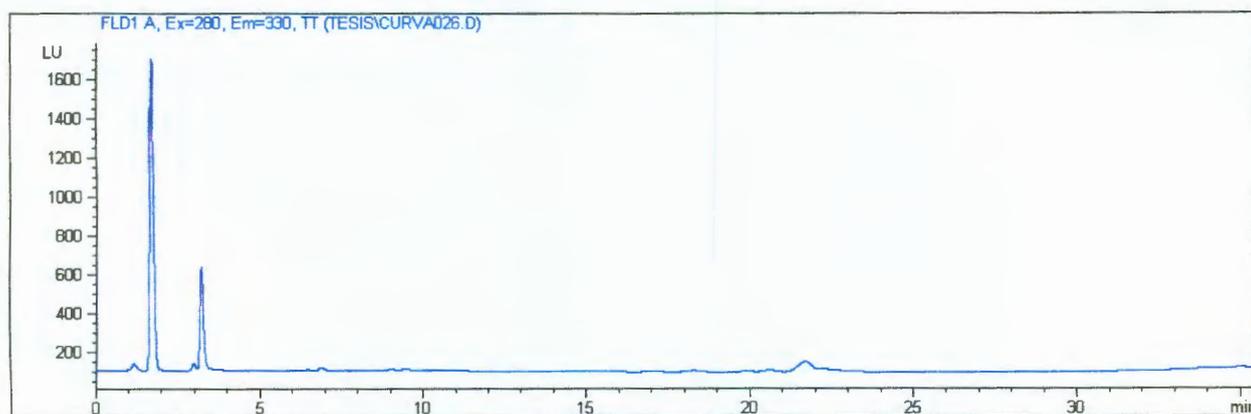


Figura 6. Cromatograma de solventes utilizados en la preparación de la muestra.

Para comprobar que no existiera ninguna interferencia en el análisis se utilizo nuevamente el software de análisis de datos, para confirmar que no existiera ningún compuesto presente en el suelo de referencia que provocara errores en el momento de realizar la comparación de los métodos. En la Figura 7 se muestra en azul el análisis de los solventes utilizados en la extracción por sonicación y en rojo una de las mezclas utilizadas para la construcción de la curva de calibración.

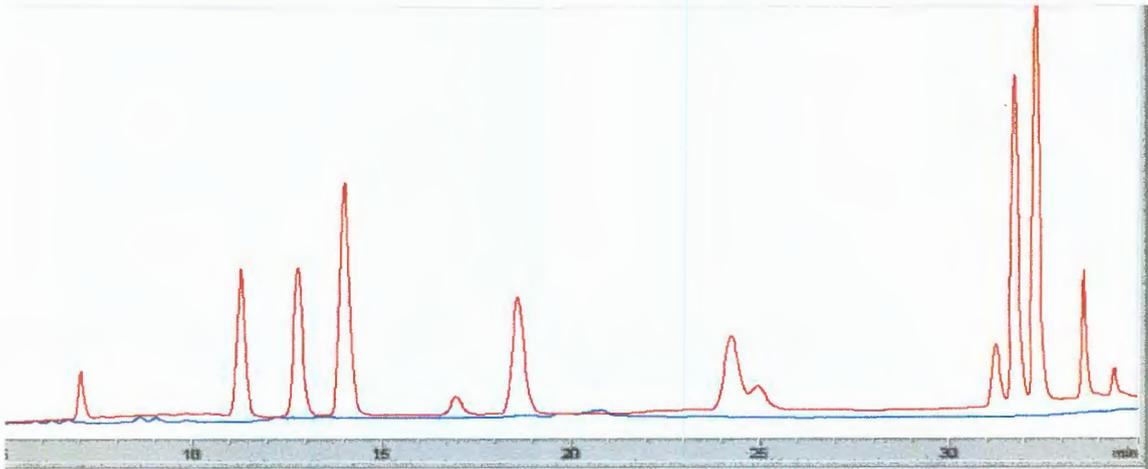


Figura 7. Comparación de análisis a solventes utilizados para preparación de la muestra de referencia y los estándares analizados.

VI.3.1 Extracción Soxhlet

En el Cuadro 16 se presentan los resultados obtenidos de tres extracciones realizadas por el método Soxhlet y se realiza el análisis estadístico, para comprobar la homogeneidad del proceso de fortificación en tres muestras que fueron fortificadas de acuerdo a lo establecido en V.2.3.1. Las muestras se extrajeron por duplicado y se presentan los valores de la media en cada caso.

Cuadro 16. Evaluación de la homogeneidad en muestras fortificadas.

Compuesto	Volumen del solvente mL			Media ng/mL	Coeficiente Variación
	10	25	50		
	ng/mL	ng/mL	ng/mL		
Floureno	18.21	18.1	17.83	18.05	1.06
Fenantreno	21.83	21.25	20.93	21.34	2.13
Antraceno	9.27	9.03	8.89	9.06	2.07
Fluoranteno	22.76	24	23.64	23.47	2.71
Pireno	36.13	36.26	35.73	36.04	0.77
Benzo[a]Antraceno	37.83	38.15	37.59	37.86	0.75
Criseno	34.54	35.41	34.88	34.94	1.25
Benzo[b]Fluoranteno	13.88	13.55	13.35	13.59	1.94
Benzo[k]Fluoranteno	14.61	14.71	14.5	14.6	0.74
Benzo[a]Pireno	7.45	7.47	7.36	7.43	0.8
Dibenzo(a,h)Antraceno	27.03	26.91	26.51	26.82	1
Benzo(g,h,i)Perileno	31.5	33.19	32.7	32.46	2.67

A continuación en la Figura 8 se presenta uno de los cromatogramas obtenidos de las muestras fortificadas, después de su extracción.

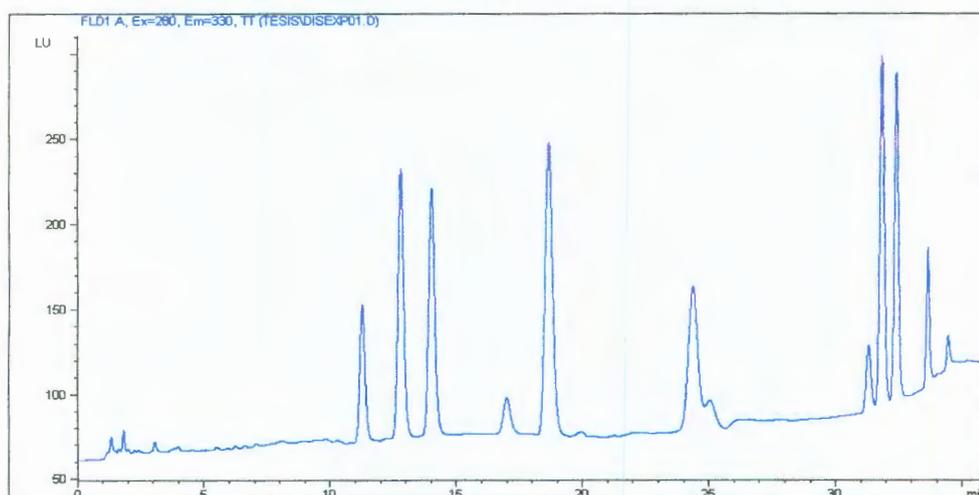


Figura 8. Cromatograma de una muestra fortificada.

VI.3.2 Diseño experimental

VI.3.2.1 Análisis

Para cada análisis de los HAPs se presenta individualmente:

- * **Matriz de efectos:** En esta se especifican los niveles de cada factor y la variación entre cada experimento; así como las interacciones entre cada uno de ellos.
- * **Gráfica de efectos principales:** Representa las magnitudes de los efectos que cada factor y sus interacciones tienen sobre la respuesta (ng/g muestra) y especifica si dicho efecto es negativo o positivo al modificarse del nivel -1 a +1.
- * **Diseño cúbico del diseño experimental:** Muestra de manera gráfica una representación del diseño de experimentos.
- * **Gráficas de superficie de respuesta:** En estas gráficas se presentan las interacciones entre dos factores y la variable dependiente (ng/g muestra) en todas sus posibles combinaciones.
- * **Análisis de los efectos principales:** En esta tabla se realizó un análisis multifactorial de la varianza para ng/g muestra y se realizaron varios tests para determinar que factores tienen un efecto significativo y de igual forma se analizaron las interacciones entre los factores. En dicha tabla se descompone la variabilidad de ng/muestra en las contribuciones debidas a los tres factores y se midió la contribución de cada uno eliminando los efectos de los demás factores. Los valores P y F comprueban la importancia estadística de cada uno de ellos.
- * **Componentes de la varianza:** En esta tabla se dividen los componentes de la varianza en los 3 factores, el objetivo del análisis es estimar la cantidad con la que contribuyen a la varianza cada factor.

VI.3.2.2 Microondas

A continuación se presentan las matrices de los efectos de cada factor estudiado en la extracción por microondas para cada compuesto, así como el análisis de las interacciones entre los factores. En el Cuadro 17 se presenta la matriz de efectos para el Floureno, donde los factores son: temperatura (X_1), volumen de solvente (X_2) y tiempo (X_3). Además se muestran las combinaciones entre cada uno de los factores y la concentración del analito recuperado durante cada experimento.

Cuadro 17. Matriz de efectos para el Floureno por extracción en microondas.

Experimento	X_1	X_2	X_3	X_1X_2	X_1X_3	X_2X_3	$X_1X_2X_3$	[] ng/g muestra
1	-1	1	1	-1	-1	1	-1	83.71
2	1	-1	-1	-1	-1	1	1	79.19
3	-1	1	-1	-1	1	-1	1	85.51
4	-1	-1	1	1	-1	-1	1	53.16
5	-1	-1	-1	1	1	1	-1	56.75
6	1	1	1	1	1	1	1	68.53
7	1	-1	1	-1	1	-1	-1	63.91
8	1	1	-1	1	-1	-1	-1	84.23

En la Figura 9 se presenta la influencia de los factores para la extracción de Floureno por microondas, se puede apreciar que la temperatura (X_1) y el volumen (X_2) tienen un efecto positivo al aumentar de -1 a +1 durante el diseño experimental, cabe señalar que X_2 tiene una influencia sobre la cantidad de analito recuperado mayor que X_1 , mientras que el tiempo (X_3) tiene un efecto negativo al ser aumentado, al igual que en las combinaciones X_1X_2 , X_1X_3 y $X_1X_2X_3$, la combinación X_2X_3 muestra una influencia positiva sobre la respuesta pero significativamente menor que todas las demás.

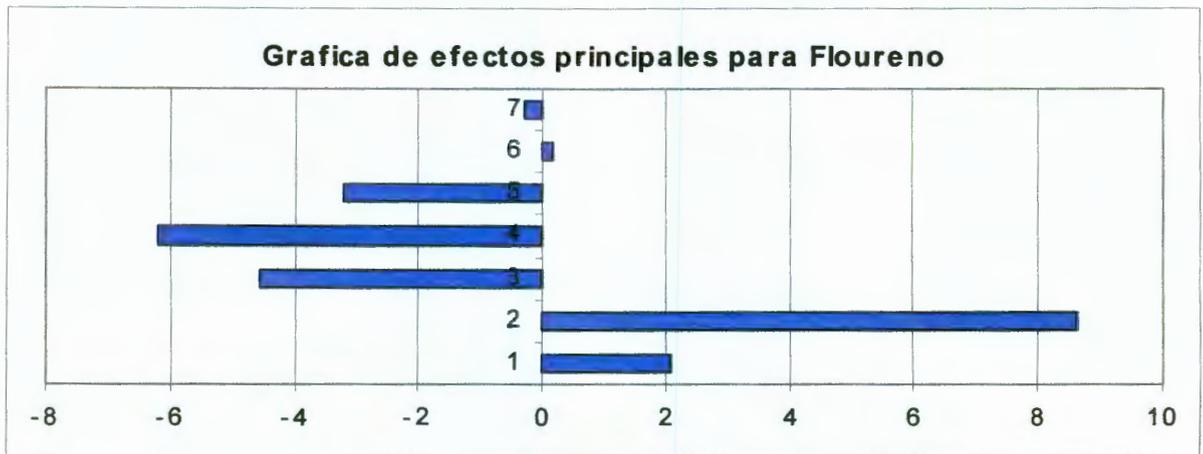


Figura 9. Gráfica de efectos principales para Floureno $X_1(1)$, $X_2(2)$, $X_3(3)$, $X_1X_2(4)$, $X_1X_3(5)$, $X_2X_3(6)$, $X_1X_2X_3(7)$.

En la Figura 10 se presenta el diseño cúbico del modelo experimental para la extracción de Floureno por microondas, donde se muestran los resultados de los ocho experimentos realizados citados en el Cuadro 17, es importante señalar que los valores de la concentración de Floureno del Cuadro 17 y la Figura 12 difieren debido a que el software utilizado (J.M.P. 5.0.1) para crear la figura ajusta los valores de acuerdo a un modelo multivariable. Por ejemplo para el experimento 1, el valor al que hace referencia el Cuadro 17 es 83.71 ng/mL y en la Figura 12 se reporta un valor igual a 83.4338 ng/mL.

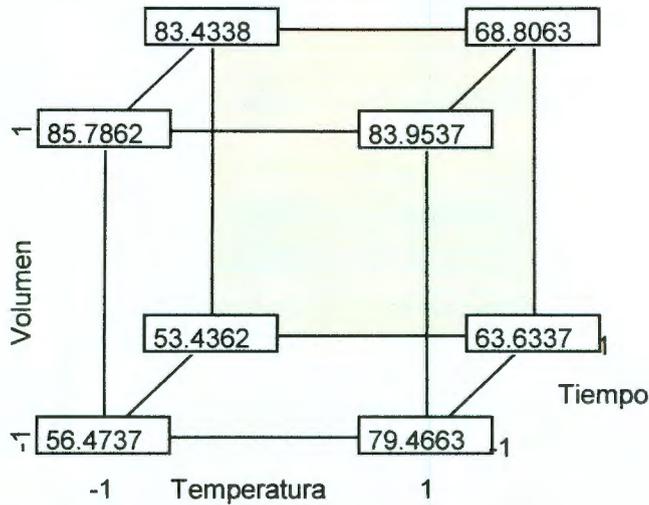


Figura 10. Diseño cúbico del modelo experimental para la extracción de Floureno en microondas.

En la Figura 11 se encuentran representadas las superficies de respuesta para el Floureno de acuerdo a los factores estudiados en el diseño experimental, se muestran las posibles combinaciones y el efecto que tienen sobre la respuesta. Por ejemplo la comparativa entre los puntos “a” y “b” muestra que en “b” se presenta una mayor respuesta que en “a”, ya que en “b” el volumen de solvente utilizado para la extracción fue de 30 mL a un tiempo corto de extracción y en “a” se muestra un punto con un volumen de 10 mL a tiempos mayores de extracción.

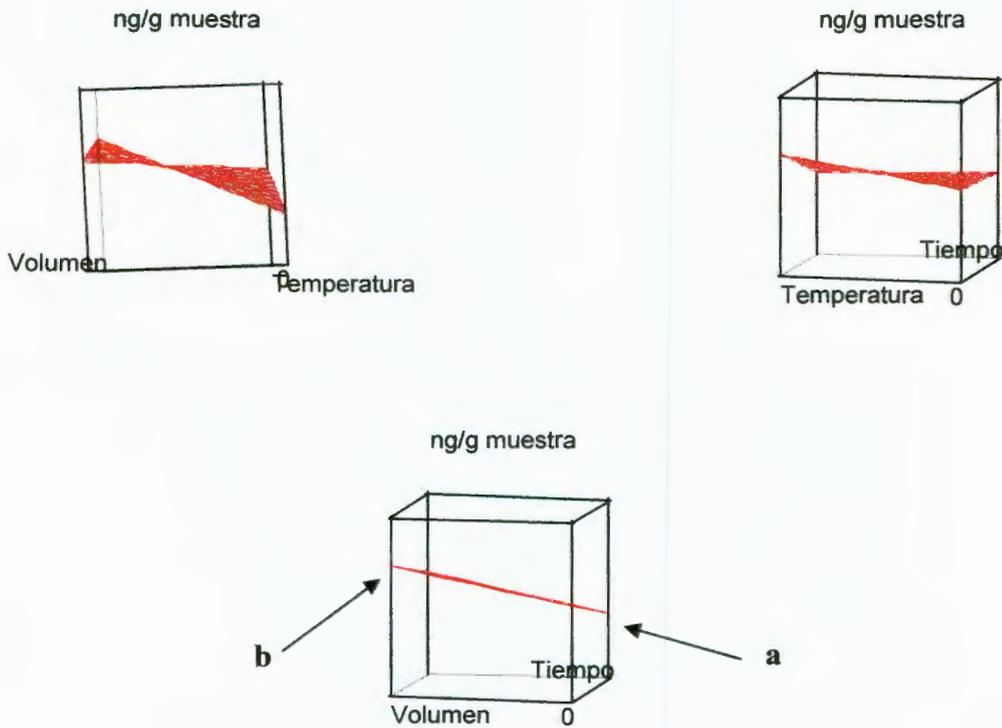


Figura 11. Superficie de respuesta entre temperatura, volumen de solvente y tiempo para la extracción de Fluoreno en microondas.

En el Cuadro 18 se reporta un análisis multifactorial de la varianza para ng/g muestra, donde se realizaron varios tests para determinar que factores tienen un efecto significativo y de igual forma se analizaron las interacciones entre los factores. En dicho cuadro se descompone la variabilidad de ng/muestra en las contribuciones debidas a los tres factores y se mide la contribución de cada uno eliminando los efectos de los demás factores. Los valores t y F comprueban la importancia estadística de cada uno de ellos cuando su probabilidad sea < 0.05 .

Cuadro 18. Análisis de los efectos principales para Floureno.

	Valor Efecto	Valor t	Prob> t	gl	Suma Cuadrados	Valor F	Prob > F
Temperatura	2.09	7.57	0.0836	1	34.99	57.31	0.0836
Volumen	8.62	31.21	0.0204	1	594.61	973.95	0.0204*
Tiempo	-4.55	-16.46	0.0386	1	165.35	270.83	0.0386*
Temperatura*Volumen	-6.21	-22.47	0.0283	1	308.14	504.72	0.0283*
Temperatura*Tiempo	-3.20	-11.58	0.0548	1	81.86	134.08	0.0548
Volumen*Tiempo	0.17	0.62	0.6467	1	0.23	0.38	0.6467

*Efectos principales sobre la extracción

Las gráficas correspondientes para cada HAP y sus análisis estadísticos se reportan en el Anexo II.

A continuación en el Cuadro 19 se presenta un resumen de los efectos estadísticamente significativos para cada uno de los compuestos en la extracción por microondas.

Cuadro 19. Resumen de los efectos estadísticamente significativos para los HAPs en la extracción por microondas.

	Tiempo	Volumen Solvente	Temperatura
Floureno	+	+	-
Fenantreno	-	-	-
Antraceno	-	-	-
Fluoranteno	-	-	-
Pireno	+	+	+
Benzo[a]Antraceno	-	-	-
Criseno	-	-	-
Benzo[b]Fluoranteno	-	+	-
Benzo[k]Fluoranteno	-	-	-
Benzo[a]Pireno	-	-	-
Dibenzo(a,h)Antraceno	-	-	-
Benzo(g,h,i)Perileno	-	+	-

(+) Estadísticamente significativo.
 (-) No estadísticamente significativo.

En el Cuadro 20 se presentan los porcentajes de composición de la varianza por cada factor estudiado en el diseño de experimentos, estos valores fueron obtenidos por un análisis de componentes de la varianza con software J.M.P. 5.0.1.

Cuadro 20. Componentes de la varianza.

Compuesto	% de la varianza explicada por el factor		
	Tiempo	Volumen Solvente	Temperatura
Floureno	13.94	50.14	2.951
Fenantreno	2.523	56.14	7.417
Antraceno	13.25	31.4	0.395
Fluoranteno	0.019	51.19	0.004
Pireno	20.12	51.09	13.15
Benzo[a]Antraceno	3.918	64.34	2.908
Criseno	1.814	64.96	9.519
Benzo[b]Fluoranteno	0.056	62.13	3.388
Benzo[k]Fluoranteno	0.218	65.94	4.44
Benzo[a]Pireno	19	17.17	3.553
Dibenzo(a,h)Antraceno	0.178	74.51	1.567
Benzo(g,h,i)Perileno	0.025	81.81	4.941

Debido a que el sistema estudiado no presenta una tendencia similar en todos los HAPs extraídos y para los siguientes compuestos: Floureno, Fenantreno, Fluoranteno, Pireno, Criseno, B(b)Fluoranteno, B(k)Fluoranteno, B(a)Pireno, D(a,h)Antraceno, B(g,h,i)Perileno, se presentan sus máximos en las siguientes condiciones reportadas en el Cuadro 21.

Cuadro 21. Condiciones de la extracción por microondas para la comparación entre métodos.

Temperatura (°C)	Volumen de solvente (mL)	Tiempo (minutos)
115	30	15

Estas condiciones serán las utilizadas durante la comparación de los tres métodos de extracción.

VI.3.2.3 Sonicación

Las gráficas y el análisis estadístico para los HAPs extraídos por sonicación se encuentran en el Anexo III (La interpretación para los reportes en el Anexo III es igual a la establecida en el apartado VI.3.2.2).

En el caso de la sonicación y con un nivel de confianza del 95 % para todos los HAPs, ninguno de los factores presenta un efecto estadísticamente significativo en la respuesta ng/g de muestra.

En el Cuadro 22 se presentan los porcentajes de composición de la varianza por cada factor estudiado en el diseño de experimentos.

Cuadro 22. Componentes de la varianza.

	% de la varianza explicada por el factor	
	Volumen Solvente	Tiempo
Floureno	26.11	39.09
Fenantreno	31.89	13.06
Antraceno	19.35	49.7
Fluoranteno	24.21	25.07
Pireno	16.25	21
Benzo[a]Antraceno	1.243	18.03
Criseno	0.772	3.49
Benzo[b]Fluoranteno	19.62	5.675
Benzo[k]Fluoranteno	28.87	4.798
Benzo[a]Pireno	78.35	0.097
Dibenzo(a,h)Antraceno	19.4	6.138
Benzo(g,h,i)Perileno	18.87	40.56

Debido a que los siguientes compuestos: Floureno, Fenantreno, Antraceno, B(b)Fluoranteno, B(k)Fluoranteno, B(a)Pireno, D(a,h)Antraceno, presentan sus máximos en las siguientes condiciones establecidas en el Cuadro 23.

Cuadro 23. Condiciones de la extracción por sonicación para la comparación entre métodos.

Volumen de solvente (mL)	Tiempo (minutos)
20	30

Estas serán las utilizadas durante la comparación de los tres métodos de extracción.

VI.4 Comparación entre métodos de extracción

Para realizar esta comparación se realizaron tres extracciones individuales por cada método, a continuación en el Cuadro 24 se presentan los resultados para la extracción por Soxhlet de las tres muestras.

Cuadro 24. Resultados para las extracciones Soxhlet.

Compuesto	Extracción			Media	Desviación Estándar	Intervalo Confianza (+/-) ng/g muestra	Coeficiente Variación
	I	II	III				
	ng/g Muestra						
Floureno	77.05	81.89	76.82	78.59	2.86	3.24	3.64
Fenantreno	95.41	106.58	95.72	99.24	6.36	7.2	6.41
Antraceno	52.66	55.96	50.25	52.96	2.87	3.25	5.42
Fluoranteno	109.44	116.31	104.13	109.96	6.10	6.9	5.55
Pireno	196.45	218.57	186.47	200.49	16.43	18.59	8.19
Benzo[a]Antraceno	157.19	181.97	174.38	171.18	12.70	14.37	7.42
Criseno	57.04	65.52	56.87	59.81	4.94	5.59	8.27
Benzo[b]Fluoranteno	69.64	74.01	83.58	75.74	7.13	8.07	9.41
Benzo[k]Fluoranteno	78.19	83.09	87.06	82.78	4.45	5.04	5.37
Benzo[a]Pireno	92.60	98.41	86.07	92.36	6.17	6.98	6.69
Dibenzo(a,h)Antraceno	129.34	137.46	149.75	138.85	10.28	11.63	7.40
Benzo(g,h,i)Perileno	150.37	159.81	175.12	161.77	12.49	14.13	7.72

En el cuadro 25 se presentan los resultados para la extracción por Microondas.

Cuadro 25. Resultados para las extracciones por Microondas.

Compuesto	Extracción			Media	Desviación Estándar	Intervalo Confianza (+/-) ng/g muestra	Coeficiente Variación
	I	II	III				
	ng/g muestra						
Floureno	97.35	90.06	89.31	92.24	4.44	5.02	4.81
Fenantreno	110.62	106.03	104.84	107.16	3.05	3.45	2.85
Antraceno	46.25	45.06	44.53	45.28	0.88	1	1.95
Fluoranteno	113.56	119.75	118.41	117.24	3.26	3.69	2.78
Pireno	170.24	183.56	178.97	177.59	6.77	7.66	3.81
Benzo[a]Antraceno	188.75	195.34	185.48	189.86	5.02	5.68	2.64
Criseno	172.34	176.68	154.68	167.90	11.65	13.18	6.94
Benzo[b]Fluoranteno	69.25	62.62	71.88	67.92	4.77	5.4	7.03
Benzo[k]Fluoranteno	72.90	68.41	74.78	72.03	3.28	3.71	4.55
Benzo[a]Pireno	37.17	37.27	41.88	38.77	2.69	3.04	6.93
Dibenzo(a,h)Antraceno	137.91	134.27	130.28	134.15	3.81	4.31	2.84
Benzo(g,h,i)Perileno	157.17	170.59	163.79	163.85	6.71	7.59	4.10

En el Cuadro 26 se presentan los resultados para sonicación.

Cuadro 26. Resultados para las extracciones por Sonicación.

Compuesto	Extracción			Media	Desviación Estándar	Intervalo Confianza (+/-) ng/g muestra	Coeficiente Variación
	I	II	III				
	ng/g muestra						
Floureno	85.25	91.37	92.99	89.87	4.08	4.62	4.54
Fenantreno	106.05	107.76	109.66	107.82	1.81	2.05	1.68
Antraceno	46.95	50.89	51.79	49.88	2.57	2.91	5.16
Fluoranteno	105.78	108.84	110.77	108.46	2.52	2.85	2.32
Pireno	207.32	167.64	170.61	181.85	22.10	25.01	12.15
Benzo[a]Antraceno	160.44	155.29	168.06	161.27	6.42	7.26	3.98
Criseno	51.05	52.38	53.31	52.25	1.13	1.28	2.16
Benzo[b]Fluoranteno	68.70	70.44	71.69	70.28	1.50	1.7	2.14
Benzo[k]Fluoranteno	76.14	79.78	81.19	79.04	2.61	2.95	3.30
Benzo[a]Pireno	87.04	83.45	84.93	85.14	1.80	2.04	2.12
Dibenzo(a,h)Antraceno	126.49	127.69	131.45	128.54	2.59	2.93	2.01
Benzo(g,h,i)Perileno	149.11	155.31	158.06	154.16	4.58	5.18	2.97

En el Cuadro 27 se encuentra el resumen del porcentaje de recuperación para cada compuesto en cada uno de los métodos utilizados.

Cuadro 27. Porcentajes de recuperación de los HAPs.

Compuesto	Soxhlet	Sonicación	Microondas
	% de recuperación		
Floureno	68.34	78.15	73.24
Fenantreno	94.51	102.69	98.60
Antraceno	88.26	83.13	85.70
Fluoranteno	89.40	88.18	88.79
Pireno	105.52	95.71	100.62
Benzo[a]Antraceno	83.50	78.67	81.08
Criseno	85.45	74.64	80.04
Benzo[b]Fluoranteno	100.99	93.70	97.35
Benzo[k]Fluoranteno	103.48	98.80	101.14
Benzo[a]Pireno	115.45	106.43	110.94
Dibenzo(a,h)Antraceno	106.81	98.88	102.84
Benzo(g,h,i)Perileno	101.11	96.35	98.73

VI.4.1 Proceso de Análisis Jerárquico

Para la elección del mejor proceso para realizar la extracción de los HAPs se realizó un proceso de análisis jerárquico teniendo como factores el tiempo de extracción, el costo y el volumen de solvente utilizado, en el Cuadro 28 se presentan las calificaciones obtenidas para este análisis. Las matrices s y la escala de criterios utilizados en el análisis se encuentran en el Anexo IV.

Cuadro 28. Calificaciones obtenidas en el proceso de análisis jerárquico.

	Costo	Tiempo	Volumen	Calificación
Soxhlet	0.70	0.06	0.06	0.13
Microondas	0.20	0.73	0.29	0.53
Sonicación	0.10	0.21	0.65	0.34

VII. DISCUSIÓN

Para desarrollar una metodología que pueda aplicarse al análisis de los HAPs fue necesario determinar los tiempos de retención para cada compuesto, pero debido a que al inicio se realizó esta determinación en las mismas condiciones para cada HAP y como se muestra en la Figura 2, en la cual se encuentran corridas individuales para diferentes HAPs y con ayuda del software "ChemStation", se obtuvo esta representación, donde se observa claramente que para lograr una buena separación de los compuestos a lo largo de la corrida es necesario ir modificando la composición de la fase móvil. Las condiciones óptimas para este análisis fueron determinadas basándose en la idea que a mayor concentración de agua en la fase móvil, los compuestos van a tener un mayor tiempo de retención en la columna, por lo tanto al inicio de la corrida se tiene un porcentaje alto de agua (40%) y gradualmente se va reduciendo, del minuto 0 al 20 hay un cambio muy lento del 40 al 33% de agua, del minuto 20 al 26 estas condiciones se mantienen y del minuto 26 al 32 en un cambio más rápido se lleva el porcentaje de agua hasta 0, como se reporta en el Cuadro 11. El tiempo de análisis es de 36 minutos y se requieren 5 minutos aproximadamente post análisis para volver a estabilizar el sistema. También, debido a las diferentes características de los HAPs su detección en el FLD se realiza a diferentes longitudes de excitación y emisión por lo que estas longitudes de onda se deben cambiar de acuerdo a lo estipulado en el Cuadro 12. Los tiempos de retención para los HAPs se reportan en el Cuadro 13. En todos los compuestos se tiene una buena separación, con la excepción del B(a)Antraceno y Criseno que no se lograron separar totalmente, pero si de una forma suficiente para lograr su cuantificación.

Posteriormente se realizaron las curvas de calibración para cada HAPs, para realizarlas se tomaron en cuenta los límites de cuantificación y detección del método 8310 de la Agencia de Protección del Medio Ambiente (EPA, *Environmental Protection Agency*). Un recurso que se utilizó para alcanzar límites bajos para la detección de los HAPs fue utilizar una ganancia muy alta (ganancia= 15) en el detector FLD. Para cada HAP se obtuvo una curva de calibración, las curvas de

calibración se reportan en el Anexo I y todos los parámetros calculados para la recta de regresión están resumidos en el Cuadro 14, en el cual se puede observar que para todos los compuestos se tiene un coeficiente de correlación aceptable siendo el Floureno el compuesto con el con el coeficiente de correlación más bajo ($r^2= 0.9932$) y el más alto el Fluoranteno ($r^2=0.9996$), lo cual indica que la curva de calibración explica para todos los compuestos, que la variación en la respuesta del equipo es explicada de un 99.32 a 99.96 % es debida a un cambio en la concentración del compuesto, por lo cual estas curvas son una herramienta estadísticamente viable para la cuantificación de los HAPs. De igual forma se determinaron los límites de detección (LD) y cuantificación (LC) para cada compuesto y se encuentran en el Cuadro 15, donde el Criseno tiene los LD y LC más bajos (LD= 0.796 ng/mL y LC= 1.2159 ng/mL) y el Pireno los más altos (LD= 5.172 ng/mL y LC= 8.5453), algo a destacar es que ninguno de los HAPs tiene sus LD y LC por arriba de las concentraciones inyectadas para la determinación de su curva lo cual también indica que todas las curvas obtenidas son factibles para aplicarlas durante el análisis.

En la Figura 7 se puede observar que de acuerdo al proceso de limpieza que se le realizó en el suelo de referencia no contiene ninguno de los compuestos de interés en el estudio, razón por la cual se asegura que es un suelo limpio y aceptable para utilizarlo en la fortificación. De acuerdo al análisis de homogeneidad para la fortificación que se presenta en el Cuadro 16, los coeficientes de variación para cada compuesto después de realizar las extracciones son aceptables, teniendo al Fluoranteno con el coeficiente de variación más elevado (2.71 %) y al B(k)Fluoranteno con el más bajo (0.74%).

Con el diseño de experimentos se determinaron como los factores y sus interacciones afectan la cantidad recobrada de analito. Para cada compuesto se presentan gráficas de superficie en las cuales se observa como al variar los factores se afecta la cantidad extraída de analito. En el caso de la extracción asistida por microondas algunos de los factores tienen un valor estadísticamente significativo que demuestra la influencia del factor sobre la cantidad de analito extraído, en la mayoría de los casos el volumen de solvente es significativo como

en el Floureno, B(b)Fluoranteno y B(g,h,i)Perileno, un caso a remarcar es el del Pireno en el que todos los factores son estadísticamente significativos para su extracción, es decir la variación en el tiempo, volumen de solvente y temperatura afectan de manera directa la cantidad extraída de este compuesto. En la mayoría de los casos ninguno de los factores estudiados en el diseño de experimentos fue significativo estadísticamente y en el caso de la extracción por sonicación ninguno de los factores es estadísticamente significativo para la extracción de los HAPs. Para tener una idea más clara sobre la variación que se tiene durante las diferentes extracciones por microondas y sonicación se realizó un análisis de componentes de la varianza, es decir que porcentaje de la variación obtenida en las extracciones puede ser explicada por la variación de los factores. En el caso del microondas la mayoría de los HAPs presentan como componente principal de la variación al volumen de solvente con porcentajes entre 31.4 a 81.81% y mostrando menores porcentajes de variación los factores de temperatura y tiempo de extracción. Para sonicación y con este mismo análisis se puede observar que no existe un factor predominante en los componentes de la varianza y cada uno de los compuestos presenta un perfil diferente con un rango para el volumen de solvente de 0.772 a 78.35% y para el tiempo de 0.097 a 49.7 %. Debido a la complejidad de los sistemas y algo importante a remarcar es que cada HAP al momento de modificar los factores estudiados, cada uno tiene una influencia diferente y en ocasiones en dirección contraria en relación a los demás compuestos, por lo cual definir exactamente un método ideal para la extracción de los HAPs puede ser muy relativo, por lo que se eligieron las condiciones en las cuales se obtuvo el mayor porcentaje de recuperación de la mayoría de los compuestos en ambos casos y con estas condiciones se realizó la comparación entre los tres métodos de extracción. En la comparación de métodos y realizando un análisis de intervalos de confianza se determinó que en comparación con el método Soxhlet los únicos compuestos que muestran una diferencia estadísticamente significativa son el Floureno, Criseno, B(k)Fluoranteno y B(a)Pireno. Lo cual nos muestra que aunque en los métodos alternos que se presentan, se utiliza un tiempo y un volumen de solvente mucho menor al utilizado en Soxhlet son comparables en eficiencia. Cabe destacar

que al realizar el análisis jerárquico de procesos el método que obtiene una mejor calificación es el microondas, ya que es en el que se ocupa un menor tiempo de extracción y en un laboratorio establecido a largo plazo se puede obtener una mejor retribución, dada la versatilidad del equipo y su fácil manejo se pueden realizar más tipos de análisis, mientras que en sonicación aunque su manejo es muy fácil la versatilidad no es la misma que para microondas y se presenta una situación similar en Soxhlet ya que es un equipo difícil de manejar, los tiempos de extracción son muy largos y los componentes son muy frágiles, razón por la cual la extracción asistida por microondas es más eficiente que la realizada por Soxhlet y sonicación.

VIII. CONCLUSIONES

El procedimiento establecido para la separación de una mezcla compleja de Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos es eficiente y puede ser utilizado para su cuantificación de acuerdo a los parámetros establecidos en el método 8310 de la EPA.

A través de un diseño experimental se evaluaron diferentes factores que afectan el proceso de extracción de los HAPs por microondas y sonicación, se determinó la influencia de cada factor y como varía entre cada compuesto, cada HAP analizado tiene un comportamiento diferente ante la variación de los factores estudiados por lo que no se puede establecer un modelo para cuantificar la extracción de los compuestos. A partir de las gráficas de superficie se puede evaluar el efecto de cada factor y sus interacciones sobre cada compuesto.

Es muy relativo debido a la complejidad del sistema proponer un método óptimo para la extracción de los HAPs. Los métodos analizados no son estadísticamente diferentes en cuanto al porcentaje de recuperación de los compuestos, pero mediante un proceso de análisis jerárquico basado en la cantidad de solvente utilizado, el costo de implementación de la técnica y el tiempo de extracción, se determinó que el mejor método para realizar la extracción de los HAPs es el asistido por microondas.

Es importante realizar el estudio de otros factores que se vean implicados en el proceso de extracción por microondas, determinar su influencia y en un determinado momento si se tiene el interés de realizar extracciones de solamente alguno de los compuestos presentados en todo el análisis conocer que factores afectan la cantidad extraída de analito y poder optimizar los análisis que se lleven a cabo.

VII. BIBLIOGRAFÍA

Aarantzazu, E., Sioutas, C., Fine, M., Geller, M., Mayo, R. 2005., Observations of twelve USEPA priority polycyclic aromatic hydrocarbons in the Aitken size range (10-2nm Dp). *Aerosol Science and Technology*: Vol. 39: 415-418.

Barra, R., 2006. Polycyclic aromatic hydrocarbons fluxing during the past 50 years observed in dated sediment cores from Andean mountain lakes in central south Chile. *Ecotoxicology Environmental Safety*: Vol. 63: 52-60.

Barrera, H., 2003. <http://femisca.org/publicaciones/XIVcongreso/XIVCNIS108.pdf>

Chen, Y., Chen, C., 2003. Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in fumes fries chicken legs. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*: Vol. 51: 871-879.

Crépineau, C., Rychen, C., Feidt, C., Laurent, F., Lichtfouse, E., 2003. Contamination of pastures by polycyclic aromatic hydrocarbons in the vicinity of a highway. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*: Vol. 51: 4841-4845.

EPA, 1986. Method 8310, Polynuclear Aromatic Hydrocarbons.

Flotron, V., Houessou, J., Bosio, A., Deltei, C., Bermnond, A., Camel, V., 2003. Rapid determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in sewage sludges using microwave assisted solvent extraction comparison with other extraction methods. *Journal of Chromatography A*: Vol. 21: 175-184.

Grova, N., Feydt, C., Crépineau, C., Laurent, C., Lafargue, P., Hachimi, A., Rychen, G., 2002. Detection of polycyclic aromatic hydrocarbons levels in milk collected near potential contamination sources. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*: Vol. 50: 4640-4642.

Kalberer, M., Morrical, B., Sax, M., Zenobi, R., 2002. Picogram quantitation of polycyclic aromatic hydrocarbons adsorbed on aerosol particles by two-step laser mass spectrometry. *Analytical Chemistry*: Vol. 74: 3492-3497.

Kluska, M., 2003. Soil contamination with polycyclic aromatic hydrocarbons in the vicinity of the ring road in Siedlce city. *Polysh Journal of Environmental Studies*: Vol. 12: 175-184.

- Koffi, J., Bennac, C., Delteil, C., Camel, V., 2005.** Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in coffee brew using solid-phase extraction. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*: Vol. 53: 871- 879.
- Koffi, J., Delteil, C., Camel, V., 2006.** Investigation of simple treatment steps for the analysis of polycyclic aromatic hydrocarbons in ground coffee. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*: Vol. 54: 7413-7421.
- Lecona, S., 2005.** *Formulación de Proyectos*, Universidad Autónoma de Querétaro. Facultad de Química.
- Leonhardt, E., 1998.** Decomposition of acenaphthylene by ultrasonic irradiation. *Analytical Chemistry*: Vol. 67: 1226-1230.
- Lin, D., Zhu, L., He W., Youying, T., 2004.** Polycyclic aromatic hydrocarbons: Pollution and source analysis of a black tea. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*: Vol. 52: 8268-8271.
- Lin, D., 2006.** Tea plant uptake and translocation of polycyclic aromatic hydrocarbons from water and around air. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*: Vol. 54: 3658-3662.
- Lovas, F., MacMahon, R., Grabow, J., Schnell, M., Mack, J., Scott, L., Kuckowski, R., 2005.** Interstellar chemistry: A strategy for detecting polycyclic aromatic hydrocarbons in space. *Journal American Chemical Society*: Vol. 58: 4345-4349.
- Lundstedt, S., Haglund, P., Öberg, L., 2006.** Simultaneous extraction and fractionation of polycyclic aromatic hydrocarbons and their oxygenated derivatives in soil using selective pressurized extraction. *Analytical Chemistry*: Vol. 78: 3658-3662.
- Lutz, S., Feidt, C., Monteau, F., Rychen, G., Le Bizec, B., Jurjanz, S., 2006.** Effect of exposure to soil-bound polycyclic aromatic hydrocarbons on milk contamination of parents compounds and their monohydroxylated metabolites. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*: Vol. 54: 263-268.
- Mastandrea, C., 2005.** Hidrocarburos aromáticos policíclicos, riesgos para la salud y marcadores biológicos. *Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana*: Vol. 39: 27-36.
- Miège, C., Dugay, J., Hennion, C., 2003.** Optimization, validation and comparison of various extraction techniques for the trace determination polycyclic aromatic

hydrocarbons in sewage sludges by liquid chromatography coupled to diode-array and fluorescence detection. *Journal of Chromatography A*: Vol. 21: 87-97.

Moiz, M., 1995. Toxicological profile for PAHs. Agency for Toxic Substances and Disease Registry.

NOM-138, 2005. Norma oficial mexicana, límites máximos permisibles de hidrocarburos en suelos y las especificaciones para la caracterización y remediación.

OIT (Organización Internacional del Trabajo), 1998. Enciclopedia de salud y seguridad en el trabajo. 3ra ed. Min. Trabajo: 104.282- 104.286.

Pagluica, G., Gazzoti, T., Zironi, E., Serrazanetti, G., Mollica, D., Rosmini, R., 2003. Determination of high molecular mass polycyclic aromatic hydrocarbons in a typical Italian smoked cheese. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*: Vol. 51: 5111-5115.

Salguero, L., Garcia, M., Soto, B., Simal, J., 2004. Procedure to measure the level of polycyclic aromatic hydrocarbons in wood ashes used as fertilizer in agroforestry soils and their transfer from ashes to water. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*: Vol. 52: 3900-3904.

Sanz, J., Bartolomé, L., Zuloaga, O., Gonzalez, L., Dietz, C., Cámara, C., 2006. Accelerated extraction for determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in marine biota. *Analytical Bioanalytical Chemistry*: Vol. 10: 1331-1340.

Settle, F., 1997. Handbook of Instrumental Techniques for Analytical Chemistry. 2da ed. Prentice Hall: 24-33.

Sepulveda, J., 2007. http://organica.freehostia.com/file.php/4/Espectrometria_de__MASAS__2007-08.pdf

Siwinska, E., 2006. Association between urinary 1-hidroxypyrene and genotoxic effects in coke oven workers. *Journal of Occupational Environmental Medicine*. Vol. 48: 930-936.

Szolar, O., Rost, H., Braun, R., Loibner, A., 2002. Analysis of polycyclic aromatic hydrocarbons in soil: Minimizing sample pretreatment using automated Soxhlet with ethyl acetate as extraction solvent. *Analytical Chemistry*: Vol. 74: 2379-2385.

Universidad Coruña, 2005. http://www.udc.es/dep/mate/estadistica2/sec2_1.html.

Wang, Z., Taylor, L., Mehdi, A., 2003. Design on-line coupling of supercritical fluid extraction with liquid chromatography quantitative analysis of polycyclic aromatic hydrocarbons in a solid matrix. *Analytical Chemistry*: Vol. 75: 3979-3985.

Wolfgang, W., 2004. Polycyclic aromatic hydrocarbons storage in a typical cerrado of the Brazilian savanna. *Journal Environmental Quality*: Vol. 33: 946-955.

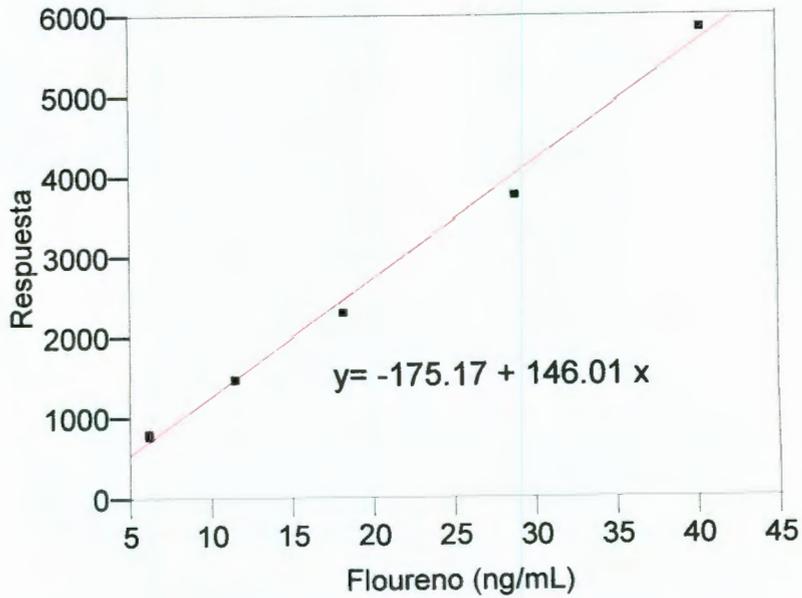
Yoon, C., Jordan, J., Nahorniak, M., Booksh, K., 2005. Photocatalytic degradation excitation emission matrix fluorescence for increasing the selectivity of polycyclic aromatic hydrocarbons. *Analytical Chemistry*: Vol. 77: 7679-7686.

You, J., Wetson, D., Lydy, M., 2004. A sonication extraction method for the analysis of pyrethroid, organophosphate, and organochlorine pesticides from sediment by gas chromatography with electron capture detection. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*: Vol. 47: 141-147.

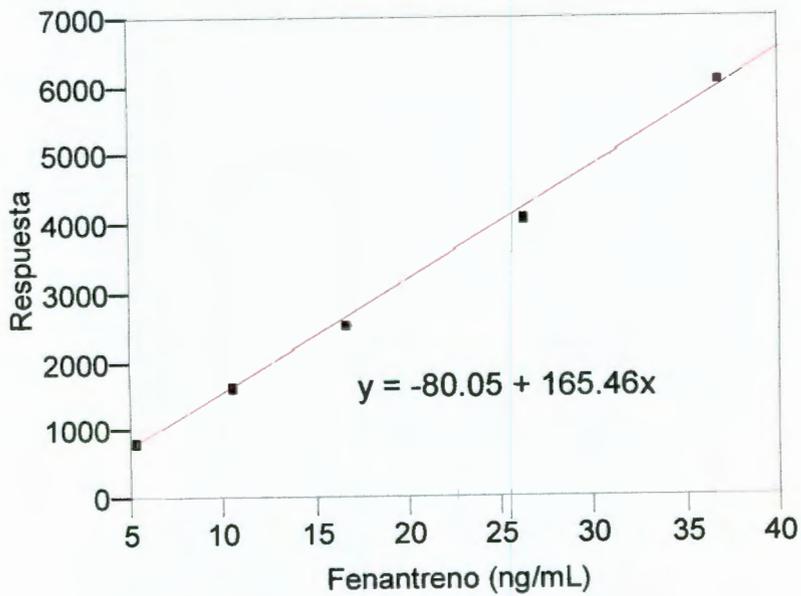
Zheng, L., Romanoff, L., Trinidad, D., Hussain, N., Jones, R., Porter, E., Patterson, D., Sjödin, A., 2006. Measurement of urinary monohydroxy polycyclic aromatic hydrocarbons using automated liquid-liquid extraction and gas chromatography/isotope dilution high-resolution mass spectrometry. *Analytical Chemistry*: Vol. 78: 5744-5751.

ANEXOS

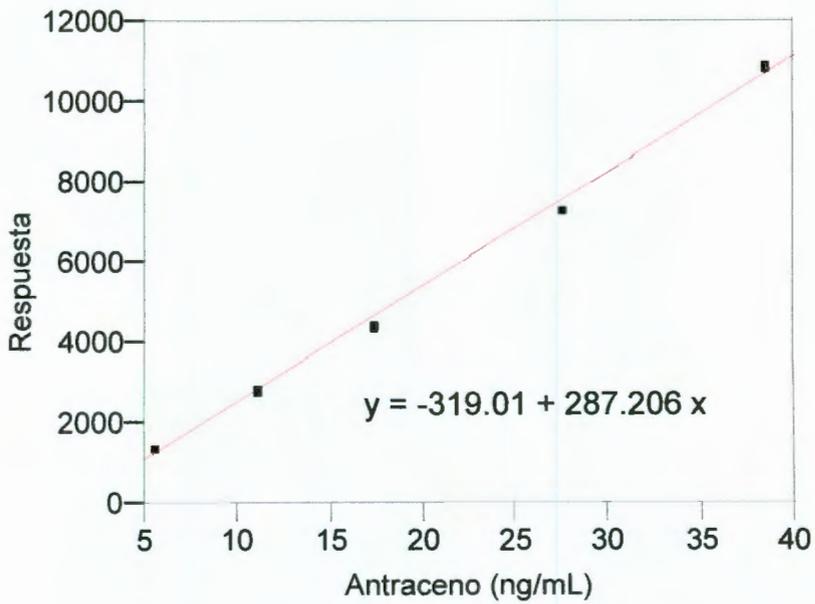
ANEXO I. Curvas de calibración para los HAPs analizados.



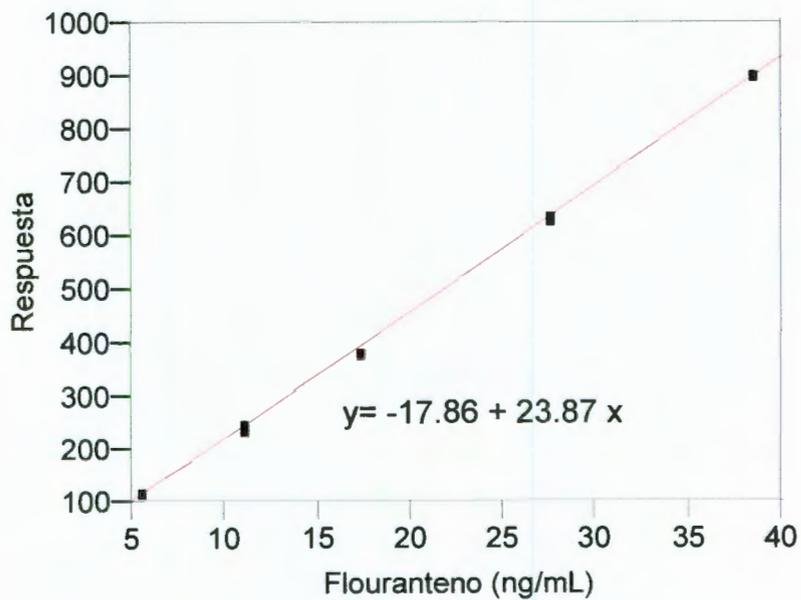
Curva de Calibración para el Floureno.



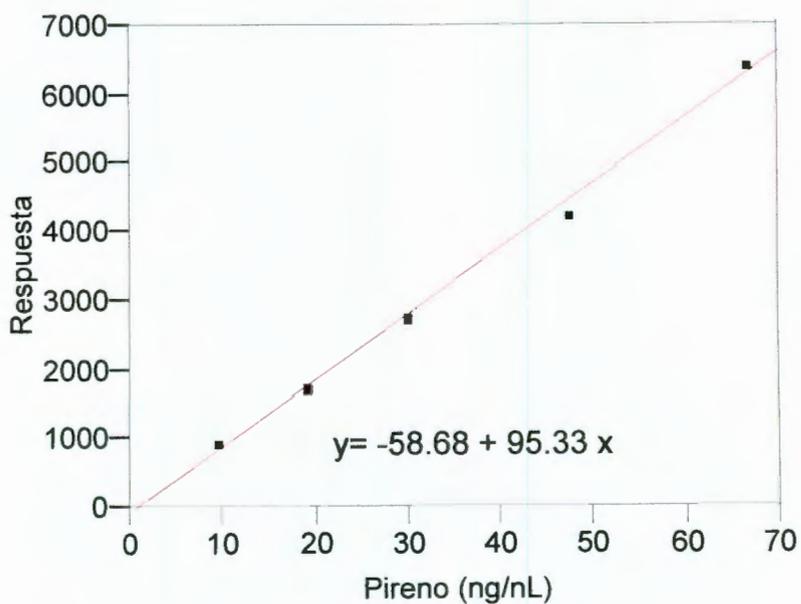
Curva de Calibración para el Fenantreno.



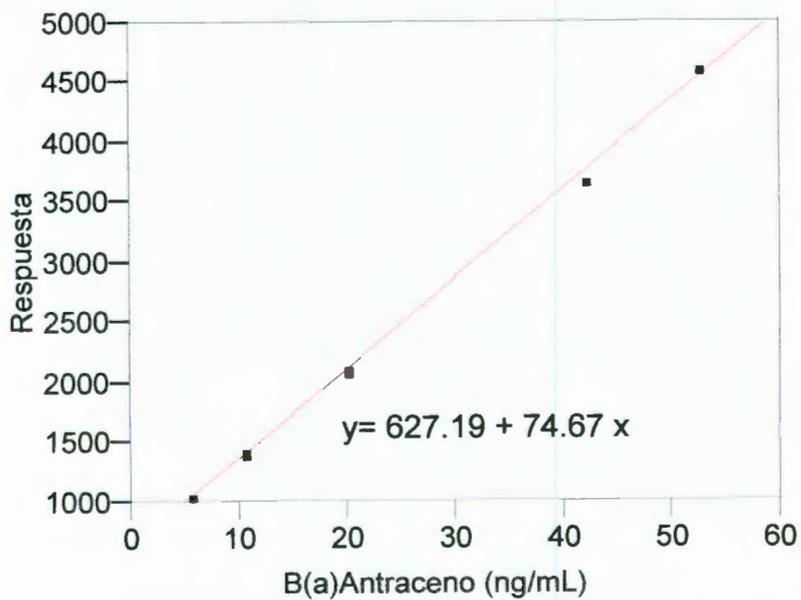
Curva de Calibración para el Antraceno.



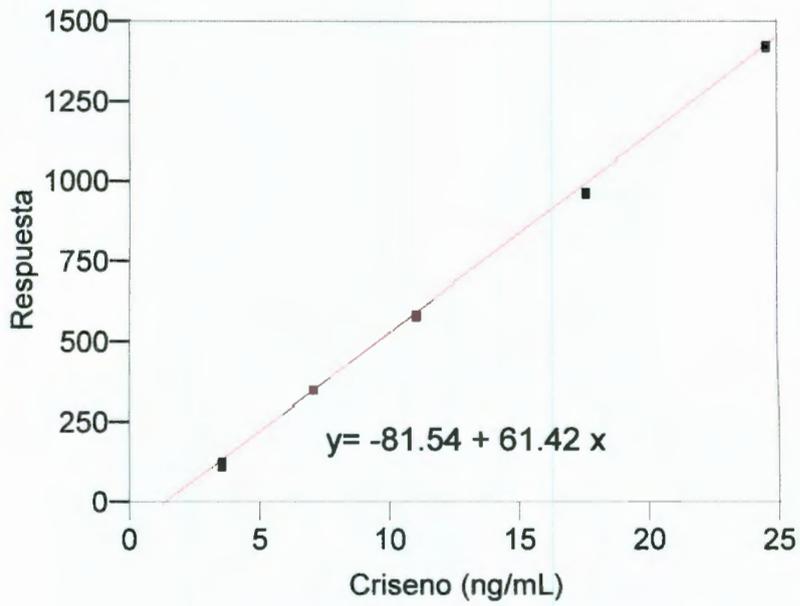
Curva de Calibración para el Fluoranteno.



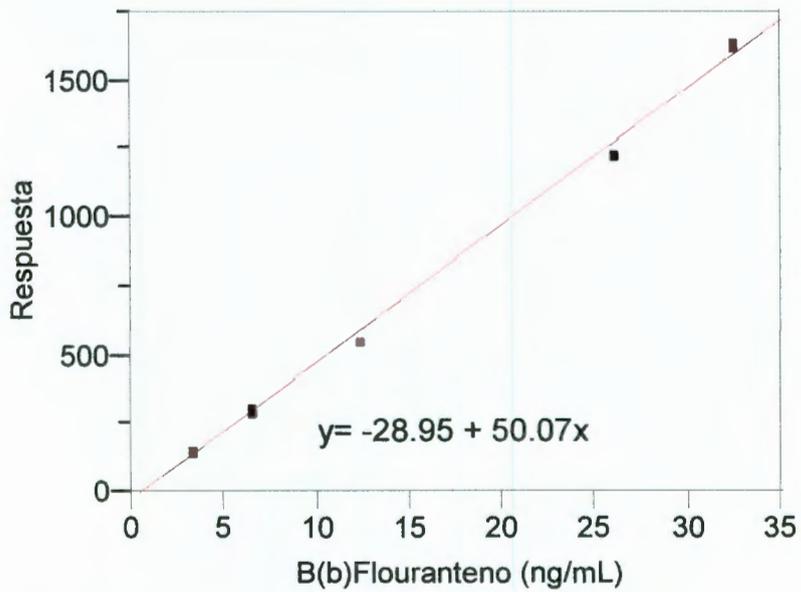
Curva de Calibración para el Pireno.



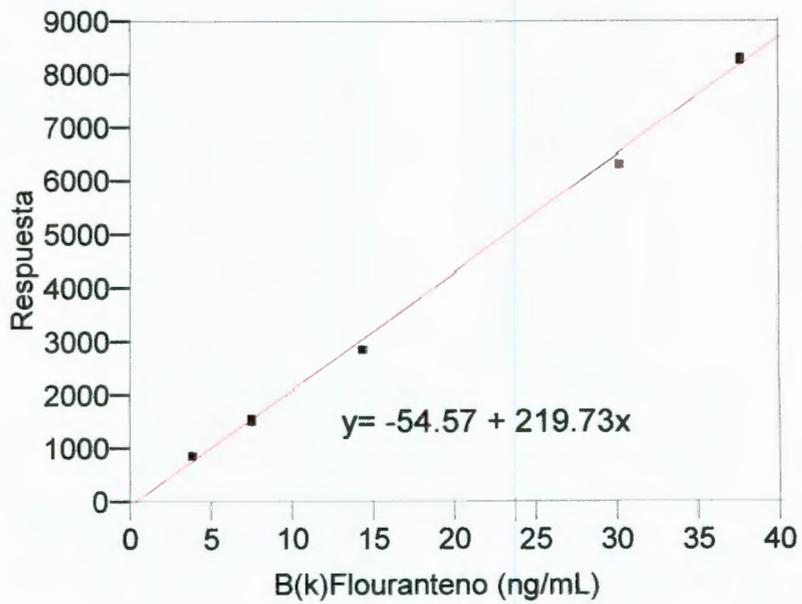
Curva de Calibración para el Benzo(a)Antraceno.



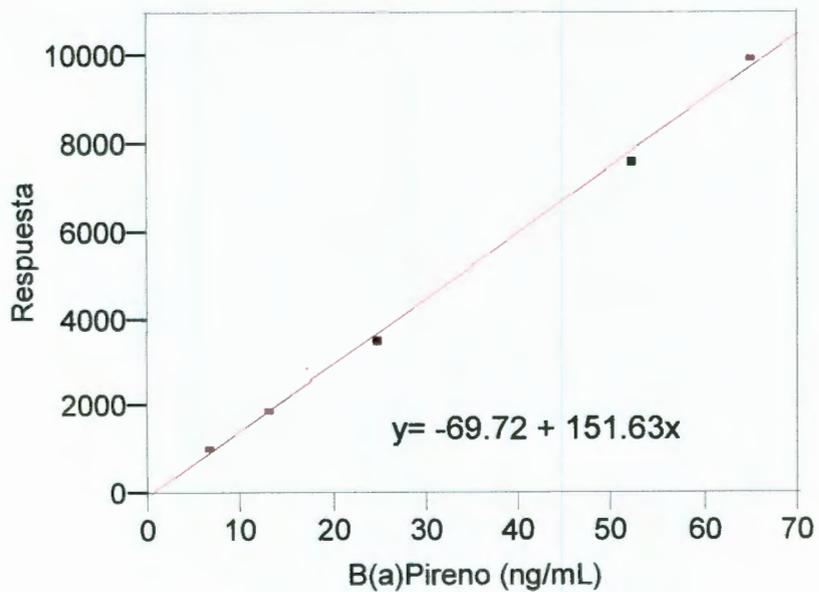
Curva de Calibración para el Criseno.



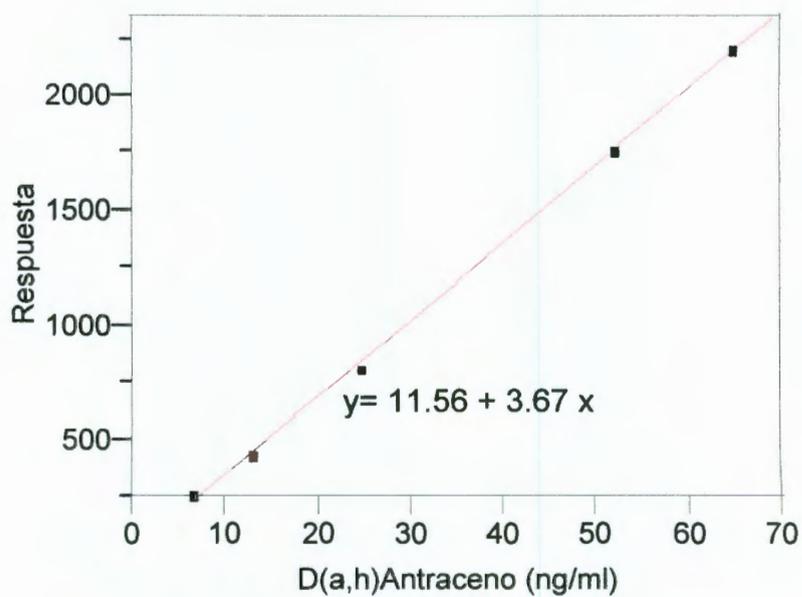
Curva de Calibración para el Benzo(b)Fluoranteno.



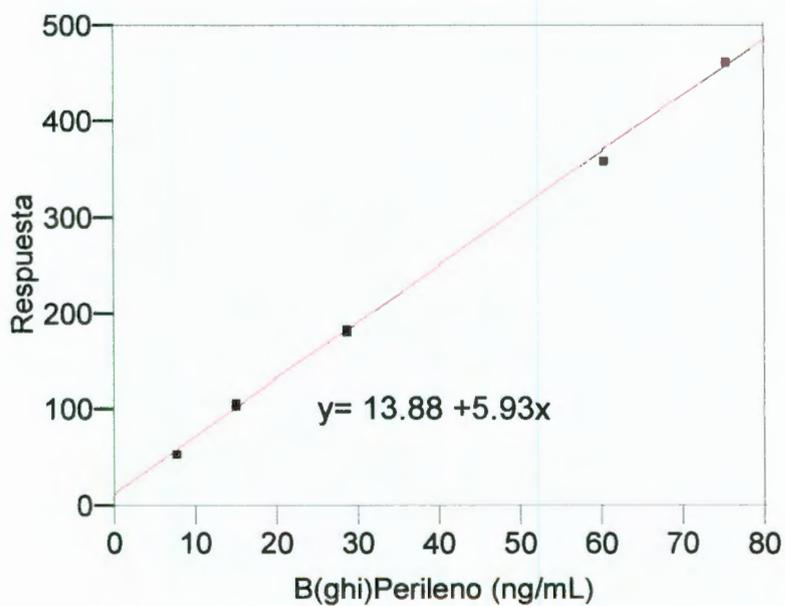
Curva de Calibración para el Benzo(k)Fluoranteno.



Curva de Calibración para el Benzo(a)Pireno.



Curva de Calibración para el Dibenzo(a,h)Antraceno.

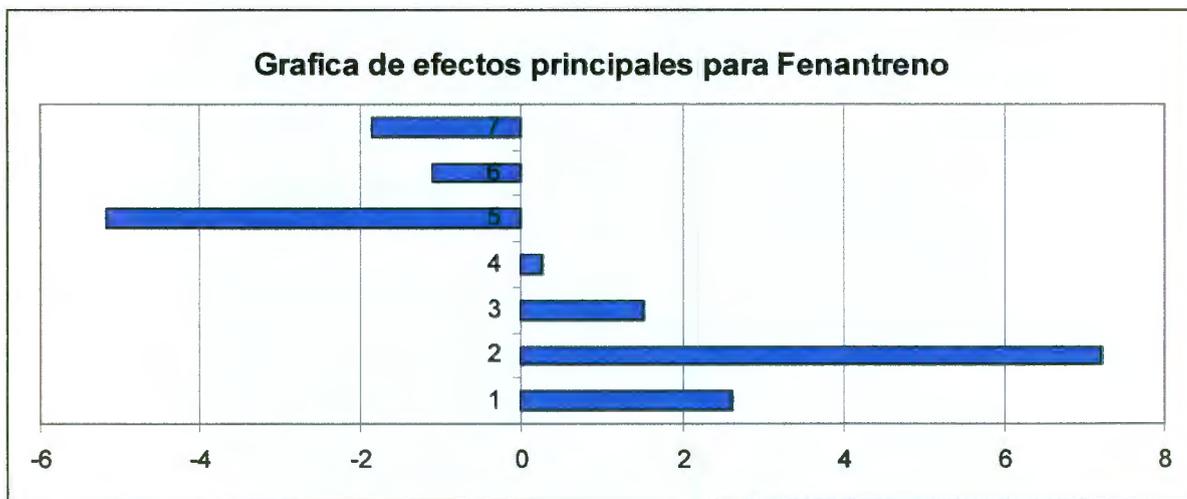


Curva de Calibración para el Benzo(g,h,i)Perileno.

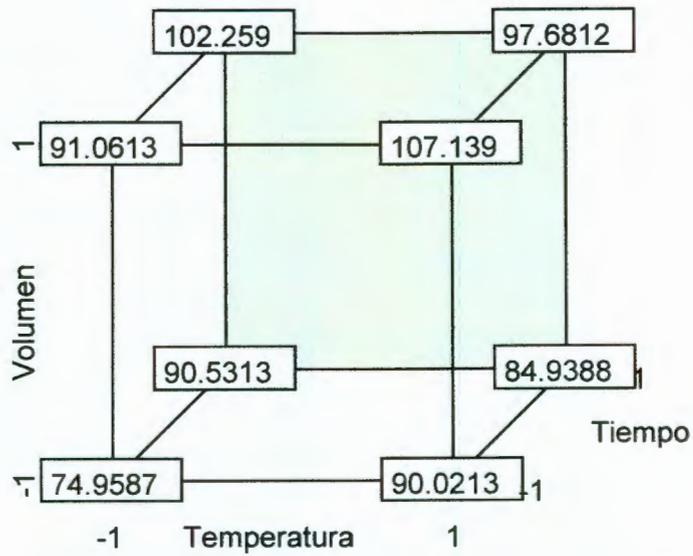
ANEXO II. Gráficas y análisis para el diseño experimental en la extracción de HAPs por microondas.

Matriz de efectos para el Fenantreno por extracción en microondas.

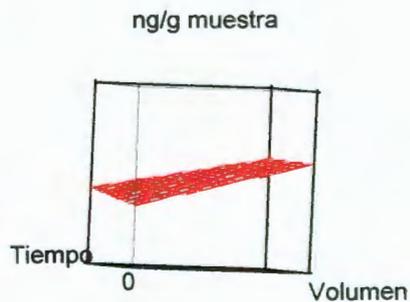
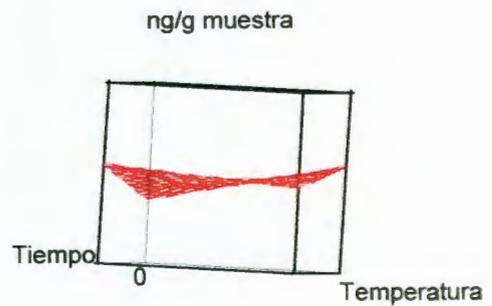
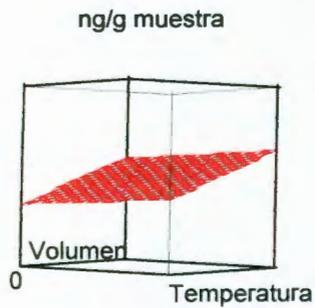
Experimento	X ₁	X ₂	X ₃	X ₁ X ₂	X ₁ X ₃	X ₂ X ₃	X ₁ X ₂ X ₃	[] ng/g muestra
1	-1	1	1	-1	-1	1	-1	104.13
2	1	-1	-1	-1	-1	1	1	88.15
3	-1	1	-1	-1	1	-1	1	89.19
4	-1	-1	1	1	-1	-1	1	88.66
5	-1	-1	-1	1	1	1	-1	76.83
6	1	1	1	1	1	1	1	95.81
7	1	-1	1	-1	1	-1	-1	86.81
8	1	1	-1	1	-1	-1	-1	109.01



Gráfica de efectos principales para Fenantreno X₁(1), X₂ (2), X₃ (3), X₁X₂ (4), X₁X₃ (5), X₂X₃ (6), X₁X₂X₃ (7).



Diseño cúbico del modelo experimental para la extracción de Fenantreno en microondas.



Superficie de respuesta entre temperatura, volumen de solvente y tiempo para la extracción de Fenantreno en microondas.

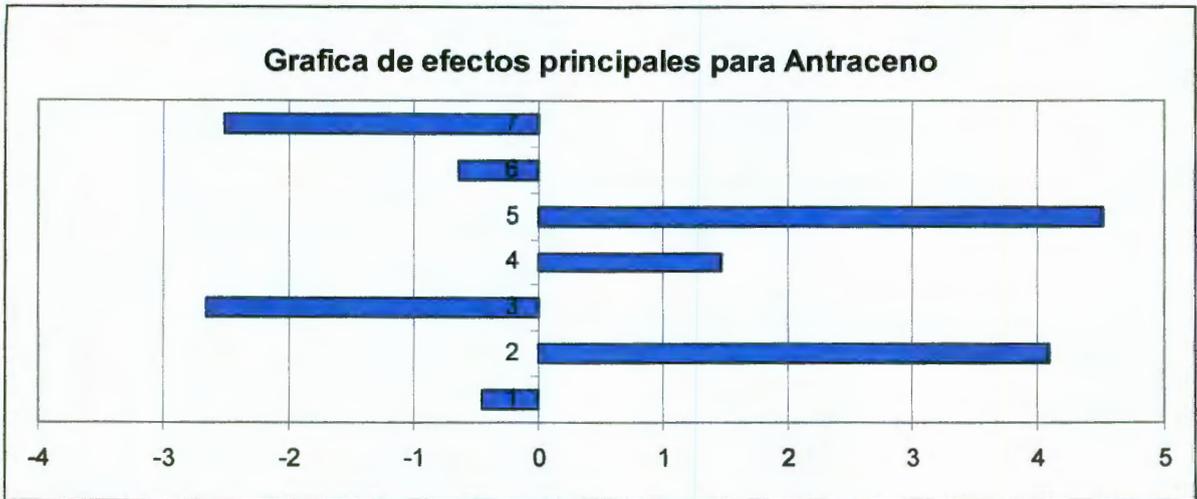
Análisis de los efectos principales para Fenantreno.

	Valor Efecto	Valor t	Prob> t	gl	Suma Cuadrados	Valor F	Prob > F
Temperatura	2.62	1.4	0.39	1	54.97	1.96	0.39
Volumen	7.21	3.85	0.16	1	416.02	14.85	0.16
Tiempo	1.53	0.82	0.56	1	18.70	0.67	0.56
Temperatura*Volumen	0.25	0.14	0.91	1	0.52	0.02	0.91
Temperatura*Tiempo	-5.16	-2.76	0.22	1	213.31	7.61	0.22
Volumen*Tiempo	-1.09	-0.58	0.66	1	9.57	0.34	0.66

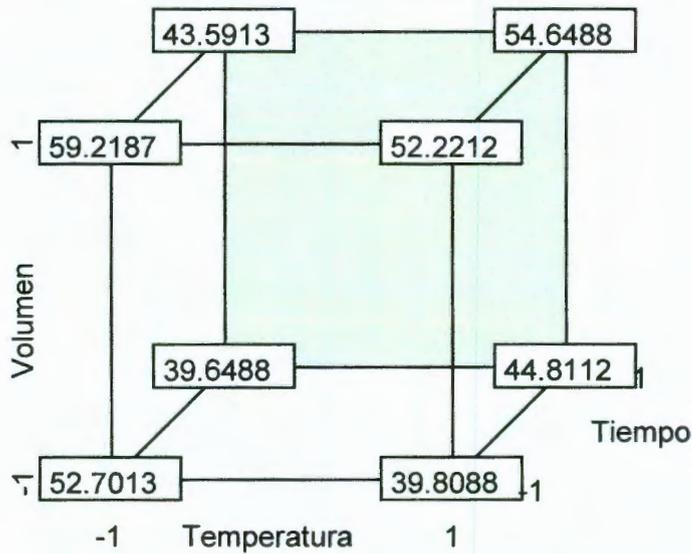
* Efectos principales sobre la extracción

Matriz de efectos para el Antraceno por extracción en microondas.

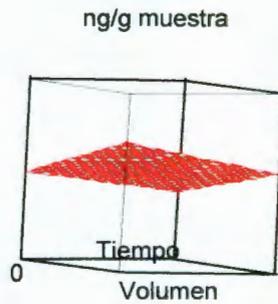
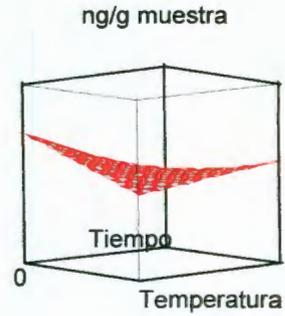
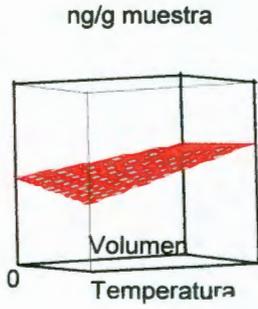
Experimento	X ₁	X ₂	X ₃	X ₁ X ₂	X ₁ X ₃	X ₂ X ₃	X ₁ X ₂ X ₃	[] ng/g muestra
1	-1	1	1	-1	-1	1	-1	46.10
2	1	-1	-1	-1	-1	1	1	37.30
3	-1	1	-1	-1	1	-1	1	56.71
4	-1	-1	1	1	-1	-1	1	37.14
5	-1	-1	-1	1	1	1	-1	55.21
6	1	1	1	1	1	1	1	52.14
7	1	-1	1	-1	1	-1	-1	47.32
8	1	1	-1	1	-1	-1	-1	54.73



Gráfica de efectos principales para Antraceno $X_1(1)$, $X_2(2)$, $X_3(3)$, $X_1X_2(4)$, $X_1X_3(5)$, $X_2X_3(6)$, $X_1X_2X_3(7)$.



Diseño cúbico del modelo experimental para la extracción de Antraceno en microondas.



Superficie de respuesta entre temperatura, volumen de solvente y tiempo para la extracción de Antraceno en microondas.

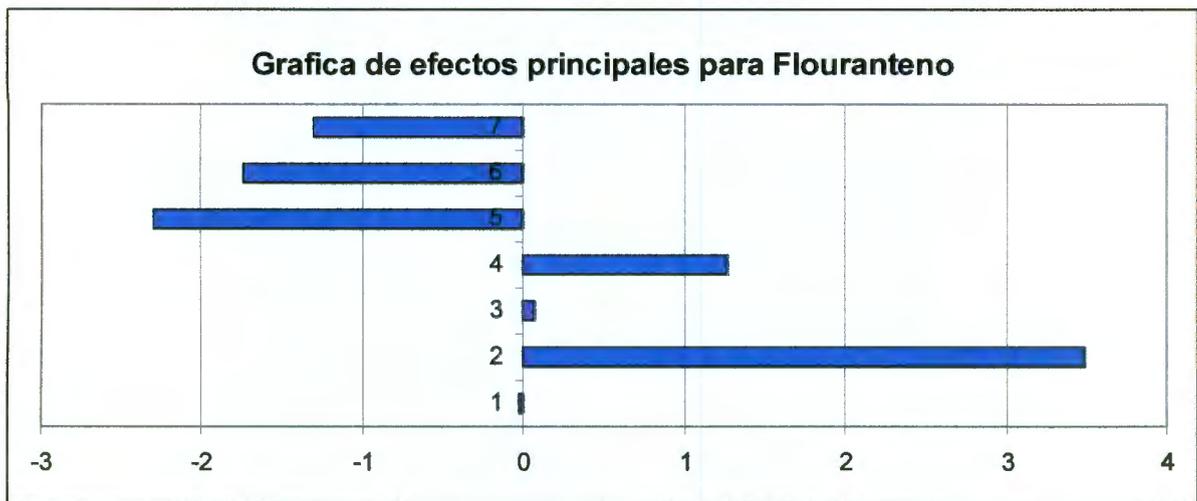
Análisis de los efectos principales para Antraceno.

	Valor Efecto	Valor t	Prob> t	gl	Suma Cuadrados	Valor F	Prob > F
Temperatura	-0.46	-0.18	0.88	1	1.68	0.03	0.88
Volumen	4.09	1.63	0.35	1	133.74	2.66	0.35
Tiempo	-2.66	-1.06	0.48	1	56.45	1.12	0.48
Temperatura*Volumen	1.47	0.59	0.66	1	17.38	0.35	0.66
Temperatura*Tiempo	4.51	1.80	0.32	1	162.99	3.24	0.32
Volumen*Tiempo	-0.64	-0.26	0.84	1	3.32	0.07	0.84

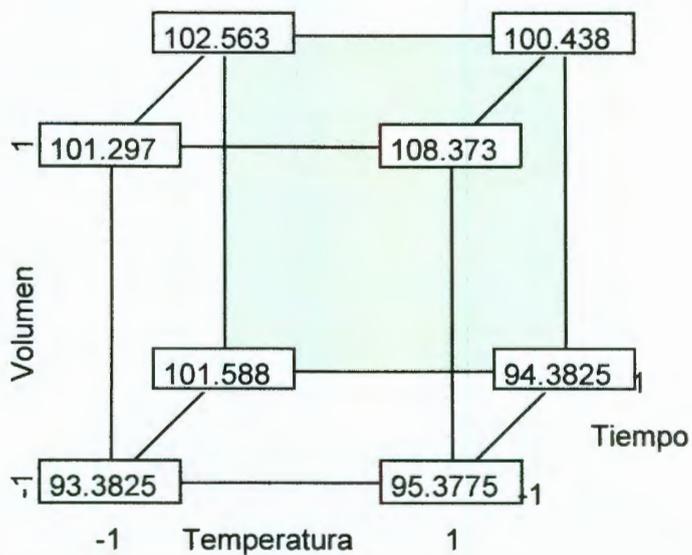
* Efectos principales sobre la extracción

Matriz de efectos para el Fluoranteno por extracción en microondas.

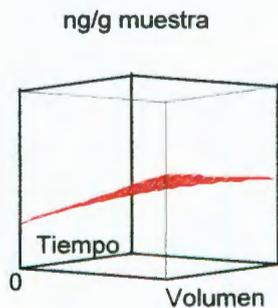
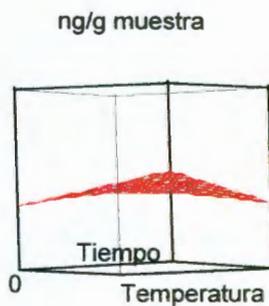
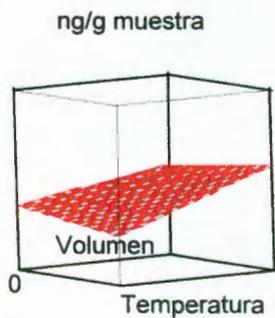
Experimento	X_1	X_2	X_3	X_1X_2	X_1X_3	X_2X_3	$X_1X_2X_3$	[] ng/g muestra
1	-1	1	1	-1	-1	1	-1	103.87
2	1	-1	-1	-1	-1	1	1	94.07
3	-1	1	-1	-1	1	-1	1	99.99
4	-1	-1	1	1	-1	-1	1	100.28
5	-1	-1	-1	1	1	1	-1	94.69
6	1	1	1	1	1	1	1	99.13
7	1	-1	1	-1	1	-1	-1	95.69
8	1	1	-1	1	-1	-1	-1	109.68



Gráfica de efectos principales para Fluoranteno X_1 (1), X_2 (2), X_3 (3), X_1X_2 (4), X_1X_3 (5), X_2X_3 (6), $X_1X_2X_3$ (7).



Diseño cúbico del modelo experimental para la extracción de Fluoranteno en microondas.



Superficie de respuesta entre temperatura, volumen de solvente y tiempo para la extracción de Fluoranteno en microondas.

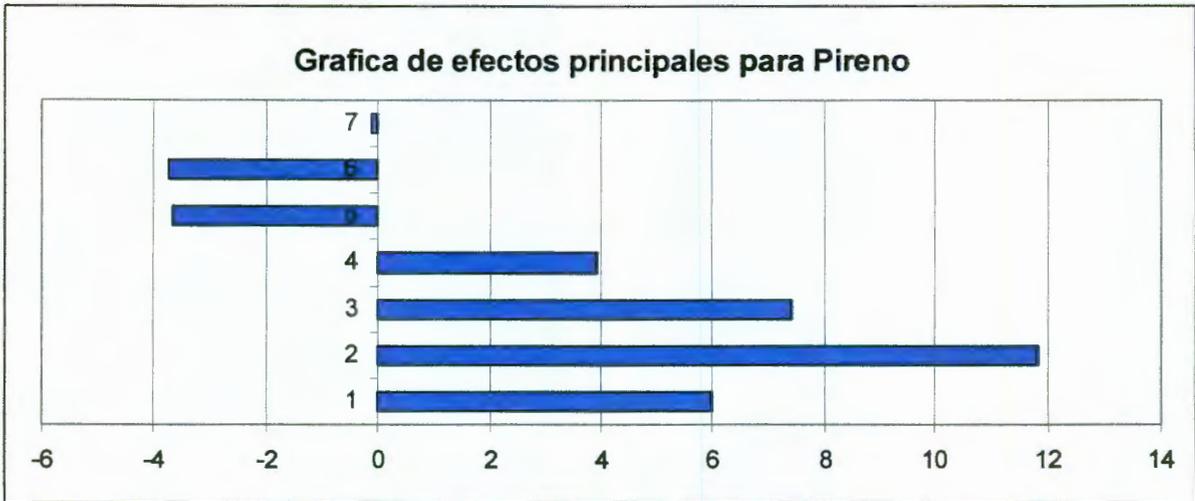
Análisis de los efectos principales para Fluoranteno.

	Valor Efecto	Valor t	Prob> t	gl	Suma Cuadrados	Valor F	Prob > F
Temperatura	-0.03	-0.02	0.98	1	0.01	0.00	0.98
Volumen	3.49	2.67	0.23	1	97.58	7.13	0.23
Tiempo	0.07	0.05	0.97	1	0.04	0.00	0.97
Temperatura*Volumen	1.27	0.97	0.51	1	12.90	0.94	0.51
Temperatura*Tiempo	-2.30	-1.76	0.33	1	42.32	3.09	0.33
Volumen*Tiempo	-1.74	-1.33	0.41	1	24.08	1.76	0.41

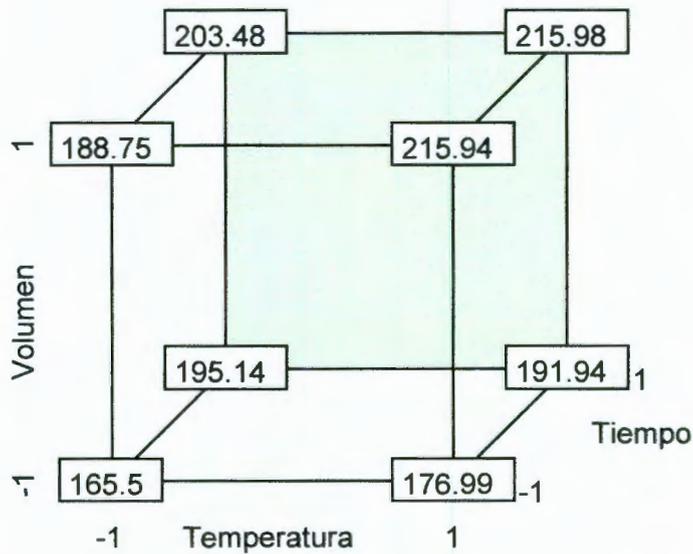
* Efectos principales sobre la extracción

Matriz de efectos para el Pireno por extracción en microondas.

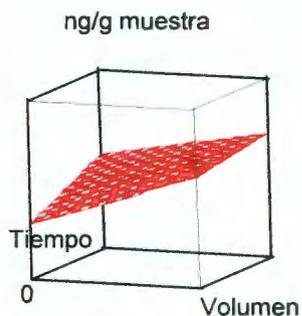
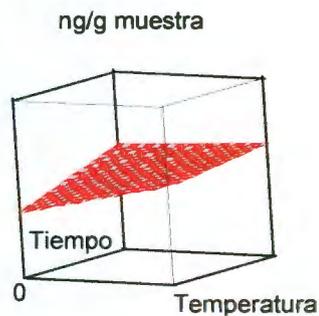
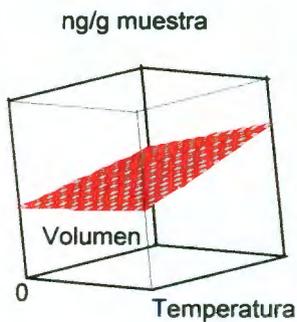
Experimento	X ₁	X ₂	X ₃	X ₁ X ₂	X ₁ X ₃	X ₂ X ₃	X ₁ X ₂ X ₃	[] ng/g muestra
1	-1	1	1	-1	-1	1	-1	203.58
2	1	-1	-1	-1	-1	1	1	176.89
3	-1	1	-1	-1	1	-1	1	188.65
4	-1	-1	1	1	-1	-1	1	195.04
5	-1	-1	-1	1	1	1	-1	165.60
6	1	1	1	1	1	1	1	215.88
7	1	-1	1	-1	1	-1	-1	192.04
8	1	1	-1	1	-1	-1	-1	216.04



Gráfica de efectos principales para Pireno $X_1(1)$, $X_2(2)$, $X_3(3)$, $X_1X_2(4)$, $X_1X_3(5)$, $X_2X_3(6)$, $X_1X_2X_3(7)$.



Diseño cúbico del modelo experimental para la extracción de Pireno en microondas.



Superficie de respuesta entre temperatura, volumen de solvente y tiempo para la extracción de Pireno en microondas.

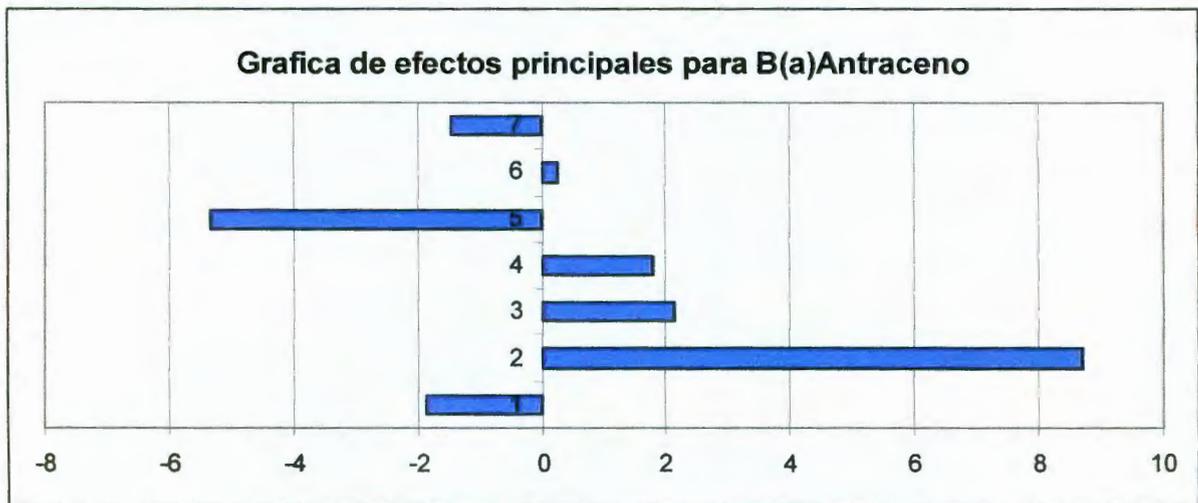
Análisis de los efectos principales para Pireno.

	Valor Efecto	Valor t	Prob> t	gl	Suma Cuadrados	Valor F	Prob > F
Temperatura	6.00	59.97	0.01	1	287.76	3597.00	0.01*
Volumen	11.82	118.22	0.01	1	1118.17	13977.15	0.01*
Tiempo	7.42	74.20	0.01	1	440.45	5505.64	0.01*
Temperatura*Volumen	3.93	39.25	0.02	1	123.25	1540.56	0.02*
Temperatura*Tiempo	-3.67	-36.72	0.02	1	107.90	1348.73	0.02*
Volumen*Tiempo	-3.73	-37.27	0.02	1	111.15	1389.43	0.02*

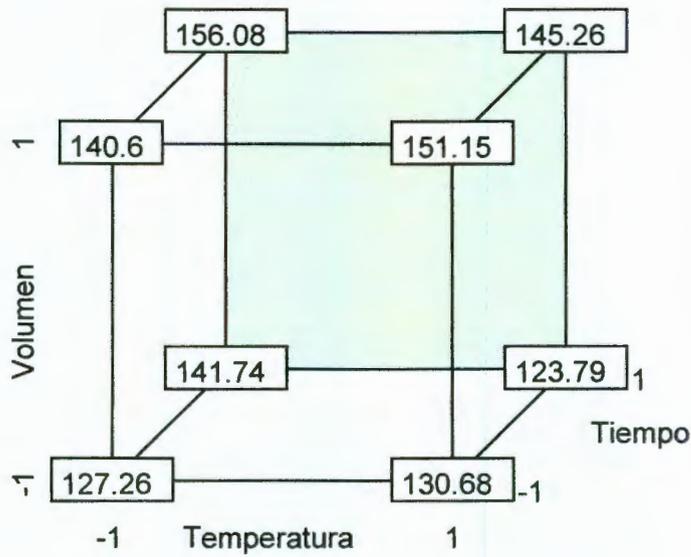
* Efectos principales sobre la extracción

Matriz de efectos para el B(a)Antraceno por extracción en microondas.

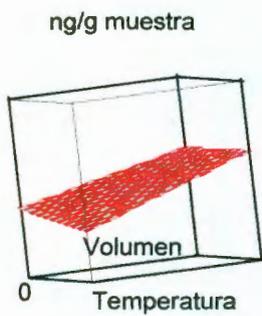
Experimento	X_1	X_2	X_3	X_1X_2	X_1X_3	X_2X_3	$X_1X_2X_3$	[] ng/g muestra
1	-1	1	1	-1	-1	1	-1	157.55
2	1	-1	-1	-1	-1	1	1	129.21
3	-1	1	-1	-1	1	-1	1	139.13
4	-1	-1	1	1	-1	-1	1	140.27
5	-1	-1	-1	1	1	1	-1	128.73
6	1	1	1	1	1	1	1	143.79
7	1	-1	1	-1	1	-1	-1	125.26
8	1	1	-1	1	-1	-1	-1	152.62



Gráfica de efectos principales para B(a)Antraceno X_1 (1), X_2 (2), X_3 (3), X_1X_2 (4), X_1X_3 (5), X_2X_3 (6), $X_1X_2X_3$ (7).



Diseño cúbico del modelo experimental para la extracción de B(a)Antraceno en microondas.



Superficie de respuesta entre temperatura, volumen de solvente y tiempo para la extracción de B(a)Antraceno en microondas.

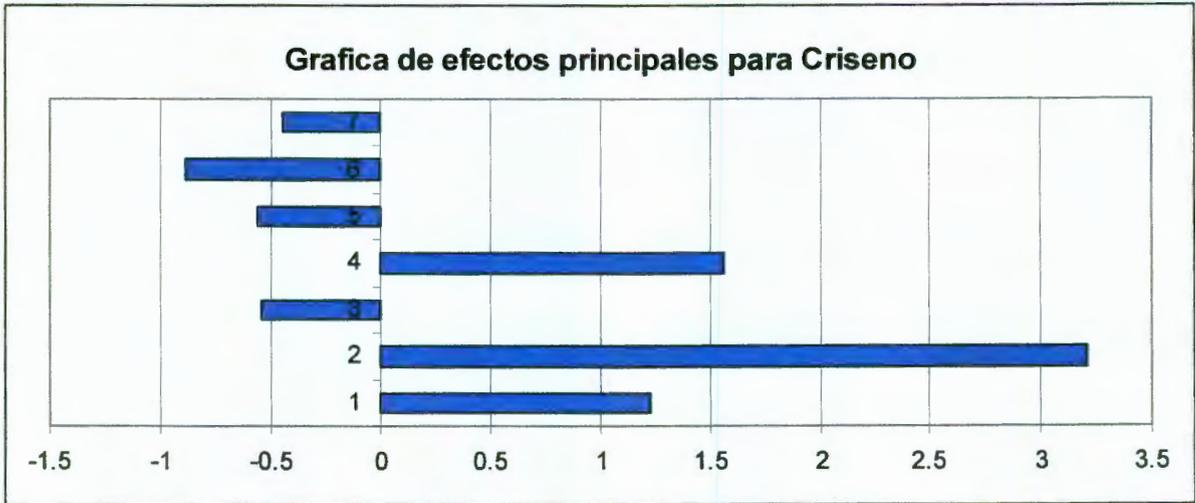
Análisis de los efectos principales para B(a)Antraceno.

	Valor Efecto	Valor t	Prob> t	gl	Suma Cuadrados	Valor F	Prob > F
Temperatura	-1.85	-1.26	0.43	1	27.38	1.58	0.43
Volumen	8.70	5.92	0.11	1	605.87	35.05	0.11
Tiempo	2.15	1.46	0.38	1	36.89	2.13	0.38
Temperatura*Volumen	1.78	1.21	0.44	1	25.42	1.47	0.44
Temperatura*Tiempo	-5.34	-3.63	0.17	1	228.34	13.21	0.17
Volumen*Tiempo	0.25	0.17	0.89	1	0.50	0.03	0.89

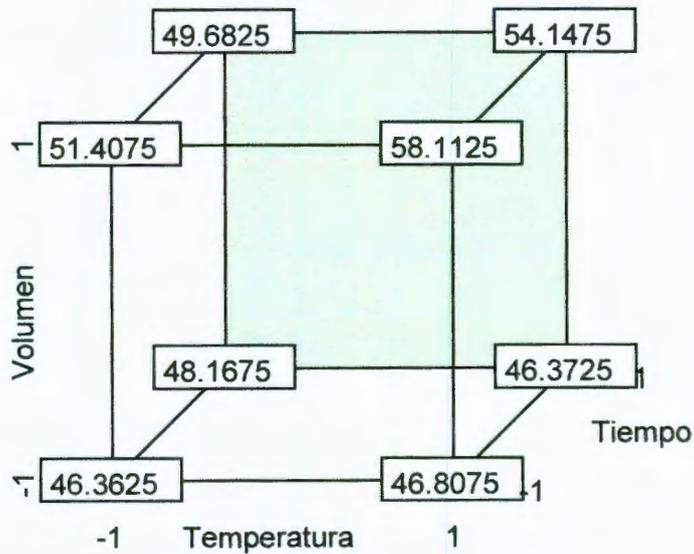
* Efectos principales sobre la extracción

Matriz de efectos para el Criseno por extracción en microondas.

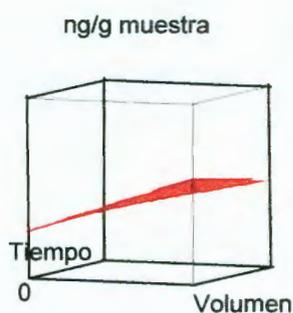
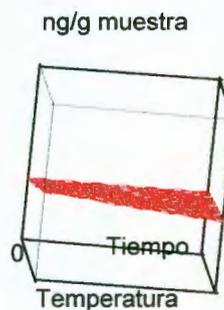
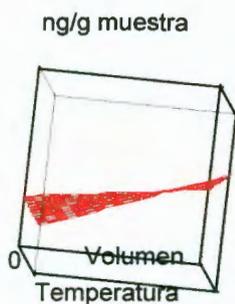
Experimento	X ₁	X ₂	X ₃	X ₁ X ₂	X ₁ X ₃	X ₂ X ₃	X ₁ X ₂ X ₃	[] ng/g muestra
1	-1	1	1	-1	-1	1	-1	50.13
2	1	-1	-1	-1	-1	1	1	46.36
3	-1	1	-1	-1	1	-1	1	50.96
4	-1	-1	1	1	-1	-1	1	47.72
5	-1	-1	-1	1	1	1	-1	46.81
6	1	1	1	1	1	1	1	53.70
7	1	-1	1	-1	1	-1	-1	46.82
8	1	1	-1	1	-1	-1	-1	58.56



Gráfica de efectos principales para Criseno $X_1(1)$, $X_2(2)$, $X_3(3)$, $X_1X_2(4)$, $X_1X_3(5)$, $X_2X_3(6)$, $X_1X_2X_3(7)$.



Diseño cúbico del modelo experimental para la extracción de Criseno en microondas.



Superficie de respuesta entre temperatura, volumen de solvente y tiempo para la extracción de Criseno en microondas.

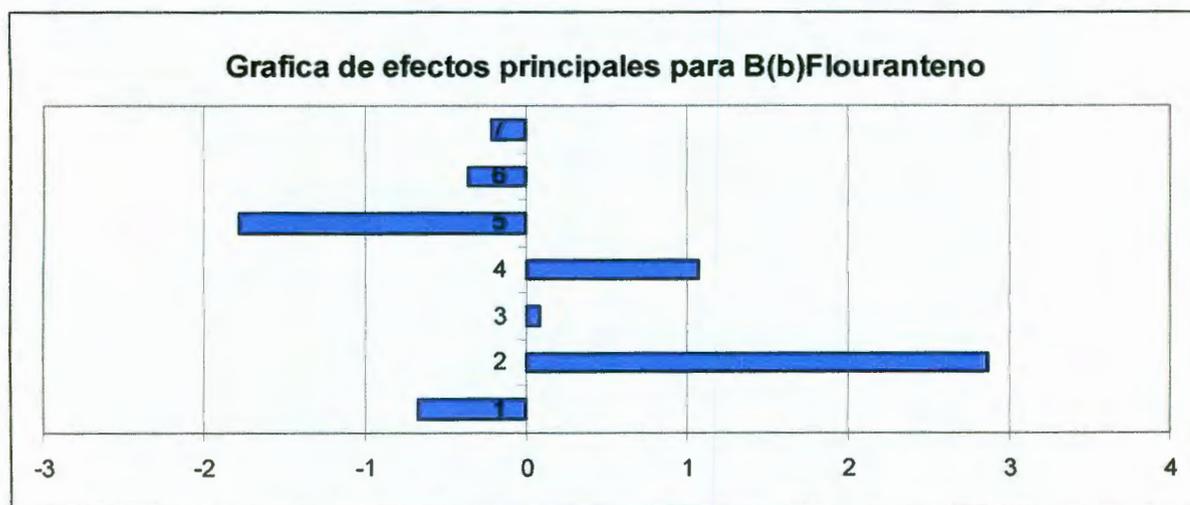
Análisis de los efectos principales para Criseno.

	Valor Efecto	Valor t	Prob> t	gl	Suma Cuadrados	Valor F	Prob > F
Temperatura	1.23	2.74	0.22	1	12.05	7.52	0.22
Volumen	3.21	7.16	0.09	1	82.18	51.29	0.09
Tiempo	-0.54	-1.21	0.44	1	2.33	1.46	0.44
Temperatura*Volumen	1.57	3.50	0.18	1	19.59	12.23	0.18
Temperatura*Tiempo	-0.56	-1.25	0.43	1	2.51	1.57	0.43
Volumen*Tiempo	-0.88	-1.97	0.30	1	6.23	3.89	0.30

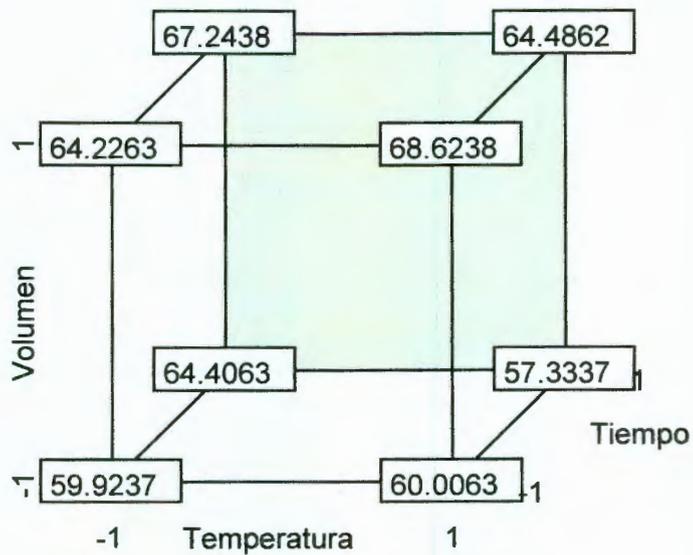
* Efectos principales sobre la extracción

Matriz de efectos para el B(b)Fluoranteno por extracción en microondas.

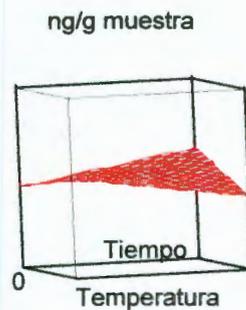
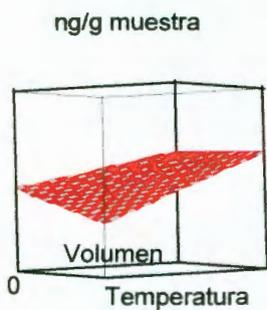
Experimento	X ₁	X ₂	X ₃	X ₁ X ₂	X ₁ X ₃	X ₂ X ₃	X ₁ X ₂ X ₃	[] ng/g muestra
1	-1	1	1	-1	-1	1	-1	67.46
2	1	-1	-1	-1	-1	1	1	59.79
3	-1	1	-1	-1	1	-1	1	64.01
4	-1	-1	1	1	-1	-1	1	64.19
5	-1	-1	-1	1	1	1	-1	60.14
6	1	1	1	1	1	1	1	64.27
7	1	-1	1	-1	1	-1	-1	57.55
8	1	1	-1	1	-1	-1	-1	68.84



Gráfica de efectos principales para B(b)Fluoranteno X₁(1), X₂ (2), X₃ (3), X₁X₂ (4), X₁X₃ (5), X₂X₃ (6), X₁X₂X₃ (7).



Diseño cúbico del modelo experimental para la extracción de B(b)Fluoranteno en microondas.



Superficie de respuesta entre temperatura, volumen de solvente y tiempo para la extracción de B(b)Fluoranteno en microondas.

Análisis de los efectos principales para B(b)Fluoranteno.

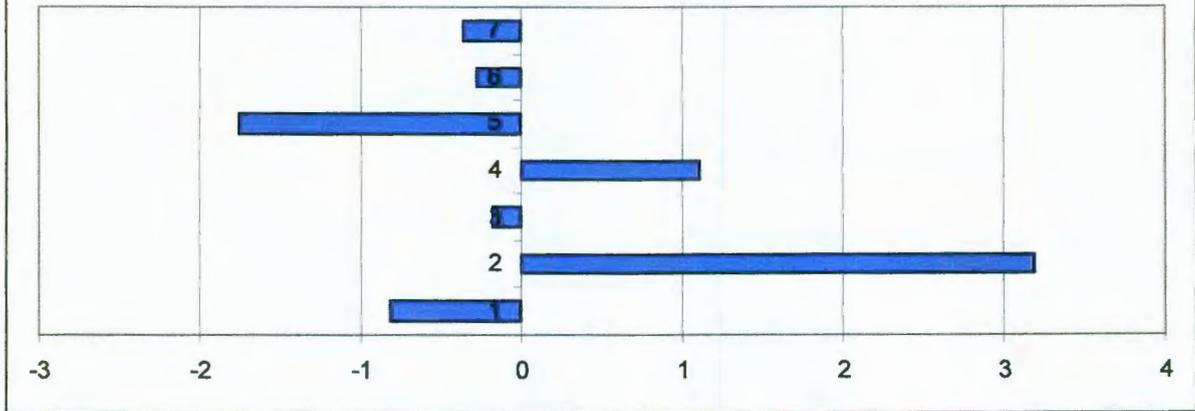
	Valor Efecto	Valor t	Prob> t	gl	Suma Cuadrados	Valor F	Prob > F
Temperatura	-0.67	-3.09	0.20	1	3.58	9.56	0.20
Volumen	2.86	13.24	0.05	1	65.61	175.37	0.05*
Tiempo	0.09	0.40	0.76	1	0.06	0.16	0.76
Temperatura*Volumen	1.08	4.99	0.13	1	9.31	24.88	0.13
Temperatura*Tiempo	-1.79	-8.27	0.08	1	25.60	68.42	0.08
Volumen*Tiempo	-0.37	-1.69	0.34	1	1.07	2.87	0.34

* Efectos principales sobre la extracción

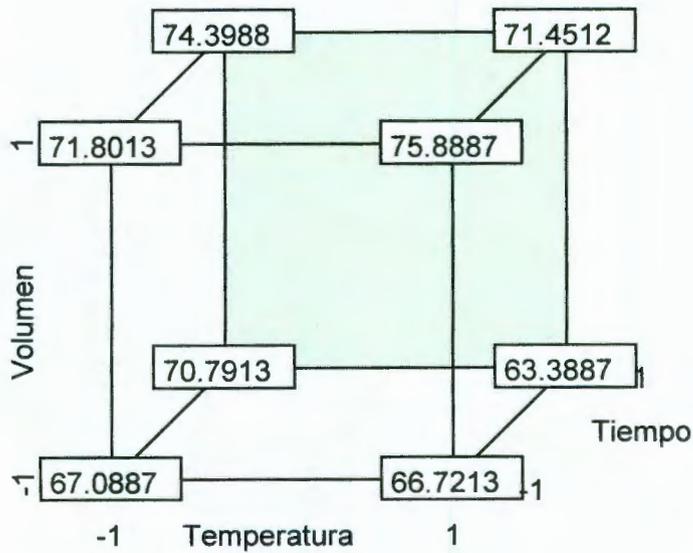
Matriz de efectos para el B(k)Fluoranteno por extracción en microondas.

Experimento	X ₁	X ₂	X ₃	X ₁ X ₂	X ₁ X ₃	X ₂ X ₃	X ₁ X ₂ X ₃	[] ng/g muestra
1	-1	1	1	-1	-1	1	-1	74.77
2	1	-1	-1	-1	-1	1	1	66.35
3	-1	1	-1	-1	1	-1	1	71.43
4	-1	-1	1	1	-1	-1	1	70.42
5	-1	-1	-1	1	1	1	-1	67.46
6	1	1	1	1	1	1	1	71.08
7	1	-1	1	-1	1	-1	-1	63.76
8	1	1	-1	1	-1	-1	-1	76.26

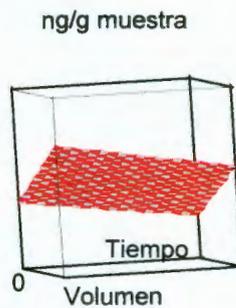
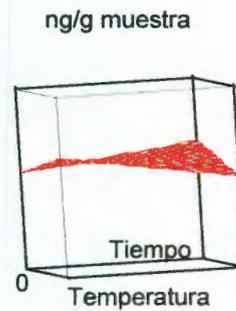
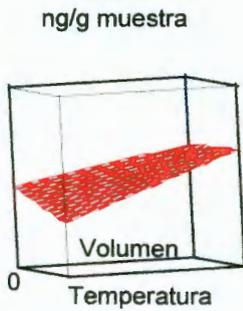
Grafica de efectos principales para B(k)Flouranteno



Gráfica de efectos principales para B(k)Flouranteno $X_1(1)$, $X_2(2)$, $X_3(3)$, $X_1X_2(4)$, $X_1X_3(5)$, $X_2X_3(6)$, $X_1X_2X_3(7)$.



Diseño cúbico del modelo experimental para la extracción de B(k)Flouranteno en microondas.



Superficie de respuesta entre temperatura, volumen de solvente y tiempo para la extracción de B(k)Fluoranteno en microondas.

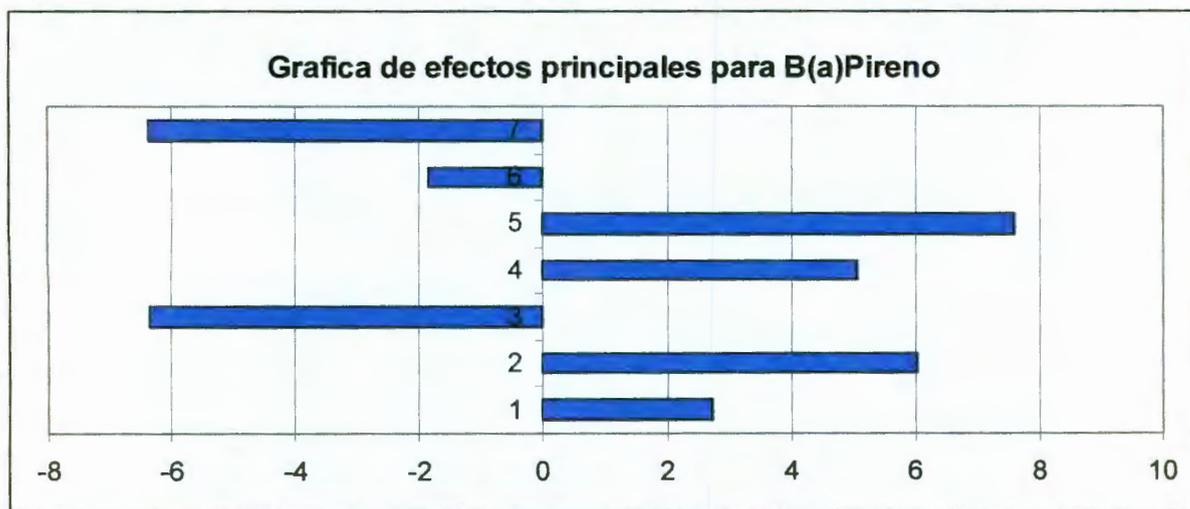
Análisis de los efectos principales para B(k)Fluoranteno.

	Valor Efecto	Valor t	Prob> t	gl	Suma Cuadrados	Valor F	Prob > F
Temperatura	-0.83	-2.23	0.27	1	5.49	4.98	0.27
Volumen	3.19	8.60	0.07	1	81.60	74.01	0.07
Tiempo	-0.18	-0.49	0.71	1	0.27	0.25	0.71
Temperatura*Volumen	1.11	3.00	0.20	1	9.92	9.00	0.20
Temperatura*Tiempo	-1.76	-4.74	0.13	1	24.75	22.44	0.13
Volumen*Tiempo	-0.28	-0.74	0.59	1	0.61	0.55	0.59

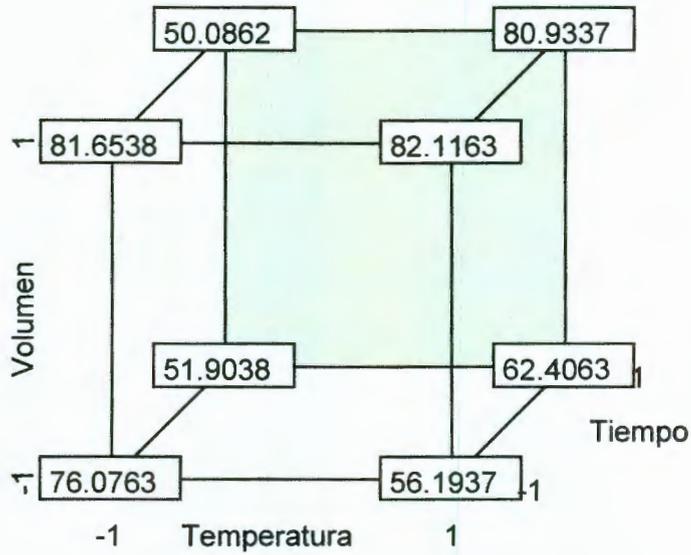
* Efectos principales sobre la extracción

Matriz de efectos para el B(a)Pireno por extracción en microondas.

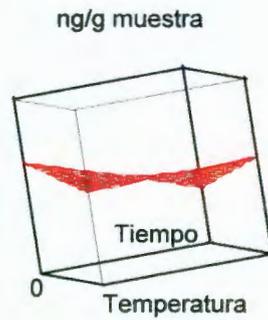
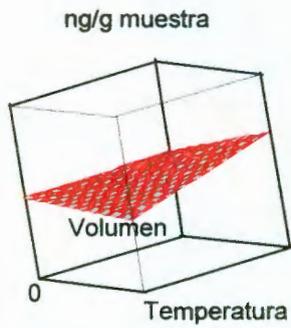
Experimento	X ₁	X ₂	X ₃	X ₁ X ₂	X ₁ X ₃	X ₂ X ₃	X ₁ X ₂ X ₃	[] ng/g muestra
1	-1	1	1	-1	-1	1	-1	56.45
2	1	-1	-1	-1	-1	1	1	49.83
3	-1	1	-1	-1	1	-1	1	75.29
4	-1	-1	1	1	-1	-1	1	45.54
5	-1	-1	-1	1	1	1	-1	82.44
6	1	1	1	1	1	1	1	74.57
7	1	-1	1	-1	1	-1	-1	68.77
8	1	1	-1	1	-1	-1	-1	88.48



Gráfica de efectos principales para B(a)Pireno X₁(1), X₂ (2), X₃ (3), X₁X₂ (4), X₁X₃ (5), X₂X₃ (6), X₁X₂X₃ (7).



Diseño cúbico del modelo experimental para la extracción de B(a)Pireno en microondas.



Superficie de respuesta entre temperatura, volumen de solvente y tiempo para la extracción de B(a)Pireno en microondas.

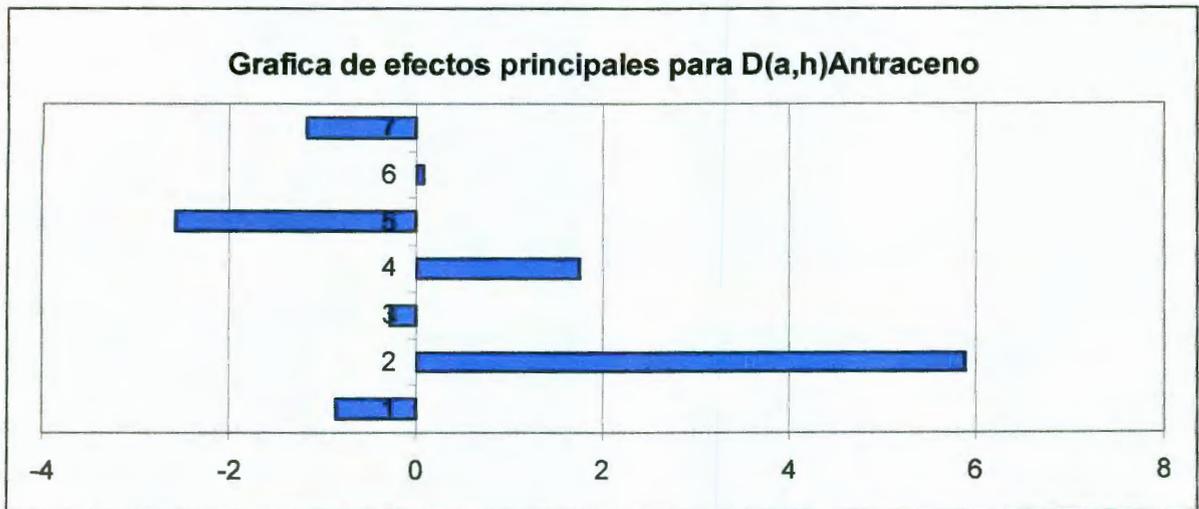
Análisis de los efectos principales para B(a)Pireno.

	Valor Efecto	Valor t	Prob> t	gl	Suma Cuadrados	Valor F	Prob > F
Temperatura	2.74	0.43	0.74	1	60.12	0.19	0.74
Volumen	6.03	0.95	0.52	1	290.53	0.90	0.52
Tiempo	-6.34	-1.00	0.50	1	321.44	0.99	0.50
Temperatura*Volumen	5.09	0.80	0.57	1	206.96	0.64	0.57
Temperatura*Tiempo	7.60	1.19	0.44	1	461.62	1.42	0.44
Volumen*Tiempo	-1.85	-0.29	0.82	1	27.34	0.08	0.82

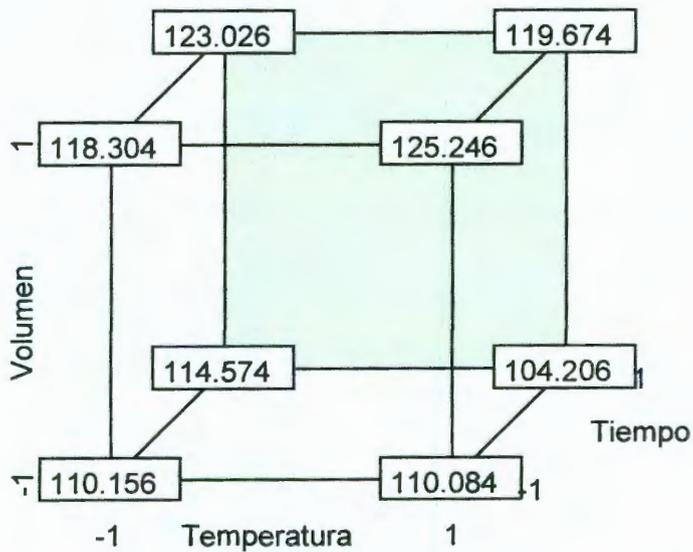
* Efectos principales sobre la extracción

Matriz de efectos para el D(a,h)Antraceno por extracción en microondas.

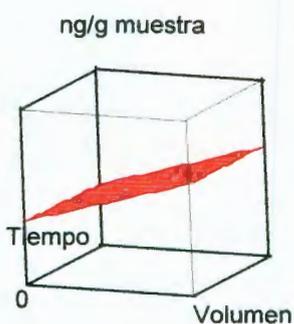
Experimento	X ₁	X ₂	X ₃	X ₁ X ₂	X ₁ X ₃	X ₂ X ₃	X ₁ X ₂ X ₃	[] ng/g muestra
1	-1	1	1	-1	-1	1	-1	124.21
2	1	-1	-1	-1	-1	1	1	108.90
3	-1	1	-1	-1	1	-1	1	117.12
4	-1	-1	1	1	-1	-1	1	113.39
5	-1	-1	-1	1	1	1	-1	111.34
6	1	1	1	1	1	1	1	118.49
7	1	-1	1	-1	1	-1	-1	105.39
8	1	1	-1	1	-1	-1	-1	126.43



ráfica de efectos principales para D(a,h)Antraceno $X_1(1)$, $X_2(2)$, $X_3(3)$, $X_1X_2(4)$, $X_1X_3(5)$, $X_2X_3(6)$, $X_1X_2X_3(7)$.



Diseño cúbico del modelo experimental para la extracción de D(a,h)Antraceno en microondas.



Superficie de respuesta entre temperatura, volumen de solvente y tiempo para la extracción de D(a,h)Antraceno en microondas.

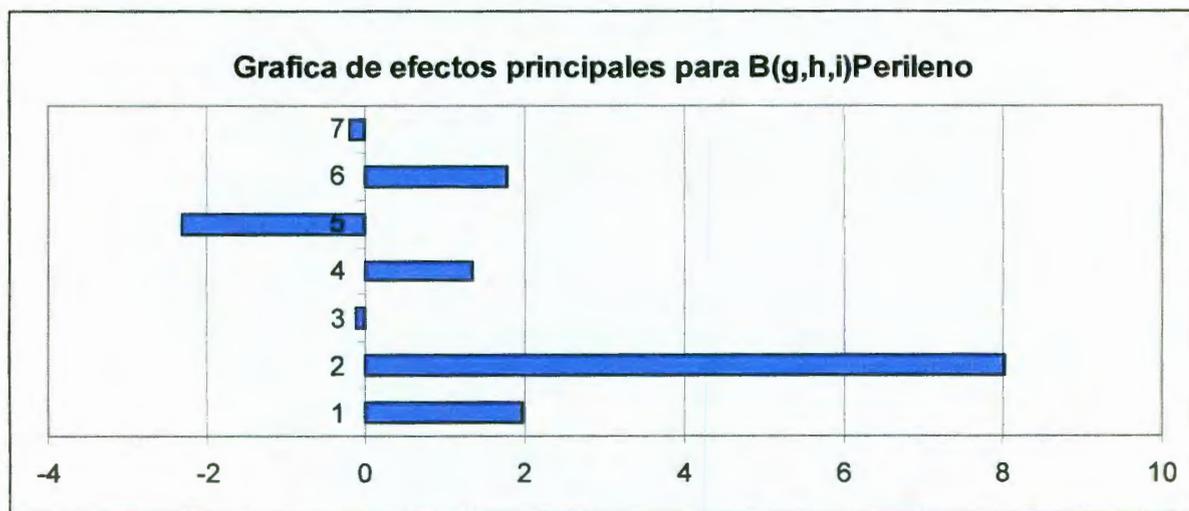
Análisis de los efectos principales para D(a,h)Antraceno.

	Valor Efecto	Valor t	Prob> t	gl	Suma Cuadrados	Valor F	Prob > F
Temperatura	-0.86	-0.72	0.60	1	5.87	0.52	0.60
Volumen	5.90	4.99	0.13	1	278.83	24.87	0.13
Tiempo	-0.29	-0.24	0.85	1	0.67	0.06	0.85
Temperatura*Volumen	1.75	1.48	0.38	1	24.61	2.19	0.38
Temperatura*Tiempo	-2.57	-2.17	0.27	1	52.99	4.73	0.27
Volumen*Tiempo	0.08	0.06	0.96	1	0.05	0.00	0.96

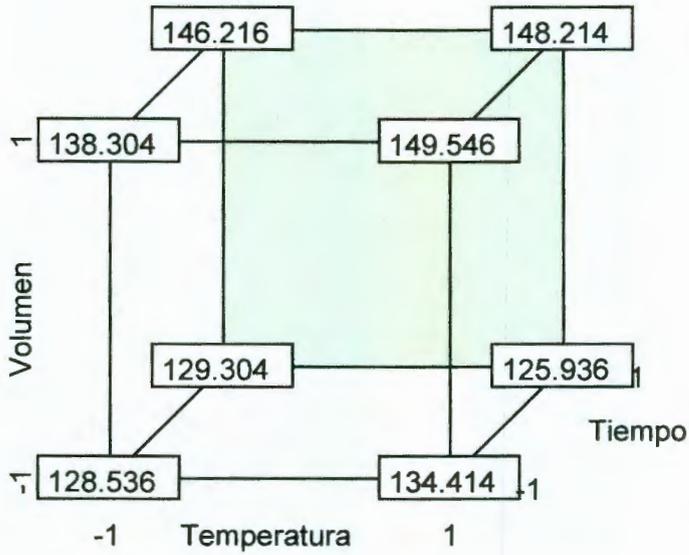
* Efectos principales sobre la extracción

Matriz de efectos para el B(g,h,i)Perileno por extracción en microondas.

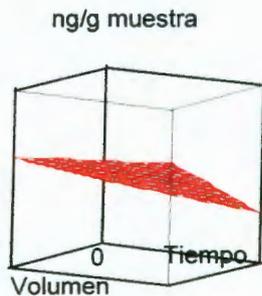
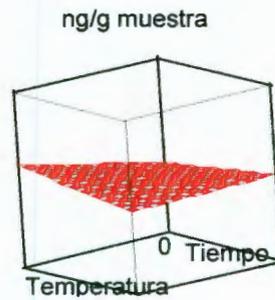
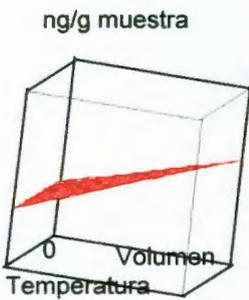
Experimento	X_1	X_2	X_3	X_1X_2	X_1X_3	X_2X_3	$X_1X_2X_3$	[] ng/g muestra
1	-1	1	1	-1	-1	1	-1	146.42
2	1	-1	-1	-1	-1	1	1	134.21
3	-1	1	-1	-1	1	-1	1	138.10
4	-1	-1	1	1	-1	-1	1	129.10
5	-1	-1	-1	1	1	1	-1	128.74
6	1	1	1	1	1	1	1	148.01
7	1	-1	1	-1	1	-1	-1	126.14
8	1	1	-1	1	-1	-1	-1	149.75



Gráfica de efectos principales para B(g,h,i)Perileno X_1 (1), X_2 (2), X_3 (3), X_1X_2 (4), X_1X_3 (5), X_2X_3 (6), $X_1X_2X_3$ (7).



Diseño cúbico del modelo experimental para la extracción de B(g,h,i)Perileno en microondas.



Superficie de respuesta entre temperatura, volumen de solvente y tiempo para la extracción de B(g,h,i)Perileno en microondas.

Análisis de los efectos principales para B(g,h,i)Perileno.

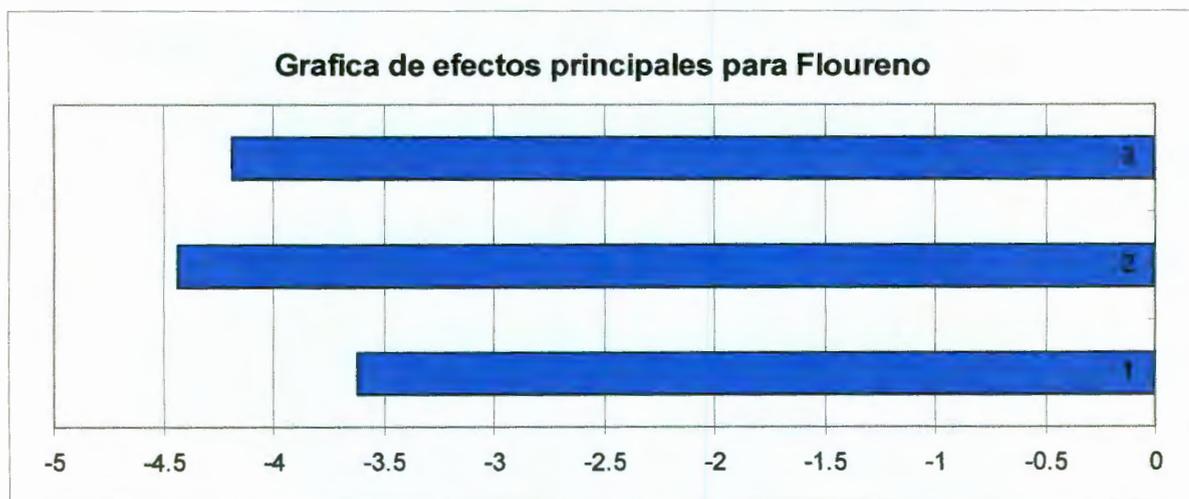
	Valor Efecto	Valor t	Prob> t	gl	Suma Cuadrados	Valor F	Prob > F
Temperatura	1.97	9.66	0.07	1	31.01	93.37	0.07
Volumen	8.01	39.32	0.02	1	513.44	1545.99	0.02*
Tiempo	-0.14	-0.69	0.61	1	0.16	0.48	0.61
Temperatura*Volumen	1.34	6.58	0.10	1	14.39	43.33	0.10
Temperatura*Tiempo	-2.31	-11.34	0.06	1	42.74	128.68	0.06
Volumen*Tiempo	1.79	8.77	0.07	1	25.53	76.86	0.07

* Efectos principales sobre la extracción

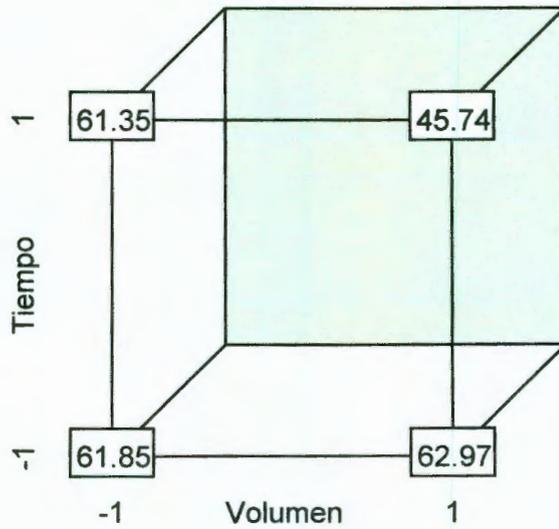
ANEXO III. Gráficas y análisis para el diseño experimental en la extracción de HAPs por sonicación.

Matriz de efectos para el Floureno por extracción por sonicación.

Experimento	X_1	X_2	X_1X_2	[] ng/g muestra
1	-1	1	-1	61.35
2	1	-1	-1	62.98
3	-1	-1	1	61.85
4	1	1	1	45.74



Gráfica de efectos principales para Floureno X_1 (1), X_2 (2), X_1X_2 (3).



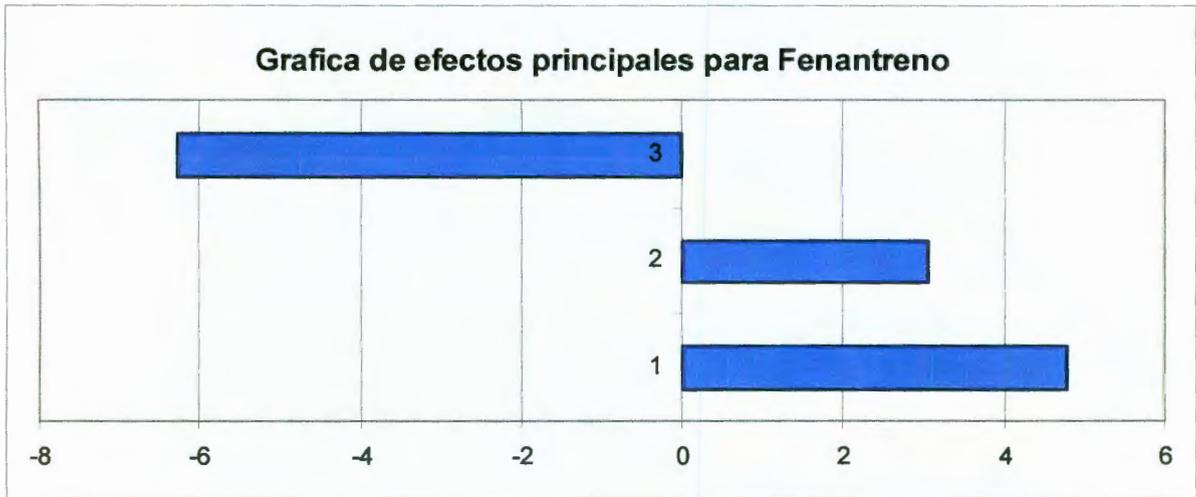
Diseño cúbico del modelo experimental para la extracción de Floureno por sonicación.



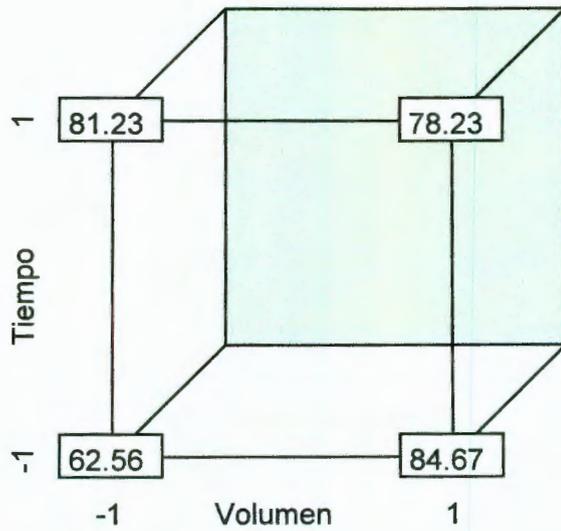
Superficie de respuesta entre volumen de solvente y tiempo de extracción de Floureno por sonicación.

Matriz de efectos para el Fenantreno en la extracción por sonicación.

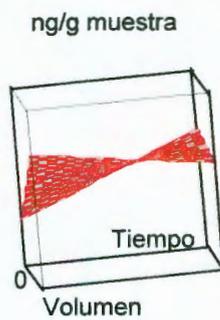
Experimento	X_1	X_2	X_1X_2	[] ng/g muestra
1	-1	1	-1	81.23
2	1	-1	-1	84.67
3	-1	-1	1	62.56
4	1	1	1	78.23



Gráfica de efectos principales para Fenantreno X_1 (1), X_2 (2), X_1X_2 (3).



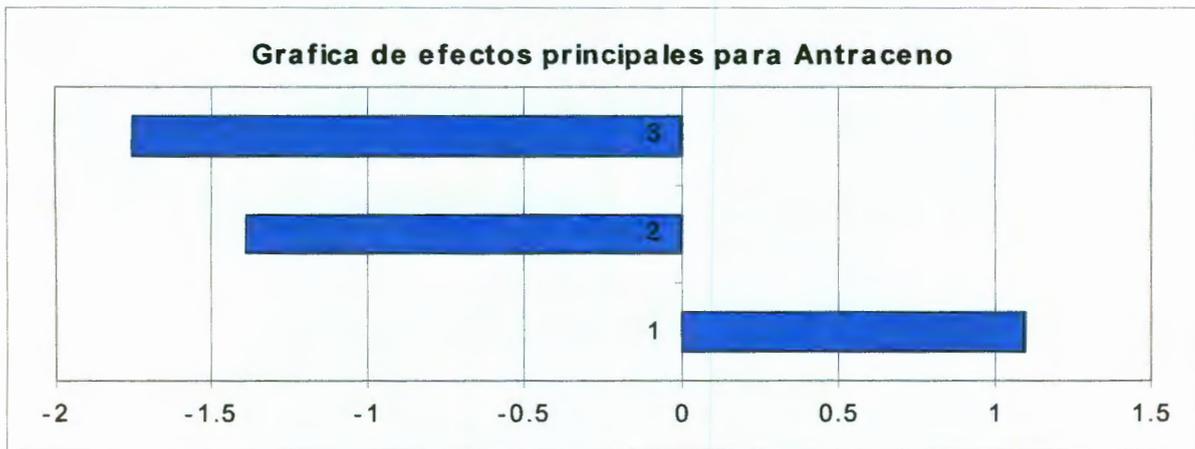
Diseño cúbico del modelo experimental para la extracción de Fenantreno por sonicación.



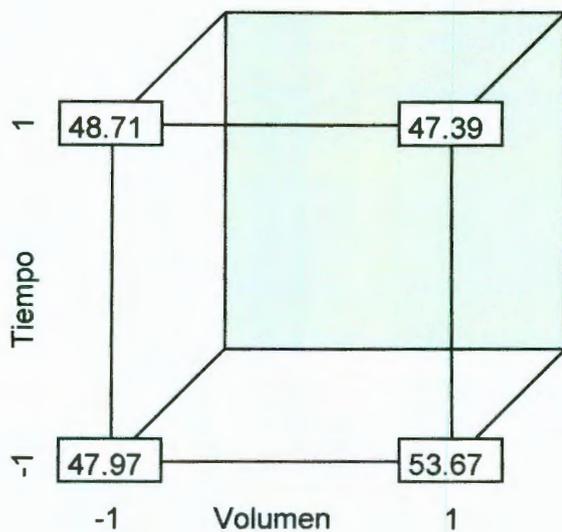
Superficie de respuesta entre volumen de solvente y tiempo de extracción de Fenantreno por sonicación.

Matriz de efectos para el Antraceno en la extracción por sonicación.

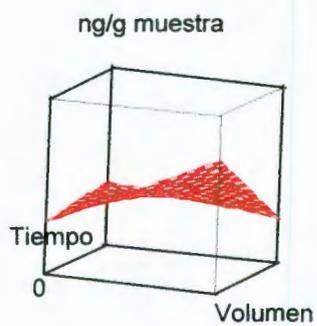
Experimento	X_1	X_2	X_1X_2	[] ng/g muestra
1	-1	1	-1	48.71
2	1	-1	-1	53.67
3	-1	-1	1	47.97
4	1	1	1	47.39



Gráfica de efectos principales para Antraceno X_1 (1), X_2 (2), X_1X_2 (3).



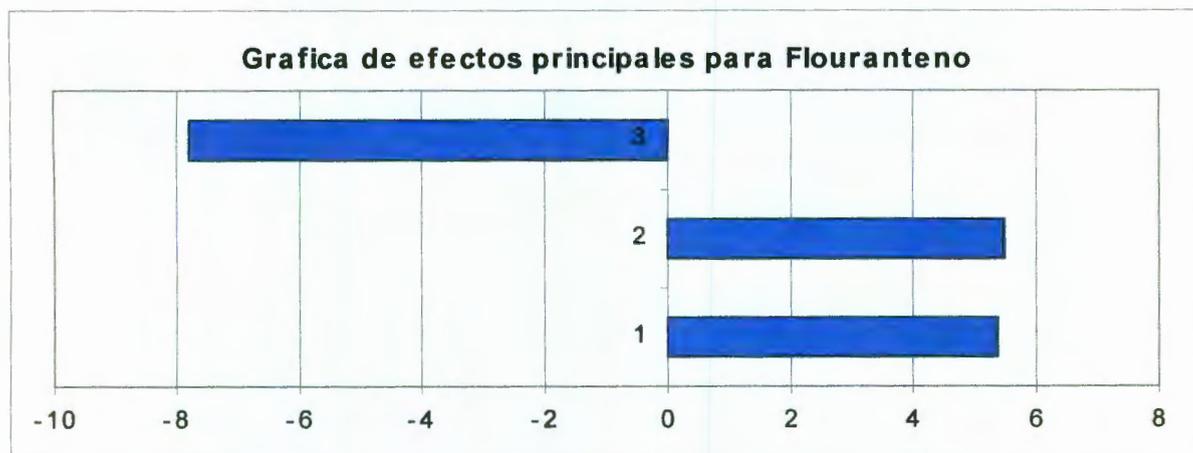
Diseño cúbico del modelo experimental para la extracción de Antraceno por sonicación.



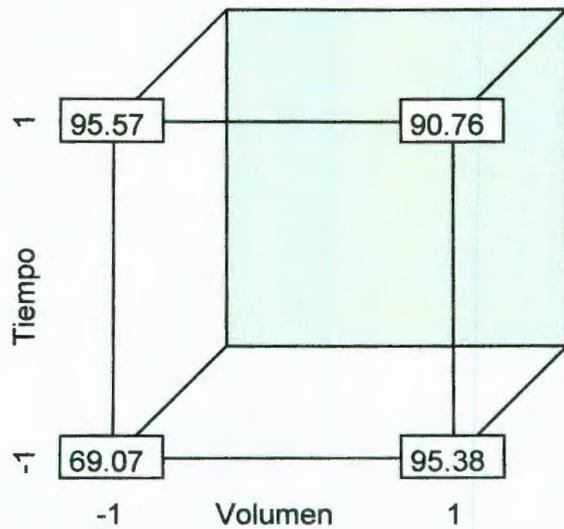
Superficie de respuesta entre volumen de solvente y tiempo de extracción de Antraceno por sonicación.

Matriz de efectos para el Fluoranteno en la extracción por sonicación.

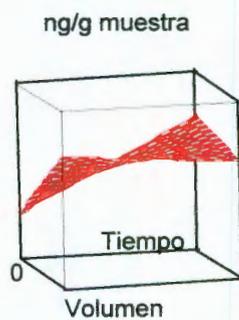
Experimento	X_1	X_2	X_1X_2	[] ng/g muestra
1	-1	1	-1	95.57
2	1	-1	-1	95.38
3	-1	-1	1	69.07
4	1	1	1	90.76



Gráfica de efectos principales para Fluoranteno $X_1(1)$, $X_2(2)$, $X_1X_2(3)$.



Diseño cúbico del modelo experimental para la extracción de Fluoranteno por sonicación.



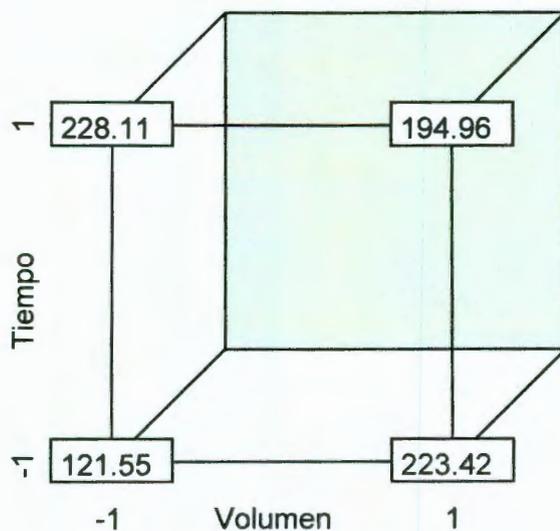
Superficie de respuesta entre volumen de solvente y tiempo de extracción de Fluoranteno por sonicación.

Matriz de efectos para el Pireno en la extracción por sonicación.

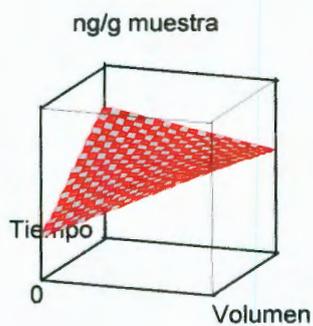
Experimento	X_1	X_2	X_1X_2	[] ng/g muestra
1	-1	1	-1	228.11
2	1	-1	-1	223.42
3	-1	-1	1	121.55
4	1	1	1	194.96



Gráfica de efectos principales para Pireno $X_1(1)$, $X_2(2)$, $X_1X_2(3)$.



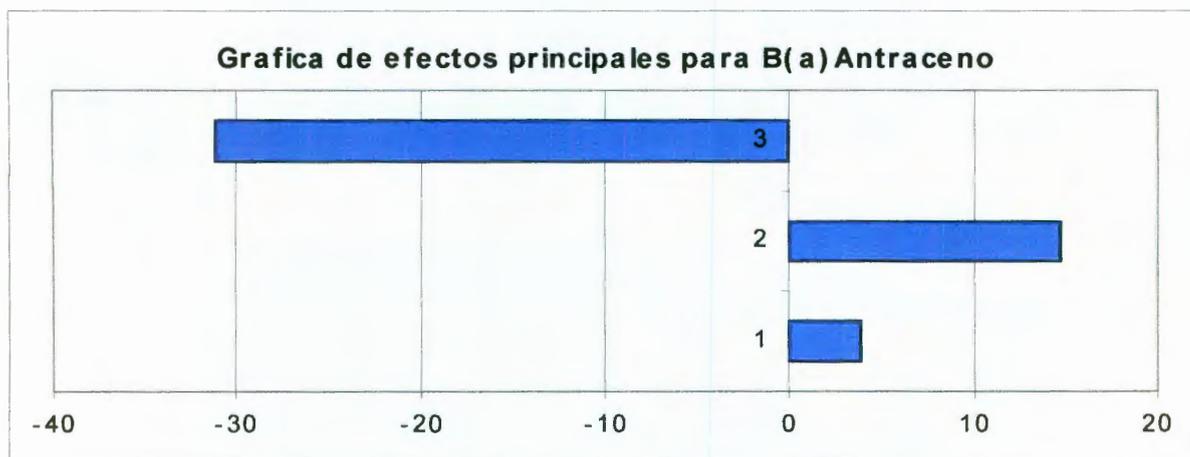
Diseño cúbico del modelo experimental para la extracción de Pireno por sonicación.



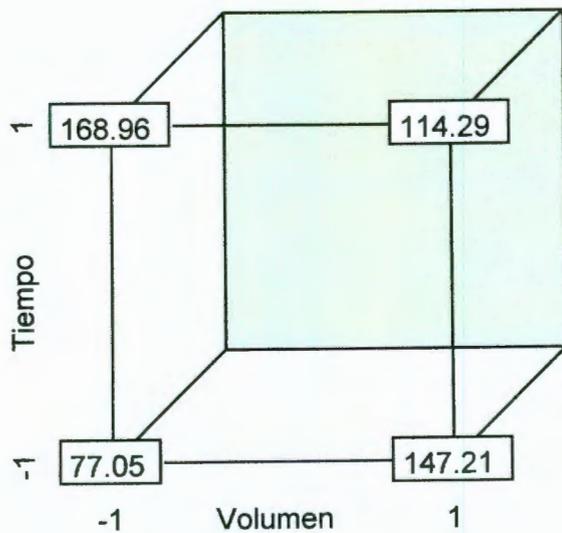
Superficie de respuesta entre volumen de solvente y tiempo de extracción de Pireno por sonicación.

Matriz de efectos para el B(a)Antraceno en la extracción por sonicación.

Experimento	X_1	X_2	X_1X_2	[] ng/g muestra
1	-1	1	-1	168.96
2	1	-1	-1	147.21
3	-1	-1	1	77.05
4	1	1	1	114.29



Gráfica de efectos principales para B(a)Antraceno X_1 (1), X_2 (2), X_1X_2 (3).



Diseño cúbico del modelo experimental para la extracción de B(a)Antraceno por sonicación.



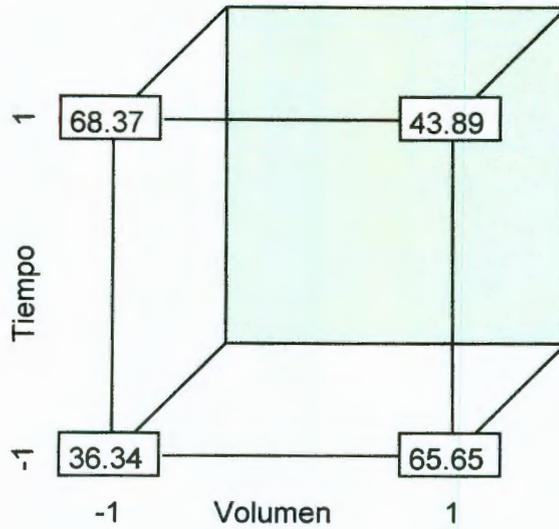
Superficie de respuesta entre volumen de solvente y tiempo de extracción de B(a)Antraceno por sonicación.

Matriz de efectos para el Criseno en la extracción por sonicación.

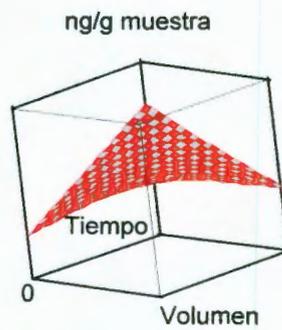
Experimento	X_1	X_2	X_1X_2	[] ng/g muestra
1	-1	1	-1	68.67
2	1	-1	-1	65.65
3	-1	-1	1	36.34
4	1	1	1	43.89



Gráfica de efectos principales para Criseno $X_1(1)$, $X_2(2)$, $X_1X_2(3)$.



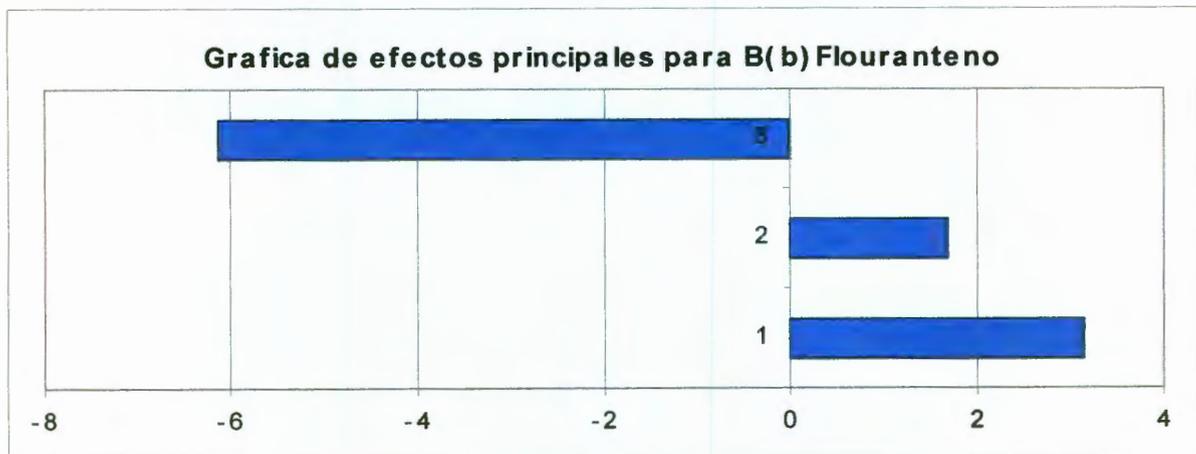
Diseño cúbico del modelo experimental para la extracción de Criseno por sonicación.



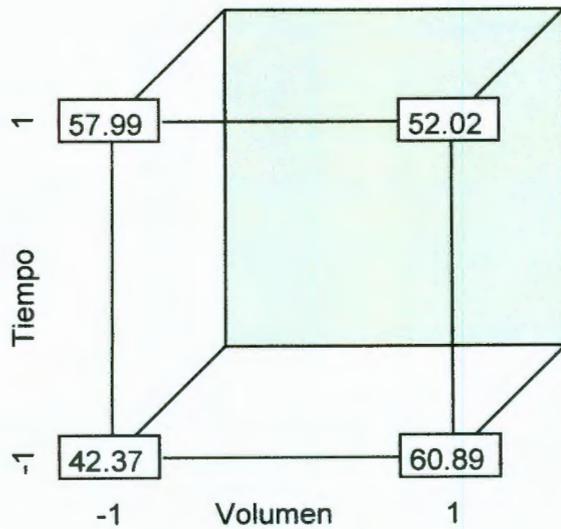
Superficie de respuesta entre volumen de solvente y tiempo de extracción de Criseno por sonicación.

Matriz de efectos para el B(b)Fluoranteno en la extracción por sonicación.

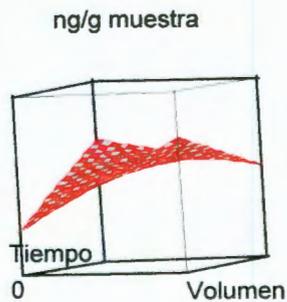
Experimento	X_1	X_2	X_1X_2	[] ng/g muestra
1	-1	1	-1	57.99
2	1	-1	-1	60.89
3	-1	-1	1	42.37
4	1	1	1	52.02



Gráfica de efectos principales para B(b)Fluoranteno $X_1(1)$, $X_2(2)$, $X_1X_2(3)$.



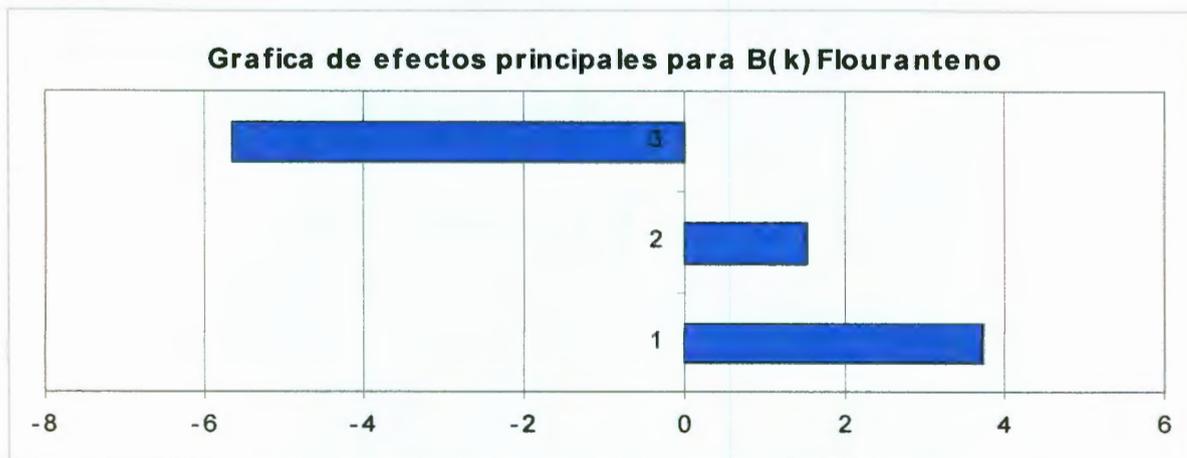
Diseño cúbico del modelo experimental para la extracción de B(b)Fluoranteno por sonicación.



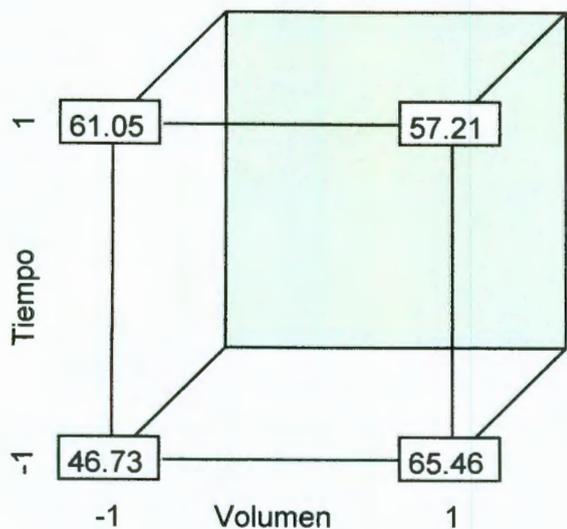
Superficie de respuesta entre volumen de solvente y tiempo de extracción de B(b)Fluoranteno por sonicación.

Matriz de efectos para el B(k)Fluoranteno en la extracción por sonicación.

Experimento	X_1	X_2	X_1X_2	[] ng/g muestra
1	-1	1	-1	61.05
2	1	-1	-1	65.46
3	-1	-1	1	46.73
4	1	1	1	57.21



Gráfica de efectos principales para B(k)Fluoranteno X_1 (1), X_2 (2), X_1X_2 (3).



Diseño cúbico del modelo experimental para la extracción de B(k)Fluoranteno por sonicación.

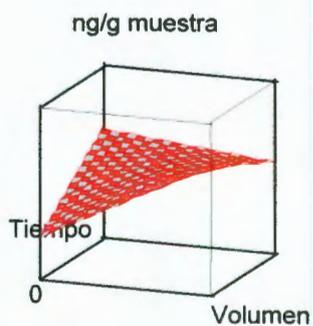
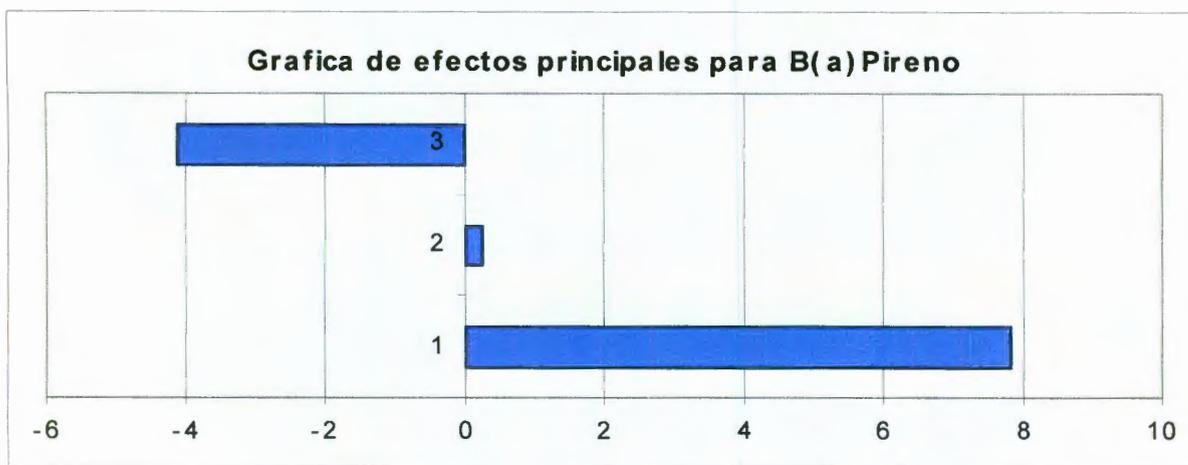


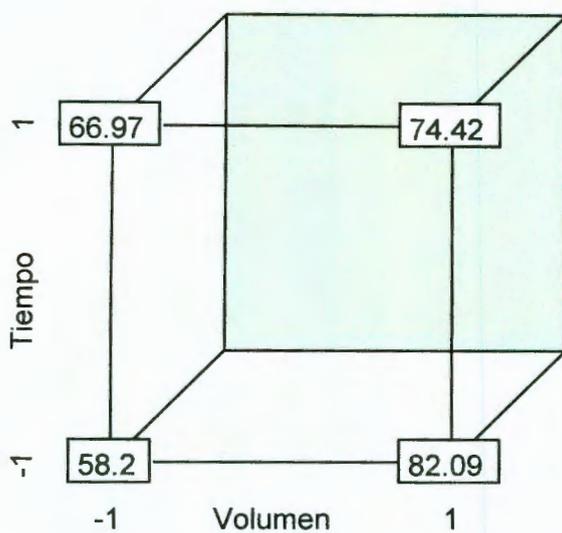
Figura 85. Superficie de respuesta entre volumen de solvente y tiempo de extracción de B(k)Fluoranteno por sonicación.

Matriz de efectos para el B(a)Pireno en la extracción por sonicación.

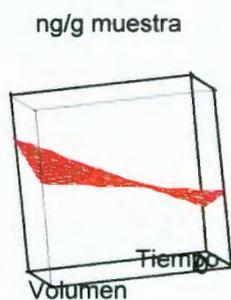
Experimento	X_1	X_2	X_1X_2	[] ng/g muestra
1	-1	1	-1	66.97
2	1	-1	-1	82.09
3	-1	-1	1	58.20
4	1	1	1	74.42



Gráfica de efectos principales para B(a)Pireno X_1 (1), X_2 (2), X_1X_2 (3).



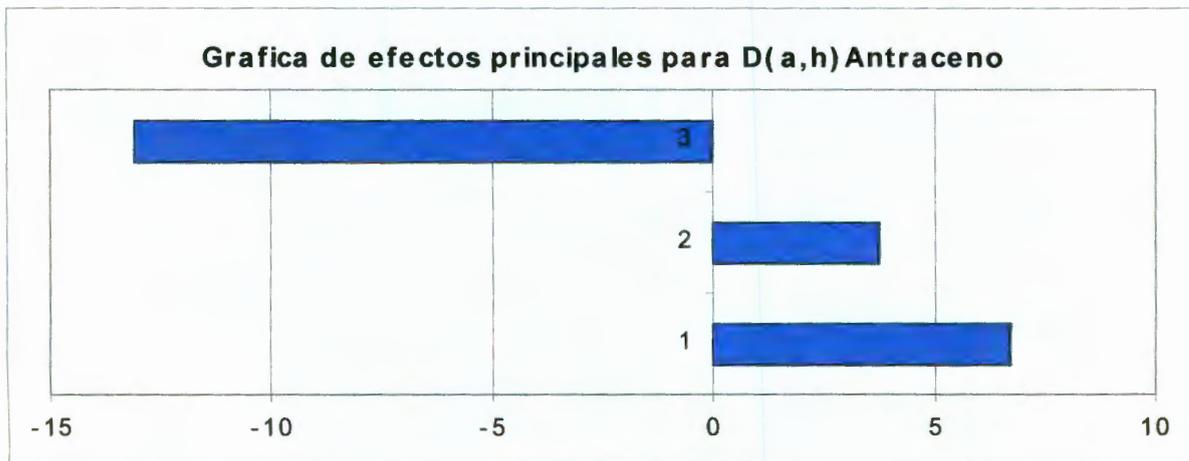
Diseño cúbico del modelo experimental para la extracción de B(a)Pireno por sonicación.



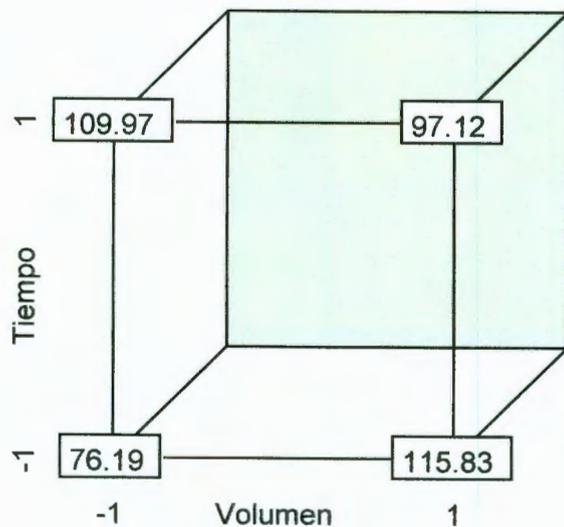
Superficie de respuesta entre volumen de solvente y tiempo de extracción de B(a)Pireno por sonicación.

Matriz de efectos para el D(a,h)Antraceno en la extracción por sonicación.

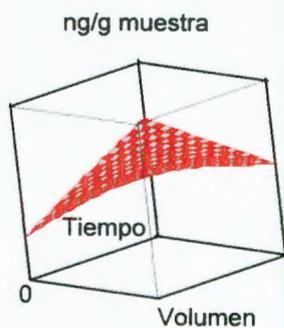
Experimento	X_1	X_2	X_1X_2	[] ng/g muestra
1	-1	1	-1	109.97
2	1	-1	-1	115.83
3	-1	-1	1	76.19
4	1	1	1	97.12



Gráfica de efectos principales para D(a,h)Antraceno X_1 (1), X_2 (2), X_1X_2 (3).



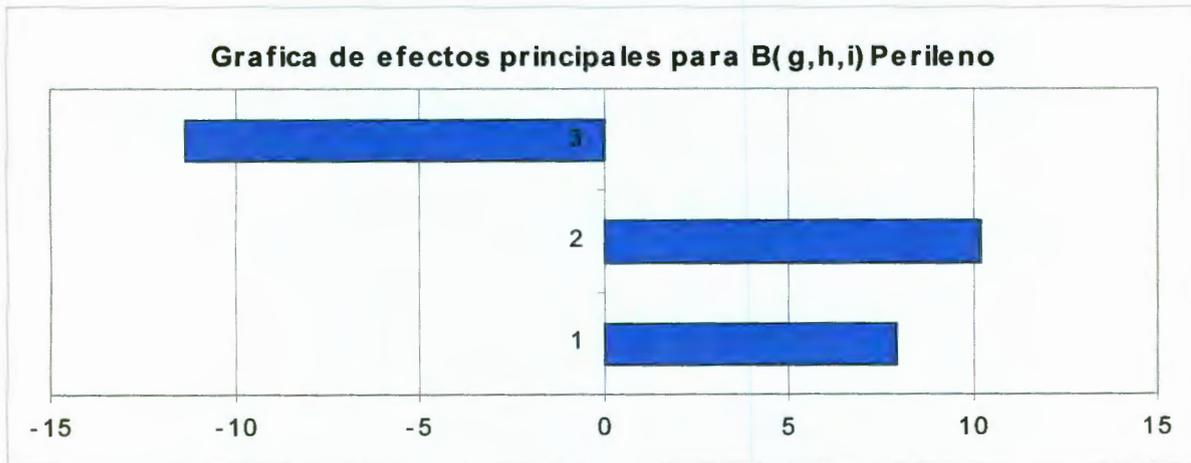
Diseño cúbico del modelo experimental para la extracción de D(a,h)Antraceno por sonicación.



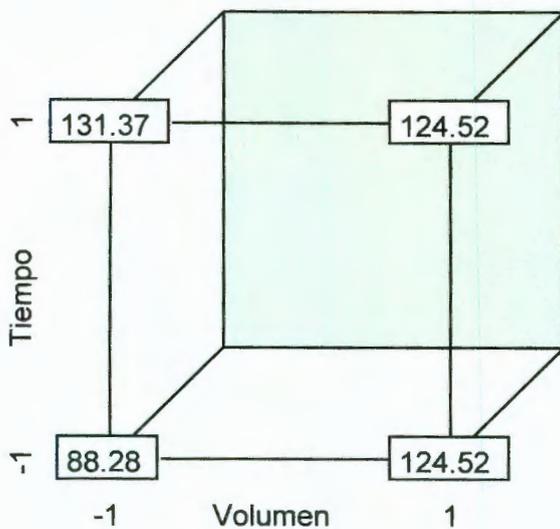
Superficie de respuesta entre volumen de solvente y tiempo de extracción de D(a,h)Antraceno por sonicación.

Matriz de efectos para el B(g,h,i)Perileno en la extracción por sonicación.

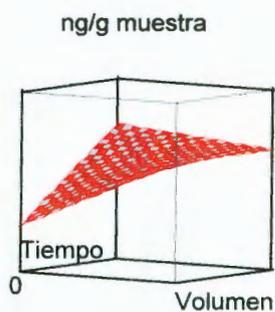
Experimento	X ₁	X ₂	X ₁ X ₂	[] ng/g muestra
1	-1	1	-1	131.37
2	1	-1	-1	126.84
3	-1	-1	1	88.28
4	1	1	1	124.52



Gráfica de efectos principales para B(g,h,i)Perileno X₁(1), X₂ (2), X₁X₂ (3).



Diseño cúbico del modelo experimental para la extracción de B(g,h,i)Perileno por sonicación.



Superficie de respuesta entre volumen de solvente y tiempo de extracción de B(g,h,i)Perileno por sonicación.

ANEXO IV. Proceso de Análisis Jerárquico

Escala de Satty para niveles de Preferencia

Nivel de Preferencia	Valor Numérico
Igualmente preferible	1
De igual a moderadamente preferible	2
Moderadamente preferible	3
De moderado a fuertemente preferible	4
Fuertemente preferible	5
De fuerte a muy fuerte preferible	6
Muy fuertemente preferible	7
De muy fuerte a extremadamente preferible	8
Extremadamente preferible	9

Matriz para el análisis del factor: "Costo"

	Soxhleth	Microondas	Sonicación
Soxhleth	1.00	6.00	5.00
Microondas	0.17	1.00	3.00
Sonicación	0.20	0.33	1.00
	1.37	7.33	9.00

Matriz para el análisis del factor: "Tiempo"

	Soxhleth	Microondas	Sonicación
Soxhleth	1.00	0.11	0.14
Microondas	9.00	1.00	6.00
Sonicación	7.00	0.11	1.00
	17.00	1.22	7.14

Matriz para el análisis del factor: "Volumen de Solvente"

	Soxhleth	Microondas	Sonicación
Soxhleth	1.00	0.17	0.13
Microondas	6.00	1.00	0.33
Sonicación	8.00	3.00	1.00
	15.00	4.17	1.46