

UNIVERSIDAD DE COSTA RICA

FACULTAD DE CIENCIAS BÁSICAS

ESCUELA DE QUÍMICA

**DISTRIBUCIÓN ESPACIO-TEMPORAL DE HIDROCARBUROS DE  
PÉTROLEO EN SEDIMENTOS COSTEROS Y DISUELTOS Y DISPERSOS EN  
LAS AGUAS FRENTE A PLAYA BLANCA, PUNTA MORALES EN  
PUNTARENAS DE COSTA RICA**

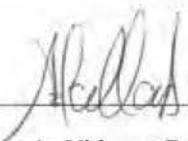
Proyecto de graduación presentado como requisito parcial para optar por el grado de Licenciatura en Química.

ANDRÉS ZAMORA QUIRÓS

CIUDAD UNIVERSITARIA RODRIGO FACIO

2017

Este proyecto de graduación ha sido aceptado por la Comisión de Trabajos Finales de Graduación de la Escuela de Química de la Universidad de Costa Rica como requisito parcial para optar por el grado de Licenciatura en Química



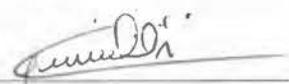
Ph.D. Germán Vidaurre Fallas

Representante del Decano de la Facultad de Ciencias



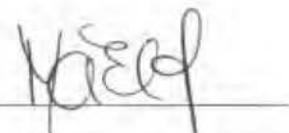
M.Sc. Paola Fuentes Schweizer

Profesora guía



Lic. Graciela Delgado Ávila

Lectora



Lic. María Elena Sibaja García

Lectora



Ph.D. Max Chavarría Vargas

Representante del Director de la Escuela de Química



Andrés Zamora Quirós

Candidato

**Dedicatoria**

*Con gran alegría dedico este proyecto a Dios, a mis papás, mi hermano, a Mari, mi familia y a mis amigos*

*A todos por ser siempre ese apoyo y guía en todo momento*

*"Happiness can be found, even in the darkest of times,  
if one only remembers to turn on the light."*

*— Harry Potter and the Prisoner of Azkaban.*

*J.K. Rowling*

## Agradecimientos

Un camino largo, cansado y en ocasiones frustrantes, pero que a la vez, ha estado lleno de alegrías, éxitos y consejos sabios y de amor de toda la gente que me ayudó durante este proceso.

A mi mamá por enseñarme lo que es ser una campeona y una gran luchadora. A mi papá por enseñarme a seguir adelante. A mi hermano por ser un gran compañero de aventuras.

A Mari, por ser esa compañera de viaje y ser la principal fuerza en esos momentos en donde parecía que el único camino era rendirse. ¡Gracias por todo!

A la profesora Paola por siempre apoyarme, aconsejarme y lo más importante, la cantidad de paciencia y motivación.

A don Jenaro por ser ese guía con mano dura, pero con la finalidad de tener mejores logros.

A Graciela por el apoyo y atención en la ejecución de las giras y del trabajo.

A Nela por acompañarme y ayudarme durante tanto tiempo con la parte experimental.

Y a todas las personas que me han ayudado siempre a seguir, a Elías, Bruno, Jeisson, Alonso, Ricardo, Juan Manuel, Chiky, Andrea, mis tíos Mario y Luis y a mis primos.

Agradecer al CELEQ, CIMAR e IMN por su ayuda directa a cumplir con las metas del trabajo.

## Índice General

DEDICATORIA .....	III
AGRADECIMIENTOS .....	IV
ÍNDICE GENERAL .....	V
ÍNDICE DE FIGURAS.....	VII
ÍNDICE DE CUADROS.....	XI
ÍNDICE DE APÉNDICES.....	XIII
ÍNDICE DE ABREVIATURAS.....	XIV
RESUMEN.....	XV
CAPÍTULO I.....	1
INTRODUCCIÓN .....	1
1. CARACTERÍSTICAS QUÍMICAS DEL MEDIO MARINO.....	2
2. PETRÓLEO Y SU COMPOSICIÓN .....	3
3. TRANSFORMACIONES DEL PETRÓLEO EN EL AMBIENTE MARINO.....	6
4. MÉTODOS DE MUESTREO, DE EXTRACCIÓN Y DE ANÁLISIS.....	9
5. ANTECEDENTES DE CONTAMINACIÓN POR DERRAMES DE PETRÓLEO .....	12
6. ANTECEDENTES EN COSTA RICA .....	14
OBJETIVO GENERAL.....	16
OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	17
CAPÍTULO II.....	18
MATERIALES Y MÉTODOS .....	18
1. REACTIVOS.....	18
2. EQUIPO .....	18
3. MUESTREO DE SEDIMENTOS Y DE AGUA DE MAR EN PLAYA BLANCA, PUNTA MORALES. 19	
3.1. <i>Tratamientos especiales para el equipo utilizado durante el muestreo</i> .....	21
4. MUESTREO DE AGUA DE MAR EN EL PARQUE NACIONAL ISLA DEL COCO. ....	25
5. ANÁLISIS DE MUESTRAS.....	28
5.1. <i>Parte I. Tratamiento de sedimentos tomados en Playa Blanca de Punta Morales en             las campañas de muestreo I, II y III.</i> .....	28
5.2. <i>Parte II. Tratamiento de sedimentos tomados en Playa Blanca de Punta Morales en             la campaña de muestreo IV.</i> .....	30
5.2.1. <i>Determinación del peso seco mediante el proceso de liofilización.</i> .....	31
5.2.2. <i>Método I. Procedimiento de extracción Soxhlet.</i> .....	31
5.2.3. <i>Método II. Procedimiento de dispersión de matriz en fase sólida asistida por                 Vórtex.</i> 31	

5.2.4. Método III. Procedimiento de dispersión de matriz en fase sólida (MSPD).....	32
5.3. Análisis de las muestras de sedimentos de Playa Blanca por cromatografía de gases (CG).....	32
5.4. Tratamiento y análisis de muestras de agua de mar.....	33
5.4.1. Análisis de muestras de agua de mar de Playa Blanca por Cromatografía de Líquidos Alta Resolución (CLAR).....	33
5.4.2. Análisis de muestras de agua de mar de Playa Blanca por Cromatografía de Gases (CG).....	33
5.4.3. Muestras de los extractos hexánicos de agua de mar provenientes de la Isla del Coco	34
5.4.4. Medición de la conductividad eléctrica (CE) con el equipo Seven Multi Mettler Toledo (American Public Health Association, American Water Association, & Water Environment Federation, 1999; Standards ASTM, 1982).....	34
5.4.5. Medición de sólidos disueltos no volátiles.....	34
5.4.6. Concentración de oxígeno disuelto medido con el equipo YSI Environmental Modelo 550 A (Figura 9).....	35
CAPÍTULO III.....	37
RESULTADOS.....	37
CAPÍTULO IV.....	60
DISCUSIÓN.....	60
CONCLUSIONES.....	71
REFERENCIAS.....	73
ANEXOS.....	83

## Índice de Figuras

Figura 1. Hidrocarburos poliaromáticos (HPA) nocivos para la salud humana. (a) antraceno; (b) benzo[ $\alpha$ ]pireno; (c) criseno; (d) coroneno; (e) fenantreno; (f) pireno .....	5
Figura 2. Hidrocarburos monocíclicos conocidos como BTEX.....	6
Figura 3. Procesos y cambios que experimentan los hidrocarburos de petróleo en el mar. Modificado de (Mccay et al., 2004).....	7
Figura 4. Sitios de muestreo en Playa Blanca. Tomado y modificado de Google Earth. Imagen del día 05 de diciembre 2013 .....	19
Figura 5. Equipo utilizado para tomar muestras de sedimentos. Foto tomada el día 13 de octubre del 2012 por Andrés Zamora Q.....	21
Figura 6. Procedimiento para la toma de muestra de sedimentos. Foto tomada el día 15 de octubre del 2012 por Paola Fuentes S.....	22
Figura 7. Procedimiento para tomar muestras de agua de mar con el muestreador de PVC para análisis fisicoquímicos y COV. Foto tomada el día 15 de octubre del 2012 por Paola Fuentes S. ....	24
Figura 8. Sitios de recolección de las muestras de agua de mar en el Parque Nacional Isla del Coco, entre el 30 de junio y el 10 de julio de 2011, entre el 13 y el 23 de marzo de 2012. Elaborado por Jairo García C. ....	26
Figura 9. Equipo YSI Environmental Modelo 550 A para la determinación de oxígeno disuelto. Foto tomada el día 13 de octubre del 2012 por Andrés Zamora Q. ....	36
Figura 10. Cromatograma del coctel de patrones de hidrocarburos: Bifenilo ( $C_{12}H_{10}$ ), antraceno ( $C_{14}H_{10}$ ), pireno ( $C_{16}H_{10}$ ), n-tricosano ( $C_{23}H_{48}$ ), n-pentacosano ( $C_{25}H_{52}$ ), criseno ( $C_{18}H_{12}$ ) y n-octacosano ( $C_{28}H_{58}$ ). Condiciones del CG-FID: Temperatura de inyección 250 °C; temperatura del detector 300 °C; temperatura inicial 60 °C, rampa 8,30 °C/min, tiempo final 31,42 min; Flujo de $N_2$ 40 mL/min; columna capilar HP-5.....	40
Figura 11. Cromatogramas de la fracción A y B de un blanco de método. Condiciones del CG-FID: Temperatura de inyección 250 °C; temperatura del detector 300 °C; temperatura inicial 60 °C, rampa 8,30 °C/min, tiempo final 31,42 min; Flujo de $N_2$ 40 mL/min; columna capilar HP-5 .....	41

Figura 12. Cromatograma del coctel de patrones en una muestra enriquecida. De izquierda a derecha se muestra el bifenilo, antraceno, pireno, tricosano (C <sub>23</sub> H <sub>48</sub> ), pentacosano (C <sub>25</sub> H <sub>52</sub> ) y octacosano (C <sub>28</sub> H <sub>58</sub> ). Condiciones del CG-FID: Temperatura de inyección 250 °C; temperatura del detector 300 °C; temperatura inicial 60 °C, rampa 8,30 °C/min, tiempo final 31,42 min; Flujo de N <sub>2</sub> 40 mL/min; columna capilar HP-5.....	42
Figura 13. Cromatogramas de la fracción A y B de un blanco de método. Condiciones del CG-FID: Temperatura de inyección 250 °C; temperatura del detector 300 °C; temperatura inicial 60 °C, rampa 8,30 °C/min, tiempo final 31,42 min; Flujo de N <sub>2</sub> 40 mL/min; columna capilar HP-5 .....	43
Figura 14. Variación en el tiempo de las señales cromatográficas de los hidrocarburos estudiados para las tres campañas realizadas para el sitio de muestreo PM1 (10.062972 N, -84.957611 O). Campaña I (05 de Junio del 2012), Campaña II (14 y 15 de octubre del 2012) y Campaña III (11 y 12 de febrero del 2013). Fotografía tomada por Andrés Zamora Q.....	44
Figura 15. Variación en el tiempo de las señales cromatográficas de los hidrocarburos estudiados para las tres campañas realizadas para el sitio de muestreo PM2 (10.063138 N, -84.958055 O). Campaña I (05 de Junio del 2012), Campaña II (14 y 15 de octubre del 2012) y Campaña III (11 y 12 de febrero del 2013). Fotografía tomada por Andrés Zamora Q.....	45
Figura 16. Variación en el tiempo de las señales cromatográficas de los hidrocarburos estudiados para las tres campañas realizadas para el sitio de muestreo PM3 (10.063194 N, -84.958555 O). Campaña I (05 de Junio del 2012), Campaña II (14 y 15 de octubre del 2012) y Campaña III (11 y 12 de febrero del 2013). Fotografía tomada por Andrés Zamora Q.....	46
Figura 17. Variación en el tiempo de las señales cromatográficas de los hidrocarburos estudiados para las tres campañas realizadas para el sitio de muestreo PM4 (10.062888 N -84.959694 O). Campaña I (05 de Junio del 2012), Campaña II (14 y 15 de octubre del 2012) y Campaña III (11 y 12 de febrero del 2013). Fotografía tomada por Andrés Zamora Q.....	47
Figura 18. Cromatogramas obtenidos de las muestras PM3 y PM3 enriquecida (PM3 E) con un coctel de patrones de la campaña de muestreo I. (Campaña I: 5 de Junio del 2012). Condiciones del CG-FID: Temperatura de inyección 250 °C; temperatura del detector 300 °C; temperatura inicial 60 °C, rampa 8,30 °C/min, tiempo final 31,42 min; Flujo de N <sub>2</sub> 40 mL/min; columna capilar HP-5 .....	49
Figura 19. Cromatogramas obtenidos de las muestras PM3 y PM3 enriquecida con un coctel de patrones de la campaña de muestreo. (Campaña II: 14 y 15 de Octubre del 2012). Condiciones	

del CG-FID: Temperatura de inyección 250 °C; temperatura del detector 300 °C; temperatura inicial 60 °C, rampa 8,30 °C/min, tiempo final 31,42 min; Flujo de N <sub>2</sub> 40 mL/min; columna capilar HP-5 .....	50
Figura 20. Cromatogramas obtenidos de las muestras PM4 y PM4 enriquecida con un coctel de patrones de la campaña de muestreo III. (Campaña III: 11 y 12 de Febrero del 2013). Condiciones del CG-FID: Temperatura de inyección 250 °C; temperatura del detector 300 °C; temperatura inicial 60 °C, rampa 8,30 °C/min, tiempo final 31,42 min; Flujo de N <sub>2</sub> 40 mL/min; columna capilar HP-5 .....	51
Figura 21. Cromatogramas de la fracción A y B de Punta María del Parque Nacional Isla del Coco. Condiciones del CG-FID: Temperatura de inyección 250 °C temperatura del detector 300 °C; temperatura inicial 60 °C, rampa 8,30 °C/min, tiempo final 31,42 min; Flujo de N <sub>2</sub> 40 mL/min; columna capilar HP-5.....	56
Figura 22. Cromatogramas de la fracción A y B de Bahía Wafer del Parque Nacional Isla del Coco. Condiciones del CG-FID: Temperatura de inyección 250 °C; temperatura del detector 300 °C; temperatura inicial 60 °C, rampa 8,30 °C/min, tiempo final 31,42 min; Flujo de N <sub>2</sub> 40 mL/min; columna capilar HP-5.....	57
Figura 23. Cromatogramas de la fracción A y B de un blanco de laboratorio del Parque Nacional Isla del Coco. Condiciones del CG-FID: Temperatura de inyección 250 °C; temperatura del detector 300 °C; temperatura inicial 60 °C, rampa 8,30 °C/min, tiempo final 31,42 min; Flujo de N <sub>2</sub> 40 mL/min; columna capilar HP-5.....	58
Figura 24. Humedad máxima y mínima diarias como referencia de Playa Blanca en Punta Morales, información de la estación 78027 ubicada en Puntarenas. Información suministrada por el Instituto Meteorológico Nacional.....	106
Figura 25. Temperatura máxima y mínima (°C) diarias como referencia de Playa Blanca en Punta Morales, información de la estación 78027 ubicada en Puntarenas. Información suministrada por el Instituto Meteorológico Nacional.....	107
Figura 26. Lluvia diaria (mm) como referencia de Playa Blanca en Punta Morales, información de la estación 78027 ubicada en Puntarenas. Información suministrada por el Instituto Meteorológico Nacional.....	108
Figura 27. Muestra de las hoja de cálculo utilizadas para la relación entre STD y CE. Hoja de cálculo brindada por Lenntech (Lenntech, 2014).....	109

Figura 28. Análisis de textura en suelos para las muestras de sedimentos de Playa Blanca de Punta Morales, CR. .... 111

## Índice de Cuadros

Cuadro I. Concentración promedio de los iones más abundantes en el agua de mar (g/kg). Modificado de (Anderson, 2008; Kester, 1972).....	2
Cuadro II. Información comparativa de métodos descritos en la literatura para la determinación de HPA (Pena, Casais, Mejuto, & Cela, 2008) .....	11
Cuadro III. Los veinte mayores derrames de petróleo en reportados en la historia (Fernández-Varela, Andrade, Muniategui, Prada, & Ramírez-Villalobos, 2009; Yim et al., 2012) .....	13
Cuadro IV. Información sobre la localización de las muestras tomadas en cada una de las campañas de muestreo. ....	20
Cuadro V. Codificación de los sitios de muestreo en el Parque Nacional Isla del Coco señalados en la Figura 7.....	27
Cuadro VI. Elución de las diferentes fracciones en la separación de alcanos y compuestos aromáticos de un extracto de sedimento marino .....	30
Cuadro VII. Condiciones de CG para el análisis de hidrocarburos en el cromatógrafo de gases marca Hewlett Packard modelo 6890 PLUS.....	33
Cuadro VIII. Medición promedio de la conductividad eléctrica, la concentración de sólidos totales disueltos (STD) y concentración de oxígeno disuelto en las muestras de agua de mar de Playa Blanca durante las tres campañas de muestreo. ....	37
Cuadro IX. Resultados de conductividad y STD para las muestras de agua de mar tomadas el 5 de junio del 2012 (I Campaña), el 14 y 15 de octubre del 2012 (II Campaña) y el 11 y 12 de febrero del 2013 (III Campaña).....	38
Cuadro X. Límite de detección y de cuantificación para la determinación de BTEX y MTBE mediante CG-FID y CLAR en la Campaña III realizada en febrero del 2013.....	38
Cuadro XI. Análisis de textura en suelos para las muestras de tomadas en las campañas de muestreo II y III en Playa Blanca de Punta Morales, CR. ....	39
Cuadro XII. Porcentaje de recuperación en las muestras de sedimentos. ....	52
Cuadro XIII. Comparación del porcentaje de recuperación promedio de muestras de sedimento enriquecidas con hidrocarburos para tres métodos de extracción. ....	53

Cuadro XIV. Porcentaje de recuperación promedio de muestras de sedimento entre el método de extracción con Soxhlet, el método de microextracción en fase sólida asistida por vortex y el método de dispersión de matriz en fase sólida de los resultados obtenidos en todas las campañas de muestreo.....	54
Cuadro XV. Gira de muestreo de agua de mar alrededor de la Isla del Coco. Gira ICOCO alrededor del 30 de junio al 10 de julio de 2011. Código CIMAR de la gira 5.11.2.7 .....	83
Cuadro XVI. Gira de muestreo de agua de mar alrededor de la Isla del Coco. Gira ICOCO alrededor del 13 al 23 marzo de 2012. Código CIMAR de la gira 5.12.1.....	85
Cuadro XVII. Gira ICOCO alrededor del 6 al 14 de Julio de 2012. Código CIMAR de la gira 5.12.2.....	87
Cuadro XVIII.Límite de detección y de cuantificación para la determinación de BTEX y MTBE mediante CG-FID y CLAR de la Campaña I realizada en junio del 2012.....	110
Cuadro XIX.Límite de detección y de cuantificación para la determinación de BTEX y MTBE mediante CG-FID y CLAR de la Campaña II realizada en octubre del 2012.....	110

## Índice de apéndices

Anexo I. Información recolectada en las giras de muestreo de agua de mar alrededor de la Isla del Coco realizadas por el CIMAR.....	83
Anexo II. Análisis de muestras de agua de mar por Cromatografía Líquida de Alta Resolución (CLAR). Elaborado por María Elena Sibaja (Sibaja, 2013).....	89
Anexo III. Análisis de muestras de agua de mar por Cromatografía de Gases (CG). Elaborado por Graciela Delgado (Delgado, 2007) .....	96
Anexo IV. Información suministrada por el Instituto meteorológico Nacional para los factores ambientales de Playa Blanca, Punta Morales, durante las campañas de muestreo.....	106
Anexo V. Muestra de las hojas de cálculo utilizadas para la relación entre STD y CE. Hoja de cálculo brindada por Lenntech.....	109
Anexo VI. Límite de detección y de cuantificación para la determinación de BTEX y MTBE mediante CG-FID y CLAR.....	110
Anexo VII. Análisis de composición de sedimentos realizado por Centro de Investigaciones Agronómicas de la Universidad de Costa Rica para las muestras de la Campaña II y Campaña III .....	111

## Índice de abreviaturas

ACMIC: Área de Conservación Marina Isla del Coco

BTEX: Benceno, tolueno, etilbenceno y (*o*, *m*, *p*)-xilenos

CE: Conductividad eléctrica

CELEQ: Centro de Electroquímica y Energía Química

CIMAR: Centro de Investigación en Ciencias del Mar y Limnología

CLAR: Cromatografía de Líquidos de Alta Resolución

CG: Cromatografía de Gases

CG-EM: Cromatografía de Gases acoplado a Espectrómetro de Masas

COV: Compuestos orgánicos volátiles

FID: (Por sus siglas en inglés de Flame Ionization Detector) Detector de ionización de llama

GPS: (Por sus siglas en inglés de Global Positioning System) Sistema de posicionamiento global

HMA: Hidrocarburos monoaromáticos

HPA: Hidrocarburos poliaromáticos

MTBE: Metilterc-butil éter

MSPD: (Por sus siglas en inglés de Matrix solid-phase dispersion) Dispersión de matriz en fase sólida

PVC: (Por sus siglas en inglés de Polyvinyl Chloride) Policloruro de Vinilo

SIG: Sistema de información Geográfica

STD: Sólidos totales disueltos

## Resumen

Se estableció una línea base para la presencia de hidrocarburos derivados del petróleo en sedimentos costeros y disueltos y dispersos en el agua de mar de Playa Blanca, ubicada en Punta Morales en la provincia de Puntarenas, CR. Se realizaron en total cuatro campañas de muestreo, dos durante el año 2012, una en el 2013 y la última en el 2015, y abarcando en ellas la toma de muestras en la época lluviosa y en la época seca del país. En cada una de las primeras tres campañas se recolectaron tres muestras de agua de diferentes lugares, y cuatro de sedimentos de distintos lugares también; mientras que para campaña de 2015 sólo se tomaron las muestras de sedimentos.

En el agua de mar se determinó la presencia de benceno, tolueno, etilbenceno y orto, meta, y para-xileno, además de hidrocarburos poliaromáticos (HPA) mediante cromatografía de gases y cromatografía líquida de alta resolución. La concentración de estos analitos en las muestras de agua se encontraron por debajo de los límites de detección, siendo concentraciones menores a 1,0 mg/L para los hidrocarburos totales y 0,5 mg/L para los hidrocarburos poliaromáticos. También se realizó una caracterización fisicoquímica de las muestras acuosas mediante el análisis de la concentración de oxígeno, conductividad eléctrica y sólidos disueltos totales.

Se tomó de Playa Blanca extractos de sedimentos para establecer existencia de hidrocarburos poliaromáticos, comparando los resultados contra patrones de bifenilo ( $C_{12}H_{10}$ ), antraceno ( $C_{14}H_{10}$ ), pireno ( $C_{16}H_{10}$ ) y criseno ( $C_{18}H_{12}$ ) y alcanos lineales (n-tricosano ( $C_{23}H_{48}$ ), n-pentacosano ( $C_{25}H_{52}$ ) y n-octacosano ( $C_{28}H_{58}$ ). La extracción de los hidrocarburos de las muestras de sedimento de las primeras tres campañas de muestreo se llevaron a cabo por el método de extracción Soxhlet y posteriormente se analizó mediante cromatografía de gases. En este caso los resultados estaban por debajo de los límites de cuantificación (5 mg/g) y con recuperaciones de los alcanos lineales y HPA muy bajos y poco reproducibles.

Se realizó una cuarta campaña de muestreo específicamente para probar nuevos métodos de extracción de hidrocarburos y compararlos contra el método de referencia de Soxhlet. Uno de los métodos probados fue mediante la dispersión de matriz en fase sólida (MSPD) con resultados

de recuperación para los HPA entre el 41% y el 54%; mientras que también se utilizó un método de microextracción en fase sólida asistida por Vortex con recuperaciones entre el 55% y el 90%.

# **DISTRIBUCIÓN ESPACIO-TEMPORAL DE HIDROCARBUROS DE PÉTROLEO EN SEDIMENTOS COSTEROS Y DISUELTOS Y DISPERSOS EN LAS AGUAS FRENTE A PLAYA BLANCA, PUNTA MORALES EN PUNTARENAS DE COSTA RICA**

## **CAPÍTULO I**

### **Introducción**

El océano cubre el 71% de la superficie del planeta Tierra y debido a que abarca la mayoría de la superficie es un campo de estudio interesante por su potencial para generar energía, alimentos y otros productos de alto valor agregado. Posee un volumen de unos 1 400 000 km<sup>3</sup>, lo que llevó a pensar que tenía una capacidad de dilución infinita, que podía servir como un gigantesco vertedero para todos los desechos producidos y que era un recurso perdurable. A pesar de que estas ideas han descartado con el tiempo, son evidentes los problemas ambientales de contaminación como la disminución en la concentración de oxígeno por el vertido de compuestos con carbono, nitrógeno y fósforo, la alteración de ecosistemas, el cambio en las características del agua y de los suelos de la zonas y los cambios en las costumbres, hábitos y genética de los animales (Botello, 2009).

En el acta de 1996 de la Convención de las Naciones Unidas Sobre el Derecho del Mar se define la contaminación marina como “la introducción por el ser humano, directa o indirectamente, de sustancias o energía en los ambientes marinos que resulta en efectos nocivos a los recursos vivos, peligro a la salud humana y afectaciones a la actividad marina” (Davidson, 1997). La contaminación conlleva un impacto negativo al ecosistema marino y provoca cambios en los organismos y en los seres humanos, en aspectos como la salud, la reproducción y el crecimiento (Potters, 2013).

## 1. Características químicas del medio marino

El océano es un sistema que contiene material orgánico e inorgánico y las especies químicas presentes pueden ser sólidas, líquidas o gaseosas. Cada especie es importante en los diferentes procesos físicos y químicos que se llevan a cabo en el ambiente marino. Los iones más abundantes se indican en el Cuadro I (Kester, 1972).

**Cuadro I. Concentración promedio de los iones más abundantes en el agua de mar (g/kg). Modificado de (Anderson, 2008; Kester, 1972)**

Constituyente	Concentración (g/kg)
Cloruro	19,345
Sodio	10,752
Magnesio	1,295
Sulfato	2,701
Calcio	0,416
Potasio	0,390
Bicarbonato	0,145

La masa de estos constituyentes es de aproximadamente 35 g/kg de agua de mar. Aunque el valor de salinidad puede variar entre 30 g/kg y 37 g/kg, la proporción relativa de los iones mayoritarios en el agua de mar es constante, lo que varía es la cantidad de agua en relación con las sales presentes (Kester, 1972).

Además de las sales inorgánicas, el agua de mar contiene gases disueltos debido a las interacciones entre el océano y la atmósfera producto de la agitación que causan el viento, las corrientes y las olas. El nitrógeno (N<sub>2</sub>) y el oxígeno (O<sub>2</sub>) son los gases que se encuentran en más abundancia en los ecosistemas acuáticos. El O<sub>2</sub> es el gas disuelto de mayor importancia en los procesos químicos y bioquímicos, debido a que su disponibilidad tiene consecuencias en la calidad del agua, la diversidad en el ambiente marino, y principalmente, traza la división entre la vida aeróbica y la anaeróbica ( Kester, 1972; Hemond & Fechner-Levy, 2000; Spiro & Stigliani, 2004).

La fracción de material orgánico presente en el agua, puede tener un origen autóctono o alóctono. En ambientes acuáticos la materia orgánica autóctona proviene del fitoplancton, el

zooplancton y los microorganismos. En la fracción alóctona predomina la materia orgánica particulada, la cual puede tener dos posibles orígenes, el primero que refleja la vegetación y el clima de la sedimentación (madera, esporas, polen, carbón de incendios) y el segundo que depende del origen de las rocas. Los detergentes, pesticidas, fertilizantes, herbicidas, productos químicos industriales, y derivados orgánicos clorados son otros ejemplos de fuentes alóctonas. La fase orgánica tiene beneficios para el ambiente marino, como la capacidad que presenta para adsorber contaminantes orgánicos; pero también presenta problemas, como el oscurecimiento del agua por un exceso de especies orgánicas, que modifica las condiciones de luz y procesos como la fotosíntesis o la producción de biomasa del fitoplancton se supriman (Kleineidam & Grathwohl, 1999; Mastral & Carboqui, 1999; Ripszam, Paczkowska, Figueira, Veenaaas, & Haglund, 2015; Allan et al., 2016).

En el agua de estuarios, mares y océanos suceden diversos procesos físicos, como la evaporación, la condensación, el transporte natural de un lugar a otro y la actividad humana, por lo que pueden llegar especies químicas contaminantes. Los ríos, por ejemplo, pueden arrastrar sustancias producto de la industria minera, de la agricultura, de vertidos industriales y de otras actividades humanas; mientras que insecticidas, metales tóxicos, algunos compuestos provenientes de hidrocarburos y productos radioactivos pueden llegar al océano principalmente por su interacción con la atmósfera (Iwata, Tanabe, Sakai, Nishimura, & Tatsukawa, 1994).

Es de particular interés para este trabajo la contaminación causada por derrames accidentales o intencionados de hidrocarburos de petróleo desde zonas industriales, ciudades o barcos, entre otros (Maldonado, Bayona, & Bodineau, 1999; Martí, Bayona, & Albaigés, 2001). Durante un derrame los componentes se dispersan sobre la superficie del agua en forma de una mancha, los constituyentes de bajo peso molecular se evaporan, otros se disuelven o forman emulsiones en la columna de agua, son degradados, son adsorbidos por materia orgánica suspendida, o terminan en los sedimentos marinos (Clark, 2001).

## **2. Petróleo y su composición**

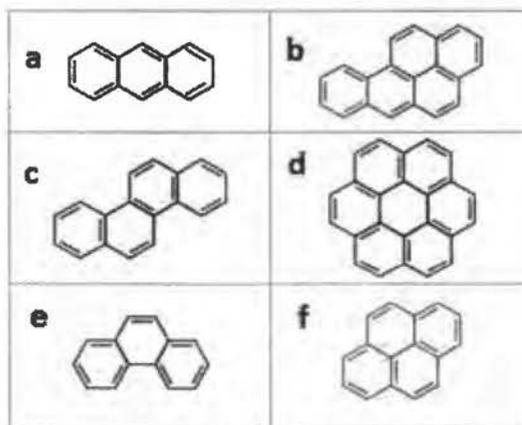
Las consecuencias de la presencia de hidrocarburos de petróleo en el agua y la importancia del recurso hídrico a nivel mundial, ha generado trabajos de investigación para identificar, caracterizar y establecer los comportamientos y tendencias de estas sustancias, debido a que algunos de sus componentes o sus derivados como los hidrocarburos poliaromáticos (HPA),

se han relacionado con efectos carcinógenos y mutagénicos en los seres vivos ( Venkataraman, Lyons, & Friedlander, 1994; Pérez, Velando, Munilla, López-Alonso, & Oro, 2008; Li, Zhao, Peng, Zhou, & Ma, 2010).

El petróleo crudo es una mezcla compleja de hidrocarburos, que contienen más de cuatro carbonos, con configuraciones lineales, cíclicas, con enlaces múltiples y aromáticos; la composición varía según el lugar de origen, por lo que este detalle y su densidad son los valores utilizados para clasificarlos. El refinado del petróleo se realiza para separarlo en diferentes fracciones según el punto de ebullición y así obtener una variedad de productos para distintos usos; por ejemplo, la fracción que contiene hidrocarburos entre 5 y 12 carbonos es conocida como gasolina, que se usa en la mayoría de vehículos de motor de combustión interna (Hemond & Fechner-Levy, 2000; Clark, 2001; Spiro & Stigliani, 2004).

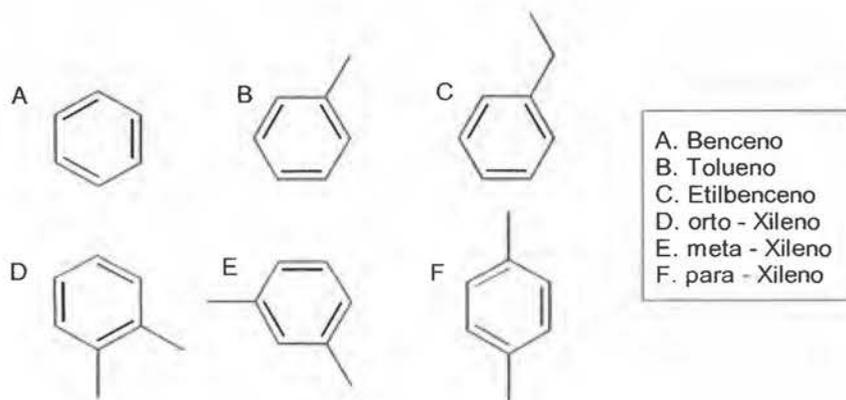
Dentro de la mezcla de hidrocarburos presentes en el petróleo crudo, los hidrocarburos poliaromáticos (HPA) son un grupo de compuestos orgánicos semivolátiles y persistentes en el ambiente. Estos compuestos son resultado de procesos petrogénicos o pirogénicos, como los subproductos de la calefacción doméstica, la generación de electricidad, la quema de desechos domésticos e industriales, las quemaduras accidentales o intencionales, entre otras y que, en general, se forman por un proceso de combustión incompleta (Moeckel, Monteith, Llewellyn, Henrys, & Pereira, 2014).

Entre los principales HPA peligrosos para la salud humana se pueden citar: antraceno, benzo[ $\alpha$ ]pireno, criseno, coroneno, fenantreno y pireno. En los seres humanos estos compuestos pueden generar diversos tipos de cáncer como el de escroto y pulmón, mientras que en los animales problemas mutagénicos, afecciones en el sistema nervioso central y lesiones en el cuerpo calloso ( U.S. Environmental Protection Agency, 2008; Watts, Ballester, Roseen, & Houle, 2010). Estos compuestos al dispersarse en el aire pueden ser transportados grandes distancias, y luego depositarse en superficies terrestres o acuáticas, por lo que aumenta la dificultad para determinar el origen de la contaminación (Moeckel et al., 2014).



**Figura 1. Hidrocarburos poliaromáticos (HPA) nocivos para la salud humana. (a) antraceno; (b) benzo[ $\alpha$ ]pireno; (c) criseno; (d) coroneno; (e) fenantreno; (f) pireno**

Otros posibles contaminantes son el benceno, tolueno, etilbenceno y xileno (meta, orto y para xileno) conocidos como BTEX (Figura 2), que son los compuestos aromáticos más comunes en el petróleo crudo y sus derivados y que constituyen la fracción más soluble y con mayor movilidad en el ambiente marino ( Wittkamp & Tilotta, 1995; Liu, Escher, Were, Du, & Ng, 2014). Se originan principalmente de la actividad humana, son en general resistentes a la degradación, tanto biológica como química y presenta un riesgo para la vida humana (Avens et al., 2011). Para citar un ejemplo específico, en el proceso de limpieza de un derrame de petróleo en el Golfo de México, algunos trabajadores y residentes presentaron problemas de salud como mareos, náuseas, vómito y dolor de cuerpo, los cuales se asociaron a la exposición prolongada e inhalación de BTEX (Yim, Kim, Ha, Kim, & Shim, 2012). Estos compuestos producen enfermedades como leucemia o daños a la médula ósea de forma permanente (Faría et al., 2005).



**Figura 2. Hidrocarburos monocíclicos conocidos como BTEX**

La concentración de los BTEX en los derivados del petróleo se relaciona directamente con sus propiedades físicas y químicas como la densidad, viscosidad, punto de ignición, dispersión, estabilidad de la emulsión, solubilidad y procesos de envejecimiento. A pesar de ser tan comunes estos compuestos en el petróleo y sus derivados, son altamente volátiles, por lo que su presencia en la superficie de un derrame disminuye conforme pasa el tiempo ( Wang, Fingas, Landriault, Sigouln, & Xu, 1995; Avens et al., 2011).

### 3. Transformaciones del petróleo en el ambiente marino

Los hidrocarburos y derivados de petróleo derramados en el mar experimentan una serie de procesos físicos y químicos, como el esparcimiento de la capa superficial, la evaporación y dispersión de los componentes más volátiles a la atmósfera, el fraccionamiento de los hidrocarburos entre la fase acuosa y la fase orgánica combustible, la adsorción en las partículas sólidas presentes y la acción de microorganismos. Los derrames de hidrocarburos producen matrices difíciles de estudiar, esto debido a que desde el momento en que entran en contacto con el medio, experimentan diversos equilibrios químicos y físicos. Además se ven afectados por la temperatura, la turbulencia del agua y del aire y su composición. A pesar de la complejidad que involucran estos procesos, deben ser entendidos con la finalidad de resolver y evitar el impacto que ocasionan y los resultados que puede producir a largo plazo en el ambiente (Edgerton, Coutant, & Henley, 1987; Fu, Gong, Zhao, & Zhao, 2014; Gros et al., 2014; Liu et al., 2014).

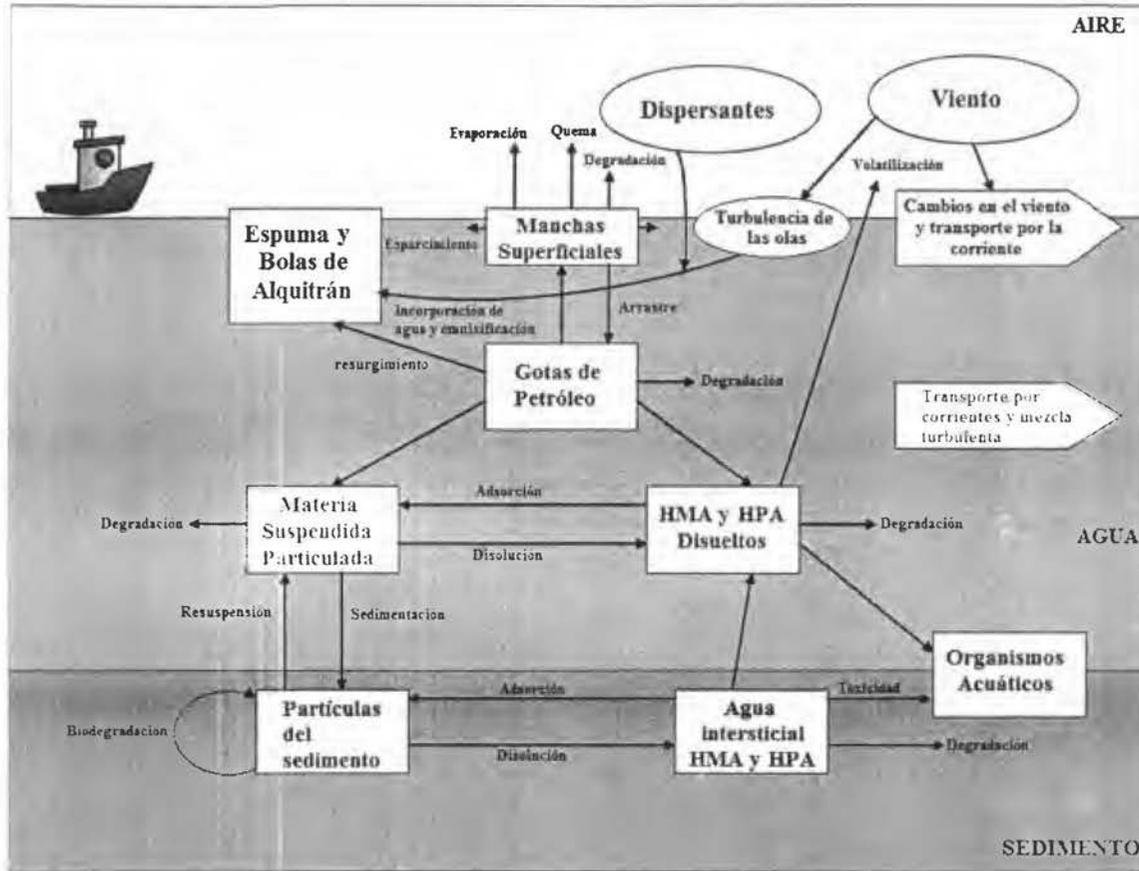


Figura 3. Procesos y cambios que experimentan los hidrocarburos de petróleo en el mar. Modificado de (Mccay et al., 2004).

En un derrame de petróleo el esparcimiento ocurre de manera muy rápida hasta alcanzar una espesura mínima, por lo que el área de evaporación es relativamente alta en relación con el volumen de petróleo. Además el proceso de evaporación es más rápido que los procesos de disolución, foto-oxidación y biodegradación ( Larson, Bott, Hunt, & Rogenmuser, 1979; Prince et al., 2003; Zioli & Jardim, 2003; Mccay et al., 2004; DeMello et al., 2007; Atlas & Hazen, 2011).

Las corrientes marinas superficiales, sumadas a las altas velocidades del viento y el oleaje intenso contribuyen a que los hidrocarburos se dispersen, ingresen en la columna de agua y generen una mezcla en donde existe una competencia entre los procesos de disolución de los componentes más ligeros y solubles y un equilibrio entre la evaporación y la disolución de especies. Si durante el derrame existe una velocidad de arrastre y turbulencia alta, se favorece la formación de gotas de menor diámetro, las cuales aceleran la cinética de la disolución que está en función del área superficial de las partículas de contaminante, ya que a menor diámetro, la relación área superficial contra volumen es mayor (Edgerton et al., 1987; Zwiernik, Quensen, & Boyd, 1999; Mccay et al., 2004).

Los hidrocarburos de petróleo al entrar en la columna de agua pueden ser adsorbidos por materia orgánica suspendida, mantenerse en suspensión o descender hasta llegar al sedimento. Los sedimentos son una mezcla de minerales, materia orgánica, gases, líquidos y una gran cantidad de organismos, que son soporte para la vida del planeta Tierra por ser un medio para el crecimiento de plantas y otros organismos. La composición de los sedimentos es muy importante, porque define la capacidad de captar y brindar nutrientes a plantas y organismos, la estabilidad y la habilidad para la adsorción de compuestos químicos. Los sedimentos están compuestos por una parte orgánica, conocida como humus, y por una parte inorgánica, arcillas (Schwab, Su, & Wetzel, 1999); la proporción de la cantidad de materia orgánica e inorgánica determina las propiedades químicas de los sedimentos y procesos de adsorción e intercambio iónico.

Los procesos que suceden entre los compuestos orgánicos y los sedimentos son difíciles de describir y detallar, debido a la complejidad de las interacciones que se producen. La disponibilidad y movilidad de los compuestos hidrofóbicos orgánicos en los sistemas agua-sedimentos se ve afectada por el tipo de material donde se da la adsorción, dando como resultado que la composición de los sedimentos sea determinante para adsorber o no los compuestos

hidrofóbicos orgánicos. Para describir estas interacciones el modelo matemático más empleado es la isoterma de Freundlich, la cual puede ser descrita como

$$C_s = K_f C_e^n \quad (1)$$

en donde  $C_s$  es la cantidad de compuestos hidrofóbicos orgánicos adsorbidos por unidad de masa del adsorbente,  $C_e$  es la concentración acuosa de compuestos hidrofóbicos orgánicos en equilibrio,  $K_f$  es el coeficiente de Freundlich que indica la capacidad de adsorción del material adsorbente, y  $n$ , el exponente de Freundlich denota el grado de desviación de la isoterma de la linealidad (Carmo, Hundal, & Thompson, 2000; Aisalble, Balks, Foght, & Waterhouse, 2004; Cornelissen et al., 2005).

#### 4. Métodos de muestreo, de extracción y de análisis

Los derrames de hidrocarburos al medio marino son un grave problema ambiental, lo que ha generado grandes esfuerzos en investigaciones que han aportando innovaciones en el diseño y en el uso de equipos para el muestreo de sedimentos y de las diferentes capas de la columna de agua, y métodos y técnicas de análisis químicos para varias matrices (Chen & Pawliszyn, 2003; Ouyang et al., 2007; Ort et al., 2010).

Existen varios manuales o lineamientos establecidos o recomendados por empresas, entidades públicas y privadas o universidades para realizar adecuadamente el muestreo de un derrame de hidrocarburos, como el “Manual de campo para muestreo de la columna de agua”, de la Universidad de la Patagonia San Juan Bosco de Argentina, donde explica cómo se debe preparar un muestreo, las maneras de realizar controles de calidad y cómo llevar a cabo la actividad según el tipo de lugar a muestrear, y “Los lineamientos recomendados para el muestreo de sedimento marino, columna de agua” preparado por la Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos, (EPA, por sus siglas en inglés), que expone los pasos a seguir para llevar a cabo un muestreo de forma efectiva (U.S. Environmental Protection Agency, 1997; Zaixso, 2002).

Una vez tomada la muestra se debe definir su tratamiento según el estado y la complejidad de ésta para su tratamiento. Por ejemplo, los sedimentos presentan una matriz compleja, por la presencia de gran cantidad de compuestos que la constituyen, por lo que la extracción que se

utilice debe ser escogida según los analitos y la finalidad que se desea. Las extracciones se pueden llevar a cabo con Soxhlet, con microondas, por agitación, por dispersión en fase sólida (Saari, Perämäki, & Jalonen, 2007). En el Cuadro II se compara la información para varios métodos descritos en la literatura para la extracción de HPA.

**Cuadro II. Información comparativa de métodos descritos en la literatura para la determinación de HPA (Pena, Casais, Mejuto, & Cela, 2008)**

Parámetros	Soxhlet (1)		Ultrasónico (2)	EFS (3)	EFL (4)	EAM (5)	MSPD (6)	
	1	2,5	1	1	2,5	0,2	2	0,2
Cantidad de muestra (g)	Tolueno	Hex:DCM (1:1)	Metanol	CO <sub>2</sub> (5% Tol)	Hex:DCM (1:1)	Hexano	DCM	DCM-MetOH (9:1)
Consumo de disolvente (mL)	80	150	50	11,5	60	10	15	6
Tiempo de extracción	8 h	18 h	25 min	40 min	20 min	23 min	20 min	10 min
Determinación	CLAR - Flu	CG-EM/EM	CLAR - Flu	CLAR - Flu	CG-EM/EM	CLAR - Flu	CG-EM/EM	CLAR - Flu
Eficiencia de extracción (%)	63 - 99	66 - 92	50 - 99	35 - 95	60 - 93	91 - 101	85 - 108	76 - 104
Reproducibilidad (D.E.R. (%))	<22	<17	<17	<20	<42	<6	<11	<6
Límite de Cuantificación (mg/g)	0,05 - 5	0,0001 - 0,002	0,0002 - 0,08	0,04 - 5	0,0001 - 0,002	0,0002 - 0,01	0,0001 - 0,002	0,0001 - 0,005
Costo	Bajo	Bajo	Bajo	Medio	Medio	Medio	Bajo	Bajo

Hex, n-Hexano; DCM, Diclorometano; Tol, Tolueno; MetOH, Metanol; Flu, Fluorescencia (Detector); Hex - DCM (1:1), mezcla de hexano-diclorometano (50:50, v/v); DCM - MetOH (9:1), mezcla de diclorometano-metanol (90:10 v/v); (3) EFS, Extracción con fluido supercrítico; (4) EFL, extracción en fase líquida; (5) EAM, extracción asistida por microondas; (6) MSPD; Dispersión de matriz en fase sólida.

Para el análisis de muestras ambientales con hidrocarburos derivados del petróleo se debe conocer la información sobre cada situación y el tipo de muestras recolectadas, para escoger un método apropiado que genere resultados confiables. La cromatografía de gases es la técnica más utilizada en el análisis de hidrocarburos en los sedimentos, que ha mejorado con el pasar del tiempo, como se da al acoplarlo con espectrómetro de masas, con lo cual se puede caracterizar y detallar los componentes del contaminante en estudio (Tolosa, Bayona, & Albaigés, 1996; Galaktionova, Safarova, Kudasheva, & Teplova, 2012).

La cromatografía de gases y la cromatografía de líquidos de alta resolución, se han utilizado desde la década de 1980 para estudiar la columna de agua y visualizar la partición y el movimiento de especies químicas que provienen de un derrame de hidrocarburos. El uso de librerías espectrales y patrones dan la posibilidad de determinar el origen de los contaminantes. (Theobald, 1989; Liu, Kewen: Dickhut, 1997; Maldonado et al., 1999; Olivella, 2005; Guitart, Frickers, Horrillo-Caraballo, Law, & Readman, 2008; Statkus, Kadomtseva, & Tsizin, 2010; Polyakova, Mazur, Artaev, & Lebedev, 2013).

## **5. Antecedentes de contaminación por derrames de petróleo**

Desde que se empezó a utilizar los derivados de petróleo como fuente principal de energía, han ocurrido varios accidentes que han impactado el océano. En el Cuadro III se hace un resumen de los 20 mayores derrames reportados en la historia.

**Cuadro III. Los veinte mayores derrames de petróleo en reportados en la historia** (Fernández-Varela, Andrade, Muniategui, Prada, & Ramírez-Villalobos, 2009; Yim et al., 2012)

Derrame	Ubicación	Bandera	Fechas	Toneladas derramadas
Lakeview Gusher	Estados Unidos, California		14 Marzo 1910 - 10 Setiembre 1911	1,230,000
Gulf War	Iraq, Golfo Pérsico		23 Enero 1991	820
Deepwater Horizon	United States, Golfo de México		20 Abril 2010 – 15 Julio 2010	627
Ixtoc I	Mexico, Bahía de Campeche		3 Junio 1979 – 23 Marzo 1980	480
Niger Delta	Nigeria, Niger Delta		1976 – 1996	328
<i>Atlantic Empress / Aegean Captain</i>	Trinidad y Tobago		19 Julio 1979	287
Fergana Valley	Uzbekistan		2 Marzo 1992	285
ABT Summer	Angola		28 Mayo 1991	260
Nowruz Field Platform	Iran, Golfo Pérsico		4 Febrero 1983	260
Castillo de Bellver	Sudáfrica, Bahía Saldanha		6 Agosto 1983	252
Amoco Cadiz	Francia, Brittany		16 Marzo 1978	227
MT Haven	Italia, Mar Mediterráneo cerca de Genoa		11 Abril 1991	144
Odyssey	Canada		10 Noviembre 1988	132
Torrey Canyon	Reino Unido		18 Marzo 1967	119
Sea Star	Iran, Golfo de Oman		19 Diciembre 1972	115
Exxon Valdez	Estados Unidos, Alaska		24 Marzo 1989	104
Irenes Serenade	Grecia, Pylos		23 Febrero 1980	100
Urquiola	España, La Coruña		12 Mayo 1976	100
Greenpoint, Brooklyn	Estados Unidos, Nueva York		1940 – 1950	97,4
ExxonMobil	Nigeria, Niger Delta		1 Mayo 2010	95,5
MT Independencia	Turquía, Bosphorus		15 Noviembre 1979	95
Hawaiian Patriot	Estados Unidos, Hawái		26 Febrero 1977	95

1 tonelada equivale a 1165 litros o 7,33 barriles de petróleo crudo

Debido a la amenaza constante que significa el uso y trasiego de los hidrocarburos derivados del petróleo, se creó uno de los proyectos más ambiciosos en el monitoreo del medio marino sobre contaminantes llamado Mussel Watch, el cual consta en el análisis de al menos 300 sitios de muestreo, donde se recolectan tejidos de bivalvos y sedimentos para determinar contaminantes mediante análisis químicos y biológicos. El muestreo y análisis se realiza desde el año 1986 y se mantiene hasta la actualidad. Parte de los beneficios que ha brindado el programa está el desarrollo, implementación y mejora de los análisis químicos y biológicos y establecer una línea base, además de resultados a través del tiempo y del espacio de contaminantes como HPA, BTEX y otros, y poder relacionarlos con la actividad humana (Beliaeff, O'Connor, Daskalakis, & Smith, 1997; National Ocean Service, 2014).

El programa CARIPOL de la Comisión Oceanográfica Intergubernamental (COI), el cual se estableció en 1979 es un esfuerzo importante a nivel regional y mundial que tenía como objetivo la vigilancia en el área del mar Caribe de la contaminación por petróleo y sus derivados, mediante el seguimiento de determinados parámetros, en especial la medición espectrofluorométrica de una fracción importante de hidrocarburos. Este programa fue el inicio para el monitoreo, análisis y resultados de contaminantes del petróleo y sus derivados en Costa Rica, y ha servido como base para las investigaciones en años posteriores (Atwood, Cummings, Nodal, & Culbertson, 1987; Mata, Acuña, Murillo, & Cortés, 1985; Garc, 2002; Indies, 1993).

## **6. Antecedentes en Costa Rica**

Las zonas marítimas de Costa Rica están expuestas a la contaminación principalmente de origen externo; en el sector del Caribe, se transportan entre 18 y 19 millones de barriles de petróleo mediante grandes barcos hacia la Refinadora Costarricense de Petróleo S.A. (RECOPE) anualmente; y en el Pacífico, el peligro se mantiene latente debido a la existencia del canal de Panamá, la puesta en marcha en el 2010 del proyecto térmico Garabito ubicado en Montes de Oro en Puntarenas para la producción de energía eléctrica mediante la quema de búnker y diesel, y la terminal de Punta Morales en Puntarenas, el cual se utiliza para la exportación de azúcar crudo, melaza e importación y exportación de alcohol carburante y potable, entre otras (Acuña, Vargas, Gómez, & García, 2004; Agüero, 2010; INCOP, 2010; RECOPE S.A., 2013a). El muelle de Punta Morales tiene capacidad para recibir barcos de hasta 30 mil toneladas métricas y en el período 2009-2010 se exportaron 150 mil toneladas métricas de azúcar (“Liga Agrícola Industrial de la Caña de Azúcar,” 2012)

Dos ejemplos de las amenazas a las que se exponen las costas del país: el primero ocurrido a inicios del mes de marzo del 2013 cuando los trabajadores de la refinadora debieron extraer el combustible del buque venezolano “Antillas I” que había quedado varado en la costa caribeña de Limón; el segundo acontecimiento fue el derrame de un barril de diesel en el puerto de Caldera que fue atendido por el equipo de emergencias de RECOPE junto a una empresa extranjera (RECOPE S.A., 2013; RECOPE, 2014).

En Costa Rica el sector turismo contribuye de manera importante al Producto Interno Bruto (5,3% en el 2014), y además, se ha promovido una imagen de país verde y preocupado por el respeto a la naturaleza, pero a la vez, esta afluencia de turistas implica una amenaza a la calidad de los mares del país, debido a la entrada de cruceros y barcos de pasajeros a los principales puertos, la falta de plantas de tratamiento de aguas residuales y la actividad pesquera, que se da principalmente en la zona del Pacífico (Acuña et al., 2004; Vargas, Alonso, Corrales, & Gomez, 2014).

Para mantener la imagen de país verde, Costa Rica cuenta con once áreas protegidas que pertenecen al Sistema Nacional de Áreas de Conservación de la República de Costa Rica, las cuales también pueden verse afectadas por contaminación de aire, suelo y agua, por lo que un monitoreo y estudio constante es de mucha importancia. El Parque Nacional Isla del Coco se encuentra dentro de estas zonas y se le conoce como Área de Conservación Marina Isla del Coco (ACMIC), además fue declarado en 1997, Sitio de Patrimonio Mundial de la Humanidad por la UNESCO; Sitio Ramsar desde 1998 y Patrimonio Histórico de Costa Rica en el 2002 (Fundación Amigos Isla del Coco, 2014). Esta isla se encuentra a 535 km en dirección suroeste de Cabo Blanco, en el extremo sur de la Península de Nicoya, por lo que se requiere un esfuerzo económico importante para mantener la vigilancia en la zona, evitar la pesca ilegal y proteger el ambiente marino.

El presente trabajo pretende conocer la distribución espacial y temporal de algunos de los principales hidrocarburos del petróleo disueltos y dispersos en agua y sedimentos costeros de Punta Morales, Golfo de Nicoya, Pacífico de Costa Rica, utilizando métodos de extracción y cromatografía validados.

## **Objetivo General**

Conocer la distribución espacial y temporal de algunos de los principales hidrocarburos del petróleo en aguas y sedimentos costeros de Punta Morales, Golfo de Nicoya, Pacífico de Costa Rica.

## **Objetivos Específicos**

1. Recolectar muestras de agua de mar y de sedimentos en al menos dos sitios de la zona de Playa Blanca (Punta Morales, Golfo de Nicoya, Pacífico de Costa Rica) y realizar una campaña en la época seca y otra en la época lluviosa.
2. Establecer la presencia de hidrocarburos de petróleo (HPA, MTBE y BTEX) en las muestras recolectadas, mediante la aplicación de técnicas de extracción y cromatográficas validadas.
3. Establecer una línea base acerca de la presencia de hidrocarburos de petróleo en la zona costera de Punta Morales de Costa Rica.
4. Aprovechar los extractos hexánicos de muestras de agua de mar recolectadas en aguas aledañas a la Isla de Coco durante un proyecto de investigación del CIMAR y determinar si existe la presencia de hidrocarburos de petróleo en ellas.

## CAPÍTULO II

### Materiales y Métodos

#### 1. Reactivos

- Material adsorbente C18 de alta pureza, con un tamaño de partícula de 200 a 400 mesh y un poro de 70 Å, marca Supelco. El C18 posee una estructura llamada de enlace polimérico.
- Florisil, para análisis de residuos de pesticidas, con un tamaño de partícula de 60 a 100 mesh, marca Mallinckrodt.
- Criseno, pureza de 99,8%, marca Supelco.
- Pireno, pureza de 98,5%, marca Supelco.
- Antraceno, pureza mayor a 99%, marca Supelco.
- Bifenilo, pureza 97,5%.
- n-tricosano ( $C_{23}H_{48}$ ), pureza mayor al 97%, marca PolyScience Corporation.
- n-pentacosano ( $C_{25}H_{52}$ ), pureza mayor al 97%, marca PolyScience Corporation.
- n-octacosano ( $C_{28}H_{58}$ ), pureza mayor al 97%, marca PolyScience Corporation.
- Metanol, calidad para cromatografía líquida, marca LiChrosolv.
- Hexano, pureza  $\geq 98,5\%$ , grado espectrofotométrico, marca Sigma-Aldrich.

#### 2. Equipo

- Cromatógrafo de gases marca Hewlett Packard y modelo 6890 PLUS. Equipado con una columna HP-5, compuesta por 5% de fenilo y un 95% de dimetilpolisiloxano. Y un detector de ionización de llama.
- Cromatógrafo líquido de alta resolución marca Perkin Elmer, con una columna C-18, bomba binaria serie 250, detector de fluorescencia serie 200 y una interfase de comunicación PE Nelson de la serie 900.
- Equipo marca Seven Multi Mettler Toledo para la determinación de la conductividad eléctrica.
- Equipo marca YSI Environmental modelo 550A para las mediciones de la concentración de oxígeno en muestras acuosas.

- Liofilizador Labconco 4.5 FreeZone.

### 3. Muestreo de sedimentos y de agua de mar en Playa Blanca, Punta Morales.

Las muestras de sedimentos y de agua de mar fueron tomadas en Playa Blanca, ubicada en el Golfo de Nicoya, en la costa Pacífica de Costa Rica. La primera campaña de muestreo se llevó a cabo el 5 de junio del 2012; la segunda el 14 y el 15 de octubre del 2012, la tercera el 11 y el 12 de febrero del 2013. El 8 de agosto del 2015 se realizó la cuarta, pero sólo se tomaron muestras de sedimentos.

La playa tiene una longitud aproximada de 300 m, y se tomaron cuatro muestras de sedimentos y tres de agua en cada una de las campañas de muestreo. En la Figura 4 se observa una foto aérea en donde se señalan los lugares las muestras.



Figura 4. Sitios de muestreo en Playa Blanca. Tomado y modificado de Google Earth. Imagen del día 05 de diciembre 2013

En el Cuadro IV se detalla parte de la información acerca de las muestras.

**Cuadro IV. Información sobre la localización de las muestras tomadas en cada una de las campañas de muestreo.**

Señales en la Figura 4 (de izquierda a derecha) y códigos	Tipo de muestra	Coordenadas geográficas	Referencia local
 PM4*	Sedimento	10.062888 N -84.959694 O	Zona rocosa
 PM3*	Sedimento	10.063194 N -84.958555 O	En dirección sur a las palmeras
 PM2*	Sedimento	10.063138 N -84.958055 O	En dirección sur a la entrada de la playa
 PM1*	Sedimento	10.062972 N -84.957611 O	En dirección sur al poste de luz más cercano a la entrada de la playa
 PMA1**	Agua	10.062750 N -84.957111 O	En dirección sur al poste de luz más cercano a la entrada de la playa
 PMA2**	Agua	10.062750 N -84.957111 O	En dirección sur al poste del medio de la playa
 PMA3**	Agua	10.062583 N -84.95677 O	En dirección sur al poste de luz más lejano a la entrada de la playa

\*PM1: Muestra de sedimento posición 1, en dirección sur al poste de luz más cercano a la entrada de la playa. / PM2: Muestra de sedimento posición 2, en dirección sur a la entrada de la playa / PM3: Muestra de sedimento posición 3, en dirección sur a las palmeras / PM4: Muestra de sedimento posición 4, zona rocosa.

\*\*PMA1: Muestra de agua de mar posición 1, en dirección sur al poste de luz más cercano a la entrada de la playa / PMA2: Muestra de agua de mar posición 2, en dirección sur al poste del medio de la playa / PMA3: Muestra de agua de mar posición 3, en dirección sur al poste de luz más lejano a la entrada de la playa.

### 3.1. Tratamientos especiales para el equipo utilizado durante el muestreo

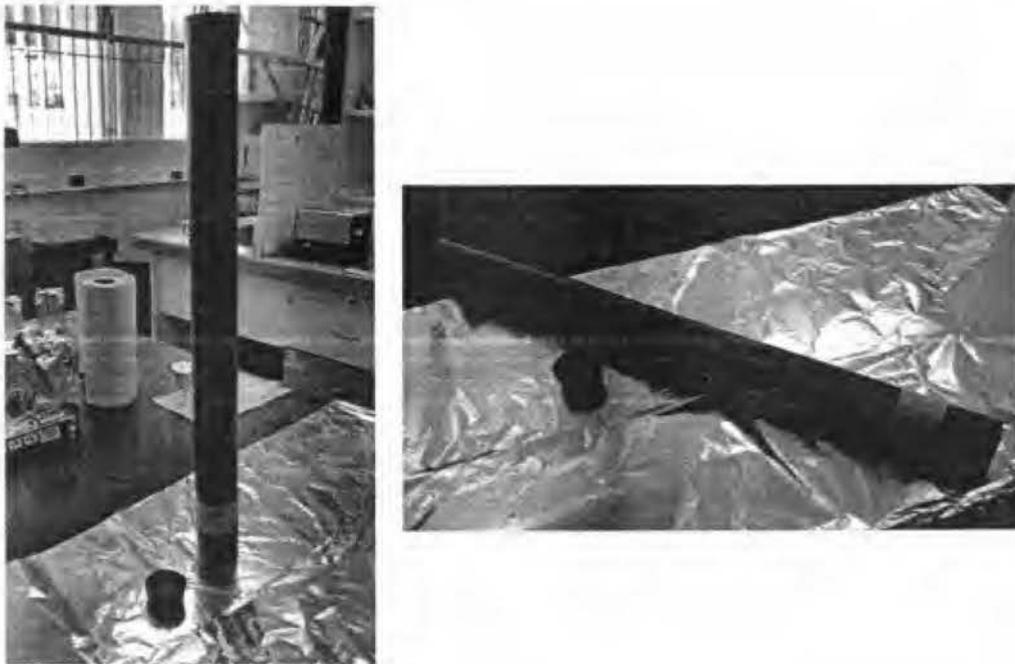
3.1.1. **Papel Aluminio:** Lavar el papel aluminio con hexano. Sumergir cada lámina en un recipiente con hexano. Repetir varias veces los lavados. Dejar en la estufa de 1 h a 2 h a 100 °C, hasta eliminar el disolvente. Este procedimiento es para eliminar la cera que trae el producto de fábrica.

3.1.2. **Equipo en general:** Lavar todo el material utilizado para la toma de muestras con un detergente sin olor ni color y libre de hidrocarburos (Alconox) y enjuagar con agua purificada.

### 3.2. Procedimiento para la toma de muestras de sedimentos y agua de mar (Delgado, 2007; Sibaja, 2013).

#### 3.2.1. Procedimiento para la toma de muestra de sedimentos

3.2.1.1. Revisar que el muestreador de tubo este limpio, sin golpes o quebrado y con su respectivo tapón. El muestreador que se utiliza se observa en la Figura 5, el cual es de aproximadamente 50 cm de alto y un tapón de hule.



**Figura 5. Equipo utilizado para tomar muestras de sedimentos. Foto tomada el día 13 de octubre del 2012 por Andrés Zamora Q.**

- 3.2.1.2. Penetrar el sedimento hasta la profundidad deseada (el tubo puede ser marcado con distancias previamente) y tapar el tubo. Luego, sacar el tubo cuidadosamente y extraer la muestra en una bandeja cubierta de papel aluminio.
- 3.2.1.3. Una vez colocada la muestra, medir la muestra, envolver con el papel aluminio y colocar en frascos de muestreo. El paso 1.2.1.2 y 1.2.1.3 se observan en la Figura 6.



**Figura 6. Procedimiento para la toma de muestra de sedimentos. Foto tomada el día 15 de octubre del 2012 por Paola Fuentes S.**

- 3.2.1.4. Anotar en el cuaderno de bitácora el punto de recolección y el tipo de muestra, el número de identificación y la descripción de la muestra, la fecha, la hora de toma de muestra y la profundidad de ésta. Referenciar el punto de recolección mediante coordenadas geográficas utilizando algún sistema de posicionamiento global (GPS), algún sistema de información geográfica (SIG) o alguna señal que identifique la zona y que facilite su ubicación en el lugar.

- 3.2.1.5. Limpiar los frascos, rotular y empaçar en una bolsa Ziploc. Si es necesario, colocar en una segunda bolsa Ziploc.
- 3.2.1.6. Colocar la muestra en la hielera.
  
- 3.2.2. Procedimiento para tomar muestras de agua de mar con el muestreador de PVC para análisis fisicoquímicos y compuestos orgánicos volátiles.
  - 3.2.2.1. Usar guantes desechables para preparar los envases necesarios.
  - 3.2.2.2. Colocar la botella en el muestreador de PVC.
  - 3.2.2.3. Anotar en el cuaderno bitácora el punto de recolección y el tipo de muestra, el número de identificación y la descripción de la muestra, la fecha y la hora de toma de muestra. Referenciar el punto de recolección mediante coordenadas geográficas utilizando algún sistema de posicionamiento global (GPS), algún sistema de información geográfica (SIG) o alguna seña que identifique la zona y que facilite su ubicación en el lugar.
  - 3.2.2.4. Entrar en el mar hasta alcanzar una profundidad aproximada de 1 m de profundidad **(Figura 7)**.



**Figura 7. Procedimiento para tomar muestras de agua de mar con el muestreador de PVC para análisis fisicoquímicos y COV. Foto tomada el día 15 de octubre del 2012 por Paola Fuentes S.**

- 3.2.2.5. Debe esperar un tiempo prudencial para que se estabilicen (se precipiten) los sedimentos, arena y desechos que son perturbados por los zapatos de quienes muestrean). Bajar el muestreador y quitar el tapón de la botella.
  - 3.2.2.6. Llenar la botella totalmente y tapanla con el tapón del muestreador en el punto de muestreo sin dejar burbujas.
  - 3.2.2.7. Poner la tapa correspondiente de la botella, limpiar las botellas, rotularlas y empacarlas en una bolsa Ziploc. Luego colocarlas en una segunda bolsa Ziploc.
  - 3.2.2.8. Colocar la muestra en una hielera.
- 3.2.3. Control del proceso de muestreo
- 3.2.3.1. Utilizar un blanco de campo para el análisis de compuestos orgánicos volátiles (COV).
  - 3.2.3.2. Llevar un vial o una botella de muestreo con agua purificada en las mismas condiciones que las muestras.
  - 3.2.3.3. Abrir el blanco de campo hasta el momento del análisis.

#### **4. Muestreo de agua de mar en el Parque Nacional Isla del Coco.**

Se aprovechó la prerrogativa de que en el CIMAR se habían recolectado muestras y estaban disponibles, de agua de mar de alrededor de la Isla del Coco pertenecientes a un proyecto en el que se determinaba, por la técnica de fluorescencia molecular, la presencia de hidrocarburos del petróleo. Estas muestras fueron recolectadas y procesadas por funcionarios del CIMAR en tres campañas oceanográficas: entre el 30 de junio y el 10 de julio de 2011, entre el 13 y el 23 de marzo de 2012, y entre el 6 y el 14 de julio de 2012. Las muestras a las que se tuvo acceso consistían en extractos hexánicos conservados en balones aforados de 5 ml protegidos de la luz, en refrigeración. La Figura 8 muestra un diagrama de la Isla del Coco, en el que se indican los sitios de recolección de las muestras y el transepto realizado en la gira del 6 al 14 de julio de 2012. En el Cuadro V se explicita el código de los sitios. En el Anexo I se presenta la información concerniente a las giras realizadas a la Isla.

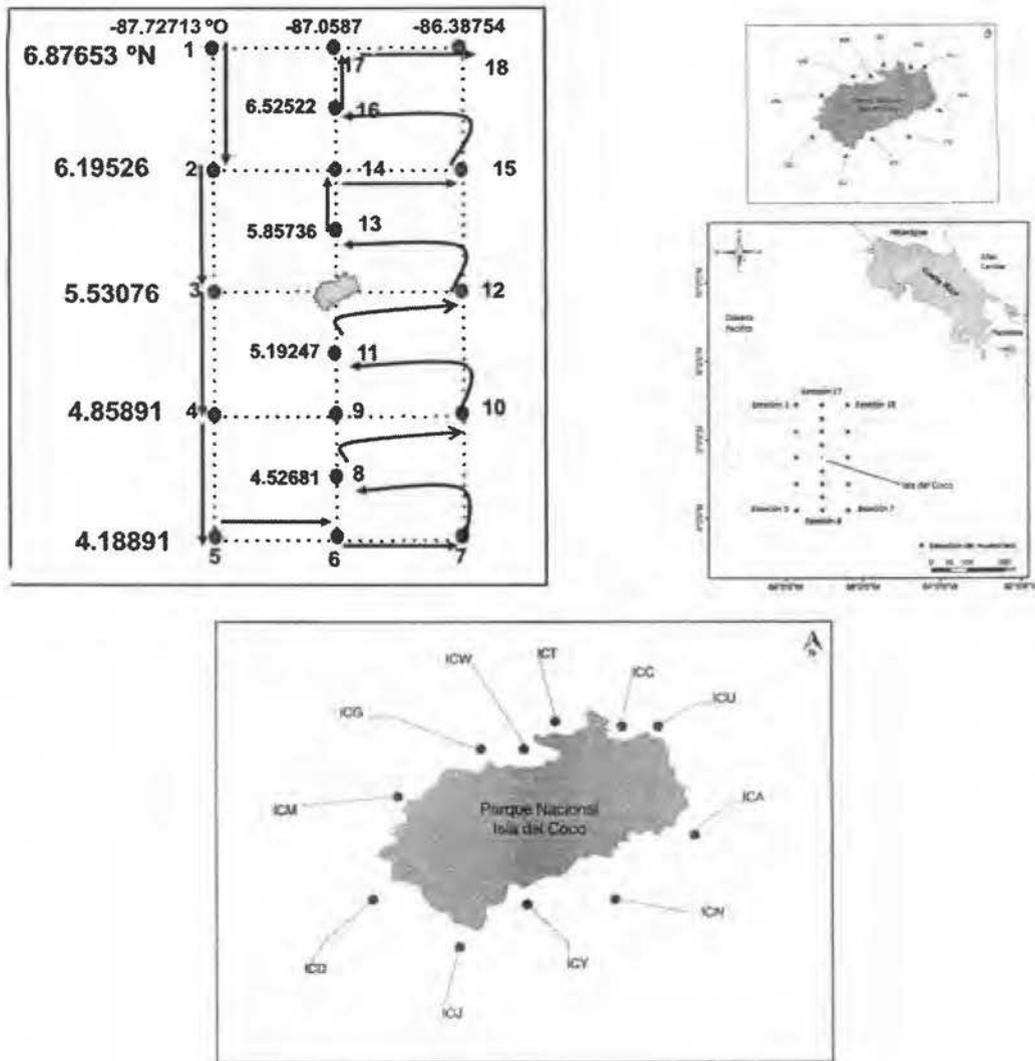


Figura 8. Sitios de recolección de las muestras de agua de mar en el Parque Nacional Isla del Coco, entre el 30 de junio y el 10 de julio de 2011, entre el 13 y el 23 de marzo de 2012. Elaborado por Jairo García C.

**Cuadro V. Codificación de los sitios de muestreo en el Parque Nacional Isla del Coco señalados en la Figura 7.**

<b>Código</b>	<b>Locación</b>
ICU	Punta Ulloa
ICA	Cabo Atrevido
ICN	Bajo Alcyone
ICY	Bahía Yglesias
ICJ	Aleta de Tiburón
ICD	Dos Amigos
ICM	Punta María
ICG	Punta Gissler
ICW	Bahía Wafer
ICT	Bahía Weston
ICC	Bahía Chatham

## 5. Análisis de muestras

El análisis de las muestras consta de dos partes, la primera incluye las giras I, II y III de Playa Blanca y las muestras de la Isla del Coco; la segunda parte de análisis consta de los sedimentos traídos durante la gira IV. Durante la primera parte las muestras de sedimentos se fueron extraídas mediante el método de Soxhlet y fueron analizadas por CG con detector de ionización de llama. Las muestras de agua provenientes fueron estudiadas por CLAR y CG con un detector ultravioleta-visible y un detector de ionización de llama, respectivamente; también se midió la conductividad, la concentración de oxígeno disuelto y de sólidos disueltos no volátiles.

La segunda parte del análisis se hizo sólo para muestras de sedimentos de la gira IV y en donde se utilizaron tres métodos diferentes para la extracción de hidrocarburos y luego fueron analizados por CG con detector de ionización de llama. A estas muestras de igual manera se les determinó el peso en seco. En esta parte se utilizaron los métodos de extracción Soxhlet y el procedimiento de dispersión de matriz en fase sólida, en uno asistido por vórtex y el otro asistido por centrifuga.

### 5.1. Parte I. Tratamiento de sedimentos tomados en Playa Blanca de Punta Morales en las campañas de muestreo I, II y III.

#### 5.1.1. Preparación de las muestras

- 5.1.1.1. Pesar un matraz limpio y seco, de fondo redondo, sin el tapón esmerilado y anotar el peso.
- 5.1.1.2. Pesar aproximadamente 150 g con una exactitud de 0,1 g del sedimento parcialmente descongelado y anotar el peso. Este dato es el peso húmedo.

#### 5.1.2. Determinación del peso seco

- 5.1.2.1. Colocar en la estufa de desecación durante dos horas a 100 °C un frasco de pesada limpio y al cual se le habrá quitado el tapón esmerilado. Este recipiente debió ser lavado previamente con agua y jabón, y con hexano.
- 5.1.2.2. Poner el frasco de pesadas y el tapón esmerilado en un desecador a enfriar. Se deben usar pinzas para evitar dejar huellas de los dedos, partículas de polvo o grasa en el frasco de pesadas.
- 5.1.2.3. Pesar, con mucho cuidado, el frasco vacío y el tapón en una balanza analítica. El peso obtenido en este paso es el peso del frasco de pesadas seco y vacío y del tapón.

- 5.1.2.4. Anotar el peso del frasco de pesadas y el tapón esmerilado.
- 5.1.2.5. Colocar entre 25 y 50 gramos de material de sedimentos en el frasco de pesadas y poner el tapón.
- 5.1.2.6. Determinar y anotar el peso del frasco de pesadas, el tapón y del sedimento. Este peso obtenido es el peso en húmedo del sedimento.
- 5.1.2.7. Colocar el frasco en la estufa de desecación a 100 °C, se debe quitar el tapón del frasco, pero colocándolo también en la estufa.
- 5.1.2.8. Al cabo de 24 horas sacar el frasco del desecador y el tapón y dejar enfriar dentro de un desecador.
- 5.1.2.9. Determinar y anotar el peso del frasco tapado. Repetir el paso hasta que la diferencia entre pesadas sucesivas sea inferior al 5% del peso total.
- 5.1.2.10. Anotar el peso en húmedo (PH) y el peso en seco (PS).

#### 5.1.3. Mineralización de la matriz de sedimento

- 5.1.3.1. Dejar estabilizar las muestras con la humedad ambiente a una temperatura máxima de 30 °C. Para esto dejar sobre papel aluminio al aire libre
- 5.1.3.2. A (80-100) g de muestra de sedimento húmedo en un matraz de fondo redondo de 250 mL, agregar 100 mL de metanol, 3 g de KOH y núcleos de ebullición.
- 5.1.3.3. Añadir 1 mL de una mezcla de patrón interno que contenga bifenilo, antraceno, criseno, pireno e hidrocarburos lineales disueltos en hexano y en una concentración de 0,5 mg/mL.
- 5.1.3.4. Reflujar la mezcla durante 1 hora y 30 minutos en un equipo Soxhlet, a partir de que hierve la mezcla. Completar alrededor de 10-15 ciclos de reflujo.

#### 5.1.4. Extracción de los hidrocarburos de petróleo

- 5.1.4.1. Enfriar el extracto de metanol a temperatura ambiente, trasvasar a un embudo de separación y extraer tres veces con 25 mL de hexano. Si se forma una emulsión, romper con agua y se centrifuga.
- 5.1.4.2. Trasladar la fase de hexano a un matraz de evaporación y reducir el volumen a 0,5 mL en un Rotavapor.
- 5.1.4.3. Trasvasar cuantitativamente el volumen reducido a un vial de vidrio y concentrar cuidadosamente hasta obtener cerca de 0,2 mL con un flujo de N<sub>2</sub> gaseoso.

- 5.1.5. Separación de alcanos y compuestos aromáticos con columnas de alúmina (se realiza antes del análisis por cromatografía de gases)
- 5.1.5.1. Agregar 1,15 g (5 cm) de óxido de aluminio activado a una pipeta de Pasteur provista con un tapón de lana de vidrio que fue lavada con hexano.
- 5.1.5.2. Lavar la columna tres veces con 2 mL de hexano, sin que ésta se seque.
- 5.1.5.3. Agregar el extracto de la muestra y se practican tres lavados con 0,5 mL de hexano al vial. Dejar que el nivel de la disolución baje hasta la superficie de la columna e iniciar el proceso de elución.
- 5.1.5.4. La elución se efectúa según el Cuadro VI

**Cuadro VI. Elución de las diferentes fracciones en la separación de alcanos y compuestos aromáticos de un extracto de sedimento marino**

Fracción de La elución #	Volumen de eluyente (mL)	Disolventes	Fracciones resultantes
1	4	Hexano	Alcanos
2	4	Hexano	Disolvente
3	4	Hexano:Diclorometano (7:3)	Compuestos aromáticos
4	4	Diclorometano	Compuestos aromáticos superiores

- 5.1.5.5. Recolectar las fracciones 1 y 2 que contienen los n-alcanos en un solo vial de 10 mL, (si presenta color en esta etapa se pasa la mezcla de fracciones por una pipeta Pasteur con 1 g de Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> y 25 mg de carbón activado, diluir la muestra con 4 mL de hexano) y llevar a sequedad, usando una corriente de N<sub>2</sub> gaseoso.
- 5.1.5.6. Reconstituir con 50 µL de hexano y analizar por cromatografía de gases. Recoger las fracciones 3 y 4, que contienen los compuestos aromáticos en un solo vial de 10 mL, (si presenta color en esta etapa pasar la mezcla de fracciones por una pipeta Pasteur con 1 g de Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> y 25 mg de carbón activado, diluir la muestra con 4 mL de diclorometano) y llevar a sequedad usando una corriente de N<sub>2</sub> gaseoso.
- 5.1.5.7. Reconstituir con 50 µL de hexano y analizar por cromatografía de gases. También se puede reconstituir con una mezcla de hexano: tetrahidrofurano (1:1).

**5.2. Parte II. Tratamiento de sedimentos tomados en Playa Blanca de Punta Morales en la campaña de muestreo IV.**

Los sedimentos de la campaña de muestreo IV fueron tratadas de manera diferente, ya que fueron liofilizadas antes de la extracción Soxhlet y se probaron dos métodos con el sedimento liofilizado. El procedimiento de liofilización, los cambios en la extracción Soxhlet y los procedimientos nuevos se describen en los puntos del 3.2.1 al 3.2.4.

#### **5.2.1. Determinación del peso seco mediante el proceso de liofilización**

- 5.2.1.1. Lavar analíticamente un frasco de vidrio y su respectiva tapa. Dejar secando en la estufa a 100 °C por al menos 24 h.
- 5.2.1.2. Poner el frasco en un desecador a enfriar. Evitar dejar huellas de los dedos, partículas de polvo o grasa en el frasco.
- 5.2.1.3. Pesar el frasco vacío en una balanza analítica. El peso obtenido en este paso es el peso del frasco de pesadas seco y vacío.
- 5.2.1.4. Colocar entre 50 y 75 gramos de material de sedimentos en el frasco y cerrarlo.
- 5.2.1.5. Determinar y anotar el peso del frasco de pesadas y del sedimento. Este peso obtenido es el peso en húmedo del sedimento.
- 5.2.1.6. Guardar el frasco con el sedimento en un congelador hasta el momento de la liofilización.
- 5.2.1.7. Colocar el frasco con la muestra congelada en un liofilizador el tiempo necesario para eliminar el agua de la muestra. Se utilizó el liofilizador marca Labconco 4.5 FreeZone.
- 5.2.1.8. Sacar el frasco y colocar en un desecador.
- 5.2.1.9. Determinar y anotar el peso del frasco.
- 5.2.1.10. Anotar el peso en húmedo (PH) y el peso en seco (PS). Y determinar el porcentaje de humedad de las muestras.

#### **5.2.2. Método I. Procedimiento de extracción Soxhlet.**

- 5.2.2.1. Realizar lo mencionado en los puntos 3.1.3, con la diferencia de pesar entre 15 g y 20 g de sedimento liofilizado.
- 5.2.2.2. Realizar los pasos 3.1.4 y 3.1.5, en estos pasos no se realizan modificaciones.
- 5.2.2.3. Modificar el punto 3.1.5.8, en donde la muestra final se reconstituye con 0,5 mL de disolvente.

#### **5.2.3. Método II. Procedimiento de dispersión de matriz en fase sólida asistida por Vórtex.**

- 5.2.3.1. Pesar exactamente 0,5 g de sedimento liofilizado y colocar en un mortero.
- 5.2.3.2. Agregar 1 g de C18 al mortero y mezclar durante 5 min vigorosamente.

- 5.2.3.3. Trasvasar analíticamente a un tubo de centrifuga y agregar 5 mL de acetonitrilo. Vortear la muestra durante 1 min y luego centrifugar por 1 min a 4000 rpm.
- 5.2.3.4. Recolectar el extracto en un vial.
- 5.2.3.5. Para el enriquecimiento de muestras, agregar 1 mL de una mezcla de patrones que contenga HPA e hidrocarburos lineales en una concentración de 0,5 mg/mL de cada uno. Dejar por al menos 1 h hasta que se evapore el disolvente.

#### **5.2.4. Método III. Procedimiento de dispersión de matriz en fase sólida (MSPD)**

- 5.2.4.1. Pesar 0,5 g de muestra de sedimento y mezclar con 0,5 mL de hidróxido de sodio metanólico en un mortero.
- 5.2.4.2. Agregar 1 g de florisil y mezclar vigorosamente por 1 min.
- 5.2.4.3. Preparar una jeringa de polipropileno con un disco en el fondo de polietileno de 20 µm de espesor de la siguiente manera (desde el fondo hasta el tope): 0,5 g de florisil, luego 0,5 g de sílica, trasvasar la mezcla del mortero cuantitativamente y terminar con un disco de polietileno de 20 µm de espesor.
- 5.2.4.4. Eluir con 6 mL de una mezcla de hexano y acetona (1:1).
- 5.2.4.5. Concentrar el extracto con un flujo de nitrógeno gaseoso, hasta 0,5 mL y agregar 1 mL de acetonitrilo.
- 5.2.4.6. Concentrar el extracto de nuevo con nitrógeno gaseoso hasta 1 mL.
- 5.2.4.7. Para el enriquecimiento de muestras, agregar 1 mL de una mezcla de patrones que contenga HPA e hidrocarburos lineales en una concentración de 0,5 mg/mL de cada uno. Dejar por al menos 1 h hasta que se evapore el disolvente.

### **5.3. Análisis de las muestras de sedimentos de Playa Blanca por cromatografía de gases (CG)**

#### **5.3.1. Cromatografía en fase gaseosa equipada con una columna HP-5**

- 5.3.1.1. Inyectar 1-2 µL del extracto de la muestra, sometido al procedimiento de separación indicado anteriormente. Las condiciones cromatográficas figuran en el Cuadro VII.

**Cuadro VII. Condiciones de CG para el análisis de hidrocarburos en el cromatógrafo de gases marca Hewlett Packard modelo 6890 PLUS.**

<b>Equipo</b>	<b>Condiciones</b>
Detector	Ionización de llama (FID)
Gas portador	Nitrógeno
Relación de <i>Split</i>	24,3:1
Flujo de <i>Split</i>	36,5 mL/min
Flujo Total	40 mL/min
Columna	Capilar: 30,0 m de largo x 320,00 µm de diámetro Empaque: HP-5, 5% Fenil-Metil-Siloxano.
Temperatura de Inyección	250 °C
Temperatura de detección	300 °C
Programación de la temperatura	Valor inicial 60 °C. Tiempo inicial 0,5 min. Rampa 8,30 °C/min. Tiempo final 31,42 min.
Volumen inyectado	1-2 µL

#### 5.4. Tratamiento y análisis de muestras de agua de mar

##### 5.4.1. Análisis de muestras de agua de mar de Playa Blanca por Cromatografía de Líquidos Alta Resolución (CLAR)

Para el análisis de las muestras de mar por medio de CLAR se utilizó el procedimiento descrito en el proyecto de graduación de la licenciada María Elena Sibaja y descrito en el Anexo II. El procedimiento no fue modificado para los análisis de las muestras de este .

##### 5.4.2. Análisis de muestras de agua de mar de Playa Blanca por Cromatografía de Gases (CG)

Para el análisis de las muestras de agua de mar por medio de CG se utilizó el procedimiento descrito en el proyecto de graduación de la licenciada Graciela Delgado y que se detalla en el Anexo III. El procedimiento no fue modificado para los análisis de las muestras de este proyecto.

#### **5.4.3. Muestras de los extractos hexánicos de agua de mar provenientes de la Isla del Coco**

Estas muestras fueron aportadas por el Centro de Investigación en Ciencias del Mar y Limnología (CIMAR), las cuales habían sido extraídas en hexano calidad para cromatografía y pureza 98,0% y fueron entregadas en balones aforados de 5 mL. Las muestras fueron tratadas según el paso 3.1.5 de este procedimiento y luego analizadas por CG según el paso 3.3.

#### **5.4.4. Medición de la conductividad eléctrica (CE) con el equipo Seven Multi Mettler Toledo (American Public Health Association, American Water Association, & Water Environment Federation, 1999; Standards ASTM, 1982).**

- 5.4.4.1. El equipo debe ser estandarizado con una disolución de cloruro de potasio, KCl, y se debe realizar diariamente durante su uso. Preparar la disolución de KCl 0,01 M disolviendo 0,7456 g de KCl presecado (2 horas a 105 °C) y llevar a 1 L con agua destilada suficiente).
- 5.4.4.2. Para comprobar la precisión del equipo se utiliza el Standard ASTM (Standards ASTM, 1982)
- 5.4.4.3. Si las muestras no están a 25 °C hacer una corrección por temperatura de la siguiente manera
  - Adicionar un 2% de la lectura por cada °C por debajo de 25 °C.
  - Sustraer un 2% de la lectura por cada °C por encima de 25 °C.
- 5.4.4.4. Considerar una desviación estándar de  $\pm 6$  y presentar los resultados en mhos/cm.

#### **5.4.5. Medición de sólidos disueltos no volátiles**

- 5.4.5.1. Lavar con agua y jabón cápsulas de porcelana.
- 5.4.5.2. Identificar debidamente cada una de las cápsulas. (Lo mejor es identificarlas en la base de la cápsula con lápiz de grafito).
- 5.4.5.3. Una vez identificadas y secas, pesar en una balanza adecuada.

- 5.4.5.4. Luego colocar las cápsulas en la estufa a 100 °C durante 2 h aproximadamente. (sin tocarlas con las manos) y luego poner en un desecador 1 h o hasta que se enfríen totalmente. Pesar nuevamente las cápsulas.
- 5.4.5.5. Repetir el punto 3.4.5.4 hasta que la variación entre pesadas sea  $\pm 0,003$  g.
- 5.4.5.6. Una vez que las masas se encuentren constantes, agregar una alícuota de 25,00 mL de la muestra de agua de mar. Realizar por duplicado para cada muestra de agua tomada.
- 5.4.5.7. Dejar en la estufa al menos 48 h (o hasta que se evapore totalmente el agua).
- 5.4.5.8. Repetir el paso 3.4.5.4 hasta obtener una diferencia entre pesadas de  $\pm 0,003$  g.

#### **5.4.6. Concentración de oxígeno disuelto medido con el equipo YSI Environmental Modelo 550 A (Figura 9)**

- 5.4.6.1. Realizar una calibración del equipo cada día que se vayan a hacer las mediciones según el manual del equipo. Para esta calibración se necesita saber la salinidad del agua, para esto utilizar un refractómetro de portátil.
- 5.4.6.2. A cada muestra tomada de agua, medir la concentración de oxígeno disuelto agregando la sonda en el agua, la cual debe estar sumergida en su totalidad. Durante toda la medición se debe mantener una agitación constante.
- 5.4.6.3. Dejar la sonda sumergida hasta que se tenga una lectura estable de la temperatura y de la concentración de oxígeno disuelto.
- 5.4.6.4. Sacar la sonda y se limpia con agua destilada. Al finalizar las mediciones guardar la sonda dentro del equipo.



**Figura 9. Equipo YSI Environmental Modelo 550 A para la determinación de oxígeno disuelto. Foto tomada el día 13 de octubre del 2012 por Andrés Zamora Q.**

## CAPÍTULO III

### Resultados

Durante las campañas I, II y III de muestreo en Playa Blanca se recolectaron muestras de agua de mar para su caracterización mediante análisis de la conductividad eléctrica, la concentración de sólidos totales disueltos (STD) y la concentración de oxígeno disuelto. Los resultados de las tres campañas se resumen en el

Cuadro VIII.

**Cuadro VIII. Medición promedio de la conductividad eléctrica, la concentración de sólidos totales disueltos (STD) y concentración de oxígeno disuelto en las muestras de agua de mar de Playa Blanca durante las tres campañas de muestreo.**

	Campaña I (5 de junio 2012)	Campaña II (14 y 15 de octubre 2012)	Campaña III (11 y 12 de febrero 2013)
Conductividad (mS/cm) ( $\pm 5,0\%$ )	44,9	46,4	52,1
Sólidos totales disueltos ( $\pm 40$ mg/L)	32640	31980	35270
Concentración de oxígeno disuelto ( $\pm 0,20$ mg/L)	6,18 (30,1 °C)	5,96 (28,4 °C)	6,26 (27,0 °C)
Porcentaje Saturación O <sub>2</sub> ( $\pm 0,20$ %)	81,85	76,71	78,54

Los datos y sus respectivas incertidumbres están reportados para un nivel de confianza del 95 %

A partir de los valores de la conductividad eléctrica se pueden calcular los sólidos totales disueltos que deberían estar presentes. Los resultados del cálculo de los STD esperados contra los obtenidos en el sitio de estudio permite dar una idea si en el lugar hay un comportamiento normal de las especies, o bien, si presentan alguna actividad inusual (Kemker, 2014). Los resultados se observan en el Cuadro IX.

**Cuadro IX. Resultados de conductividad y STD para las muestras de agua de mar tomadas el 5 de junio del 2012 (I Campaña), el 14 y 15 de octubre del 2012 (II Campaña) y el 11 y 12 de febrero del 2013 (III Campaña)**

Muestra	Conductividad (±5,0%)	STD teóricos (±50 mg/L)	STD Experimental (±40 mg/L)	Diferencia (±0,34%)
PMA1 (I Campaña)	44,90	3,16E+04	2,82E+04	10,69
PMA2 (I Campaña)	45,90	3,22E+04	2,87E+04	10,85
PMA3 (I Campaña)	44,00	3,26E+04	2,94E+04	9,92
PMA1 (II Campaña)	46,30	3,20E+04	2,96E+04	7,63
PMA2 (II Campaña)	46,40	3,20E+04	2,97E+04	7,12
PMA3 (II Campaña)	46,40	3,20E+04	2,97E+04	7,08
PMA1 (III Campaña)	51,90	3,53E+04	3,32E+04	5,87
PMA2 (III Campaña)	52,10	3,53E+04	3,30E+04	6,43
PMA3 (III Campaña)	52,40	3,52E+04	3,35E+04	4,80

También se realizaron estudios para determinar si existía la presencia de compuestos BTEX y MTBE. Los análisis se realizaron mediante cromatografía de gases y cromatografía líquida de alta resolución. El Cuadro X resume los datos obtenidos para la campaña III.

**Cuadro X. Límite de detección y de cuantificación para la determinación de BTEX y MTBE mediante CG-FID y CLAR en la Campaña III realizada en febrero del 2013.**

Analito	Límite de detección	Límite de cuantificación
Hidrocarburos totales (mg/L)	1,0	2,0
Benceno (mg/L)	4,6	9,2
Tolueno (µg/L)	2,2	4,4
Etilbenceno (µg/L)	3,7	7,4
m/p-xileno (µg/L)	8,9	17,8
o-xileno (µg/L)	4,7	9,4
Hidrocarburos poliaromáticos (µg/L)	0,2	0,5

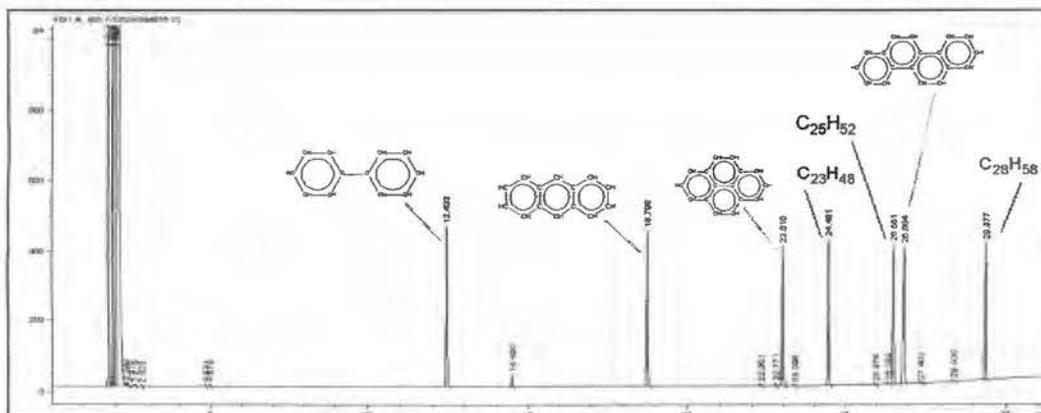
A las muestras de sedimento recolectadas durante las Campañas II y III, se les realizó el análisis de textura para conocer su composición granulométrica. En el Cuadro XI se observan los resultados obtenidos.

**Cuadro XI. Análisis de textura en suelos para las muestras de tomadas en las campañas de muestreo II y III en Playa Blanca de Punta Morales, CR.**

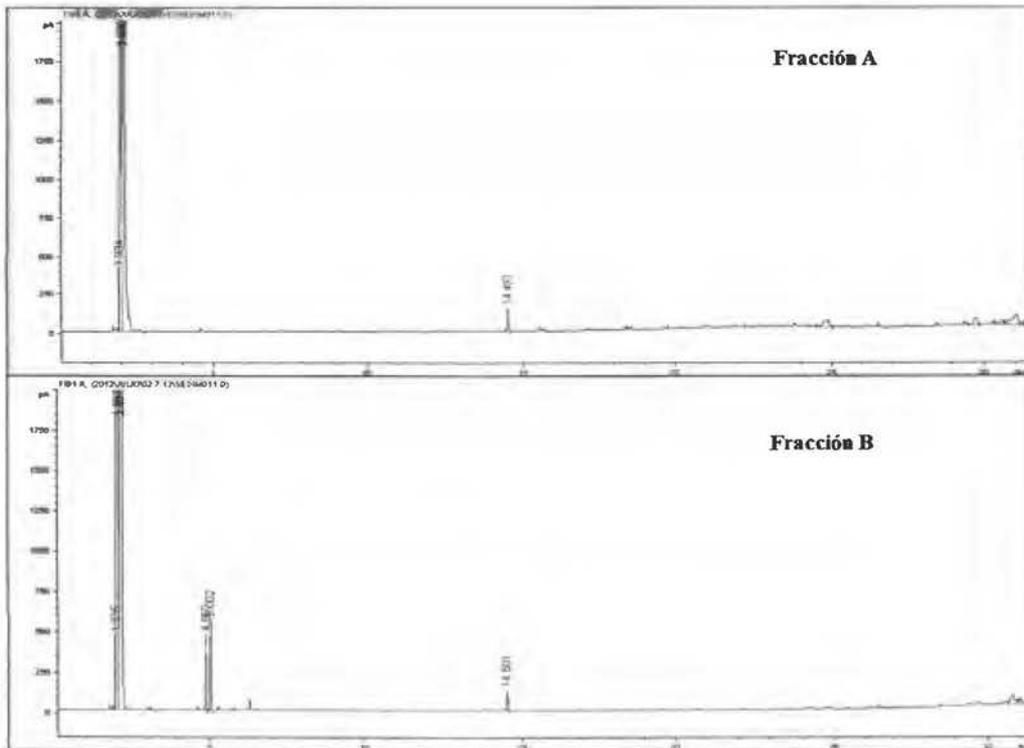
ID USUARIO	ANÁLISIS DE TEXTURA EN SUELOS			Clase Textural
	(%)			
	ARENA	LIMO	ARCILLA	
PM1 (Campaña II)	42	24	34	FRANCO ARCILLOSO
PM1 (Campaña III)	44	23	33	FRANCO ARCILLOSO
PM2 (Campaña II)	45	25	30	FRANCO ARCILLOSO
PM2 (Campaña III)	37	25	38	FRANCO ARCILLOSO
PM3 (Campaña II)	50	20	30	FRANCO ARCILLO ARENOSO
PM3 (Campaña III)	62	13	25	FRANCO ARCILLO ARENOSO
PM4 (Campaña II)	62	13	25	FRANCO ARCILLO ARENOSO
PM4 (Campaña III)	62	18	20	FRANCO ARENOSO

Fuente: Reporte de ensayo #50757, del Centro de Investigaciones Agronómicas.

Las muestras de sedimento recolectadas en las cuatro campañas, se extrajeron por Soxhlet y los extractos se analizaron por cromatografía de gases, como control de calidad se analizaron en paralelo blancos de muestra y muestras enriquecidas con un coctel de patrones que contenía hidrocarburos lineales y poliaromáticos, para la identificación cualitativa de sus componentes. La Figura 10 corresponde al cromatograma de un coctel de patrones, cuatro hidrocarburos poliaromáticos (bifenilo ( $C_{12}H_{10}$ ), antraceno ( $C_{14}H_{10}$ ), pireno ( $C_{16}H_{10}$ ) y criseno ( $C_{18}H_{12}$ )) y tres alcanos lineales (n-tricosano ( $C_{23}H_{48}$ ), n-pentacosano ( $C_{25}H_{52}$ ) y n-octacosano ( $C_{28}H_{58}$ )). La Figura 11 corresponde a un cromatograma de blanco de método para los dos disolventes de extracción utilizados.

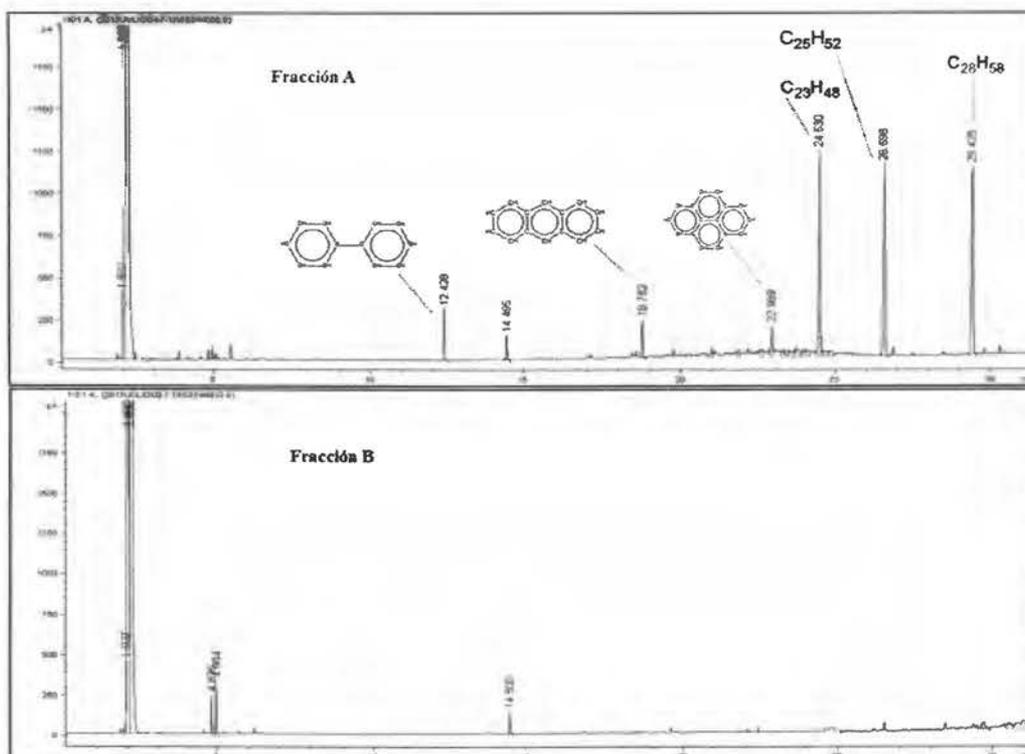


**Figura 10. Cromatograma del coctel de patrones de hidrocarburos: Bifenilo ( $C_{12}H_{10}$ ), antraceno ( $C_{14}H_{10}$ ), pireno ( $C_{16}H_{10}$ ), n-tricosano ( $C_{23}H_{48}$ ), n-pentacosano ( $C_{25}H_{52}$ ), criseno ( $C_{18}H_{12}$ ) y n-octacosano ( $C_{28}H_{58}$ ). Condiciones del CG-FID: Temperatura de inyección 250 °C; temperatura del detector 300 °C; temperatura inicial 60 °C, rampa 8,30 °C/min, tiempo final 31,42 min; Flujo de  $N_2$  40 mL/min; columna capilar HP-5.**

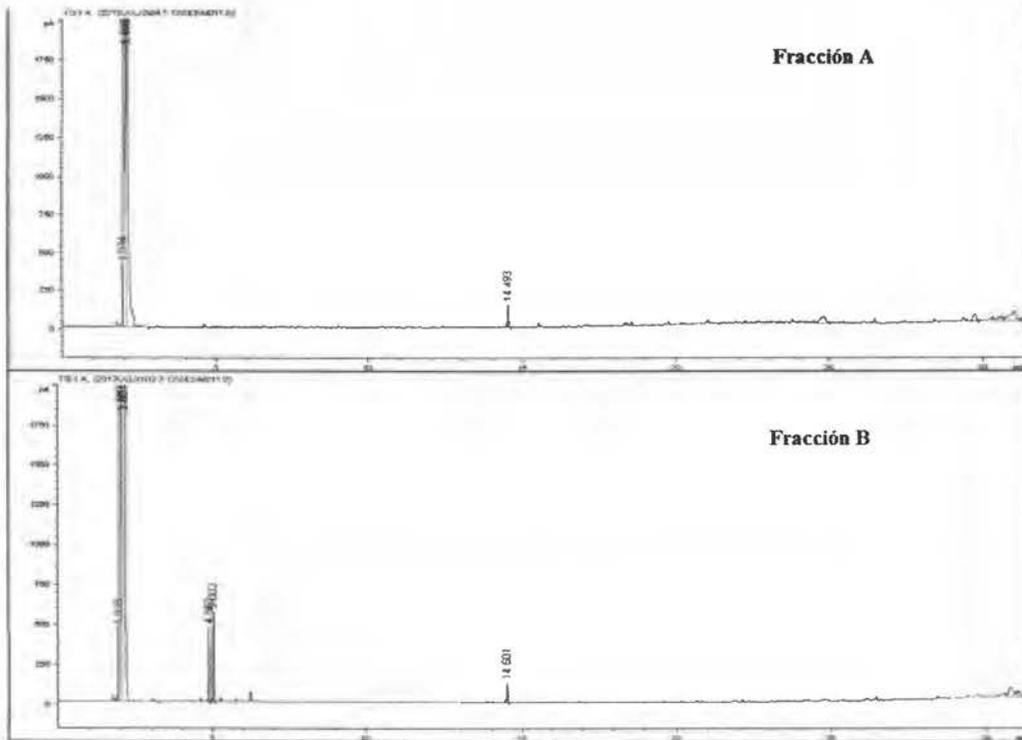


**Figura 11. Cromatogramas de la fracción A y B de un blanco de método. Condiciones del CG-FID: Temperatura de inyección 250 °C; temperatura del detector 300 °C; temperatura inicial 60 °C, rampa 8,30 °C/min, tiempo final 31,42 min; Flujo de N<sub>2</sub> 40 mL/min; columna capilar HP-5**

En la Figura 12 se presenta como ejemplo los cromatogramas resultantes de la extracción con hexano (Fracción A), y la extracción con diclorometano (Fracción B) correspondientes a la campaña I, la Figura 13 es de un blanco de método. En ambas imágenes, se observa que la fracción B no presenta señales de los patrones de la muestra enriquecida, y esta fue una tendencia en todas las demás muestras, por lo que para el análisis no se utilizó esta fracción.



**Figura 12. Cromatograma del coctel de patrones en una muestra enriquecida. De izquierda a derecha se muestra el bifenilo, antraceno, pireno, tricosano (C<sub>23</sub>H<sub>48</sub>), pentacosano (C<sub>25</sub>H<sub>52</sub>) y octacosano (C<sub>28</sub>H<sub>58</sub>). Condiciones del CG-FID: Temperatura de inyección 250 °C; temperatura del detector 300 °C; temperatura inicial 60 °C, rampa 8,30 °C/min, tiempo final 31,42 min; Flujo de N<sub>2</sub> 40 mL/min; columna capilar HP-5**



**Figura 13. Cromatogramas de la fracción A y B de un blanco de método. Condiciones del CG-FID: Temperatura de inyección 250 °C; temperatura del detector 300 °C; temperatura inicial 60 °C, rampa 8,30 °C/min, tiempo final 31,42 min; Flujo de N<sub>2</sub> 40 mL/min; columna capilar HP-5**

**Análisis por cromatografía de gases (CG) de las muestras de sedimento de Playa Blanca de las giras I, II y III.**

Las figuras Figura 14, Figura 15, Figura 16 y Figura 17 resumen los cromatogramas obtenidos para las muestras analizadas en cada sitio, en el espacio temporal abarcado por las tres campañas. Esto permite de una manera más sencilla, ilustrar las variaciones observadas en cada sitio, con el paso del tiempo.

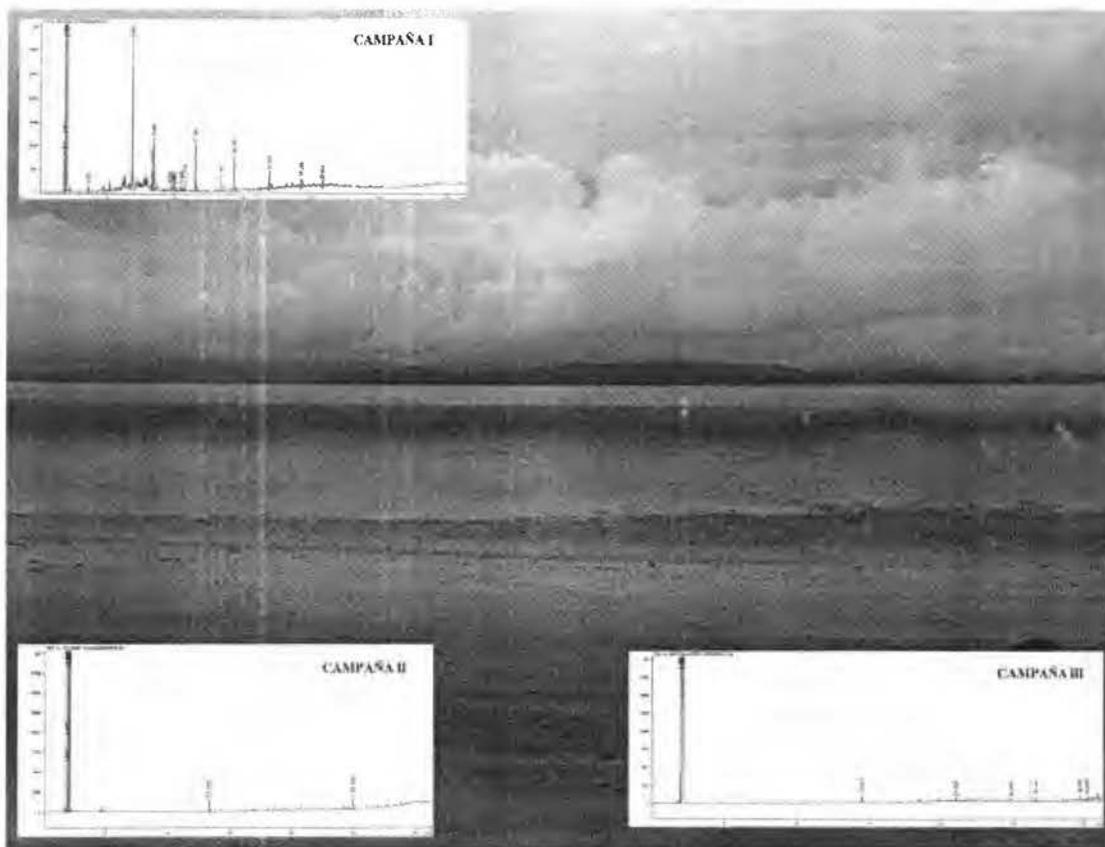
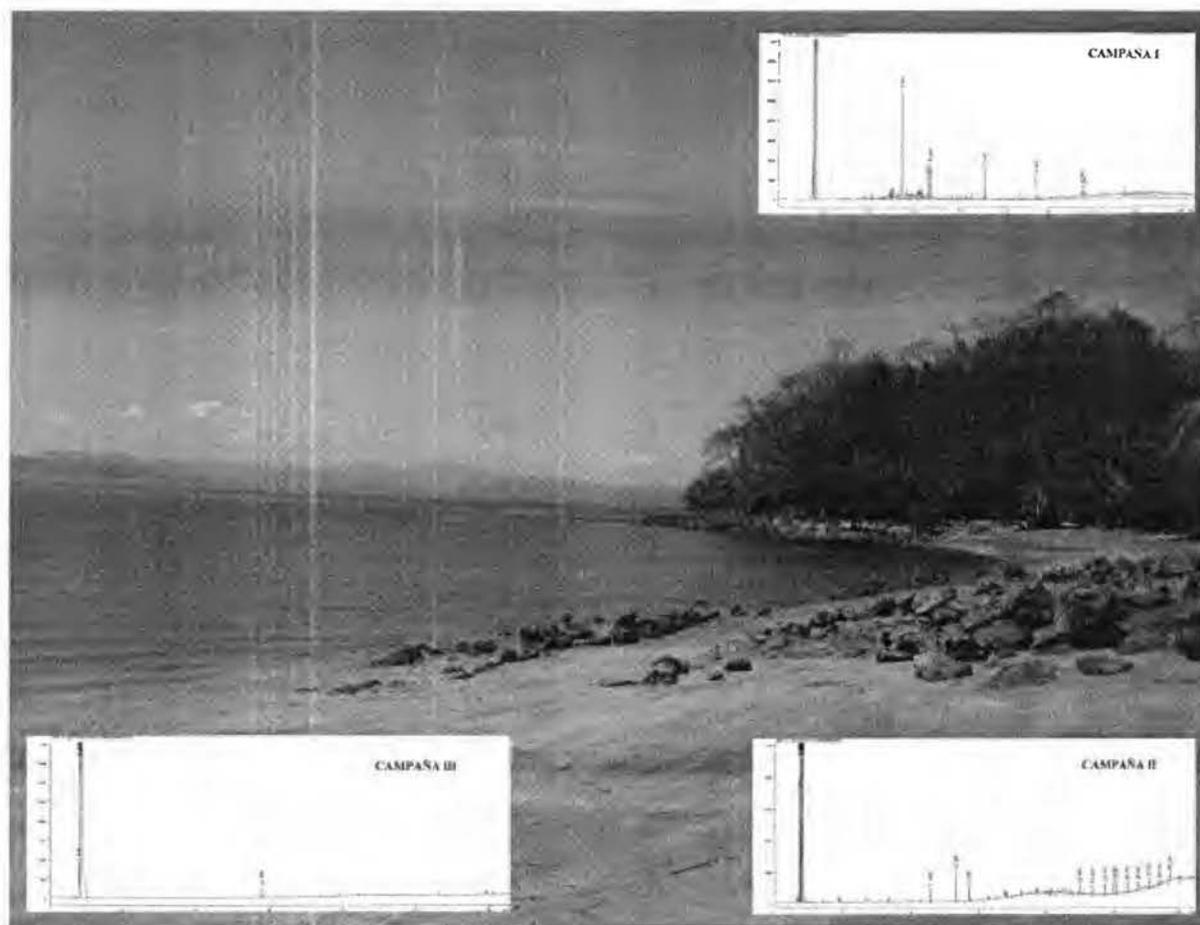


Figura 14. Variación en el tiempo de las señales cromatográficas de los hidrocarburos estudiados para las tres campañas realizadas para el sitio de muestreo PM1 (10.062972 N, -84.957611 O). Campaña I (05 de Junio del 2012), Campaña II (14 y 15 de octubre del 2012) y Campaña III (11 y 12 de febrero del 2013). Fotografía tomada por Andrés Zamora Q.



**Figura 15.** Variación en el tiempo de las señales cromatográficas de los hidrocarburos estudiados para las tres campañas realizadas para el sitio de muestreo PM2 (10.063138 N, -84.958055 O). Campaña I (05 de Junio del 2012), Campaña II (14 y 15 de octubre del 2012) y Campaña III (11 y 12 de febrero del 2013). Fotografía tomada por Andrés Zamora Q.

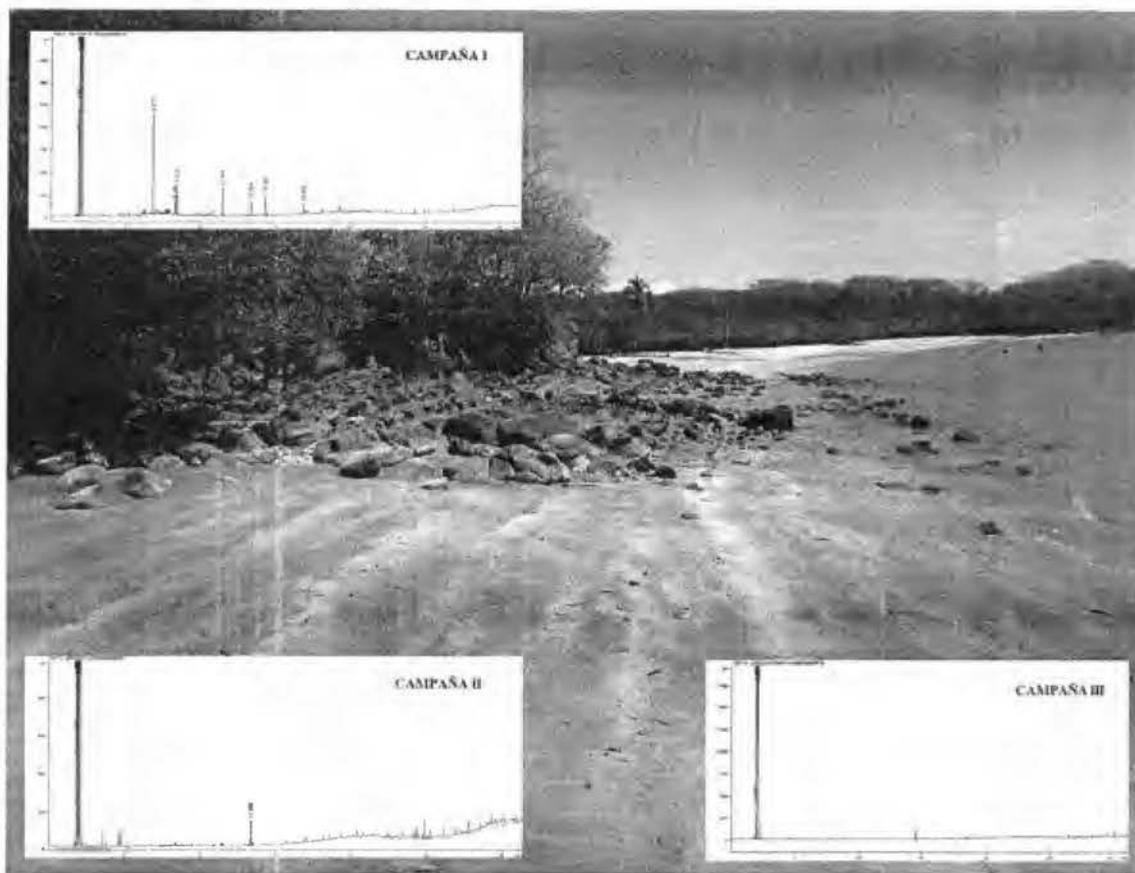


Figura 16. Variación en el tiempo de las señales cromatográficas de los hidrocarburos estudiados para las tres campañas realizadas para el sitio de muestreo PM3 (10.063194 N, -84.958555 O). Campaña I (05 de Junio del 2012), Campaña II (14 y 15 de octubre del 2012) y Campaña III (11 y 12 de febrero del 2013). Fotografía tomada por Andrés Zamora Q.

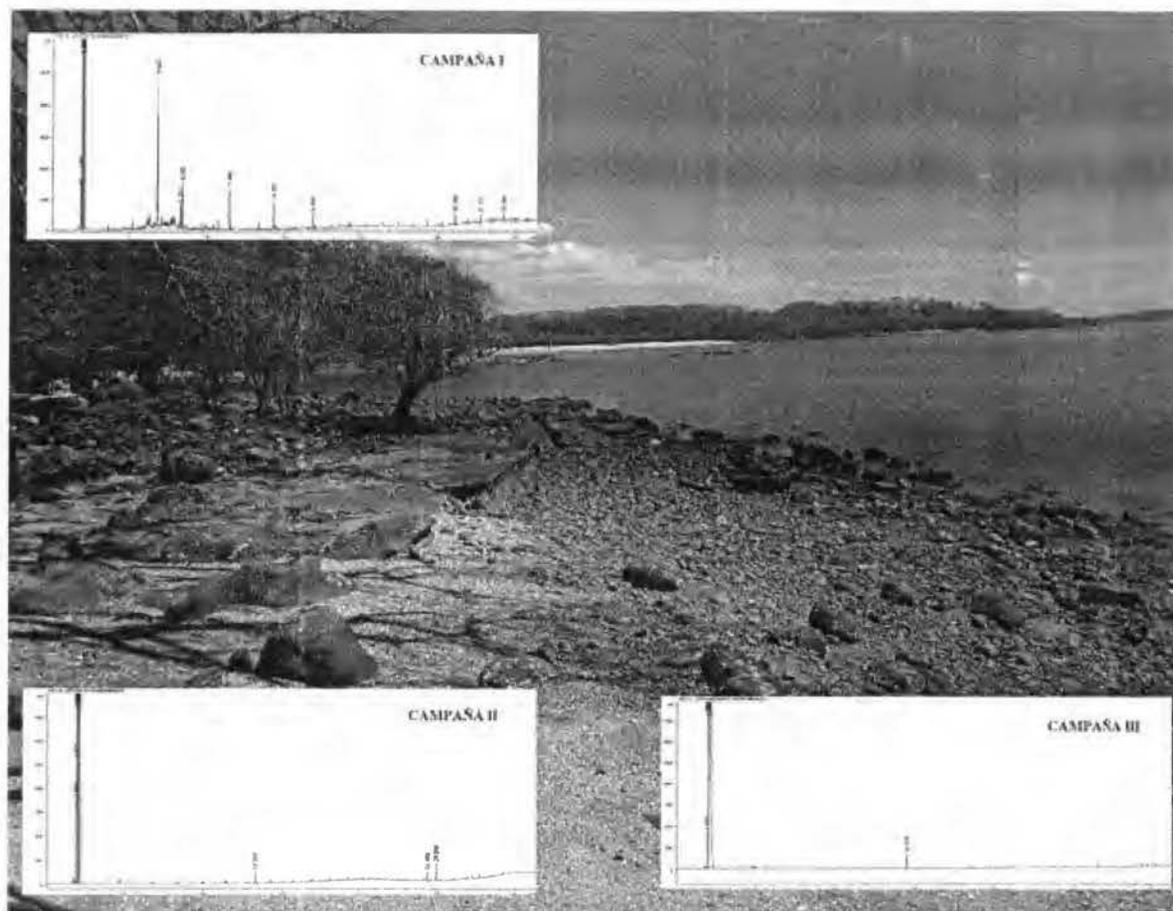


Figura 17. Variación en el tiempo de las señales cromatográficas de los hidrocarburos estudiados para las tres campañas realizadas para el sitio de muestreo PM4 (10.062888 N -84.959694 O). Campaña I (05 de Junio del 2012), Campaña II (14 y 15 de octubre del 2012) y Campaña III (11 y 12 de febrero del 2013). Fotografía tomada por Andrés Zamora Q.

Las figuras Figura 18, Figura 19 y Figura 20 presentan como ejemplo los cromatogramas obtenidos para el punto de muestreo 3, referidos a las respectivas muestras enriquecidas para las campañas de muestreo I (05 de Junio del 2012), II (14 y 15 de octubre del 2012) y III (11 y 12 de febrero del 2013).

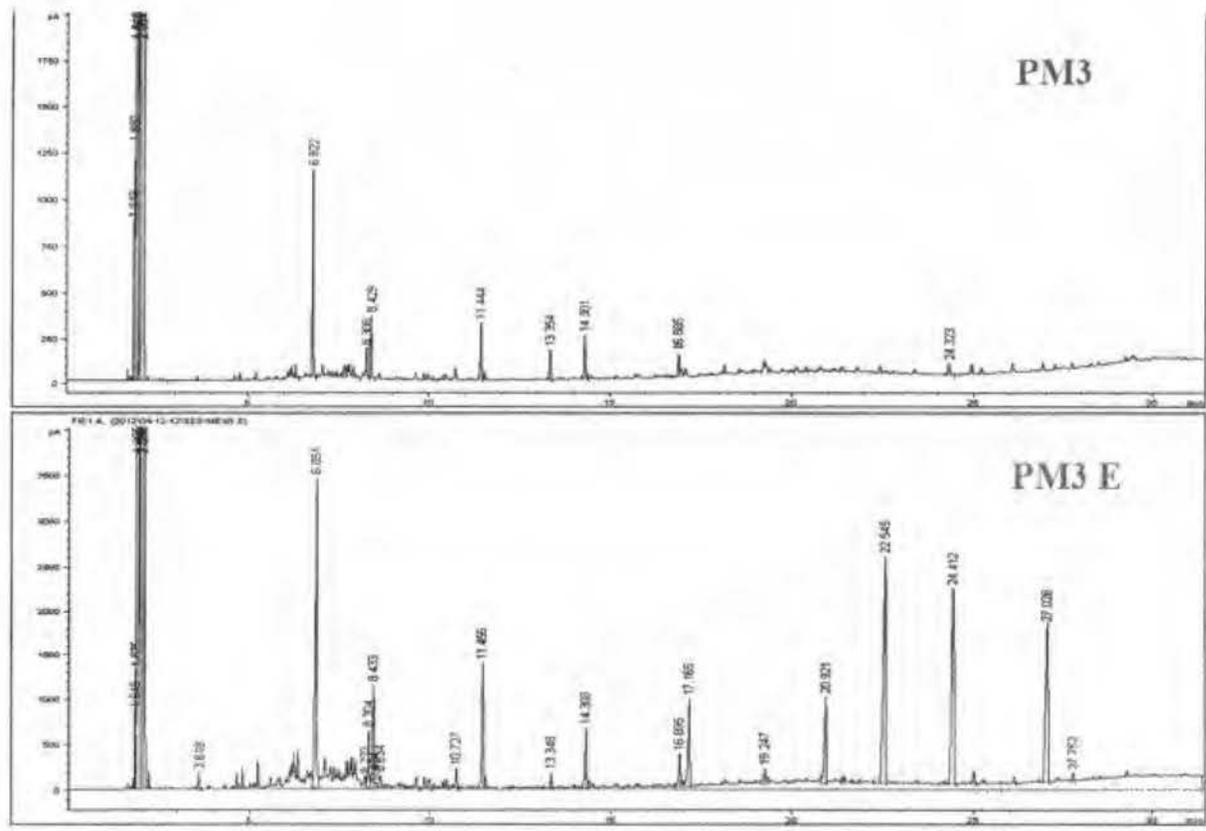


Figura 18. Cromatogramas obtenidos de las muestras PM3 y PM3 enriquecida (PM3 E) con un coctel de patrones de la campaña de muestreo I. (Campaña I: 5 de Junio del 2012). Condiciones del CG-FID: Temperatura de inyección 250 °C; temperatura del detector 300 °C; temperatura inicial 60 °C, rampa 8,30 °C/min, tiempo final 31,42 min; Flujo de N<sub>2</sub> 40 mL/min; columna capilar HP-5

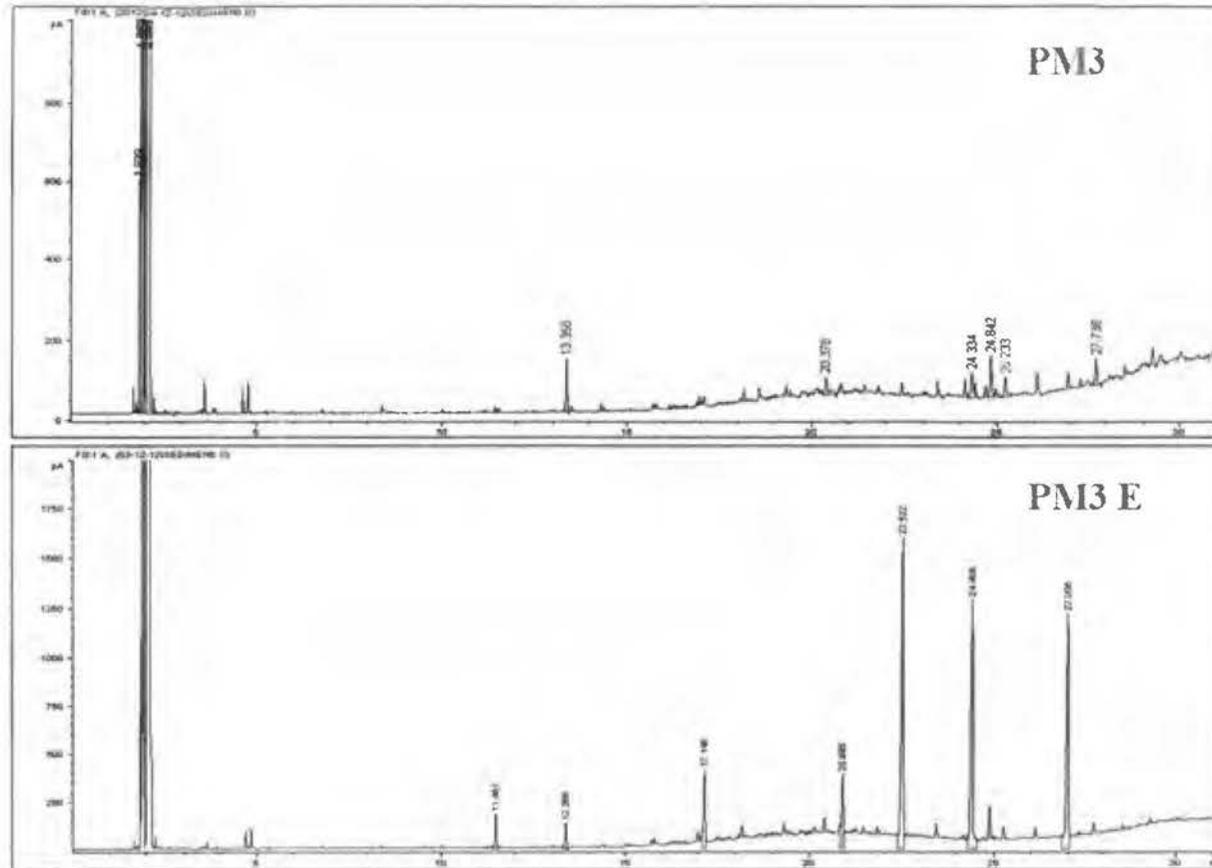


Figura 19. Cromatogramas obtenidos de las muestras PM3 y PM3 enriquecida con un coctel de patrones de la campaña de muestreo. (Campaña II: 14 y 15 de Octubre del 2012). Condiciones del CG-FID: Temperatura de inyección 250 °C; temperatura del detector 300 °C; temperatura inicial 60 °C, rampa 8,30 °C/min, tiempo final 31,42 min; Flujo de N<sub>2</sub> 40 mL/min; columna capilar HP-5

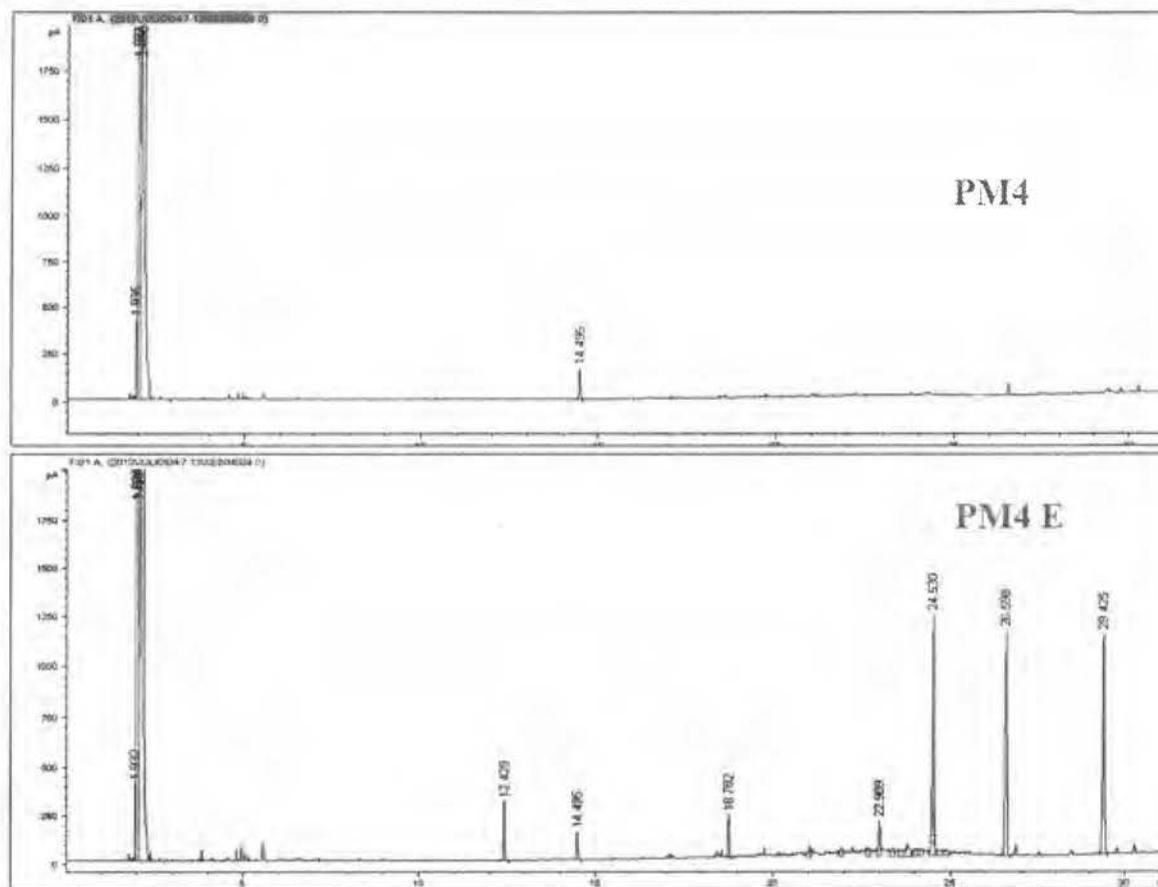


Figura 20. Cromatogramas obtenidos de las muestras PM4 y PM4 enriquecida con un coctel de patrones de la campaña de muestreo III. (Campaña III: 11 y 12 de Febrero del 2013). Condiciones del CG-FID: Temperatura de inyección 250 °C; temperatura del detector 300 °C; temperatura inicial 60 °C, rampa 8,30 °C/min, tiempo final 31,42 min; Flujo de N<sub>2</sub> 40 mL/min; columna capilar HP-5

En el Cuadro XII se muestran los porcentajes de recuperación de cada uno de los compuestos patrón que se agregaron a las muestras.

**Cuadro XII. Porcentaje de recuperación en las muestras de sedimentos.**

Analito	Recuperación (% masa/volumen) Campaña I		Recuperación (% masa/volumen) Campaña II		Recuperación (% masa/volumen) Campaña III	
	PM1	PM3	PM2	PM3	PM2	PM4
Bifenilo	13	58	0	10	7	27
Antraceno	37	18	28	30	25	23
Pireno	40	70	0	37	21	25
n-Tricosano	112	268	203	207	156	160
n-Pentacosano	48	130	19	96	160	167
Criseno	0	0	0	0	0	0
n-Octacosano	32	91	79	77	138	138

Para las muestras de sedimento de la Campaña IV se utilizó la extracción por Soxhlet al igual que en las campañas anteriores como método de extracción, y dos técnicas más con el fin de mejorar los porcentajes de recuperación (Cuadro XIII).

**Cuadro XIII. Comparación del porcentaje de recuperación promedio de muestras de sedimento enriquecidas con hidrocarburos para tres métodos de extracción.**

Patrón	Método de extracción					
	Soxhlet*		Vortex**		MSPD***	
	Recuperación (% masa/volumen)	DER	Recuperación (% masa/volumen)	DER	Recuperación (% masa/volumen)	DER
Bifenilo	18	57	55	14	41	10
Antraceno	28	10	90	3	52	10
Pireno	30	45	88	3	54	10
n-Tricosano	63	3	14	7	16	57
n-Pentacosano	66	6	8	14	8	82
Criseno	36	46	84	4	50	12
n-Octacosano	69	1	5	30	6	100

\* Método de extracción con Soxhlet

\*\* Método de extracción en fase sólida asistida por Vortex (Souza et al., 2013).

\*\*\* Método de dispersión de matriz en fase sólida (Pena, Casais, Mejuto, & Cela, 2007; Pena et al., 2008)

El Cuadro XIV resume el porcentaje de recuperación obtenido de los sedimentos durante todas las campañas de muestreo.

**Cuadro XIV. Porcentaje de recuperación promedio de muestras de sedimento entre el método de extracción con Soxhlet, el método de microextracción en fase sólida asistida por vortex y el método de dispersión de matriz en fase sólida de los resultados obtenidos en todas las campañas de muestreo.**

Patrón	Método de extracción					
	Soxhlet*				Vortex**	MSPD***
	Recuperación Campaña I (% masa/volumen)	Recuperación Campaña II (% masa/volumen)	Recuperación Campaña III (% masa/volumen)	Recuperación Campaña IV (% masa/volumen)	Recuperación (% masa/volumen)	Recuperación (% masa/volumen)
Bifenilo	36	5	17	18	55	41
Antraceno	28	29	24	28	90	52
Pireno	55	19	23	30	88	54
n-Tricosano	190	205	158	63	14	16
n-Pentacosano	89	58	164	66	8	8
Criseno	0	0	0	36	84	52
n-Octacosano	62	78	138	69	5	6

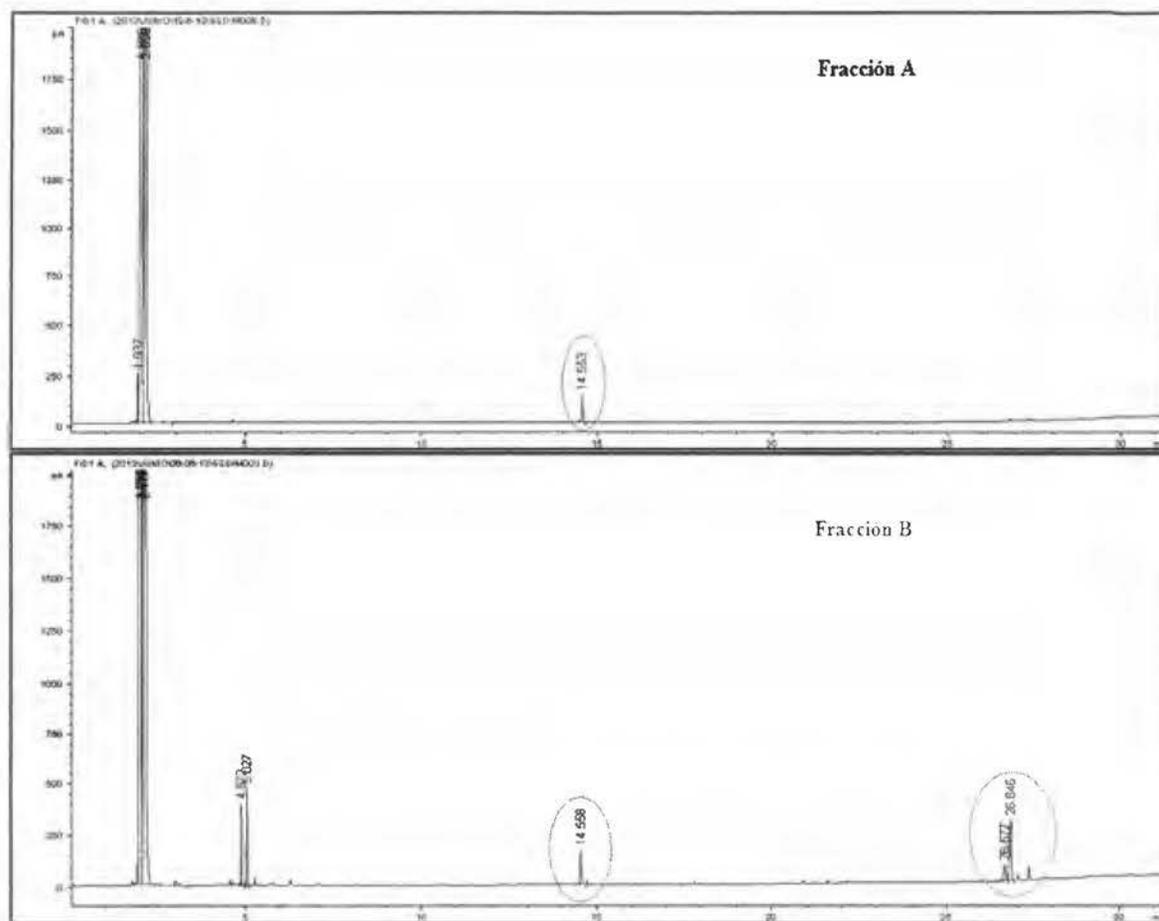
\* Método de extracción con Soxhlet.

\*\* Método de microextracción en fase sólida asistida por Vortex (Souza et al., 2013).

\*\*\* Método de dispersión de matriz en fase sólida (Pena et al., 2007, 2008)

Para los extractos de agua de la Isla del Coco, no fue posible detectar presencia de hidrocarburos mediante la técnica y condiciones de cromatografía de gases utilizada en este trabajo. Los cromatogramas resultantes de los análisis se pueden agrupar en dos grupos, en donde el primero no tiene ninguna señal mayor al ruido y las únicas señales que se encuentran, ubicadas en los primeros 5 min, son las señales respectivas al hexano e impurezas que este haya podido tener.

El otro grupo de muestras presenta señales mayores al ruido, específicamente una señal que se obtiene alrededor de los 14,5 min (señaladas en morado de la Figura 21 a la Figura 23) y varias señales entre los 26 min y 28 min (señaladas en verde de la Figura 21 a la Figura 23). La señal que se obtiene alrededor de los 14,5 min se debe a un ftalato proveniente de la tapa de los viales y que es extraída por el hexano, de hecho esta es una señal constante en todos los cromatogramas de las muestras y blancos.



**Figura 21. Cromatogramas de la fracción A y B de Punta María del Parque Nacional Isla del Coco. Condiciones del CG-FID: Temperatura de inyección 250 °C temperatura del detector 300 °C; temperatura inicial 60 °C, rampa 8,30 °C/min, tiempo final 31,42 min; Flujo de N<sub>2</sub> 40 mL/min; columna capilar HP-5**

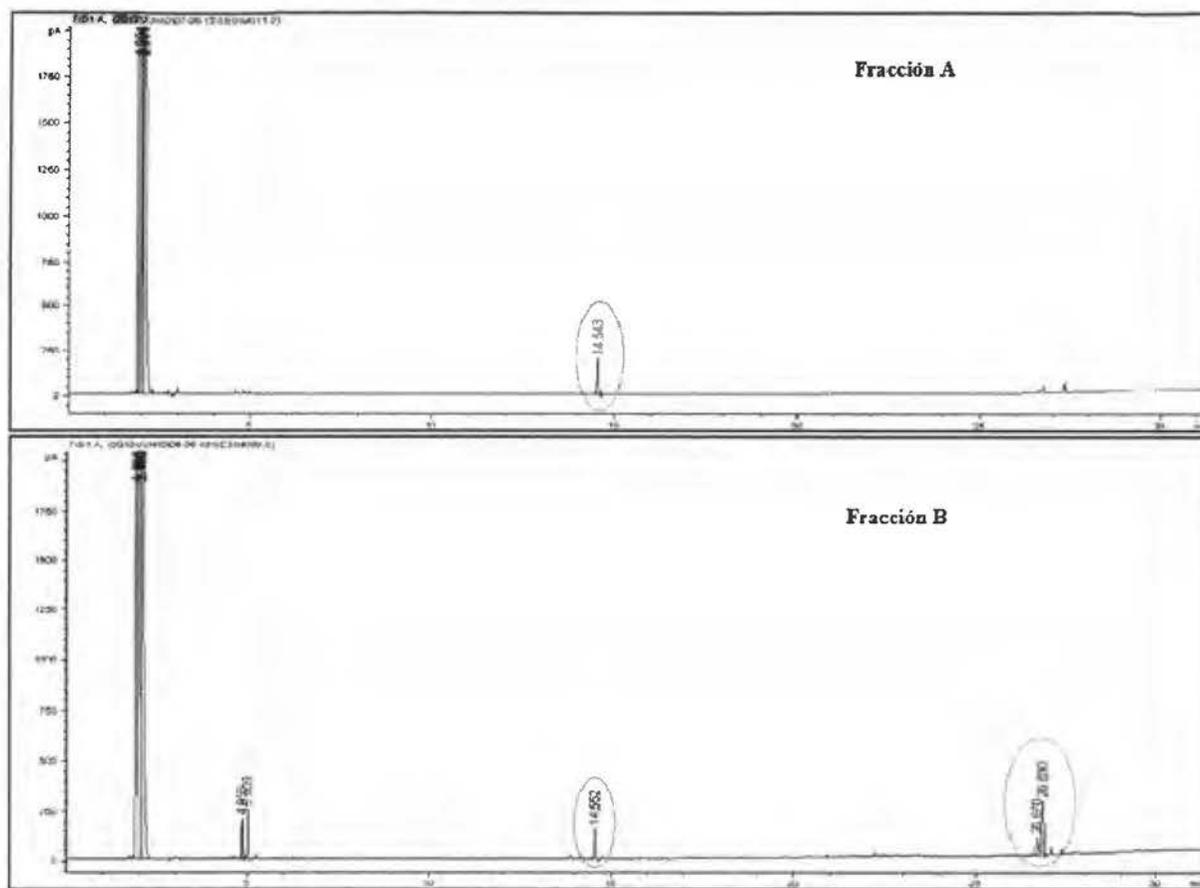


Figura 22. Cromatogramas de la fracción A y B de Bahía Wafer del Parque Nacional Isla del Coco. Condiciones del CG-FID: Temperatura de inyección 250 °C; temperatura del detector 300 °C; temperatura inicial 60 °C, rampa 8,30 °C/min, tiempo final 31,42 min; Flujo de N<sub>2</sub> 40 mL/min; columna capilar HP-5

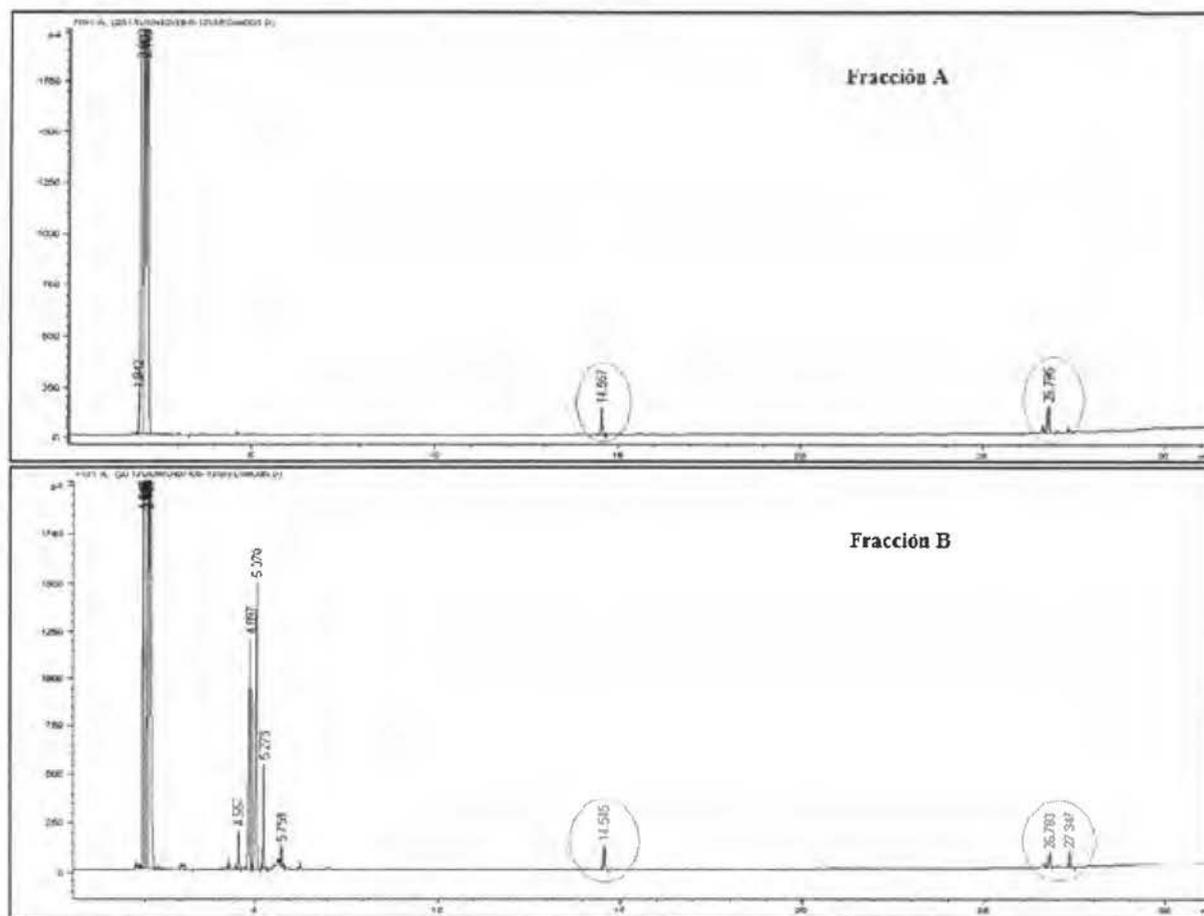


Figura 23. Cromatogramas de la fracción A y B de un blanco de laboratorio del Parque Nacional Isla del Coco. Condiciones del CG-FID: Temperatura de inyección 250 °C; temperatura del detector 300 °C; temperatura inicial 60 °C, rampa 8,30 °C/min, tiempo final 31,42 min; Flujo de N<sub>2</sub> 40 mL/min; columna capilar HP-5

Las señales entre 26 min y 28 min, como se observan en la Figura 21 y Figura 22 pertenecientes a la Punta María y la Bahía Wafer respectivamente, podrían indicar la presencia de hidrocarburos poliaromáticos o hidrocarburos lineales de cadena entre 25 y 30 carbonos; pero como se observa en la Figura 23 estas señales también aparecen en los blancos, tanto en el blanco de campo como en el blanco del laboratorio, y por lo tanto, no pueden ser tomadas como una presencia positiva de hidrocarburos.

## CAPÍTULO IV

### Discusión

En Punta Morales se ubica Playa Blanca, la cual tiene una longitud aproximada de 300 m de distancia, en donde se practica la pesca artesanal, el turismo y en sus alrededores colinda con un muelle de una empresa azucarera, en donde atracan barcos grandes. Durante las visitas a Playa Blanca se tomaron muestras de agua para su caracterización física a partir de los parámetros de conductividad eléctrica, sólidos totales disueltos (STD) y concentración de oxígeno disuelto, y su análisis químico para determinar la posible presencia de contaminantes provenientes de hidrocarburos de petróleo con el uso de equipo cromatográfico.

Los resultados de la conductividad eléctrica, los STD y la concentración de oxígeno disuelto se muestran en el Cuadro VIII. Las muestras de la campaña III, que corresponde a la época seca, presentan valores promedio de conductividad eléctrica de  $(52,1 \pm 5,0\%)$  y STD de  $(35,30 \pm 0,40 \text{ g/L})$ , los cuales son mayores que las muestras de las campañas realizadas en la época lluviosa, que presentan valores promedio de  $(45,6 \pm 5,0\%)$  y  $(32,30 \pm 0,40 \text{ g/L})$ , en las campañas I y II respectivamente, para la conductividad y los STD respectivamente. Estos resultados se asocian a la cantidad de precipitación pluvial y la dilución natural que esto representa, la época seca registra la menor cantidad de agua caída por lo que hay menos dilución. Para las aguas del Golfo de Nicoya se han reportado valores de salinidad en los meses de época seca (Voorhis et al. 1983) y (Gomez, 2011), éste último obtuvo un promedio de 35 000 mg/L de sólidos disueltos, mientras que en la época lluviosa el promedio fue de los 32 000 mg/L. En otros estudios realizados en zonas cercanas a la de este proyecto se reportaron ámbitos de sólidos disueltos de 24 300 a 30 8000 mg/L (Van Driel, 1988), de 28 000 a 35 000 mg/L en época seca y de 10 000 a 32 000 mg/L en época lluviosa (Brugnoli, 1988). En este proyecto se obtuvo un promedio de 32 310 mg/L de sólidos disueltos para la época lluviosa, mientras que para la época seca un valor promedio de 35 270 mg/L.

Los resultados anteriores concuerdan con los datos de suministrados por el Instituto Meteorológico Nacional de lluvia diaria en referencia a Playa Blanca en Punta Morales, y que se observa en el Anexo IV y en la Figura 26. La campaña I fue realizada el día 5 de junio del 2012 y en donde se reportan lluvias entre 1,4 mm y 2,3 mm de lluvia caída en esa semana; la campaña

II fue realizada en los días 14 y 15 de octubre y en donde se reportan lluvias entre 1,1 mm y hasta 8,6 mm. Por el contrario, la campaña III que se realizó los días 11 y 12 de febrero, en época seca, no hay lluvias reportadas ni antes ni después de esos días.

El valor que se obtiene de la conductividad se refiere a la actividad iónica en disolución y su capacidad para transmitir corriente eléctrica, mientras que la STD determina la concentración total de iones en disolución. Los valores que se obtienen a partir de ambas mediciones deben tener una relación entre sí, ya que dependen de los iones del medio. A partir de los datos de la conductividad eléctrica y la ecuación:

$$\text{STD (mg/L)} = 0,5 * 1000 \times \text{CE (mS/cm)} \quad (2)$$

donde CE es la conductividad eléctrica y los valores de 0,5 y 1000 son constantes de la fórmula, se puede obtener un valor de STD teórico, para luego compararlo con el valor experimental, permitiendo conocer si los datos reportados presentan un comportamiento esperado (Kemker, 2014; Lenntech, 2014). El criterio de aceptación se da cuando se obtiene una diferencia igual o menor al  $(10 \pm 1)$  % entre el valor de STD calculado y el valor obtenido de las muestras, las muestras presentan un comportamiento adecuado entre las variables. (Kemker, 2014; Lenntech, 2014).

Los datos obtenidos para las muestras de agua de mar de las tres campañas y el cálculo del STD teórico utilizando la ecuación (2), se muestran en el Cuadro IX y en donde la diferencia mayor es de  $(10,69 \pm 0,34)$ %, dándole un respaldo a los datos obtenidos de STD y conductividad en las muestras de agua de que si presentan el comportamiento esperado para agua de mar (Kemker, 2014; Lenntech, 2014).

La cantidad de oxígeno disuelto en el agua tiene un impacto directo sobre las plantas y animales que viven en este ambiente, en este caso, el oxígeno es necesario para la degradación de moléculas orgánicas a compuestos inorgánicos más estables, proceso realizado por las bacterias aeróbicas. La proporción de oxígeno disuelto en agua se rige por la velocidad de difusión del oxígeno gaseoso de la atmósfera al cuerpo de agua (Clark, 2001). Los valores de oxígeno disuelto de las tres campañas se mantienen alrededor de los 6 mg/L y una saturación del 80%, los cuales son considerados aceptables para la vida de la mayoría de organismos acuáticos y especies de peces. En un ambiente acuático el oxígeno disuelto no debe ser menor a valores de 2 mg/L, ya

que se empiezan a generar compuestos nocivos y se da un ambiente de hipoxia, y en casos más extremos de anoxia, en donde las especies acuáticas aerobias mueren. Las concentraciones de OD tampoco pueden superar valores de 12 mg/L, ya que esto genera el desarrollo masivo de especies fotosintéticas y generando problemas como el oscurecimiento de las aguas e incompatibilidad con especies de peces (Canadian Council of Ministers of the Environment, 1999; Kemker, 2013).

En el caso de Playa Blanca se debe tomar otros factores en cuenta que pueden afectar la concentración de oxígeno disuelto, como son las actividades comerciales alrededor de la zona como la camaronera, la pesca artesanal, la recolecta de bivalvos; la presencia de diferentes empresas, entre ellas LAICA (que almacena, procesa y distribuye diversos productos derivados de la caña de azúcar) y FORMUQUISA (importadora y productora de plaguicidas). Además, Playa Blanca, se comunica con un estero, por lo que presenta un intercambio de agua dulce y agua de mar, el cual conlleva otros procesos a tomar en cuenta, como la intensa floculación que se da en estas zonas por cambios en el pH o los potenciales redox que produce lodos con materia orgánica, pesticidas y metales (Gomez, 2011). En este caso, la concentración de oxígeno disuelto tuvo valores similares a través de las tres giras de muestreo, lo que se puede utilizar como línea base para futuras investigaciones.

Las muestras acuosas fueron analizadas mediante CLAR y CG, para la determinación de compuestos poliaromáticos, MTBE y BTEX. Los resultados para ambos análisis de las muestras de las tres campañas dieron resultados por debajo del límite de detección los cuales se pueden observar en el Cuadro X, por lo que no se puede asegurar si hay presencia o no en concentraciones menores al límite de detección.

Algunos de los hidrocarburos en el medio marino experimentan procesos de transformación causados por la foto-oxidación o biodegradación. Los de masa molecular más pequeña se eliminan al poco tiempo del medio marino por el proceso de volatilización. Todos los hidrocarburos pueden ser biodegradados por microorganismos, pero estos tienen un límite en el tamaño del sustrato, como en el caso de los n-alcános de 17 carbonos o menos que pueden ser degradados en menos de una semana, mientras que en los compuestos aromáticos, la degradación depende de la familia y de la cantidad de anillos, siendo los compuestos de más de dos anillos los que pueden perdurar en el ambiente por más tiempo. Igual sucede con los procesos de fotooxidación, los compuestos de menor masa molecular o monociclos son oxidados o

descompuestos a compuestos polares o de menor masa molecular (Jiménez et al., 2006; Prince et al., 2003).

En este caso, no haber logrado detectar la presencia de la fracción más volátil de los derivados de petróleo puede ser indicativo que durante el momento de muestreo no había presencia de esta fracción de hidrocarburos, o había pasado un tiempo considerable después de un derrame de hidrocarburos. La fracción más volátil de hidrocarburos se recomienda ser tomada y analizada pocos días después de algún evento de derrame, o tener evidencia visual de la presencia de un contaminante en la superficie acuática (Ziulli & Jardim, 2003).

Al bajar la marea en Playa Blanca los sedimentos quedan expuestos y quedan accesibles para el muestreo y el estudio de éstos. Los sedimentos son agregados de materia orgánica y fases minerales que se clasifican según el tamaño de partículas en arena, limo y arcilla. La capacidad de los sedimentos para adsorber hidrocarburos está en función de las fracciones de limo y arcilla presentes.

Según el análisis de textura de los sedimentos de Playa Blanca (ver Cuadro XI), los sitios PM1 y PM2 (ver Figura 4), poseen una composición principalmente arcillosa, la cual presenta una mejor capacidad de adsorción de hidrocarburos, debido a que sus partículas son más pequeñas. La arcilla representa la fracción más activa y en donde se da el intercambio iónico; el limo tiene una participación limitada en la actividad química del suelo, con partículas de mayor diámetro, pero tiene una importancia en la relación agua – suelo. Aquellos sedimentos con alta cantidad de arcilla y limo (partículas más finas) van a tener una mayor capacidad de adsorción de compuestos hidrofóbicos orgánicos, que aquellas partículas más gruesas, debido a mayor cantidad de carbón orgánico y superficie de contacto.

Las muestras tomadas de los sitios PM3 y PM4 (ver Figura 4) presentan una composición mayoritariamente arenosa, donde la arena representa la parte inerte del suelo por sus partículas de mayor tamaño y tiene solamente funciones mecánicas, principalmente de soporte para las fracciones finas del suelo y facilita la circulación del agua y del aire, por lo que la retención de hidrocarburos se daría de menor manera.

La materia orgánica de los sedimentos está compuesta por residuos de plantas y animales en descomposición, lo que genera que posea afinidad por moléculas polares y no polares, además,

la capacidad de generar un intercambio iónico. (Carmo et al., 2000; Gray & Albert, 1997; Roland, Holzer, & Kopinke, 2011; Schwab et al., 1999; Vane et al., 2014).

Además de análisis de textura de los sedimentos, durante las tres campañas se tomaron muestras de cuatro puntos distintos y analizados por CG para determinar si había presencia de hidrocarburos poliaromáticos (HPA). Las figuras Figura 14, Figura 15, Figura 16 y Figura 17 muestran los cromatogramas con el cambio de cada uno de los sitios a través del tiempo, tomando en cuenta que se muestrearon tres campañas, dos en la época lluviosa y una en la época seca. El primer cromatograma de cada una de las figuras (I campaña tomada en junio del 2012) muestra señales entre los 5 y 15 minutos, las cuales aparecen a un menor tiempo que las de los patrones inyectados, lo que puede significar la presencia de HPA de menos de tres anillos, o hidrocarburos lineales de menos de 15 carbonos, pero estos son muy pocos probables. La baja probabilidad de que las señales correspondan a hidrocarburos lineales de bajo peso molecular, se debe a sus bajos puntos de ebullición, por lo que el proceso de evaporación es dominante para estos compuestos (Haddad et al., 2012; Uy et al., 2014).

Tanto en la campaña II de muestreo, como en la campaña III las señales que estaban presentes entre los 5 y 15 minutos tienden a desaparecer. La presencia y desaparición de señales puede ser debido a varios factores, como la toma de muestras justo después de que algún derivado del petróleo se haya vertido y la volatilización con el tiempo de éste, procesos de envejecimiento o intemperización. El envejecimiento de compuestos orgánicos es un proceso natural y de gran importancia en los sedimentos, que conlleva fenómenos como la adsorción, la absorción, la degradación microbiana y reacciones químicas, y que dependen de varios factores, como el tipo de suelo, las condiciones ambientales y el tipo de contaminante orgánico. Por otro lado, la intemperización se refiere a todos cambios ambientales que pueden afectar los sedimentos, como es la luz, la temperatura, el viento o la lluvia (Kim, Kumfer, Anastasio, Kennedy, & Young, 2009; Tang, Lu, Sun, & Zhu, 2012). En este trabajo en particular, el sedimento queda expuesto a condiciones ambientales que pueden hacer que los compuestos orgánicos presentes sean degradados con el tiempo, como es la exposición al sol o la lluvia durante la marea baja; y además, los sitios muestreados presentan una heterogeneidad en su composición. También puede ser causado por el constante lavado que experimentan los sedimentos durante la época lluviosa, lo cual es un fenómeno muy importante en esta zona.

Como se observa en el Cuadro XII, los HPA presentaron recuperaciones entre (0 y 70) %, mientras que los alcanos lineales entre (19 y 268) %, resultados que demuestran una recuperación de los hidrocarburos en su mayoría, pero no de una manera reproducible. En la comparación de métodos y datos en el Cuadro II, las recuperaciones de la literatura para la extracción Soxhlet se da entre un (60 y 90) %, y con un desvío relativo estándar menor al 22 %. Los datos expuestos por la literatura y los obtenidos experimentalmente tienen un contraste notorio, ya que se obtuvieron rendimientos poco reproducibles y en un rango muy amplio (Pena et al., 2008).

La poca reproducibilidad de los resultados puede deberse a diversos factores y etapas del proceso, como la extracción durante la mineralización de la muestra, o durante la separación de otras especies con las columnas de separación. Los HPA se encuentran, en su mayoría, adsorbidos en la materia orgánica de los sedimentos, cuya composición varía dependiendo del lugar de origen, el proceso de extracción de los HPA de esta fase orgánica puede resultar muy complicado. La escogencia de un disolvente que cumpla con una serie de requisitos para la mineralización, es de suma importancia. En este trabajo se utilizó metanol con KOH como disolvente de extracción, el cual se menciona en la literatura como buen disolvente, pero que en ocasiones, debe de complementarse con otro disolvente para extraer compuestos con diferentes polaridades, siempre en un medio fuertemente básico. Entre los disolventes que pueden complementar al metanol, o sustituirlo se encuentran el hexano, la acetona, el tolueno, o mezcla de varios disolventes. En recientes estudios se ha encontrado que el tolueno o la mezcla de tolueno y metanol resultan en recuperaciones mayores al 90% de HPA (Jonker & Koelmans, 2002; Uy et al., 2014).

Al igual que la extracción de los HPA durante la mineralización, también es importante la separación de estos compuestos de otras especies con un disolvente en específico y un sorbente sólido. Para este trabajo se utilizó hexano y diclorometano como disolventes y alúmina como la fase sólida de separación. Luego de los pasos para la extracción y la separación de los HPA de las muestras, los cromatogramas presentan señales correspondientes a los patrones de alcanos lineales y HPA, ambos extraídos por el hexano; mientras que la fracción de diclorometano, no hay señales que indiquen una recuperación de ninguno de los patrones. A partir de los cromatogramas obtenidos de las muestras se pueden inferir dos posibles resultados, el primero, que en este caso la extracción Soxhlet tiene como resultado extracciones poco reproducibles y eficientes; y segundo, que la separación con los disolventes utilizados no cumple su objetivo de manera satisfactoria. El hexano es un disolvente no polar y que tiene una afinidad mayor por

compuestos similares como los alcanos lineales, mientras que el diclorometano es un disolvente con una mayor polaridad y más afin a compuestos poliaromáticos. Tanto la extracción, como la separación, bajo las condiciones utilizadas deben ser mejoradas para estudios posteriores, o bien, realizar posibles cambios para disminuir el consumo de reactivos y tiempo de análisis, y el cambio de diclorometano por disolventes menos perjudiciales para la salud humana (Sigma-Aldrich, 2014).

El diclorometano además de ser un disolvente con posibles efectos para la salud, no posee recuperaciones de HPA buenas, donde este disolvente se ha utilizado en este tipo de trabajos por mucho tiempo. Además de la baja recuperación también se ha encontrado que no es un disolvente adecuado para pasos de limpieza ni de concentración (Jonker & Koelmans, 2002; Uy et al., 2014).

La segunda parte de análisis a muestras de sedimento contempla las muestras tomadas en la gira IV, efectuada el 8 de agosto del 2015. Debido a los resultados poco reproducibles de los porcentajes de recuperación de las tres campañas de muestreo anteriores, se estableció generar una campaña de muestreo más y de esta manera volver a realizar la extracción por el método de Soxhlet, pero a la vez, compararlo con algún otro método. Se buscó un método alternativo para la extracción con Soxhlet, que fuera más sencillo, que utilizara menos reactivos y además, que optimizara el disolvente para obtener resultados más consistentes.

El sedimento fue liofilizado, para tener mejor control sobre la cantidad de muestra y que también sea más fácil de manejar durante los pasos de cada método. De igual manera, se enriquecieron las muestras con un coctel de patrones de concentración similar al usado en la parte I y así tener una visión general de las pérdidas durante el proceso.

A partir de la información del Cuadro XIII se observa que el método de mineralización y extracción Soxhlet para la campaña IV de muestreo mantiene un rendimiento de recuperación menor a los datos del Cuadro II los cuales están entre 60 % y 90 %; aunque en este caso hubo recuperaciones del criseno, lo cual en la tres primeras campañas no se logró. La diferencia entre el tratamiento de las muestras de las campañas I, II y III y la de la IV radica en que las últimas fueron liofilizadas antes de la extracción Soxhlet.

En este caso, se debe saber que la extracción Soxhlet se considera como el método estándar para la determinación de HPA de sólidos, pero este proceso requiere de una cantidad de tiempo apreciable y además grandes cantidades de disolventes orgánicos. Por las exigencias que conlleva la extracción Soxhlet, se han propuesto otros métodos que traten de disminuir los tiempos de tratamiento de muestra y uso de disolventes, sin sacrificar los rendimientos (Pena et al., 2007, 2008; Souza et al., 2013).

Entre los procedimientos alternativos que se utilizan está la extracción con líquido presurizado o fluidos supercríticos que poseen tiempos de extracción cortos, pero el problema es que necesitan de equipos específicos y son técnicas caras; también se puede mencionar la extracción asistida por microondas y extracción asistida por ultrasónico, todas estas técnicas tienen sus ventajas y desventajas, además presentan porcentajes de recuperación muy variables y en ocasiones la fase de extracción no es la más eficiente. Por otro lado la técnica de extracción de matriz dispersa en una fase sólida (MSPD, por sus siglas en inglés) ha tomado fuerza en los últimos años, permitiendo un proceso simultáneo de limpieza y extracción de los HPA de muestras sólidas, semi-sólidas y altamente viscosas; estos procedimientos poseen la ventaja de tener una alta flexibilidad y selectividad debido a la posibilidad de combinar los disolventes y los sorbentes utilizados (Pena et al., 2007, 2008; Souza et al., 2013).

Entre las ventajas presentadas por los procedimientos MSPD, es la versatilidad de este tipo de métodos para el análisis de diversas matrices y la determinación de analitos como drogas, hidrocarburos, pesticidas y herbicidas (Pena et al., 2007, 2008; Souza et al., 2013).

El Cuadro XIV muestra los datos de los porcentajes de recuperación para las cuatro campañas de muestreo.

Los resultados de los métodos alternativos a la extracción Soxhlet muestran una baja recuperación de los alcanos lineales en comparación con las recuperaciones para los HPA, esto puede deberse a la elección de acetonitrilo como disolvente en la extracción asistida por vortex, y una mezcla de acetona y hexano (1:1) en el procedimiento MSPD, los cuales son disolventes con una mayor afinidad a los HPA, esto debido a que estos disolventes son más polares, mientras que los alcanos lineales al ser poco polares, tienen muy baja afinidad. Los porcentajes de recuperación obtenidos para el proceso de extracción de MSPD asistido por vortex fueron aceptables para los HPA analizados, además posee dos grandes ventajas en comparación a la extracción con Soxhlet, es más rápida y emplea poca cantidad de disolventes. Los valores de la literatura para porcentajes de recuperación de hidrocarburos por el método MSPD, están entre (76 y 108) %, con desvío relativo estándar menor a 11 %; los resultados obtenidos en este trabajo para HPA están entre (55 y 90) %, con un desvío relativo menor al 14 %; que en comparación con los valores obtenidos con el método de extracción Soxhlet experimentales y con los de la literatura (Cuadro II) son mejores (Pena et al., 2008).

Los sedimentos tomados de los cuatro sitios de Playa Blanca y analizados por el procedimiento MSPD asistido por vortex, no presentan cantidades detectables de hidrocarburos que correspondan a los patrones de HPA utilizados, ni a otros posibles compuestos que se encuentren dentro del intervalo de tiempo de las señales correspondientes a los patrones.

La disminución en tiempo y gasto de disolventes y las altas recuperaciones hacen que este método sea una opción viable para el análisis de grandes cantidades de muestras de sedimentos, análisis que requieran de un resultado rápido y también para evaluaciones en caso de algún incidente. La disponibilidad de estos métodos también hace factible el cambio de la combinación entre disolvente y sorbente para incluir el análisis de hidrocarburos lineales en un futuro o complementarlo con los resultados de la extracción.

Además del estudio que se realizó a los sedimentos y el agua de mar de Playa Blanca, y dadas las posibilidades de contar con muestras provenientes de la Isla del Coco, se hicieron análisis extra para determinar si existe la presencia de hidrocarburos derivados del petróleo.

Las muestras fueron analizadas previamente por la técnica de fluorescencia sin encontrar cantidades detectables de contaminantes. Al igual que con el método de fluorescencia, no fue posible detectar la presencia de hidrocarburos mediante cromatografía de gases con las

condiciones establecidas para este trabajo. Los cromatogramas resultantes de los análisis se pueden agrupar en dos grupos, en donde el primero no tiene ninguna señal mayor al ruido y las únicas señales que se encuentran, ubicadas en los primeros 5 min, son las señales respectivas al hexano e impurezas que este haya podido tener.

El otro grupo de muestras presenta señales mayores al ruido, específicamente una señal que se obtiene alrededor de los 14,5 min (señaladas en morado de la Figura 21 a la Figura 23) y varias señales entre los 26 min y 28 min (señaladas en verde de la Figura 21 a la Figura 23). La señal que se obtiene alrededor de los 14,5 min se debe a un ftalato proveniente de la tapa de los viales y que es extraída por el hexano, de hecho esta es una señal constante en todos los cromatogramas de las muestras y blancos.

La Figura 13 muestra un blanco de muestra de Playa Blanca, en este se observa que al igual que con las muestras del Parque Nacional Isla del Coco hay una señal alrededor de los 14 minutos, y que pertenece a una señal de ftalato del material de la tapa del vial. Además de la señal de los 14 min, no hay ninguna otra señal detectable mediante este método.

El Parque Nacional Isla del Coco al ser un territorio protegido y poseer un estricto control sobre la actividad humana en la zona (Fundación Amigos Isla del Coco, 2014), no se esperaría detectar contaminación de hidrocarburos; a pesar de esto los problemas con la pesca ilegal que se da en la zona y la generación de electricidad con generadores que consumen hidrocarburos para las actividades en la isla, se genera un interés por la aplicación de técnicas que permitan una valoración de una posible contaminación. De hecho, el interés por el análisis del agua se originó por el avistamiento de una mancha de hidrocarburos cerca de uno de estos generadores por lo que se tomaron muestras de agua en lugares cercanos para su análisis.

Los generadores de electricidad, en su mayoría, utilizan diesel como combustible, el cual posee señales muy características. El Diesel luego de ser separado por CG presenta señales que destacan, las cuales pertenecen a alcanos lineales entre el n-hexano y el n-nonacosano, pero predominando los alcanos entre 12 y 22 carbonos. También es posible determinar HPA, los cuales tiene la particularidad de eluir más rápido que los alcanos de un punto de ebullición similar, debido a una mayor polaridad, además su resolución o separación en el cromatograma tiende a ser menor que para los alcanos lineales (dos Santos, Flumignam, & de Oliveira, 2012; Treichel & Nahir, 1999; Wang, Fingas, & Sigouin, 2000).

Luego de utilizar la técnica de fluorescencia molecular y cromatografía de gases, no se pudo detectar la presencia de hidrocarburos en las muestras, que puede ser debido a que la cantidad de hidrocarburos no es detectable. Se debe recordar que los hidrocarburos experimentan interacciones con el medio, como evaporación, adsorción en partículas flotantes, sedimentación y movilización de un lugar a otro por las corrientes acuáticas y de viento, por lo que los resultados son representativos de un lugar y un momento específico.

En total se analizaron dos blancos y 28 muestras de agua, las cuales fueron aportadas por el CIMAR y que fueron tomadas en tres giras diferentes. Las muestras fueron extraídas de diversas partes de agua aledañas al Parque Nacional Isla del Coco (las zonas de muestreo se observan en la Figura 8).

## **Conclusiones**

Se observan la variaciones en características físicas de las muestras de agua de mar según la estación del año, esto a partir de los datos obtenidos de concentración de oxígeno disuelto, sólidos totales disueltos y conductividad eléctrica.

Se logró establecer un escenario base en Playa Blanca de Punta Morales a partir de las muestras de agua y de sedimentos tomadas. Datos y condiciones que servirán para comparaciones en estudios posteriores o en casos de sospecha de derrames o presencia de hidrocarburos, o cambios en las características de la zona.

El método de cromatografía de gases con detector de ionización de llama es una herramienta muy útil en la detección de hidrocarburos presentes en muestras líquidas y sólidas, pero se recomienda la utilización de un acople con un detector de masas para la identificación de señales de las cuales no se cuente un estándar, o bien, para disminuir los límites de cuantificación y detección.

Tanto las muestras de agua de mar de Playa Blanca, como las de las aguas cercanas a la Isla del Coco no presentaban hidrocarburos de petróleo por encima de los límites de detección del presente trabajo.

Al realizar la comparación de varios métodos de extracción en fase sólida contra el método estándar de extracción, el cual es la extracción por Soxhlet, se obtienen resultados con porcentajes de recuperación y desviaciones relativas que merecen tomar en cuenta para adaptaciones y usos en proyectos y análisis, ya que muestran ventajas como la reducción en los tiempos de análisis y el consumo de reactivos de manera considerable.

El presente trabajo presenta el uso de la microextracción por fase sólida, la cual es una técnica con un aumento en su uso por los buenos resultados que presenta y por las facilidades que presenta para los análisis de muestra. Esta técnica es una posibilidad para el análisis de muestras en algún caso de derrame accidental de hidrocarburos que requieran de resultados rápidos y confiables.

Se recomienda para muestreos en sedimentos la toma de varias muestras de un mismo punto y realizar una muestra compesta final, o bien la toma de una muestra de mayor tamaño (longitud) y esta a la vez ser analizada por partes. Procesos como la liofilización o el secado de la muestra permiten su mejor manejo, y evitar hacer pesadas de muestra húmedas ya que la naturaleza y composición de los sedimentos puesden llegar a ser muy heterogéneas.

## Referencias

- Acuña, J., Vargas, J. A., Gómez, E., & García, J. (2004). Hidrocarburos de petróleo, disueltos y dispersos. *Revista Biología Tropical*, 52(2).
- Agüero, M. (2010, October 3). Planta térmica Garabito ya funciona a media máquina. *La Nación*.
- Aisalble, J. M., Balks, M. R., Foght, J. M., & Waterhouse, E. J. (2004). Hydrocarbon Spills on Antarctic Soils : Effects and Management. *Environmental Science & Technology*, 38(5), 1265–1274.
- Allan, I. J., Connell, S. G. O., Meland, S., Bæk, K., Grung, M., Anderson, K. A., & Ranneklev, S. B. (2016). PAH Accessibility in Particulate Matter from Road-Impacted Environments. <http://doi.org/10.1021/acs.est.6b00504>
- American Public Health Association, American Water Association, & Water Environment Federation. (1999). Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. In *2510 Conductivity*.
- Anderson, G. (2008). Marine Science. Retrieved from <http://www.marinebio.net/marinescience/02ocean/swcomposition.htm>
- Atlas, R. M., & Hazen, T. C. (2011). Oil Biodegradation and Bioremediation: A Tale of the Two Worst Spills in U.S. History. *Environmental Science & Technology*, 45(16), 6709–6715. <http://doi.org/10.1021/es2013227>
- Atwood, D., Cummings, H., Nodal, W., & Culbertson, R. (1987). THE CARIPOL PETROLEUM POLLUTION MONITORING PROJECT AND THE CARIPOL PETROLEUM POLLUTION DATABASE. *Caribbean Journal of Science*, 23(1), 1–3.
- Avens, H. J., Unice, K. M., Sahmel, J., Gross, S. a, Keenan, J. J., & Paustenbach, D. J. (2011). Analysis and modeling of airborne BTEX concentrations from the Deepwater Horizon oil spill. *Environmental Science & Technology*, 45(17), 7372–9. <http://doi.org/10.1021/es200963x>
- Beliaeff, B., O'Connor, T. P., Daskalakis, D. K., & Smith, P. J. (1997). U.S. Mussel watch data from 1986 to 1994: Temporal trend detection at large spatial scales. *Environmental*

*Science and Technology*, 31(5), 1411–1415. <http://doi.org/10.1021/es9606586>

- Botello, A. V. (2009). Instituto de Ciencias del Mar y Limnología, UNAM. Retrieved from [http://www.posgrado.unam.mx/publicaciones/ant\\_omnia/23/07.pdf](http://www.posgrado.unam.mx/publicaciones/ant_omnia/23/07.pdf)
- Canadian Council of Ministers of the Environment. (1999). Canadian Water Quality Guidelines for the Protection of Aquatic Life - Dissolved Oxygen (Marine). *Canadian Environmental Quality Guidelines*, 1–5.
- Carmo, A. M., Hundal, L. S., & Thompson, M. L. (2000). Sorption of Hydrophobic Organic Compounds by Soil Materials: Application of Unit Equivalent Freundlich Coefficients. *Environmental Science & Technology*, 34(20), 4363–4369. <http://doi.org/10.1021/es000968v>
- Chen, Y., & Pawliszyn, J. (2003). Time-weighted average passive sampling with a solid-phase microextraction device. *Analytical Chemistry*, 75(9), 2004–10. <http://doi.org/10.1021/ac026315+>
- Clark, R. B. (2001). *Marine Pollution* (Fifth). Oxford: Oxford University Press.
- Cornelissen, G., Gustafsson, O., Buchell, T., Jonker, M., Koelmans, A., & Van Noort, P. (2005). Extensive Sorption of Organic Compounds to Black Carbon, Coal, and Kerogen in Sediments and Soils: Mechanisms and Consequences for Distribution, Bioaccumulation, and Biodegradation. *Environmental Science & Technology*, 39(18), 6881–6895.
- Davidson, J. S. (1997). United Nations Convention on the Law of the Sea Act 1996. *The International Journal of Marine and Coastal Law*, 12, 404–412. <http://doi.org/10.1163/15718089720491594>
- Delgado, G. (2007). *Desarrollo de un procedimiento analítico para la determinación cuantitativa de hidrocarburos en un acuífero*. Universidad de Costa Rica.
- DeMello, J. a, Carmichael, C. a, Peacock, E. E., Nelson, R. K., Samuel Arey, J., & Reddy, C. M. (2007). Biodegradation and environmental behavior of biodiesel mixtures in the sea: An initial study. *Marine Pollution Bulletin*, 54(7), 894–904. <http://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2007.02.016>

- dos Santos, B., Flumignam, D., & de Oliveira, J. (2012). Development , Optimization and Validation of Gas Chromatographic Fingerprinting of Brazilian Commercial Diesel Fuel for Quality Control. *Journal of Chromatographic Science*, 50, 756–762.
- Edgerton, S. A., Coutant, R. W., & Henley, M. V. (1987). Hydrocarbons fuel spill dispersion on water: A literature Review. *Chemosphere*, 16(7), 1475–1487.
- Faría, R., Aguilar, L., González, G., Ettiene, G., González, E., Rivas, Z., & Sánchez, M. (2005). Alternativas de extracción de hidrocarburos aromáticos en sedimento y su análisis por cromatografía de gas Extraction alternative of aromatic hydrocarbons in sediments analyzed by gas chromatography. *Ciencia*, 13(2), 240–249.
- Fernández-Varela, R., Andrade, J. M., Muniategui, S., Prada, D., & Ramírez-Villalobos, F. (2009). The comparison of two heavy fuel oils in composition and weathering pattern, based on IR, GC-FID and GC-MS analyses: application to the Prestige wreckage. *Water Research*, 43(4), 1015–26. <http://doi.org/10.1016/j.watres.2008.11.047>
- Fu, J., Gong, Y., Zhao, X., & Zhao, D. (2014). Effects of Oil and Dispersant on Formation of Marine Oil Snow and Transport of Oil Hydrocarbons. *Environmental Science & Technology*, 48, 14392–14399.
- Fundación Amigos Isla del Coco. (2014). Area de Conservación Marina Isla del Coco. Retrieved from <http://www.isladelcoco.go.cr/es/que-es-el-acmic.aspx>
- Galaktionova, E. B., Safarova, V. I., Kudasheva, F. K., & Teplova, G. I. (2012). Determination of organic compounds in bottom sediments by gas chromatography/mass spectrometry coupled with static headspace analysis. *Journal of Analytical Chemistry*, 67(6), 555–559. <http://doi.org/10.1134/S1061934812060020>
- Garc, G. (2002). The Caribbean : main experiences and regularities in capacity building for the management of coastal areas, 45, 677–693.
- Gomez, E. (2011). *Evaluación del intercambio de concentraciones de fósforo en el canal del Estero de Playa Blanca, Punta Morales, Golfo de Nicoya, Costa Rica*.
- Gray, M. R., & Albert, P. (1997). Analysis of Hydrocarbon-Contaminated Soil by Thermal Extraction - Gas Chromatography, 31(3), 646–650.

- Gros, J., Nabi, D., Würz, B., Wick, L. Y., Brussaard, C. P. D., Huisman, J., ... Arey, J. S. (2014). First day of an oil spill on the open sea: early mass transfers of hydrocarbons to air and water. *Environmental Science & Technology*, *48*, 9400–11. <http://doi.org/10.1021/es502437e>
- Haddad, R., Klitzke, F., Sanvido, G. B., Corilo, Y. E., Augusti, D. V, Pasa, M. D., ... Eberlin, M. N. (2012). Gasoline, Kerosene, and Diesel Fingerprinting via Polar Markers.
- Hemond, H., & Fechner-Levy, E. (2000). *Chemical Fate and Transport in the Environment* (Second). San Diego, California: Elsevier.
- INCOP. (2010). Terminal de Punta Morales. Retrieved from [http://www.incop.go.cr/terminal\\_punta\\_morales.php](http://www.incop.go.cr/terminal_punta_morales.php)
- Indies, W. (1993). Petroleum Contamination of the Coastal Environment of St. Lucia, *26*(10), 1–2.
- Iwata, H., Tanabe, S., Sakai, N., Nishimura, a, & Tatsukawa, R. (1994). Geographical distribution of persistent organochlorines in air, water and sediments from Asia and Oceania, and their implications for global redistribution from lower latitudes. *Environmental Pollution (Barking, Essex : 1987)*, *85*(1), 15–33. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15091681>
- Jiménez, N., Viñas, M., Sabaté, J., Díez, S., Bayona, J. M., Solanas, A. M., & Albaiges, J. (2006). The Prestige oil spill. 2. Enhanced biodegradation of a heavy fuel oil under field conditions by the use of an oleophilic fertilizer. *Environmental Science & Technology*, *40*(8), 2578–85. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16683595>
- Jonker, M. T. O., & Koelmans, A. a. (2002). Extraction of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons from Soot and Sediment: Solvent Evaluation and Implications for Sorption Mechanism. *Environmental Science & Technology*, *36*(19), 4107–4113. <http://doi.org/10.1021/es0103290>
- Kemker, C. (2013). Dissolved Oxygen. Retrieved from <http://www.fondriest.com/environmental-measurements/parameters/water-quality/dissolved-oxygen/>
- Kemker, C. (2014). Conductivity, Salinity and Total Dissolved Solids. Retrieved from

<http://www.fondriest.com/environmental-measurements/parameters/water-quality/conductivity-salinity-tds/>

- Kester, D. R. (1972). Chemical Processes in the Ocean. *Journal of Chemical Education*, 49(1), 11.
- Kim, D., Kumfer, B., Anastasio, C., Kennedy, I., & Young, T. (2009). Environmental Aging of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons on Soot and its Effect on Source Identification. *Chemosphere*, 76(8), 1075–1081.  
<http://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2009.04.031>. Environmental
- Kleineidam, S., & Grathwohl, P. (1999). Organic Matter Facies and Equilibrium Sorption of Phenanthrene, 1637–1644.
- Larson, R. a., Bott, T. L., Hunt, L. L., & Rogenmuser, K. (1979). Photooxidation products of a fuel oil and their antimicrobial activity. *Environmental Science & Technology*, 13(8), 965–969. <http://doi.org/10.1021/es60156a011>
- Lenntech. (2014). Water Conductivity. Retrieved from  
<http://www.lenntech.com/applications/ultrapure/conductivity/water-conductivity.htm>
- Li, Y., Zhao, Y., Peng, S., Zhou, Q., & Ma, L. Q. (2010). Temporal and spatial trends of total petroleum hydrocarbons in the seawater of Bohai Bay, China from 1996 to 2005. *Marine Pollution Bulletin*, 60(2), 238–43. <http://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2009.09.020>
- Liga Agrícola Industrial de la Caña de Azúcar. (2012). Retrieved from  
[http://www.laica.co.cr/centro\\_morales.php](http://www.laica.co.cr/centro_morales.php)
- Liu, F. F., Escher, B. I., Were, S., Du, L., & Ng, J. C. (2014). Mixture Effects of Benzene , Toluene , Ethylbenzene , and Xylenes ( BTEX ) on Lung Carcinoma Cells via a Hanging Drop Air Exposure System. *Chemical Research in Toxicology*, 27, 952–959.
- Maldonado, C., Bayona, J. M., & Bodineau, L. (1999). Column Processes of Aliphatic and Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in the Northwestern Black Sea Water. *Environmental Science & Technology*, 33(16), 2693–2702.
- Martí, S., Bayona, J. M., & Albaigés, J. (2001). A potential source of organic pollutants into the northeastern Atlantic: the outflow of the Mediterranean deep-lying waters through the

- Gibraltar Strait. *Environmental Science & Technology*, 35(13), 2682–9. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11452592>
- Mastral, A. N. A. M., & Carboqui, I. De. (1999). Polycyclic Aromatic Hydrocarbons and Organic Matter Associated to Particulate Matter Emitted from Atmospheric Fluidized Bed Coal Combustion, 33(18), 3177–3184.
- Mata, A. J., Acuña, J., Murillo, M. M., & Cortés, J. (1985). Estudio de la contaminación por petróleo en la costa caribe de costa rica: 1981-1985. *Ocean Science*, 1981–1985.
- Mccay, D. F., Whittier, N., Dalton, C., Rowe, J., Sankaranarayanan, S., Kim, H., ... Levine, R. (2004). *Oil Spills Fate and Effects Modeling for Alternative Response Scenarios Part A : Description of Models and Assumptions by*.
- Moeckel, C., Monteith, D. T., Llewellyn, N. R., Henrys, P. a, & Pereira, M. G. (2014). Relationship between the concentrations of dissolved organic matter and polycyclic aromatic hydrocarbons in a typical U.K. upland stream. *Environmental Science & Technology*, 48(1), 130–8. <http://doi.org/10.1021/es403707q>
- National Ocean Service. (2014). Mussel Watch Contaminant Monitoring. Retrieved from <http://ccma.nos.noaa.gov/about/coast/nsandt/musselwatch.aspx>
- Olivella, M. a. (2005). Trace analysis of polycyclic aromatic hydrocarbons in suspended particulate matter by accelerated solvent extraction followed by gas chromatography-mass spectrometry. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 383(1), 107–14. <http://doi.org/10.1007/s00216-005-3383-1>
- Ort, C., Lawrence, M. G., Reungoat, J., & Mueller, J. F. (2010). Sampling for PPCPs in wastewater systems: comparison of different sampling modes and optimization strategies. *Environmental Science & Technology*, 44(16), 6289–96. <http://doi.org/10.1021/es100778d>
- Ouyang, G., Zhao, W., Bragg, L., Qin, Z., Alaei, M., & Pawliszyn, J. (2007). Time-weighted average water sampling in Lake Ontario with solid-phase microextraction passive samplers. *Environmental Science & Technology*, 41(11), 4026–31. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17612185>
- Pena, M. T., Casais, M. C., Mejuto, M. C., & Cela, R. (2007). Optimization of the matrix solid-phase dispersion sample preparation procedure for analysis of polycyclic aromatic

- hydrocarbons in soils : Comparison with microwave-assisted extraction. *Journal of Chromatography A.*, 1165, 32–38. <http://doi.org/10.1016/j.chroma.2007.08.007>
- Pena, M. T., Casais, M. C., Mejuto, M. C., & Cela, R. (2008). Development of a matrix solid-phase dispersion method for the determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in sewage sludge samples. *Analytica Chimica Acta*, 6, 155–165. <http://doi.org/10.1016/j.aca.2008.07.053>
- Pérez, C., Velando, A., Munilla, I., López-Alonso, M., & Oro, D. (2008). Monitoring polycyclic aromatic hydrocarbon pollution in the marine environment after the Prestige oil spill by means of seabird blood analysis. *Environmental Science & Technology*, 42(3), 707–13. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18323091>
- Polyakova, O. V., Mazur, D. M., Artaev, V. B., & Lebedev, a. T. (2013). Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in water by gas chromatography/mass spectrometry with accelerated sample preparation. *Journal of Analytical Chemistry*, 68(13), 1099–1103. <http://doi.org/10.1134/S106193481313008X>
- Potters, G. (2013). *Marine Pollution*. *Marine Pollution* (First). bookboon.com. [http://doi.org/10.1016/0025-326X\(87\)90578-9](http://doi.org/10.1016/0025-326X(87)90578-9)
- Prince, R. C., Garrett, R. M., Bare, R. E., Grossman, M. J., Townsend, T., Suflita, J. M., ... Lessard, R. R. (2003). The Roles of Photooxidation and Biodegradation in Long-term Weathering of Crude and Heavy Fuel Oils. *Spill Science & Technology Bulletin*, 8(2), 145–156. [http://doi.org/10.1016/S1353-2561\(03\)00017-3](http://doi.org/10.1016/S1353-2561(03)00017-3)
- RECOPE. (2014). RECOPE S.A. Retrieved from <https://www.recope.go.cr/>
- RECOPE S.A. (2013a). Historia. Retrieved from <https://www.recope.go.cr/quienes-somos/historia/>
- RECOPE S.A. (2013b). Informe de labores 2013. Retrieved from <https://recope.go.cr/wp-content/uploads/2013/12/Informe-labores-2013-11.pdf>
- Ripszam, M., Paczkowska, J., Figueira, J., Veenaas, C., & Haglund, P. (2015). Dissolved Organic Carbon Quality and Sorption of Organic Pollutants in the Baltic Sea in Light of Future Climate Change. *Environmental Science & Technology*, 49, 1445–1452. <http://doi.org/10.1021/es504437s>

- Roland, U. L. F., Holzer, F., & Kopinke, F. (2011). Ambivalent Role of Water in Thermodesorption of Hydrocarbons from Contaminated Soil, *45*(2), 732–737.
- Saari, E., Perämäki, P., & Jalonen, J. (2007). A comparative study of solvent extraction of total petroleum hydrocarbons in soil. *Microchimica Acta*, *158*(3–4), 261–268.  
<http://doi.org/10.1007/s00604-006-0718-3>
- Schwab, A. P., Su, J., & Wetzel, S. (1999). Extraction of Petroleum Hydrocarbons from Soil by Mechanical Shaking, *33*(11), 1940–1945.
- Sibaja, M. E. (2013). *Desarrollo y validación de un método analítico para la determinación cuantitativa de Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos en agua, utilizando microextracción en fase sólida y HPLC acoplado a detector de fluorescencia*. Universidad de Costa Rica.
- Sigma-Aldrich. (2014). Dichloromethane Safety Data Sheet. Retrieved from  
<http://www.sigmaaldrich.com/MSDS/MSDS/DisplayMSDSPage.do?country=CR&language=en&productNumber=270997&brand=SIAL&PageToGoToURL=http://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/sial/270997?lang=en>
- Souza, S., Marian, C., Jaime, E., Menezes, D., Laura, A., Escarrone, V., ... Gilberto, E. (2013). Talanta A vortex-assisted MSPD method for the extraction of pesticide residues from fish liver and crab hepatopancreas with determination by GC – MS. *Talanta*, *112*, 63–68.  
<http://doi.org/10.1016/j.talanta.2013.03.054>
- Spiro, T., & Stigliani, W. (2004). *Química Medioambiental* (Segunda). Madrid: Pearson Prentice Hall.
- Standards ASTM. (1982). TITLE : Conductance. In *Conductance* (pp. 6–8). Annual Book of ASTM Standards.
- Tang, J., Lu, X., Sun, Q., & Zhu, W. (2012). Agriculture , Ecosystems and Environment Aging effect of petroleum hydrocarbons in soil under different attenuation conditions. *"Agriculture, Ecosystems and Environment,"* *149*, 109–117.  
<http://doi.org/10.1016/j.agee.2011.12.020>
- Theobald, N. (1989). Investigation of “Petroleum Hydrocarbons” in Seawater, Using High Performance Liquid Chromatography with Fluorescence Detection. *Marine Pollution*

*Bulletin*, 20(3), 0–6.

- Treichel, D., & Nahir, T. M. (1999). Analysis of Semivolatile Organic Compounds in Fuels Using Gas Chromatography – Mass Spectrometry. *Journal of Chemical Education*, 76(12), 1695–1696.
- U.S. Environmental Protection Agency. (1997). RECOMMENDED GUIDELINES FOR SAMPLING MARINE SEDIMENT , WATER COLUMN , AND TISSUE.
- U.S. Environmental Protection Agency. (2008). Polycyclic Aromatic Hydrocarbons ( PAHs ) (pp. 1–3).
- Uy, D., Ford, M. a., Jayne, D. T., O'Neill, A. E., Haack, L. P., Hangas, J., ... Gangopadhyay, A. K. (2014). Characterization of gasoline soot and comparison to diesel soot: Morphology, chemistry, and wear. *Tribology International*, 80, 198–209.  
<http://doi.org/10.1016/j.triboint.2014.06.009>
- Vane, C. H., Kim, A. W., Beriro, D. J., Cave, M. R., Knights, K., Moss-hayes, V., & Nathanail, P. C. (2014). Applied Geochemistry Polycyclic aromatic hydrocarbons ( PAH ) and polychlorinated biphenyls ( PCB ) in urban soils of Greater London , UK. *APPLIED GEOCHEMISTRY*, 51, 303–314. <http://doi.org/10.1016/j.apgeochem.2014.09.013>
- Vargas, J., Alonso, E., Corrales, L., & Gomez, S. (2014). *Estado de la Nación*.
- Venkataraman, C., Lyons, J. M., & Friedlander, S. K. (1994). Size distributions of polycyclic aromatic hydrocarbons and elemental carbon. 1. Sampling, measurement methods, and source characterization. *Environmental Science & Technology*, 28(4), 555–62.  
<http://doi.org/10.1021/es00053a005>
- Wang, Z., Fingas, M., Landriault, M., Sigouin, L., & Xu, N. (1995). Identification of Alkylbenzenes and Direct Determination of BTEX and (BTEX + C3-Benzenes) in Oils by GC/MS. *Analytical Chemistry*, 5(19), 3491–3500.
- Wang, Z., Fingas, M., & Sigouin, L. (2000). Characterization and Source Identification of an. *LCGC*, 18(10), 1059–1067.
- Watts, A. W., Ballesterro, T. P., Roseen, R. M., & Houle, J. P. (2010). Polycyclic aromatic hydrocarbons in stormwater runoff from sealcoated pavements. *Environmental Science &*

*Technology*, 44(23), 8849–54. <http://doi.org/10.1021/es102059r>

- Wittkamp, B. L., & Tilotta, D. C. (1995). Determination of BTEX Compounds in Water by Solid-Phase Microextraction and Raman Spectroscopy. *Analytical Chemistry*, 67(3), 600–605. <http://doi.org/10.1021/ac00099a018>
- Yim, U. H., Kim, M., Ha, S. Y., Kim, S., & Shim, W. J. (2012). Oil spill environmental forensics: the Hebei Spirit oil spill case. *Environmental Science & Technology*, 46(12), 6431–7. <http://doi.org/10.1021/es3004156>
- Zaixso, H. (2002). Manual de Campo para el muestreo de la columna de agua. In *Manual de Campo para el muestreo de la columna de agua* (p. 127).
- Ziulli, R. L., & Jardim, W. F. (2003). Photochemical transformations of water-soluble fraction ( WSF ) of crude oil in marine waters A comparison between photolysis and accelerated degradation with TiO 2 using GC – MS and UVF. *Journal of Photochemistry and Photobiology*, 155, 243–252.
- Zwiernik, M. J., Quensen, J. F., & Boyd, S. A. (1999). Residual Petroleum in Sediments Reduces the Bioavailability and Rate of Reductive Dechlorination of Aroclor 1242. *Environmental Science & Technology*, 33(20), 3574–3578.

**Anexos**

**Anexo I. Información recolectada en las giras de muestreo de agua de mar alrededor de la Isla del Coco realizadas por el CIMAR**

**Cuadro XV. Gira de muestreo de agua de mar alrededor de la Isla del Coco. Gira ICOCO alrededor del 30 de junio al 10 de julio de 2011. Código CIMAR de la gira 5.11.2.7**

Sitio de muestreo	Código de la muestra	Fecha/Hora	Coordenadas	Concentración de oxígeno disuelto (mg/L)	Temperatura del agua (°C)	Salinidad (ups)
ICT	HC-21	9 de julio de 2011/ 16:54	5.55433 N -87.052483 O	nst	nst	nst
ICW	HC-24	9 de julio de 2011/ 11:56	5.5449667 N -87.065033 O	nst	nst	nst
ICC	HC-1	9 de julio de 2011/ 12:56	5.558283 N -87.040267 O	nst	nst	nst
ICA	HC-22	7 de julio de 2011/ 11:56	5.53272 N -87.025667 O	5.26	27.0	33
ICM	HC-13	7 de julio de 2011/ 8:50	5.53190 N -87.09275 O	4.79	27.1	33
ICU	HC-25	7 de julio de 2011/ 12:31	5.547667 N -87.030667 O	4.34	27.1	33
ICD	HC-20	7 de julio de 2011/ 9:35	5.50400 N -87.0854744 O	5.15	27.3	33
ICY	HC-22	7 de julio de 2011/ 10:25	5.508667 N -87.06250 O	5.41	26.9	34

ICG	HC-23	7 de julio de 2011/ 14:22	5.54655 N -87.080383 O	5.35	27.7	33
ICC	HC-3	7 de julio de 2011/ 12:56	5.558283 N -87.040267 O	4.77	27.8	33
Lab.	Blanco Lab.	-	-	-	-	-

nst = no se pudo tomar los datos debido al fuerte oleaje del mar.

**Cuadro XVI. Gira de muestreo de agua de mar alrededor de la Isla del Coco. Gira ICOCO alrededor del 13 al 23 marzo de 2012. Código CIMAR de la gira 5.12.1**

Sitio de muestreo	Código de la muestra	Fecha/Hora	Coordenadas	Concentración de oxígeno disuelto (mg/L)	Temperatura del agua (°C)	Salinidad (ups)
ICC	ICC 1-2 HC 31	Jueves 15 de marzo 2012/11:32	5.916708 N -87.050238 O	nst	nst	nst
ICC (Replica)	ICC 2-2 HC 72	Jueves 15 de marzo 2012/11:32	5.916708 N -87.050238 O	nst	nst	nst
ICW	ICW 1-2 AC/DC	Jueves 15 de marzo 2012/13:32	5.5449667 N -87.065033 O	nst	nst	nst
ICW (Replica)	ICW 2-2 HC-9	Jueves 15 de marzo 2012/13:32	5.5449667 N -87.065033 O	nst	nst	nst
ICY	HC 57	Viernes 16 de marzo 2012/12: 25	5.60944 N -87.26472 O	6.25	30.2	32
ICA	HC 25	Viernes 16 de marzo 2012/11: 49	5.53272 N -87.025667 O	6.49	30.0	32
ICG	HC 500	Viernes 16 de marzo 2012/9: 58	5.54655 N -87.080383 O	6.31	30.0	32
ICT	HC 3	Viernes 16 de marzo 2012/8: 18	5.55433 N -87.052483 O	6.30	30.1	33
ICW	HC 53	Viernes 16 de marzo 2012/8: 39	5.5449667 N -87.065033 O	6.27	30.1	32
ICM	HC 55	Viernes 16 de marzo 2012/10: 23	5.53190 N -87.09275 O	6.28	30.0	31
ICU	HC A01	Viernes 16 de marzo 2012/14: 32	5.547667 N -87.030667 O	6.30	30.3	34
ICW	HC U2	Lunes 19 de marzo 2012/11: 25	5.545617 N -87.06573 O	nst	nst	nst
ICW (Replica)	HC 8	Lunes 19 de marzo 2012/11: 25	5.545617 N -87.06573 O	nst	nst	nst
ICW (Gasolinera)	HC 536	Lunes 19 de marzo 2012/11: 25	5.545617 N -87.06573 O	nst	nst	nst

ICW (Gasolinera) (Replica)	HC 28	Lunes 19 de marzo 2012/11: 25	5.545617 N -87.06573 O	nst	nst	nst
Lab.	Blanco Lab.	-	-	-	-	-

nst = no se pudo tomar los datos debido al fuerte oleaje del mar.

**Cuadro XVII. Gira ICOCO alrededor del 6 al 14 de Julio de 2012. Código CIMAR de la gira 5.12.2**

Sitio de muestreo	Código de la muestra	Fecha/Hora	Coordenadas	Concentración de oxígeno disuelto (mg/L)	Temperatura del agua (°C)	Salinidad (ups)
OQ 1	HC 1	Domingo 8 de julio 2012/13:15	06.87653 N -87.72713 W	6.97	28.9	30
OQ 2	HC 2	Domingo 8 de julio 2012/9:25	06.19526 N -87.72349 W	6.30	28.6	31
OQ 3	HC 3	Domingo 8 de julio 2012/17:15	05.53076 N -87.72536 W	6.10	28.5	31
OQ 4	HC 4	Lunes 9 de julio 2012/0:44	04.85891 N -87.7253 W	6.24	28.0	32
OQ 5	HC 5	Lunes 9 de julio 2012/8:20	04.18891 N -87.72517 W	6.16	27.9	30
OQ 6	HC 6	Lunes 9 de julio 2012/14:18	04.18903 N -87.05811 W	6.25	27.6	31
OQ 7	HC 7	Lunes 9 de julio 2012/20:21	04.18822 N -86.3882 W	6.60	27.5	31
OQ 8	HC 8	Martes 10 de julio 2012/6:23	04.52681 N -87.05856 W	6.36	27.7	32
OQ 9	HC 9	Martes 10 de julio 2012/9:47	04.85980 N -87.05779 W	6.35	27.8	31
OQ 10	HC 10	Martes 10 de julio 2012/15:46	04.85796 N -86.38785 W	6.32	27.6	32
OQ 11	HC 11	Miércoles 11 de julio 2012/2:16	05.19247 N -87.05779 W	6.10	28.0	32
OQ 12	HC 12	Miércoles 11 de julio 2012/9:22	05.53074 N -86.39019 W	5.86	28.2	31
OQ 13	HC 13	Miércoles 11 de julio 2012/19:19	05.85736 N -87.05848 W	6.01	28.8	31
OQ 14	HC 14	Miércoles 11 de julio 2012/23:06	06.19191 N -87.05870 W	5.82	28.9	31
OQ 15	HC 15	Jueves 12 de julio 2012/5:05	06.19162 N -86.38790 W	6.02	28.6	31
OQ 16	HC 16	Jueves 12 de julio 2012/15:11	06.52522 N -87.05885 W	5.93	28.7	32

OQ 17	HC 17	Jueves 12 de julio 2012/18:59	06.87740 N -87.0587 W	5.78	28.7	32
OQ 18	HC 18	Viernes 13 de julio 2012/1:05	06.87677 N -86.38754 W	5.61	28.8	32
Blanco Lab.	-	-	-	-	-	-

**Anexo II. Análisis de muestras de agua de mar por Cromatografía Líquida de Alta Resolución (CLAR). Elaborado por María Elena Sibaja (Sibaja, 2013)**

**Materiales y equipo**

- i. Cromatógrafo líquido de alta resolución compuesto por: bomba binaria Perkin Elmer serie LC 250, interfase PE Nelson serie 900, horno Perkin Elmer serie LC 101, detector espectrofotométrico Ultravioleta-visible serie LC 290 y detector de Fluorescencia Perkin Elmer serie 200; además de la válvula de inyección Rheodyne de 6 puertos e interfase con cámara de desorción de ~60 µL de volumen total. Columna capilar Supelcosil LC-PAH de 15 cm x 4,6 mm (ID) x 5µm, marca SUPELCO.
- ii. Refrigerador
- iii. Estufa
- iv. Plantilla calentador - agitador
- v. Termómetro
- vi. Soporte manual para fibra de microextracción en fase sólida SPME / HPLC
- vii. Fibra para SPME de polidimetilsiloxano (PDMS) de 100 µm.
- viii. Bloque calentador para viales de 15 mL.
- ix. Viales color ámbar con tapa fenólica y septum de PTFE / silicón, con una capacidad total de 15 mL.
- x. Septums de PTFE / silicón para viales de 15 mL.
- xi. Viales color ámbar con tapa fenólica y septum de PTFE / silicón, con una capacidad total de 40 mL (29 mm x 81 mm).
- xii. Septums de PTFE / silicón para viales de 40 mL.
- xiii. Sensor de temperatura del refrigerador.
- xiv. Balones aforados de varios tamaños, 10 a 100 mL.
- xv. Pipetas graduadas de varios tamaños , 1 a 10 mL.
- xvi. Beakers
- xvii. Jeringa de 10 mL
- xviii. Recipientes contenedores para los disolventes de la fase móvil
- xix. Equipo de filtración Millipore
- xx. Bomba de vacío
- xxi. Baño ultrasónico

Nota: el equipo descrito en 4.2.14, 4.2.15 y 4.2.17 se calibra internamente según P-14:IT-01.

## **Cuidados**

### ***Manejo de la muestra***

El muestreo se realiza conforme al P-13:IT-18.

Al menos 40 mL de la muestra se requiere para cada prueba.

Valores erróneos de concentración de analito pueden ser obtenidos si las precauciones no son tomadas para evitar pérdidas, descomposición o contaminación de las muestras. No abra contenedores innecesariamente ni exponga a la luz por tiempo prolongado para prevenir pérdida o descomposición de analitos. Almacene las muestras en refrigeración a 4 °C hasta el momento del análisis.

No almacene muestras en recipientes permeables a gases ya que los analitos semivolátiles pueden sufrir difusión a través de las paredes. Los contenedores agrietados no son fuentes confiables de resultados válidos.

El análisis debe realizarse antes de 14 días naturales o 10 días hábiles posteriores a la recolección de la muestra.

Para evitar la contaminación de los blancos o las muestras durante la preparación de los patrones, se recomienda prepararlos en un área separada de donde se está llevando a cabo la microextracción.

Si se tiene duda de si los septum que se están utilizando pueden haberse intercambiado (el del vial del blanco o con el del vial de los patrones), se debe cambiar el septum y utilizar uno nuevo.

Si la muestra da positivo, al día siguiente se debe repetir el análisis utilizando el segundo vial con la réplica de la muestra.

## **Procedimiento**

### ***Optimización de parámetros y validación del método***

Se optimizaron los siguientes parámetros:

- a. Flujo de fase móvil
- b. Composición de la fase móvil
- c. Longitudes de onda del detector
- d. Tiempo de la microextracción
- e. Temperatura de la microextracción
- f. Tiempo de desorción

Luego se validaron los parámetros de desempeño analítico del método:

- a. Límite de detección y de cuantificación
- b. Linealidad
- c. Veracidad y precisión

Además se definió cómo se calcularían los límites de detección y cuantificación, y cuál es el % CV aceptable para este análisis.

**Curva de calibración**

1.1.1. Los estándares de rutina se preparan a partir de patrones certificados individuales sólidos de benzo(b)fluoranteno (BbF), benzo(k)fluoranteno (BkF), benzo(a)pireno (BaP), dibenzo(a,h)antraceno (DahA), benzo(g,h,i)perileno (BghiP) e Indeno(1,2,3-c,d)pireno. Los patrones muestra utilizados en la recuperación o en el control de calidad, se preparan a partir de patrones certificados diferentes a los que se utilizan para preparar la curva.

1.1.2. Se preparan las disoluciones madre de cada uno de los seis compuestos a partir de los patrones certificados sólidos. Se toma una masa de 10,00 mg de cada analito, y se lleva a un volumen de 10,00 mL utilizando tetrahidrofurano como disolvente, para obtener una disolución de 1 000 mg/L. De estas se preparan las seis correspondientes diluciones intermedias en acetonitrilo (1,00 mL en balones de 25,00 mL) con concentraciones finales de 40 mg/L. A partir de estas últimas se prepara una dilución combinada en agua:acetonitrilo 60:40 con una concentración de hidrocarburos aromáticos policíclicos totales de 1 000 µg/L. Se utilizan alícuotas específicas para cada analito de acuerdo a la tabla 1, ya que las concentraciones finales dependen de la fluorescencia de cada analito, de manera que no vayan a saturar el detector, y se llevan a un balón de 100,00 mL. En esta última preparación, es importante añadir la alícuota en la porción de acetonitrilo y luego aforar con agua, ya que de lo contrario, los analitos podrían precipitar y la preparación sería incorrecta.

Tabla 1: Volumen de la alícuota necesaria de cada analito para preparar la disolución de 500 µg/L de HAP totales.

Analito	Alícuota mL	Concentración final µg/L
Benzo(b)fluoranteno	0,3	120

Benzo(k)fluoranteno	0,03	12
Benzo(a)pireno	0,3	120
Dibenzo(a,h)antraceno	0,6	240
Benzo(g,h,i)perileno	0,6	240
Indeno(1,2,3-c,d)pireno	0,8	320

1.1.3. Para preparar estándares a partir del patrón certificado se procede como se describe a continuación: la ampolla del patrón certificado se trasvasa cuantitativamente a un balón de 10,00 mL utilizando acetonitrilo para aforar. Cada día que se va a utilizar la curva, se prepara una dilución en agua:acetonitrilo 60:40 (0,50 mL de la disolución en acetonitrilo en un balón de 100,00 mL) y de esta última los patrones a tres niveles de concentración: bajo, medio y alto.

1.1.4. Las disoluciones madre se preparan cada 12 meses y las diluciones en agua:acetonitrilo se preparan cada vez que sea necesario. El patrón certificado se prepara cada vez que se acaba o cuando vence. Todas estas se mantienen siempre en refrigeración a 4 °C.

1.1.5. A partir de esos patrones en agua:acetonitrilo indicados en el punto 4.4.2, se prepara la curva de calibración: Se trabaja con tres o cuatro patrones dentro del ámbito de linealidad de Hidrocarburos aromáticos policíclicos totales (de 2 µg/L a 50 µg/L). El analista define con cuáles concentraciones trabaja cada día que realiza el análisis.

1.1.6. Se trabaja con un coeficiente de correlación (R2) mayor a 0,95 (de acuerdo a lo recomendado en la literatura). Si en la curva de EXCELL que se grafica en el registro correspondiente, se observa uno o más puntos desviados entonces, la curva de calibración se grafica en el programa SMAC, el cual muestra la desviación del punto a un nivel de confianza del 95 %; y de ser así, se puede eliminar el o los puntos aún cuando se tenga un coeficiente de correlación aceptado. En caso de que en el gráfico del programa SMAC, exista uno o más puntos fuera de los corredores de error, se eliminarán, aún cuando el coeficiente de correlación sea superior a 0,95. En las ocasiones en que se utilice el programa SMAC, este archivo se imprime (tanto el gráfico en el que se muestran todos los puntos, y el gráfico con los puntos eliminados), y se adjunta al registro correspondiente.

1.1.7. En el registro se indican cuáles son los límites de detección y cuantificación de cada uno de los analitos, cuándo se evaluaron inicialmente y la fecha de la reevaluación, además de la fecha de la próxima reevaluación. La fecha de esa reevaluación puede variar si existe algún cambio en las condiciones del análisis, por ejemplo: un nuevo analista ó un cambio de columna.

1.1.8. Los límites de detección y cuantificación se reevalúan de la siguiente manera: Cada analista corre una curva de calibración de 7 patrones, se grafican en el programa SMAC y se calculan los límites, el promedio de los resultados de todos los analistas, serán los nuevos límites para cada analito. Luego de aplicar los criterios definidos en 4.4.5, si quedan menos de 5 puntos en la curva de calibración, no se tomará este resultado para el cálculo del promedio. En el registro se tabulan los datos de las curvas de calibración, fecha y analista, además los datos obtenidos con el programa SMAC se imprimen y se adjuntan a este registro.

### ***Blanco***

1.1.9. El blanco del laboratorio es agua potable que luego pasa por un sistema de purificación TKA para obtener agua Tipo 2, lo que quiere decir que el agua está libre de partículas, cloro, iones inorgánicos y sustancias orgánicas disueltas. Este sistema de filtración se encuentra ubicado en el Laboratorio de Trazas del CELEQ. Esta misma agua se utiliza para preparar los patrones.

### ***Preparación inicial***

1.1.10. Se conecta la plantilla, con calentamiento, de manera que el termómetro calibrado marque una temperatura entre 32 °C y 34 °C. Este termómetro calibrado se encuentra sumergido en un vial de 15 mL con agua, colocado en el soporte al lado del vial de trabajo.

1.1.11. Se conecta y se enciende el equipo y la computadora.

1.1.12. Se registra en el cuaderno bitácora del equipo CL10-001, la hora de encendido del cromatógrafo, la firma y el trabajo a realizar.

1.1.13. En la bomba se selecciona el método #3 y en el detector de fluorescencia se selecciona el método #2.

1.1.14. En un vial de 15 mL, se colocan 6,0 mL del blanco del laboratorio, el blanco de transporte, la muestra o el patrón.

1.1.15. Se coloca en el soporte para el vial ubicado en la plantilla, la cual ya alcanzado la temperatura, y se deja 10 minutos para que alcance el equilibrio.

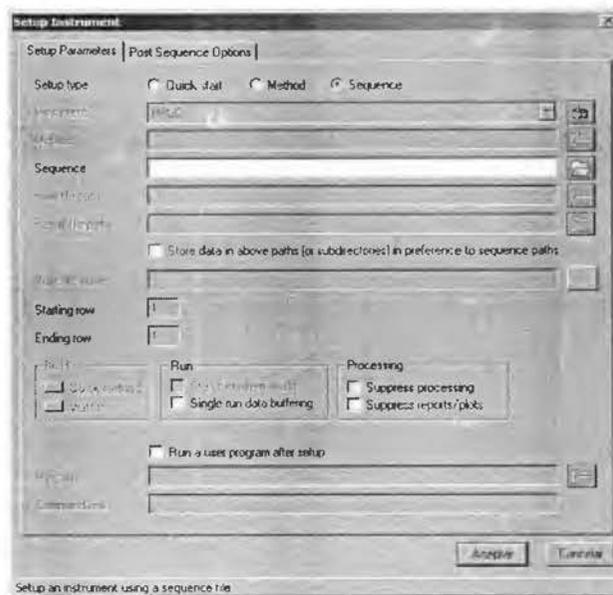
1.1.16. Se utiliza un vial para los blancos y las muestras y otro distinto para los patrones.

1.1.17. Se saca de la refrigeradora la muestra. Cada vez que se saca o regresa una muestra al refrigerador se debe tabular en el registro P-15:F-05.

1.1.18. En el escritorio, se da clic a acceso directo de EXAMPLES, en la carpeta del año y luego en la del mes, se crea una carpeta con la fecha de trabajo donde se guardarán los cromatogramas.

1.1.19. Se abre el programa TotalChrom, con el usuario correspondiente.

1.1.20. Se da clic en el icono Instrument Set Up, se despliega la siguiente pantalla:



1.1.21. Se marca **Method** y en la pestaña **Post SequenceOptions** se elimina el check, luego en la pestaña **Set up parameters**, se indica el método, en **Raw file path** y **Result file path** se indica la carpeta donde se van a guardar los cromatogramas y resultados, por lo general es: **Examples/Año/Mes/día**. En **Base file name**, a la izquierda, se da clic en la casilla **...** y se eligen los datos que desea que incluyan el nombre. Finalmente se presiona aceptar. Se espera a que en el cuadro a la derecha del programa se indique que el equipo está listo.

1.1.22. Transcurridos los 10 minutos del equilibrio, se coloca el soporte de la fibra en el vial y se sumerge la fibra en la muestra, blanco o patrón, durante 18 minutos.

1.1.23. Luego se retrae la fibra, y se coloca la interfase de extracción que se llenó previamente con 200  $\mu$ L de la disolución mezcla de extracción Acetonitrilo:Agua 60:40. Se deja extraer por 5 minutos. En este momento se le da Star a la bomba de inyección para que vaya equilibrando.

1.1.24. Se enjuaga el vial con la siguiente muestra o blanco o el otro vial con el patrón y se coloca en el soporte para el vial.

1.1.25. Al transcurrir los cinco minutos de extracción del punto 4.4.22, se posiciona la válvula en Inject, se presiona en la bomba y Start en el detector. Se deja que se limpie la fibra por 0,5 minutos y se regresa la válvula a la posición de Load. Todavía con la fibra dentro de la cámara, se inyectan 600  $\mu$ L. para terminar de limpiar la fibra. Se libera la presión de la cámara, se retrae la fibra y se saca el soporte.

1.1.26. Se repite el proceso desde el punto 4.4.21.

1.1.27. Al finalizar el día de trabajo, se carga el método #1 de la bomba y se presiona Run method para limpiar la columna.

**Anexo III. Análisis de muestras de agua de mar por Cromatografía de Gases (CG).  
Elaborado por Graciela Delgado (Delgado, 2007)**

**1.1 Materiales y Equipo**

1.1.1 Cromatógrafo de gases Hewlett Packard HP 6890 Series, con detector de ionización de llama FID, sistema criogénico para determinaciones a temperatura subambiente y columna capilar EQUITY™ -1, de 30 m x 0,25 mm x 0,25 µm; marca SUPELCO.

1.1.2 Refrigerador

1.1.3 Estufa

1.1.4 Plantilla calentadora

1.1.5 Termómetro

1.1.6 Soporte manual para fibra de microextracción en fase sólida (SPME).

1.1.7 Fibra para SPME de polidimetilsiloxano (PDMS) de 100 µm.

1.1.8 Bloque calentador para viales de 4 mL.

1.1.9 Viales color ámbar con tapa fenólica, y septum de PTFE/silicón, con una capacidad de 4 mL.

1.1.10 Septums de PTFE/silicón para viales de 4 mL.

1.1.11 Viales color ámbar con tapa de polipropileno, septum de PTFE/silicón, con una capacidad de 40 mL (29 mm x 81 mm).

1.1.12 Septums de PTFE/silicón para viales de 40 mL.

1.1.13 Sensor de temperatura del refrigerador

1.1.14 Balones aforados de varios tamaños, 25 mL a 100 mL.

1.1.15 Pipetas graduadas de varios tamaños, 1 mL a 10 mL.

1.1.16 Beakers

1.1.17 Jeringa de 5 mL.

1.1.18 Jeringa de 1 mL.

**Nota:** El equipo descrito en 4.2.15, 4.2.17 y, 4.2.18 y 4.2.19 se calibra internamente según P-14:IT-01.

## 1.2 Cuidados

### *Manejo de la muestra*

- 1.2.1.1 El muestreo se realiza conforme al P-13:IT-18.
- 1.2.1.2 Al menos 40 mL de la muestra se requiere para cada prueba.
- 1.2.1.3 Valores erróneos de concentración de hidrocarburos pueden ser obtenidos si las precauciones no son tomadas para evitar pérdidas o contaminación de materiales volátiles. No abra contenedores innecesariamente, para prevenir pérdida de volátiles. Almacene las muestras en refrigeración a una temperatura por debajo de los 4 °C hasta el momento del análisis.
- 1.2.1.4 No almacene muestras en recipientes permeables a gases ya que el material volátil puede sufrir difusión a través de las paredes. Los contenedores agrietados no son fuentes confiables de resultados válidos.
- 1.2.1.5 El análisis debe realizarse antes de 14 días naturales o 10 días hábiles posteriores a la recolección de la muestra.
- 1.2.1.6 Las pruebas deben realizarse en un cuarto libre de contaminantes: gases, vapores u olores fuertes. Si se da esta situación no se puede realizar la prueba, hasta asegurarse que se han eliminado estos contaminantes.
- 1.2.1.7 Para evitar la contaminación de los blancos o las muestras durante la preparación de los patrones, se recomienda prepararlos en un área separada de donde se está llevando a cabo la microextracción.
- 1.2.1.8 Si se tiene duda de si los septum que se están utilizando pueden haberse intercambiado (el del patrón madre en agua, con el del vial del blanco o con el del vial de los patrones), se debe cambiar el septum y utilizar uno nuevo.
- 1.2.1.9 Si la muestra da positivo al realizar el análisis de picos, al día siguiente se debe repetir el análisis utilizando el segundo vial con la réplica de la muestra.

## 1.3 Procedimiento

### *Optimización de parámetros y validación del método*

En el Trabajo Final de Graduación de Delgado, G. y en el anexo 2 de este Instructivo Técnico se optimizaron los siguientes parámetros:

- g. Tipo y espesor de la fibra

- h. Tiempo de la microextracción
  - i. Temperatura de la microextracción
  - j. Tiempo de desorción
- Luego se validaron los parámetros de desempeño analítico del método:

- d. Límite de detección y de cuantificación
- e. Linealidad
- f. Veracidad y precisión

Además se definió cómo se calcularían los límites de detección y cuantificación, y cuál es el porcentaje del coeficiente de variación aceptable para este análisis.

#### *Curva de calibración*

- 1.3.1 Los estándares se preparan a partir de patrones secundarios de hidrocarburos alifáticos y aromáticos: diesel, MTBE y BTEX.
- 1.3.2 El patrón secundario de diesel se prepara cada año, a partir de la mezcla de varias muestras que nos proporciona el Laboratorio de Hidrocarburos del CELEQ, y que provienen de los planteles de RECOPE o de las estaciones de servicio. Esta mezcla se prepara de la siguiente manera: A partir de tres o cuatro muestras diferentes, se toman alícuotas iguales y se colocan en un recipiente de vidrio, la cual se mantiene en refrigeración por debajo de los 4 °C.
- 1.3.3 El vapor de cabeza (headspace) de este patrón secundario se inyecta cada vez que se prepara una nueva mezcla para utilizar como patrón secundario, para compararlo con las referencias bibliográficas y comprobar que su comportamiento cromatográfico sea el mismo siempre; y así poder determinar el ámbito de tiempo de retención característico para el diesel.
- 1.3.4 En el caso del BTEX y el MTBE, los patrones secundarios utilizan un factor de corrección a partir de la ronda interlaboratorial, el cual se obtiene de la siguiente manera: Utilizando la curva de calibración del ensayo y con la concentración promedio de la muestra se obtiene un área teórica. Para obtener el factor de corrección se divide el área experimental entre la teórica; y este factor se multiplica por el área obtenida para los patrones secundarios en las curvas de calibración de rutina. Además se cuenta con patrones de referencia certificados, por lo que los factores de corrección se reevalúan cuando se cambie alguno de los patrones secundarios. Para esta reevaluación se corre una curva de calibración (de cuatro o cinco patrones) con los patrones certificados, y se corre el patrón

secundario como una muestra. Estos datos se tabulan en el P-13:IT-10:F-08, con el cual se obtiene automáticamente el factor de corrección.

- 1.3.5 En el P-13:IT-10:F-10, se tabulan los factores de corrección obtenidos en la reevaluación para cada analito para calcular el promedio por analista. En el caso que el coeficiente de variación de los datos de cada analista sea mayor del 20 %, para descartar alguno de los factores obtenidos, se sigue el siguiente criterio: el rechazo máximo y el rechazo mínimo son los límites de confianza de la media al 95 % ( $\bar{x}_{prom} \pm t_{n-1}(s/(n)^{1/2})$ ), si el valor se encuentra por arriba del rechazo máximo se elimina, si está por debajo del rechazo mínimo se elimina. Si no se puede aplicar algunas de las opciones anteriores, se elimina el dato que tenga una mayor diferencia con el promedio y que además, al eliminarlo se encuentre por arriba del nuevo rechazo máximo o por debajo del nuevo rechazo mínimo. Este promedio se tabula por analista y se obtiene un promedio general, el cual debe tener un CV menor del 20 % y es el factor de corrección que se utiliza. El factor de corrección se reevaluará cada vez que se cambie alguno de los patrones secundarios.
- 1.3.6 Para las curvas de calibración de rutina (utilizando los patrones secundarios) se preparan tres disoluciones madre: una de diesel, otra de MTBE, y una combinada de benceno, tolueno, etilbenceno, m-xileno, o-xileno y p-xileno. Las disoluciones madre se preparan pesando aproximadamente 0,25 g de cada hidrocarburo y llevando a un volumen de 25,00 mL en propanol. De estas se preparan las tres correspondientes diluciones en metanol (0,25 mL en balones de 25,00 mL); y a partir de esta última se prepara una dilución combinada en agua (0,50 mL de cada disolución intermedia en un mismo balón de 100,00 mL).
- 1.3.7 Con los patrones certificados se procede como se describe a continuación: la ampolla del patrón certificado se trasvasa cuantitativamente a un balón de 50,00 mL utilizando metanol para aforar. Cada día que se va a utilizar la curva, se prepara una dilución en agua (1,00 mL de la disolución en metanol en un balón de 100,00 mL).
- 1.3.8 A partir de esos patrones en agua se prepara la curva de calibración: Se trabaja con tres o cuatro patrones dentro del ámbito de linealidad (de 5 µg/L a 100 µg/L). El analista define con cuáles concentraciones trabaja cada día que realiza el análisis. Como la cristalería se calibra internamente en el laboratorio, se deben aplicar valores de volúmenes corregidos para calcular las concentraciones reales, estos valores se obtienen de la tabla del P-14:IT-01:A-01, y se introducen en los registros P-13:IT-10:F-05 y P-13:IT-10:F-06, dependiendo de las pruebas que se vayan a hacer.
- 1.3.9 Las disoluciones madre se preparan cada tres meses, y las diluciones en metanol se

preparan cada vez que sea necesario. El patrón certificado se prepara cada vez que se acaba. Todas estas se mantienen siempre en refrigeración por debajo de los 4 °C.

- 1.3.10 Se trabaja con un coeficiente de correlación ( $R^2$ ) mayor a 0,95 (de acuerdo a lo recomendado en la literatura). Si en la curva de EXCELL que se grafica en el registro correspondiente, se observa(n) un(os) punto(s) desviado(s) entonces, la curva de calibración se grafica en el programa SMAC, el cuál muestra si existe algún(os) punto(s) de la curva desviado a un nivel de confianza del 95 %; si es necesario se elimina el (los) punto(s) desviado(s) para obtener el coeficiente de correlación aceptado. En las ocasiones en que se utilice el programa SMAC, este archivo se imprime (tanto el grafico en el que se muestran todos los puntos, y el gráfico con los puntos eliminados), y se adjunta al registro correspondiente.
- 1.3.11 En el registro P-13:IT-10:F-07 se indican cuáles son los límites de detección y cuantificación de cada uno de los analitos, cuándo se evaluaron inicialmente y la fecha de la reevaluación, además de la fecha de la próxima reevaluación. La fecha de esa reevaluación puede variar si existe algún cambio en las condiciones del análisis, por ejemplo: un nuevo analista ó un cambio de columna.
- 1.3.12 Los límites de detección y cuantificación se reevalúan de la siguiente manera: Cada analista corre una curva de calibración utilizando el patrón certificado (que al menos debe tener 5 puntos), en el registro P-13:IT-10:F-08 se tabulan los datos de las curvas de calibración, fecha y analista, además se grafican en el programa SMAC y se calculan los límites, el promedio de los resultados de todos los analistas, serán los nuevos límites para cada analito. Luego de aplicar los criterios definidos en 4.4.10, si quedan menos de 5 puntos en la curva de calibración, no se tomará este resultado para el cálculo del promedio. Los datos y gráficos obtenidos con el programa SMAC se registran en el P-13:IT-10:F-11.
- 1.3.13 El ámbito de linealidad se evaluará corriendo cada analista una curva de calibración, de al menos 5 puntos utilizando el patrón certificado, dentro del ámbito de 5 µg/L y 100 µg/L. Los datos se tabulan en el registro P-13:IT-10:F-08 y se siguen los criterios establecidos en el apartado 4.4.10 para definir la linealidad de la curva. Se comparan los resultados de los analistas y si existe duda en alguno, el analista lo repetirá.

#### ***Blanco***

- 1.3.14 El blanco del laboratorio es agua potable que luego pasa por un sistema de purificación TKA para obtener agua Tipo 2, lo que quiere decir que el agua está libre de partículas, cloro, iones inorgánicos y sustancias orgánicas disueltas. Este sistema de filtración se

encuentra ubicado en el Laboratorio de Trazas del CELEQ. Esta misma agua se utiliza para preparar los patrones.

#### *Preparación inicial*

- 1.3.15 Se conecta la plantilla, con calentamiento, de manera que el termómetro calibrado marque una temperatura entre 47 °C y 49 °C. Este termómetro calibrado se encuentra sumergido en un vial de 4 mL con agua, colocado en el soporte al lado del vial de trabajo.
- 1.3.16 Se debe verificar en el panel de conexión de los gases que exista el flujo de gas adecuado para el equipo, y una vez a la semana se debe tabular en el registro P-14:F-10 el estado de los gases.
- 1.3.17 Se conecta y se enciende el equipo y la computadora.
- 1.3.18 Se registra en el cuaderno bitácora correspondiente del equipo CL10-014, la hora de encendido del cromatógrafo, la firma y el trabajo a realizar.
- 1.3.19 En un vial de 4 mL, se colocan 1,6 mL del blanco del laboratorio, el blanco de transporte, la muestra o el patrón.
- 1.3.20 Se coloca en el soporte para el vial ubicado en la plantilla, la cual ya alcanzado la temperatura, y se deja 25 minutos para que alcance el equilibrio.
- 1.3.21 Se utiliza un vial para los blancos y las muestras y otro distinto para los patrones.
- 1.3.22 Se saca de la refrigeradora la muestra. Cada vez que se saca o regresa una muestra al refrigerador se debe tabular en el registro P-15:F-05.
- 1.3.23 En la computadora: En el menú **INICIO** de la barra de tareas seleccionar **Inicio / Programas / ChemStations /** y se selecciona el instrumento apropiado **Instrument 1 OnLine**
- 1.3.24 Después de un rato, se mostrará la pantalla de apertura. En la pantalla abierta se desplegará la vista de Método y Control de corrida (Method and Run Control), en el modo de menú corto.
- 1.3.25 Se carga el método: **HCBTXV3.M**
- 1.3.26 En la opción de **Run Control**, se abre la ventana de Sampleinfo. En esta ventana, se deben cambiar las opciones de **Operator Name**, **Subdirectory** (la fecha del día que corresponda, bajo el formato *día-mes-año*), **Prefix** (para el análisis de agua se escribe **AGUA**), **counter** (siempre debe iniciar en **0000**), **SampleName** (Se escribirá: *Agua* cuando se vaya a inyectar un blanco o una muestra, y *Patrón* cuando se trate de un estándar) y si es necesario se añadirá un comentario en el espacio de **Comment** (por ej: *Muestra tratada por SPME de 15 minutos y headspace*).
- 1.3.27 En el registro P-13:IT-10:F-05 se escribe la fecha, se especifica el subdirectorío en que se

van a guardar los cromatogramas, y se escribe el número de archivo y la descripción correspondiente.

### **Análisis**

- 1.3.28 Se posiciona la fibra en 2,4 cm en la escala del soporte.
- 1.3.29 Después de alcanzado el equilibrio de acuerdo al punto 4.4.20, se introduce la fibra en el vial y se saca del soporte hasta la posición más baja de la ranura lateral del soporte, sin que llegue a sumergirse en la muestra, y se deja extrayendo por 15 minutos.
- 1.3.30 Se introduce la fibra en el soporte hasta la posición más alta de la ranura lateral del soporte, se saca el soporte del vial, y se baja la fibra a 1,6 cm en la escala del soporte.
- 1.3.31 Cuando el equipo esté listo para la inyección, se verá en la pantalla la palabra **Ready** en dos recuadros con fondo verde.
- 1.3.32 En este momento, se presiona la tecla **Prep Run**, colocada en el panel de control del equipo. Se espera a que el equipo indique que esté listo, se introduce la fibra en el inyector del cromatógrafo de gases, se saca del soporte hasta la posición más baja de la ranura lateral del soporte, se oprime inmediatamente a la inyección la tecla **Start**, colocada en el panel de control del equipo.
- 1.3.33 Se deja la fibra 7 minutos en el inyector para que se produzca la desorción, se introduce la fibra en el soporte hasta la posición más alta de la ranura lateral del soporte y luego se saca del inyector.
- 1.3.34 Si se va a utilizar el mismo vial de 4 mL, se enjuaga tres veces con la siguiente disolución a inyectar, o se utiliza el otro vial, según sea lo que se vaya a inyectar.
- 1.3.35 Se coloca en la plantilla durante 25 minutos para que se alcance el equilibrio, transcurrido este tiempo se repite desde el paso 4.4.29 hasta 4.4.34.
- 1.3.36 Se abre la ventana de **Data Análisis** y se identifican los picos correspondientes al MTBE y al BTEX.
- 1.3.37 En el registro P-13:IT-10:F-05 se digita el área de los picos correspondientes a cada uno de los componentes del BTEX y del MTBE.
- 1.3.38 En la ventana de **Data Análisis** hacer clic en la casilla a mano derecha que tiene una x color rojo y luego en el cromatograma marcar con el mouse los picos que están antes de 10 minutos y posterior a los 23 minutos para borrarlos.
- 1.3.39 Se abre el reporte haciendo doble clic en la casilla a mano derecha que tiene una lupa.
- 1.3.40 En el registro P-13:IT-10:F-05 se digita el área total (área en el ámbito entre 10 min y 23 minutos).
- 1.3.41 Los cromatogramas no se imprimen, quedan guardados en el disco duro de la computadora

de trabajo, y se realiza un respaldo de estos cada mes.

- 1.3.42 Se repiten los pasos anteriores hasta completar la inyección: de los tres patrones de la curva de calibración y las muestras, además de cualquier réplica que sea conveniente realizar.
- 1.3.43 Cuando se haya terminado el análisis se debe cargar el método: *APAGADO3.M*
- 1.3.44 Se cierra el programa.
- 1.3.45 Luego de que el cromatógrafo se enfría (cuando la temperatura del horno llegue a 25 °C), se apaga y se desconecta.
- 1.3.46 Se registra el cierre de la sesión en la libreta correspondiente.

### ***Cálculos***

- 1.3.47 En el registro P-13:IT-10:F-05, se tabulan los datos para calcular la concentración de los patrones, y se tabulan las áreas de los patrones, blancos y muestras.
- 1.3.48 A partir de la curva de calibración y con los datos del área total del cromatograma de la muestra, en el registro P-13:IT-10-F-05 se calcula el resultado de la concentración de hidrocarburos totales, de igual forma, a partir de las curvas de calibración y con los datos del área de cada uno de los picos característicos del BTEX y del MTBE del cromatograma de la muestra, el resultado de la concentración de BTEX y MTBE y las correspondientes incertidumbres.
- 1.3.49 Se realizará análisis de picos en la determinación de hidrocarburos totales cuando el resultado obtenido a partir de la curva de calibración indique que la muestra tiene un nivel detectable o cuantificable de hidrocarburos. Esto para corroborar el resultado a partir de la cuantificación de los picos característicos del diesel.
- 1.3.50 Se imprime el registro P-13:IT-10:F-05, la página correspondiente al análisis de picos sólo se imprime cuando se efectúe dicho análisis y los cálculos de incertidumbre de BTEX y MTBE sólo se imprimen cuando se deba reportar un resultado cuantificable. Se archiva en el AMPO rotulado como: “Determinación de hidrocarburos en agua HOJAS DE CÁLCULO”.

### ***Lavado de cristalería***

- 1.3.51 Todo el material para el muestreo y la cristalería utilizada en el análisis se lavan en general, de acuerdo al método 524.2 de la EPA, sección 6.1, con algunas modificaciones.
  - a) Se sumerge toda la cristalería o septum en una disolución de detergente Alconox al 1 %, por una hora, se puede utilizar baño ultrasónico o se utiliza el Alconox caliente.
  - b) Luego de ese tiempo se enjuaga con agua corriente y luego con agua destilada.

- c) Se coloca en un recipiente y se deja secar al aire por uno o dos días, en un lugar donde no exista la posibilidad de contaminación con compuestos orgánicos.
- d) Cuando el material ya está casi o completamente seco, se coloca en la estufa a 110 °C por una hora, para asegurar la completa limpieza al eliminar cualquier compuesto orgánico volátil presente.
- e) Después de la hora, se saca, se deja enfriar y se guarda en el lugar asignado para eso.

### ***Disposición de las muestras***

1.3.52 Las muestras ya analizadas se descartan después de ser reportado el resultado, registrando la fecha, hora y persona que realiza el descarte, en el registro P-15:F-05.

1.3.53 Las muestras en las que no se detecta presencia de hidrocarburos se desechan por el drenaje.

1.3.54 Las muestras en las que se constate la presencia de hidrocarburos, se extraen con algún solvente. La capa acuosa se evapora y el solvente se vierte en recipiente para desechos de hidrocarburos.

### **Evaluación de la Incertidumbre**

Se considera que la incertidumbre está dada por la incertidumbre asociada a la repetibilidad o a la curva de calibración. En el anexo P-13:IT-10-A-01 de este IT, se demuestra como las otras contribuciones a la incertidumbre no son significativas.

### **Control de calidad**

El control de calidad se hará una vez cada tres meses midiendo el coeficiente de variación (% CV) de la repetibilidad del analista, derivado de inyectar cinco veces el mismo día, un mismo patrón de concentración definida por el analista, estos datos se tabulan en el P-13:IT-10:F-09. El promedio del % CV de cada analista, obtenido luego de aplicar el criterio de rechazo del punto 4.4.5, se grafica en el P-13:IT-10:F-02 contra la fecha de la determinación. El límite de control es un CV de 20 %, valor ya establecido para este análisis por Delgado G. La medición de la repetibilidad del analista y la reproducibilidad entre analistas se utilizan como medida del desempeño en el análisis. En el P-13:IT-10:F-02 también se graficará la repetibilidad de cada analista en cada analito.

Además para el análisis de hidrocarburos totales se realizan pruebas trimestrales de recuperación de muestras preparadas a partir del patrón secundario, cómo se explica a continuación: Se preparan dos curvas de calibración de rutina, según 4.4.6 y 4.4.8, a partir de

dos disoluciones distintas de 500 µg / L; una de las curvas se toma como la de trabajo, y la otra son las muestras. Se tabulan los datos en el registro P-13:IT-10:F-04 siguiendo el criterio establecido en 4.4.10, y se hace el respectivo análisis de picos, y en el gráfico de control P-13:IT-10:F-03 se grafica el porcentaje de recuperación obtenido de la curva de calibración graficada a partir de los puntos característicos del diesel, en el cual se han fijado los límites de control a partir de datos históricos.

Para el análisis de BTEX y MTBE como se cuenta con un patrón certificado, el control de calidad se realiza trimestralmente de la siguiente manera:

- a. Se corre una curva de rutina de cuatro patrones preparada como se describe en 4.4.6 y 4.4.8.
- b. Se corren dos o tres muestras preparadas a partir del patrón certificado según 4.4.7 y 4.4.8.
- c. Se calcula la concentración de las muestras introduciendo el valor del área en el registro P-13:IT-10:F-06, se calcula automáticamente la concentración original del patrón, aplicando las correspondientes diluciones. La hoja de cálculo promedia el valor de las réplicas y este valor se introduce en el gráfico de control P-13:IT-10:F-12. En el cual la línea central está definida como el valor verdadero reportado en los certificados de los materiales de referencia, y los límites de control: a 95 % de confianza, los límites de prevención o aviso (LWL y UWL) a  $\pm 6\sigma$ ; y a 99 % de confianza, límites de acción o control (UCL y LCL) a  $\pm 10\sigma$ . Donde  $\sigma$  es la desviación estándar definida también en los certificados de calibración.

Se considerará que el análisis está fuera de control estadístico si se dan alguna de las siguientes situaciones:

- 2 puntos consecutivos fuera de los límites de acción.
- 7 puntos consecutivos de un mismo lado de la línea central.
- 7 puntos consecutivos en orden ascendente o descendente.
- 3 puntos consecutivos cerca de uno de los límites de control.

#### **Riesgo de la operación o ensayo**

Los controles y cuidados cuando se manipula el cromatógrafo de gases.

#### **Observaciones**

Este método cromatográfico es aplicable para la determinación de hidrocarburos en muestras de agua que no presenten dos fases, es decir en muestras de agua no saturadas.

**Anexo IV. Información suministrada por el Instituto meteorológico Nacional para los factores ambientales de Playa Blanca, Punta Morales, durante las campañas de muestreo**

INSTITUTO METEOROLOGICO NACIONAL DEPARTAMENTO DE INFORMACION HUMEDAD MAXIMA Y MINIMA DIARIAS (%) ESTACION: 78027 PUNTARENAS PERIODO: 2012, 2013					
FECHA	MAXIMA (%)	MINIMA (%)	FECHA	MAXIMA (%)	MINIMA (%)
28/05/2012	90	62	04/02/2013	85	45
29/05/2012	89	65	05/02/2013	91	59
30/05/2012	89	66	06/02/2013	87	60
31/05/2012	94	66	07/02/2013	86	60
01/06/2012	91	70	08/02/2013	86	49
02/06/2012	95	61	09/02/2013	83	50
03/06/2012	90	67	10/02/2013	85	58
04/06/2012	90	73	11/02/2013	83	41
05/06/2012	93	67	12/02/2013	88	46
06/06/2012	92	71	04/02/2013	85	45
08/10/2012	91	72	05/02/2013	91	59
09/10/2012	93	75	06/02/2013	87	60
10/10/2012	91	67	07/02/2013	86	60
11/10/2012	90	71	08/02/2013	86	49
12/10/2012	93	64	09/02/2013	83	50
13/10/2012	91	66	10/02/2013	85	58
14/10/2012	93	72	11/02/2013	83	41
15/10/2012	93	76	12/02/2013	88	46
16/10/2012	93	76			

**Figura 24. Humedad máxima y mínima diarias como referencia de Playa Blanca en Punta Morales, información de la estación 78027 ubicada en Puntarenas. Información suministrada por el Instituto Meteorológico Nacional**

**INSTITUTO METEOROLOGICO NACIONAL**  
**DEPARTAMENTO DE INFORMACION**  
**TEMPERATURA MAXIMA Y MINIMA DIARIAS (°C)**  
**ESTACION: 78027 PUNTARENAS**  
**PERIODO: 2012, 2013**

FECHA	MAXIMA(°C)	MINIMA(°C)
28/05/2012	30,4	24,9
29/05/2012	30,2	24,1
30/05/2012	30,1	25,8
31/05/2012	30,0	24,8
01/06/2012	29,5	23,8
02/06/2012	29,9	23,6
03/06/2012	29,1	24,6
04/06/2012	29,2	24,6
05/06/2012	30,1	24,0
06/06/2012	29,6	24,1
08/10/2012	28,0	23,4
09/10/2012	26,8	23,1
10/10/2012	29,3	24,2
11/10/2012	28,9	23,9
12/10/2012	29,6	23,5
13/10/2012	29,0	23,8
14/10/2012	28,8	23,8
15/10/2012	28,1	23,7
16/10/2012	27,7	23,5

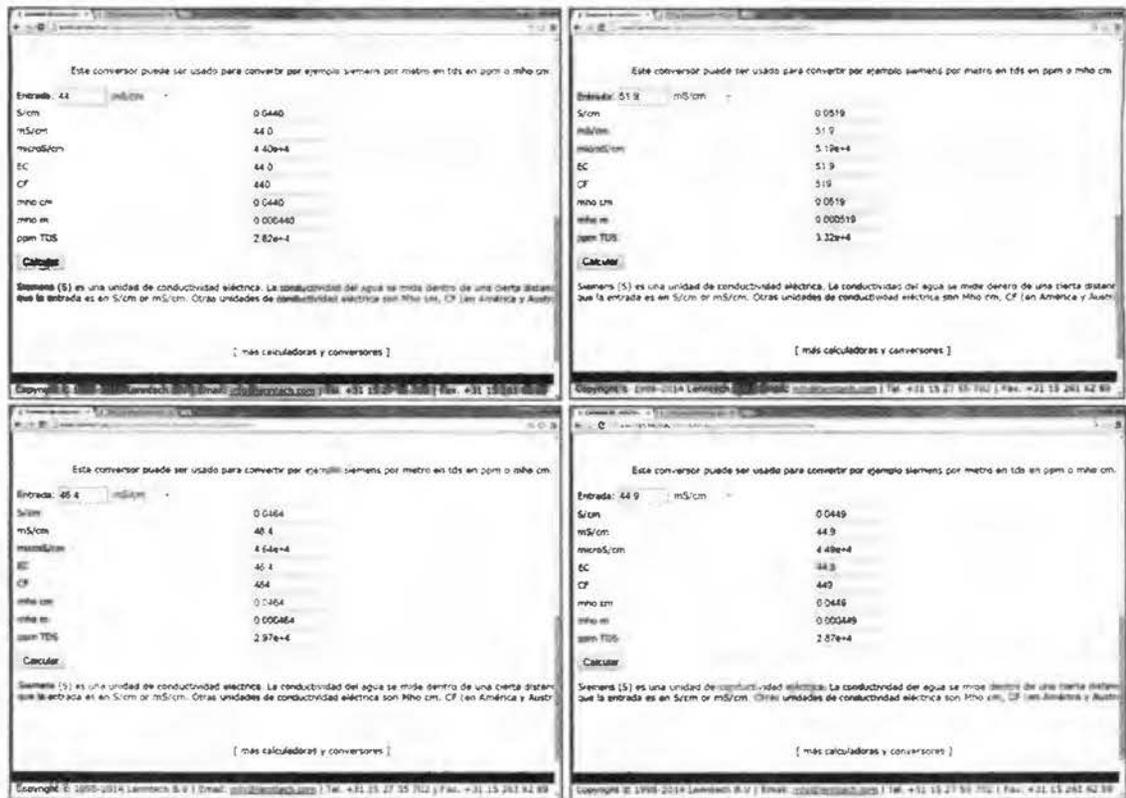
FECHA	MAXIMA(°C)	MINIMA(°C)
04/02/2013	35,4	27,9
05/02/2013	33,1	26,2
06/02/2013	32,4	25,8
07/02/2013	32,9	25,5
08/02/2013	32,4	25,0
09/02/2013	32,1	26,9
10/02/2013	32,1	25,8
11/02/2013	32,7	23,2
12/02/2013	31,5	23,4

**Figura 25. Temperatura máxima y mínima (°C) diarias como referencia de Playa Blanca en Punta Morales, información de la estación 78027 ubicada en Puntarenas. Información suministrada por el Instituto Meteorológico Nacional**

INSTITUTO METEOROLOGICO NACIONAL				
DEPARTAMENTO DE INFORMACION				
LLUVIA DIARIA (mm)				
ESTACION: 78027 PUNTARENAS				
PERIODO: 2012, 2013				
AÑO 2012				
Dia/Mes	MAY	JUN	OCT	
1		2,3		
2		2,6		
3		2,1		
4		1,8		
5		1,6		
6		1,4	0,0	
7			1,5	
8			4,4	
9			0,0	
10			0,0	
11			1,4	
12			0,1	
13			5,9	
14			8,6	
15			0,2	
16			1,1	
17				
26				
27				
28	1,6			
29	2,1			
30	0,9			
31	2,8			
AÑO 2013				
DIA/MES	FEB			
1				
2				
3				
4	0,0			
5	0,0			
6	0,0			
7	0,0			
8	0,0			
9	0,0			
10	0,0			
11	0,0			
12	0,0			
13				
14				
15				
16				
17				
26				
27				
28				
29				
30				
31				

Figura 26. Lluvia diaria (mm) como referencia de Playa Blanca en Punta Morales, información de la estación 78027 ubicada en Puntarenas. Información suministrada por el Instituto Meteorológico Nacional

**Anexo V. Muestra de las hoja de cálculo utilizadas para la relación entre STD y CE.  
Hoja de cálculo brindada por Lenntech.**



**Figura 27. Muestra de las hoja de cálculo utilizadas para la relación entre STD y CE. Hoja de cálculo brindada por Lenntech (Lenntech, 2014).**

**Anexo VI. Límite de detección y de cuantificación para la determinación de BTEX y MTBE mediante CG-FID y CLAR**

**Cuadro XVIII. Límite de detección y de cuantificación para la determinación de BTEX y MTBE mediante CG-FID y CLAR de la Campaña I realizada en junio del 2012**

Analito	Límite de detección	Límite de cuantificación
Hidrocarburos totales ( $\mu\text{g/L}$ )	0,6	1,2
Benceno (mg/L)	1,7	3,4
Tolueno	0,5	1
Etilbenceno	0,6	1,2
m/p-xileno	1,3	2,6
o-xileno	0,7	1,4
Hidrocarburos poliaromáticos	0	0

**Cuadro XIX. Límite de detección y de cuantificación para la determinación de BTEX y MTBE mediante CG-FID y CLAR de la Campaña II realizada en octubre del 2012**

Analito	Límite de detección	Límite de cuantificación
Hidrocarburos totales ( $\mu\text{g/L}$ )	0,5	1
Benceno (mg/L)	0,5	1
Tolueno	0,7	1,4
Etilbenceno	3,7	7,4
m/p-xileno	7,5	15
o-xileno	4	8
Hidrocarburos poliaromáticos	0	0

**Anexo VII. Análisis de composición de sedimentos realizado por Centro de Investigaciones Agronómicas de la Universidad de Costa Rica para las muestras de la Campaña II y Campaña III**

LABORATORIO DE RECURSOS NATURALES						
REPORTE DE ENSAYO						
CIA-SC12-03-101-R01 (v1)						
<b>Nº DE REPORTE: 50757</b>						
USUARIO:	ANDRES ZAMORA QUIRÓS					
SUBCLIENTE:						
RESPONSABLE:	ANDRES ZAMORA QUIRÓS					
CORREO:	andreschem29@gmail.com					
TELÉFONO:	8485-5169					
FAX:						
PROVINCIA:	PUNTARENAS			ANÁLISIS:	TEXTURA	
CANTÓN:	MONTES DE ORO			FECHA RECEPCIÓN:	09-06-2014	
LOCALIDAD:	CHOMES, PLAYA BLANCA			EMISIÓN DE REPORTE:	13-06-2014	
CULTIVO:	SIN CULTIVO			Nº DE MUESTRAS TOTAL:	8	
				PÁGINA:	1/1	
ANÁLISIS DE TEXTURA EN SUELOS						
ID USUARIO	ID LAB	%			Clase Textural	
		ARENA	LIMO	ARCILLA		
PM-1-1	RN-1898-14	42	24	34	FRANCO ARCILLOSO	
PM-1-2	RN-1899-14	44	23	33	FRANCO ARCILLOSO	
PM-2-1	RN-1900-14	45	25	30	FRANCO ARCILLOSO	
PM-2-2	RN-1901-14	37	25	38	FRANCO ARCILLOSO	
PM-3-1	RN-1902-14	50	20	30	FRANCO ARCILLO ARENOSO	
PM-3-2	RN-1903-14	62	13	25	FRANCO ARCILLO ARENOSO	
PM-4-1	RN-1904-14	62	13	25	FRANCO ARCILLO ARENOSO	
PM-4-2	RN-1905-14	62	18	20	FRANCO ARENOSO	
<p>Ing. Agr. Rafael Mata Chinchilla M.Sc. COORDINADOR DEL LABORATORIO DE RECURSOS NATURALES</p> <p>1. Resultados expresados como porcentajes. 2. Procedimiento de textura de acuerdo al CIA-SC09-03-P02 Determinación de Textura en Suelos por el Método del Hidrómetro de Bouyoucos. 3. El muestreo es responsabilidad del usuario. 4. Los resultados se refieren únicamente a las muestras ensayadas. 5. El tiempo de custodia es de 45 días a partir del ingreso de la muestra. 6. El Reporte de Ensayo válido es el original, firmado y sellado, cuando el usuario solicita el envío del reporte por correo electrónico o fax libera al Laboratorio de resguardar la integridad y confidencialidad e sus resultados</p>						

**Figura 28. Análisis de textura en suelos para las muestras de sedimentos de Playa Blanca de Punta Morales, CR.**