

**UNIVERSIDAD CENTRAL DE VENEZUELA  
FACULTAD DE CIENCIAS  
POSTGRADO EN QUÍMICA**



***“ESTUDIO DE LA FORMACIÓN Y ROMPIMIENTO DE  
EMULSIONES PARA EL ANÁLISIS DE METALES  
TRAZAS EN MUESTRAS DE CRUDOS EXTRAPESADOS  
MEDIANTE ICP-MS”***

Tesis Doctoral presentada ante la ilustre  
Universidad Central de Venezuela por el  
Licenciado Henry Aaron Wuyke Morales para  
optar al título de Doctor en Ciencias, Mención  
Química  
Tutora: Dra. Llinaber Feo

**Caracas – Venezuela  
Marzo 2017**



UNIVERSIDAD CENTRAL DE VENEZUELA  
FACULTAD DE CIENCIAS  
COMISIÓN DE ESTUDIOS DE POSTGRADO



Comisión de Estudios  
de Postgrado

VEREDICTO

Quienes suscriben, miembros del jurado designado por el Consejo de la Facultad de Ciencias y el Consejo de Estudios de Postgrado de la Universidad Central de Venezuela, para examinar la **TESIS DOCTORAL** presentada por: **HENRY AARON WUYKE MORALES**, Cédula de identidad N° 17.442.261, bajo el título "ESTUDIO DE LA FORMACION Y ROMPIMIENTO DE EMULSIONES PARA EL ANALISIS DE METALES TRAZAS EN CRUDOS EXTRAPESADOS MEDIANTE ICP-MS", a fin de cumplir con el requisito legal para optar al grado académico de **DOCTOR EN CIENCIAS, MENCIÓN QUÍMICA**, dejan constancia de lo siguiente:

1.- Leído como fue dicho trabajo por cada uno de los miembros del jurado, se fijó el día 08 de Marzo de 2017 a la 1:00 PM., para que el autor lo defendiera en forma pública, lo que éste hizo en Salón Imulsión, 2º Piso, Escuela de Química, mediante un resumen oral de su contenido, luego de lo cual respondió satisfactoriamente a las preguntas que le fueron formuladas por el jurado, todo ello conforme con lo dispuesto en el Reglamento de Estudios de Postgrado.

2.- Finalizada la defensa del trabajo, el jurado decidió **aprobarlo**, por considerar, sin hacerse solidario con la ideas expuestas por el autor, que se ajusta a lo dispuesto y exigido en el Reglamento de Estudios de Postgrado.

Para dar este veredicto, el jurado estimó que el presente trabajo de investigación es un aporte a los estudios de nuevas aplicaciones de los sistemas emulsionados para la determinación de metales traza en crudos pesados empleando el plasma inductivamente acoplado con espectrometría de masa

*Handwritten signature*

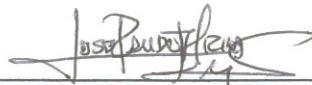
*Handwritten signature*


*emd*

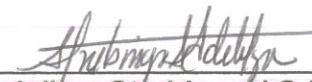
*Handwritten signature*

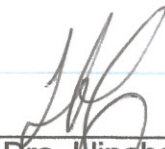
En fe de lo cual se levanta la presente ACTA, a los 08 días del mes de Marzo del año 2017. Conforme a lo dispuesto en el Reglamento de Estudios de Postgrado, actuó como Coordinador del jurado la Dra. Llinaber Feo.

  
Dr. Vincent Piscitelli / C.I. 10.527.575  
Universidad Central de Venezuela  
Jurado designado por el Consejo  
de la Facultad

  
Dr. José R. Chirinos / C.I. 6.861.898  
Universidad Central de Venezuela  
Jurado designado por el Consejo  
de la Facultad

  
Dra. Eva Lucena / C.I. 17.456.525  
Universidad Simón Bolívar  
Jurado designado por el Consejo  
de Estudios de Postgrado

  
Dra. Adeliza Strubinger/ C.I. 11.038.494  
Universidad Simón Bolívar  
Jurado designado por el Consejo  
de Estudios de Postgrado

  
Dra. Llinaber Feo  
Tutor/ Cl. 13.533.667  
PDVSA INTEVEP



VP/JCH/EL/AS/LLF/ba.-

## RESUMEN

Se evaluó la Extracción por Formación y Rompimiento de Emulsiones (EFRE) en la determinación de As, Ba, Cd, Co, Cr, Mn, Mo, Pb y Zn en crudos pesados y extrapesados venezolanos mediante ICP-MS. Se estudiaron diversos parámetros en el desarrollo del método. En el procedimiento optimizado se agregan 0,5 mL de xileno a 0,5 g de la muestra de crudo en un vial de 5 mL, posteriormente se agregan 3 g de la solución emulsificante que contiene 10% m/v Tritón X-100 y 20% v/v HNO<sub>3</sub>, se agita la mezcla por 30 min y se lleva a 90 °C para romper la emulsión, luego se toma 1 g del extracto acuoso, se agrega Rh como estándar interno y se diluye a 3 g para su análisis por ICP-MS. Sin embargo, este procedimiento mostró tener un efecto matriz en la determinación de As debido a la migración del Triton X-100 hacia la fase orgánica en la etapa de rompimiento de emulsión. Por lo tanto, para el As la condición óptima es realizar el rompimiento por centrifugación o utilizar un estándar interno como el Se, de similar masa atómica y potencial de ionización. La veracidad fue evaluada por comparación con los valores certificados de As y Co del material de referencia SRM 1634c sin mostrar diferencias significativas de acuerdo a la prueba T de Student con un nivel de significancia de  $\alpha = 0,05$ . La metodología EFRE fue comparada con la Introducción Directa de Emulsiones (IDE) en el análisis de 7 muestras de crudos pesados y extrapesados sin diferencias significativas para la mayoría de los elementos de acuerdo a la prueba de rangos con signo de Wilcoxon, solo se observó diferencias en Mo y Zn. La precisión del método EFRE se encuentra entre 1 y 15 % expresada como desviación estándar relativa. Los límites de detección obtenidos están entre 0,13 y 0,60  $\mu\text{g L}^{-1}$  y los límites de cuantificación prácticos tomando en cuenta la dilución total realizada a la muestra en el tratamiento están entre 8 y 36  $\mu\text{g L}^{-1}$ .

# ÍNDICE GENERAL

|  |           |
|--|-----------|
| <b>1. MARCO TEÓRICO .....</b>  | <b>9</b>  |
| 1.1. Introducción .....  | 9         |
| 1.2. Análisis de metales en crudos .....   | 11        |
| 1.3. Instrumentación. Espectrometría de Masas con Plasma Inductivamente Acoplado (ICP-MS).....   | 16        |
| 1.3.1. Interfase .....   | 18        |
| 1.3.2. Analizadores de masas.....  | 19        |
| 1.3.2.1. Analizador cuadrupolar.....   | 19        |
| 1.3.3. Detectores.....   | 20        |
| 1.3.3.1. Electro-multiplicador .....   | 21        |
| 1.3.4. Interferencias .....  | 21        |
| 1.3.4.1. Interferencias isobáricas.....  | 22        |
| 1.3.4.2. Interferencias poliatómicas .....   | 24        |
| 1.3.4.3. Interferencias por especies doblemente cargadas .....   | 26        |
| 1.3.5. Soluciones para las interferencias .....  | 26        |
| 1.3.5.1. Condiciones de plasmas fríos.....   | 26        |
| 1.3.5.2. Celdas de reacción.....   | 27        |
| 1.4. Antecedentes.....   | 28        |
| 1.4.1. Formación y rompimiento de emulsiones para el análisis de crudos extrapesados mediante ICP-MS .....                             | 28        |
| <b>2. JUSTIFICACIÓN.....</b>   | <b>33</b> |
| <b>3. OBJETIVOS.....</b>   | <b>35</b> |
| 3.1. General.....  | 35        |
| 3.2. Específicos .....   | 35        |
| <b>4. PARTE EXPERIMENTAL .....</b>   | <b>36</b> |
| 4.1. Instrumentación .....   | 36        |
| 4.1.1. ICP-MS .....  | 36        |
| 4.2. Muestras y reactivos.....   | 36        |
| 4.3. Extracción por Formación y Rompimiento de Emulsiones (EFRE) para el análisis de elementos en crudos extrapesados por ICP-MS ..... | 37        |
| 4.3.1. Tratamiento de muestra.....   | 38        |

|   |            |
|---|------------|
| 4.4. Introducción Directa de Emulsiones (IDE) al ICP-MS.....  | 41         |
| 4.4.1. Tratamiento de muestra.....  | 41         |
| <b>5. RESULTADOS Y DISCUSIONES .....</b>  | <b>43</b>  |
| 5.1. Evaluación de los parámetros de Extracción por formación y rompimiento de emulsiones .....   | 43         |
| 5.2. Efecto de la concentración de triton X-100 .....   | 55         |
| 5.2.1. Efecto de la concentración de triton X-100 sobre la señal de los elementos en el ICP-MS .....  | 55         |
| 5.2.2. Efecto de la concentración de triton X-100 sobre la extracción de los elementos en el crudo.....                                     | 59         |
| 5.3. Efecto de la concentración de HNO <sub>3</sub> .....   | 61         |
| 5.3.1. Efecto de la concentración de HNO <sub>3</sub> sobre la señal de los elementos .....   | 62         |
| 5.3.2. Efecto de la concentración de HNO <sub>3</sub> sobre la extracción de los elementos en el crudo.....                                 | 64         |
| 5.4. Efecto de la metodología de rompimiento de la emulsión: temperatura y centrifugación .....   | 67         |
| 5.5. Estudio de recuperación .....  | 83         |
| 5.6. Determinación de la veracidad por comparación con los valores certificados del material de referencia 1634c .....                      | 86         |
| 5.7. Comparación de los métodos Extracción por Formación y Rompimiento de Emulsiones (EFRE) e Introducción Directa de Emulsiones (IDE)..... | 87         |
| 5.8. Precisión.....   | 92         |
| 5.9. Límites de detección y cuantificación .....  | 95         |
| <b>6. CONCLUSIONES .....</b>  | <b>97</b>  |
| <b>7. BIBLIOGRAFÍA .....</b>  | <b>100</b> |
| <b>Anexo A .....</b>  | <b>108</b> |
| <b>Anexo B .....</b>  | <b>120</b> |
| <b>Anexo C .....</b>  | <b>122</b> |

## ÍNDICE DE TABLAS

|  |    |
|--|----|
| Tabla 1. Clasificación de los crudos por °API .....  | 12 |
| Tabla 2. Efecto de la presencia de metales y metaloides en crudos y derivados <sup>[3]</sup> .....                                       | 14 |
| Tabla 3. Técnicas utilizadas en el análisis de metales en crudos .....   | 15 |
| Tabla 4. Interferencias isobáricas para el periodo 4 de la tabla periódica.....  | 23 |
| Tabla 5. Interferencias poliatómicas potenciales.....  | 25 |
| Tabla 6. Determinación de metales en crudos mediante la formación y rompimiento de emulsiones .....                                      | 32 |
| Tabla 7. Especificaciones del ICP-MS Agilent 7500ce.....   | 36 |
| Tabla 8. Características generales de las muestras de crudos pesados y extrapesados.....   | 37 |
| Tabla 9. Condiciones típicas de análisis en el ICP-MS .....  | 40 |
| Tabla 10. Diseño $2^{6-2}_{IV}$ para la evaluación de los parámetros de la extracción por formación y rompimiento de emulsiones.....     | 46 |
| Tabla 11. Resultados en µg/Kg del diseño $2^{6-2}_{IV}$ para la muestra de Crudo.....  | 47 |
| Tabla 11. Continuación. Resultados en µg/Kg del diseño $2^{6-2}_{IV}$ para la muestra de Crudo .....                                     | 48 |
| Tabla 12. Resultados en µg/Kg del diseño $2^{6-2}_{IV}$ para la muestra de Crudo enriquecido.....  | 49 |
| Tabla 12. Continuación. Resultados en µg/Kg del diseño $2^{6-2}_{IV}$ para la muestra de Crudo enriquecido.....                          | 50 |
| Tabla 13. Efectos significativos para la muestra de crudo .....  | 54 |
| Tabla 14. Efectos significativos para la muestra de crudo enriquecido.....   | 54 |
| Tabla 15. Comparación tipo de rompimiento de emulsión (valores en µg/Kg) .   | 68 |
| Tabla 16. Recuperación de los elementos al agregarlos directamente sobre la solución a medir en el ICP-MS (valores en µg/Kg) .....       | 74 |
| Tabla 17. Comparación de As mediante rompimiento por centrifugación Vs rompimiento por temperatura usando Se como estándar interno ..... | 77 |

|  |    |
|--|----|
| Tabla 18. Comparación de análisis de muestras de crudo extrapesados con He y sin He en la celda de colisión del ICP-MS. Valores en $\mu\text{g/Kg}$ .....        | 82 |
| Tabla 19. Estudio de recuperación sobre un aceite mineral enriquecido con estándares organometálicos .....   | 84 |
| Tabla 20. Estudio de recuperación de diversas muestras de crudos enriquecidas con estándares organometálicos (valores en $\mu\text{g/Kg}$ ).....                 | 85 |
| Tabla 21. Determinación de As, Co y Ba en SRM 1634c Elementos Trazas en Fuel Oil mediante la extracción por formación y rompimiento de emulsiones e ICP-MS ..... | 87 |
| Tabla 22. Determinación de As, Co y Ba en SRM 1634c Elementos Trazas en Fuel Oil mediante la introducción directa de emulsiones al ICP-MS .....                  | 88 |
| Tabla 23. Comparación de extracción por formación y rompimiento de emulsiones Vs introducción directa de emulsiones.....   | 89 |
| Tabla 24. Comparación metodología de rompimiento de emulsiones Vs introducción directa de emulsiones en la determinación de Pb.....                              | 90 |
| Tabla 25. Precisión en condiciones de repetibilidad del método EFRE .....  | 93 |
| Tabla 26. Precisión en condiciones de repetibilidad del método IDE .....   | 94 |
| Tabla 27. Límites de detección y cuantificación obtenidos. Valores en $\mu\text{g/Kg}$ .   | 96 |



## ÍNDICE DE FIGURAS

|   |    |
|---|----|
| Figura 1. Diagrama de un Plasma Inductivamente Acoplado axial <sup>[19]</sup> .....   | 16 |
| Figura 2. Grado de ionización en función de la primera energía de ionización <sup>[19]</sup><br>.....   | 17 |
| Figura 3. Interfase del acoplamiento de ICP con Espectrómetro de Masas <sup>[20]</sup> . 18   |    |
| Figura 4. Analizador de Masas cuadrupolar <sup>[20]</sup> .....   | 20 |
| Figura 5. Detector Electro-Multiplicador <sup>[19]</sup> .....  | 21 |
| Figura 6. Diagrama de ubicación de la celda de reacción en un ICP-MS <sup>[19]</sup> ....   | 27 |
| Figura 7. Esquema del procedimiento de extracción por formación y<br>rompimiento de emulsiones (EFRE) .....   | 40 |
| Figura 8. Gráficos de probabilidad normal muestra de crudo.....   | 51 |
| Figura 9. Gráficos de probabilidad normal muestra de crudo enriquecido con<br>aprox. 500 µg/Kg de los elementos estudiados .....  | 52 |
| Figura 9 continuación. Gráficos de probabilidad normal muestra de crudo<br>enriquecido con aprox. 500 µg/Kg de los elementos estudiados .....   | 53 |
| Figura 10. Señal relativa de los elementos estudiados en función de la<br>concentración de triton X-100 .....   | 56 |
| Figura 11. Residuales de concentración de soluciones patrón en función del<br>porcentaje de triton X-100 a) 5 µg/Kg y b) 20 µg/Kg .....   | 58 |
| Figura 12. Efecto de la concentración de Triton X-100 sobre la extracción de los<br>elementos estudiados a) Crudo “a” y b) Crudo “a” enriquecido.....   | 60 |
| Figura 13. Señal relativa de los elementos estudiados en función de la<br>concentración de triton X-100 .....   | 62 |
| Figura 14. Residuales de concentración de soluciones patrón en función del<br>porcentaje de HNO <sub>3</sub> a 20 µg/Kg.....  | 63 |
| Figura 15. Efecto de la concentración de HNO <sub>3(c)</sub> sobre la extracción de los<br>elementos estudiados a) Crudo y b) Crudo enriquecido .....   | 65 |
| Figura 16. Soluciones introducidas al ICP-MS provenientes de la extracción en<br>crudo con a) 0%, b) 5%, c) 10%, d) 15%, e) 20%, f) 25% y g) 30% v/v HNO <sub>3(c)</sub><br>todas a 10% triton X-100..... | 67 |

|   |    |
|---|----|
| Figura 17. Comparación relativa de las concentraciones obtenidas en diferentes muestras de crudo pesados y extrapesados mediante dos métodos de rompimiento de emulsión: Temperatura (90 °C por 30 min) y Centrifugación (45 min a 4000rpm). : Rompimiento por temperatura, : Rompimiento por centrifugación.....     | 69 |
| Figura 17. Continuación. Comparación relativa de las concentraciones obtenidas en diferentes muestras de crudo pesados y extrapesados mediante dos métodos de rompimiento de emulsión: Temperatura (90 °C por 30 min) y Centrifugación (45 min). : Rompimiento por temperatura, : Rompimiento por centrifugación..... | 70 |
| Figura 18. Rompimiento de la emulsión por temperatura y centrifugación. a) rompimiento por temperatura, b) solución de “a” extraída y diluida para el ICP-MS, c) rompimiento por centrifugación, d) solución de “c” extraída y diluida para el ICP-MS.....  | 72 |
| Figura 19. Calentamiento de la fase acuosa del rompimiento por centrifugación a) sin calentar, b) calentamiento a 90 °C, al fondo se observa la fase enriquecida en la materia orgánica .....   | 73 |
| Figura 20. Residual de la determinación de As respecto al patrón de 20 µg/Kg utilizando Rh y Se como estándares internos para la cuantificación.....  | 75 |
| Figura 21. Señal relativa en Cuentas por Segundo (CPS) de As, Rh y Se en función del porcentaje de triton X-100.....  | 76 |
| Figura 22. Residuales de concentración de soluciones patrón de Cr en función del porcentaje de triton X-100 a 20 µg/Kg.....   | 79 |
| Figura 23. Señales de 52Cr y 53Cr en función del % m/v de triton X-100 .....  | 79 |

# 1. MARCO TEÓRICO

## 1.1. Introducción

En la espectroscopia atómica, el método de preparación de la muestra es uno de los pasos más críticos para la determinación de la concentración de elementos. La selección del método implica una serie de consideraciones: (i) la naturaleza de la muestra, (ii) la técnica analítica que es empleada para la determinación del analito, (iii) el número de muestras; (iv) el analito y su gama de concentración; (v) la veracidad y la precisión requerida, y (vi) el tiempo de pre-tratamiento de la muestra. Debido a la alta viscosidad y/o la volatilidad de algunos derivados del petróleo, estos no pueden ser introducidos directamente al plasma, por lo tanto requieren de un tratamiento previo.

La introducción de crudos en los equipos ICP, al poseer una matriz muy compleja, representa un reto para su análisis ya que se presentan problemas como la contaminación o pérdida por volatilización, largos procedimientos de descomposición de la matriz, disminución en la eficiencia de nebulización que puede ser afectada por las altas cantidades de sales presentes en la descomposición.<sup>[1]</sup>

Con el propósito de disminuir el tiempo de preparación de muestras, se ha estudiado la introducción de crudos mediante solubilización en un solvente orgánico como tolueno, xileno y/o kerosene. Esta metodología es más rápida y

más reproducible que mediante la descomposición.<sup>[1]</sup> Sin embargo, la introducción de solventes orgánicos al plasma crea inestabilidad y en algunos casos la extinción del mismo, incrementa la señal de fondo debido a las emisiones de  $C_2$  y otras especies como CN, OH, esto puede reducirse utilizando cámaras de sedimentación refrigeradas, variando la altura de observación y con altas potencias del plasma (1,5 a 2 KW).<sup>[1]</sup>

En el caso del ICP-MS, la introducción de solventes orgánicos trae otras consecuencias como la formación de carbón sobre los conos de la interfase y sobre las lentes afectando la eficiencia de transporte de los iones<sup>[2]</sup> e interferencias por especies de carbono, esto sin embargo, se puede reducir con la adición de oxígeno al argón pero nuevas interferencias pueden aparecer ej.  $ArO^+$  a  $m/z$  56 (Fe),  $CO_2^+$  a  $m/z$  48 (Ti).

Las emulsiones y/o microemulsiones tienen la principal ventaja sobre la disolución en solventes orgánicos que se reduce la cantidad de componentes orgánicos, disminuyendo las interferencias de las señales de fondo, la formación de carbón sobre los conos en la interfase y minimizando la adición de oxígeno, además, se pueden utilizar estándares acuosos. La principal desventaja de este método es la pérdida de sensibilidad y la degradación de los límites de detección debido a la dilución realizada.<sup>[3]</sup>

La formación y rompimiento de emulsiones es una metodología novedosa en la cual los elementos son extraídos de la fase orgánica a la fase acuosa luego del

contacto íntimo entre ambas fases en la etapa de la emulsión. Esto ofrece las ventajas de evitar la introducción de materia orgánica que podría extinguir el plasma y/u obstruir los orificios de los conos de la interfase, evitar el uso de oxígeno y además, la cuantificación puede ser realizada mediante patrones acuosos. De esta manera, se propone el estudio de esta metodología para el análisis de metales trazas en muestras de crudos extrapesados para lograr la optimización de las condiciones experimentales que permitan una eficiente extracción de los elementos.

En las siguientes secciones se describirá 1) la importancia del análisis de metales en crudos y sus propiedades, 2) la instrumentación utilizada en ICP-MS y 3) se hará una revisión de los trabajos más relevantes que contemplan el estudio de los análisis de crudos y derivados mediante formación y rompimiento de emulsiones.

## ***1.2. Análisis de metales en crudos***

El petróleo o crudo es hoy en día la mayor fuente de energía, aún por encima de otros tipos de energía como la hidroeléctrica o el carbón.<sup>[4]</sup> Los crudos pueden clasificarse a grandes rasgos en livianos y pesados, sin embargo, esta clasificación puede variar de acuerdo a las necesidades de cada industria, por ejemplo, en Venezuela la empresa Petróleos de Venezuela S.A. (PDVSA) clasifica sus crudos en base a la gravedad API como se muestra en la tabla 1.

**Tabla 1. Clasificación de los crudos por °API**

| <b>Clasificación</b> | <b>°API</b> |
|----------------------|-------------|
| Crudos livianos      | 30-40       |
| Crudos medianos      | 22-29,9     |
| Crudos pesados       | 10-21,9     |
| Crudos extrapesados  | <10         |

Generalmente el crudo liviano contiene mayor cantidad de compuestos parafínicos de bajo punto de ebullición, de gran valor comercial, mientras que los crudos pesados y extrapesados contienen menor cantidad de compuestos parafínicos, mayor cantidad de heteroátomos como azufre, tienen mayor densidad y viscosidad, características todas que lo hacen poseer menor valor comercial.<sup>[5]</sup> Sin embargo, la disminución de las reservas de crudos livianos, ha llevado a una significativa investigación de los procesos de refinación para convertir más eficientemente el crudo pesado en productos de alto valor<sup>[5]</sup>.

Venezuela es hoy en día el país con la mayor cantidad de reservas internacionales de crudo, la Faja Petrolífera del Orinoco (FPO) representa el 80,6% del total, del cual 79,8% corresponde a crudo extrapesado.

La importancia de los metales en la industria petrolera se debe principalmente a tres razones, 1) en la exploración, se ha demostrado que existe correlación entre la cantidad y/o relaciones de metales entre el crudo y la roca madre, esto puede proveer información acerca de familias de crudos, madurez y

migración<sup>[6]</sup>. Además, algunos metales radioactivos sirven para la datación del crudo<sup>[7]</sup>; 2) en los procesos de refinación, los metales causan envenenamiento de los catalizadores y corrosión de equipos entre otros efectos negativos; y 3) el crudo contiene metales muy tóxicos como As, Hg y Sb entre otros, los cuales pueden ser liberados al ambiente por derrames y afectar al ambiente, seres humanos, la vida salvaje, la vida acuática, cosechas y suelos<sup>[8]</sup>. En la tabla 2 se muestra un resumen de los efectos de la presencia de metales y metaloides en crudos y derivados.

Los elementos metálicos están presentes en el crudo a niveles de pocas partes por billón en crudos livianos convencionales y a cientos de partes por millón en crudos pesados. Los elementos más abundantes son Ni, V y Fe los cuales están generalmente presentes en un rango entre 10 y 1000 mg/Kg, otros elementos tales como Pb, Ba, Sn, Ag, Ca, Cu, Mo, Ti y Zn están presente entre 1 y 50 mg/Kg<sup>[9]</sup>. También se han reportado otros elementos aunque en menor concentración, como por ejemplo los lantanidos entre 0,01 – 1,58 µg/Kg<sup>[6]</sup>.

En la tabla 3 se muestran las características principales de las diferentes técnicas por las que se han realizado determinaciones de metales en crudos. Las más utilizadas han sido ICPOES, ICP-MS y FRX.<sup>[1]</sup>

**Tabla 2. Efecto de la presencia de metales y metaloides en crudos y derivados<sup>[3]</sup>**

| <b>Elementos</b>  | <b>Efecto</b>   |
|---|---|
| Si  | De naturaleza abrasiva y capacidad para formar depósitos causando problemas en el transporte y almacenamiento de crudos y derivados.        |
| As, B   | Actúa como agente antibacterial, antisedimentación y anticorrosión en la operaciones de perforación de pozos.                               |
| Al, As, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Hg, K, Mo, Na, Ni, P, Pb, Si, Sn, V | Afecta la eficiencia de los procesos de craqueo catalítico.   |
| Cu  | Afecta la estabilidad de los productos terminados. Reduce la actividad de antioxidantes en las gasolinas.                                   |
| As, Hg, Pb  | Afecta la salud humana.   |
| Mn  | Posee propiedades antidetonantes.   |
| K, Na, Pb   | Formación de cenizas que alteran la composición de los productos.   |
| K, Na, S, V   | Corrosivos.   |
| Ba  | Degradación de las partes de motores de diesel. Indicador de control de calidad de productos derivados.                                     |
| As, Cd, Co, Cu, Hg, Ni, Pb, S, V                                | Contaminación ambiental.  |
| Ca, Mg  | Formación de depósitos.   |
| Ba, Fe, Mn, Mo, Ni, S, V  | Marcadores geoquímicos (origen y edad).   |
| B   | Mejora el número de cetano en diesel o el índice de viscosidad de aceites lubricantes. Reduce el tiempo entre la inyección y la combustión. |
| Co, Mn  | Mejora la combustión. Reduce la cantidad de humo y hollín generado.   |
| K, Na   | Produce depósitos en los filtros de los vehículos con biodiesel.  |
| Cu, Fe, Mn  | Incrementa la oxidación de los productos.   |
| S, Se, Zn   | Inhibición del proceso oxidativo de lubricantes.  |
| Al, Cr, Cu, Fe, Mn, Ni, Pb, Zn                                  | Problemas de corrosión en los motores.  |
| Ba, Ca, Mg, Mo, P, Si   | Usados como aditivos antiespumante.   |
| Co  | Usado para reducir la cantidad de mercaptanos presentes en el crudo.  |



**Tabla 3. Técnicas utilizadas en el análisis de metales en crudos**

| Técnica   |   | Característica(s)  |
|-----------|---|--|
| FAAS      | Absorción Atómica con Llama. <sup>[1]</sup>   | Baja sensibilidad. Baja temperatura de atomización.  |
| ICPOES    | Espectroscopia de Emisión Óptica de Plasma Inductivamente Acoplado. <sup>[10]</sup>         | Multielemental. Introducción de muestras líquidas. Interferencias con solventes orgánicos.   |
| ICP-MS    | Espectrometría de Masas de Plasma Inductivamente Acoplado. <sup>[11]</sup>                  | Multielemental. Mejor sensibilidad que ICPOES. Introducción de muestras líquidas. Interferencias con solventes orgánicos.                  |
| FRX       | Fluorescencia de Rayos X. <sup>[12]</sup>   | Límites de detección de pocas partes por millón. <sup>[13]</sup>   |
| TIM       | Espectrometría de Masas con Ionización Térmica. <sup>[14]</sup>                             | Procedimiento tedioso de tratamiento de muestra.   |
| INAA      | Análisis Instrumental por Activación Neutrónica. <sup>[15]</sup>                            | Límites de detección variantes e.j. <sup>[15]</sup> (mg/Kg) As: 0,2-0,8; Zn: 0,6-6; Fe: 8-100; Ni: 2-30; Ir: 0,0006-0,004. <sup>[16]</sup> |
| ETAAS     | Espectroscopia de Absorción Atómica con Atomización Electro-Térmica. <sup>[1]</sup>         | Hasta 6 elementos. Mejor sensibilidad que ICPOES. No muy reproducible. Posibilidad de introducción directa de muestra.                     |
| LA-ICP-MS | Ablación Láser - Espectrometría de Masas de Plasma Inductivamente Acoplado. <sup>[17]</sup> | Introducción directa de muestra. Límites de detección en el orden de los mg/Kg o menos.  |
| LIBS      | Espectroscopia de Plasma Inducido por Láser. <sup>[8]</sup>                                 | Introducción directa de muestra. Menos sensible que LA-ICP-MS. <sup>[18]</sup>   |

### 1.3. Instrumentación. Espectrometría de Masas con Plasma Inductivamente Acoplado (ICP-MS)

Un plasma es un gas parcialmente ionizado pero macroscópicamente neutro. Un Plasma Inductivamente Acoplado (ICP) para equipos ICP-MS es formado cuando un gas inerte, usualmente argón, es introducido en una antorcha de cuarzo que consiste de tres tubos concéntricos (figura 1), a la salida de la antorcha, cuando el gas fluye de manera tangencial, se le aplica una chispa de alto voltaje que ioniza al gas, produciendo electrones los cuales son acelerados en el campo magnético inducido por la aplicación de una radiofrecuencia a una bobina de cobre que rodea la antorcha, estos electrones con gran energía cinética, colisionan con átomos del gas ionizándolos también, de esta manera el plasma se sustenta mientras se aplique el campo magnético.<sup>[19]</sup>

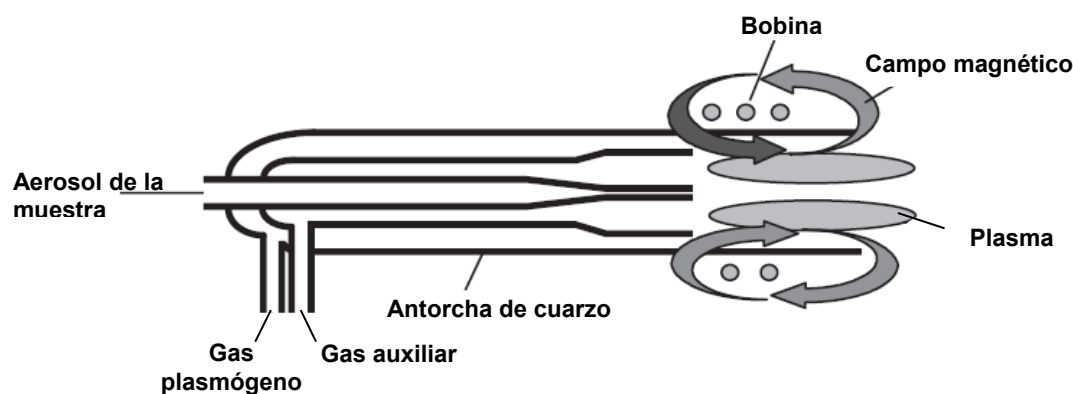
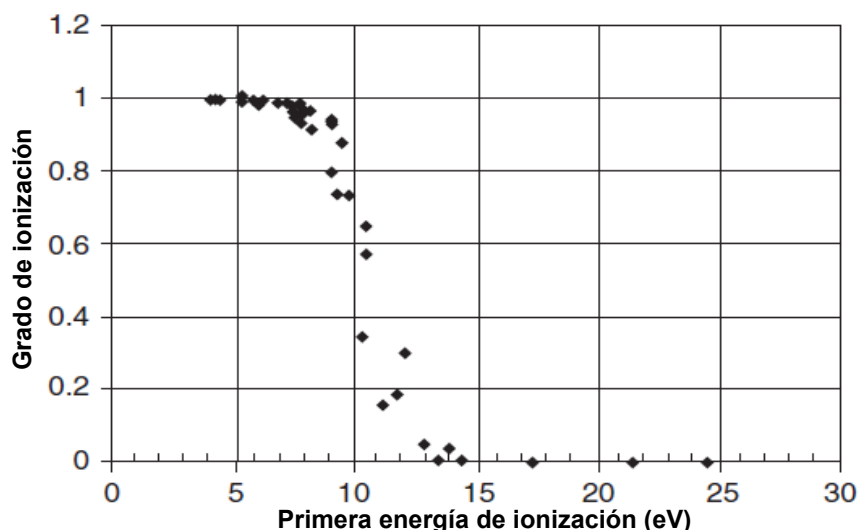


Figura 1. Diagrama de un Plasma Inductivamente Acoplado axial<sup>[19]</sup>

Las temperaturas de operación de un ICP varían entre 5000 y 10000 K, aunque el plasma realmente no está en un equilibrio térmico. Estas temperaturas conducen a la desolvatación y atomización térmica de los analitos y una vez

atomizados, la ionización puede ocurrir por colisión con electrones u otros átomos, intercambio de carga entre especies metaestables del gas y el analito y por transferencia de carga causada por transferencia de energía de un ión al analito.<sup>[19]</sup>

El grado de ionización depende de la energía de ionización del elemento, en la figura 2 se muestra el grado de ionización en función del primer potencial de ionización (PI) predicho por la ecuación de Saha a condiciones típicas de un ICP.<sup>[19]</sup>



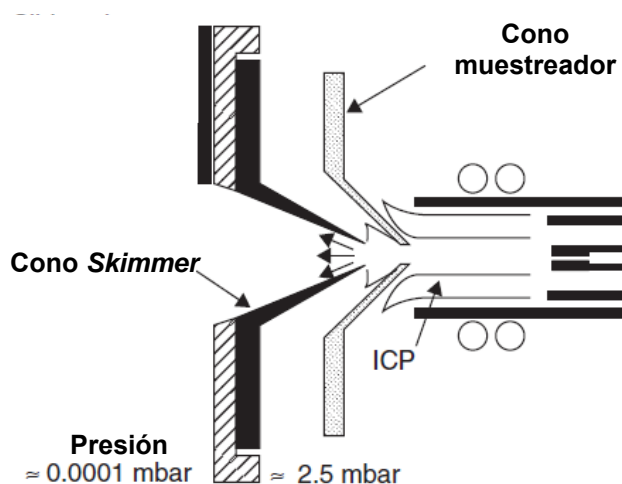
**Figura 2. Grado de ionización en función de la primera energía de ionización<sup>[19]</sup>**

Como se muestra en la figura 2, no ocurre una eficiente ionización en aquellos elementos que poseen un PI mayor a 10 eV. La mayoría de los elementos de la tabla periódica poseen un PI menor a 9 eV por lo que son eficientemente ionizados (>80%), entre los elementos poco ionizados en un típico ICP

podemos nombrar He, Ne, F, O (<1%); Kr, Cl (1-10%); C, Br, Xe, S (10-30%); P, I, Hg, As, Au y Pt (30-80%).<sup>[19]</sup>

### 1.3.1. Interfase

La interfase permite el acoplamiento de un ICP que trabaja a presión atmosférica y temperaturas elevadas, a un espectrómetro de masas que opera a alto vacío y temperatura ambiente (figura 3).



**Figura 3. Interfase del acoplamiento de ICP con Espectrómetro de Masas<sup>[20]</sup>**

La interfase consiste de un cono muestreador, generalmente de níquel, cobre o platino, que es colocado dentro del plasma, por el orificio del cono (≈1,0 mm) pasan los iones y el gas del plasma debido a la caída de presión ya que esta región es mantenida a ≈2,5 mbar con el uso de una bomba rotatoria. Como el gas que fluye a través del cono muestreador es grande, un segundo cono es colocado detrás para permitir que la porción central del chorro de plasma pase a las lentes electrostáticas que llevarán los iones hasta el analizador de masas.

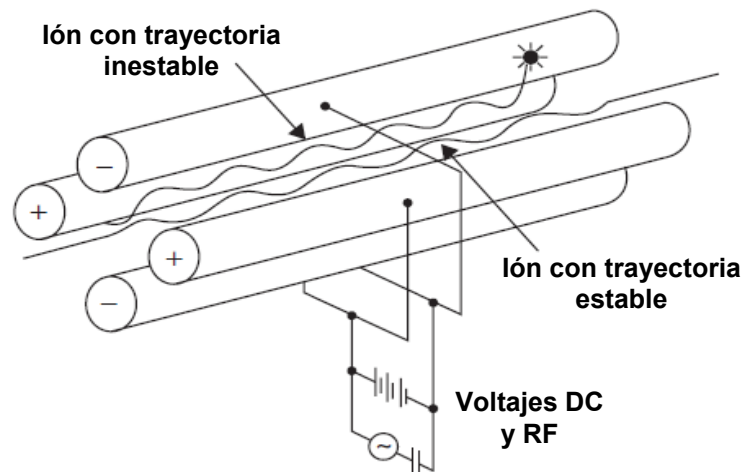
Este cono llamado *Skimmer* generalmente de níquel tiene un orificio de  $\approx 0,75$  mm y la presión detrás de él es mantenida a  $\approx 10^{-4}$  mbar.<sup>[20]</sup>

### 1.3.2. Analizadores de masas

Los iones generados en el ICP son separados de acuerdo a su relación masa/carga  $m/z$  en un analizador de masas. Generalmente los iones recorren una distancia para lograr ser separados en la cual no deben haber colisiones, es por ello que a estos equipos se le incorporan bombas para trabajar a vacío, por debajo de  $10^{-6}$  torr.<sup>[19]</sup>

#### 1.3.2.1. Analizador cuadrupolar

Un cuadrupolo consiste en cuatro barras de metal paralelas y equidistantes de un eje central (figura 4). Aplicando voltajes de corriente directa (DC) y de radiofrecuencia (RF) a las barras opuestas, es posible tener una situación donde el voltaje DC es positivo para un par y negativo para el otro par de barras opuestas. De igual manera, los voltajes de RF en cada par están  $180^\circ$  fuera de fase, es decir, con signos opuestos pero con la misma amplitud. Los iones que entran en el cuadrupolo están sujetos a un camino oscilatorio debido al voltaje en RF. Sin embargo, seleccionando una apropiada combinación de voltajes DC y RF, sólo iones con una relación  $m/z$  adecuada serán capaces de atravesar el camino de las barras y llegar al detector, los otros iones chocan con las barras debido a que su camino oscilatorio es muy grande y son neutralizados.<sup>[20]</sup>



**Figura 4. Analizador de Masas cuadrupolar<sup>[20]</sup>**

Entre las características más importantes de un cuadrupolo podemos mencionar que estos analizadores sólo son capaces de separar iones con una diferencia en  $m/z$  de una unidad<sup>[20]</sup>, además son esencialmente secuenciales aunque ellos puedan realizar un escáner hasta aproximadamente 200  $m/z$  en 1 ms.<sup>[19]</sup>

Sin embargo, la carencia de resolución de los cuadrupolos, que hace imposible separar iones interferentes a una misma masa nominal, llevó al uso de analizadores de doble enfoque, tiempo de vuelo, entre otros que pueden operar a una mayor resolución<sup>[19]</sup>.

### **1.3.3. Detectores**

Existen varios tipos de detectores pero el electro-multiplicador es el más común.

### 1.3.3.1. Electro-multiplicador

En la figura 5 se muestra un diagrama de un electro-multiplicador de dinodos discretos (existen también de dinodo continuo de funcionamiento similar). Un ión que entra al detector choca con un primer dinodo produciendo electrones, estos electrones son acelerados chocando en un segundo dinodo produciendo mayor cantidad de electrones, el proceso de multiplicación se repite en los demás dinodos, obteniéndose finalmente una amplificación del orden  $10^7 - 10^9$  sobre el ión original.<sup>[19]</sup>

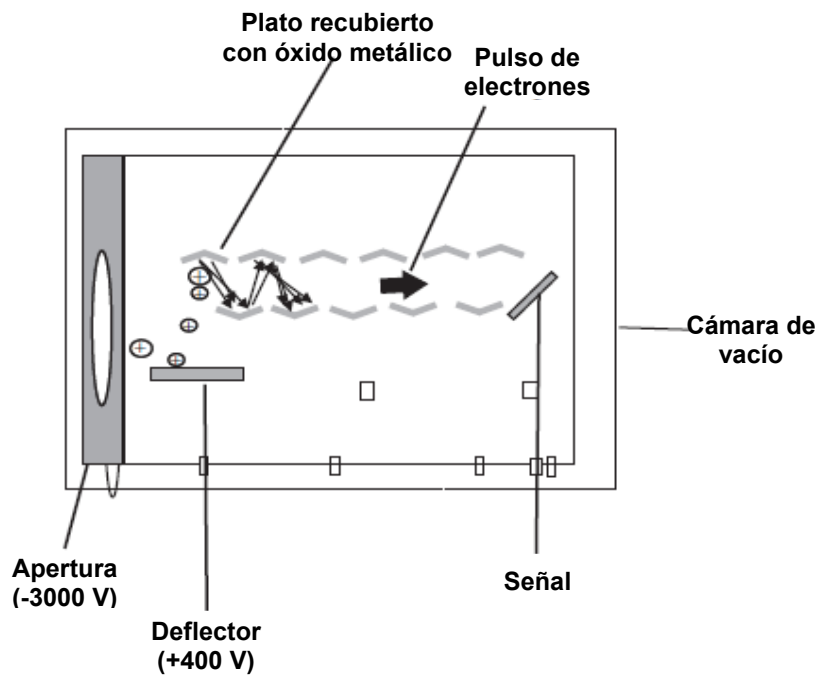


Figura 5. Detector Electro-Multiplicador<sup>[19]</sup>

### 1.3.4. Interferencias

De acuerdo a su origen, las interferencias pueden ser clasificadas en espectrales y no espectrales. Las interferencias espectrales pueden ocurrir como resultado del solapamiento de masas atómicas de diferentes elementos

mientras que las no espectrales son causadas por efectos de la matriz. Las interferencias espectrales las podemos clasificar como sigue:

#### 1.3.4.1. Interferencias isobáricas

Las interferencias isobáricas son aquellas en la cual un elemento interfiere en la medida de otro elemento de interés debido a que poseen la misma masa. Estas interferencias están bien caracterizadas y por el hecho de que alrededor del 70% de los elementos en la tabla periódica tienen más de un isótopo, pueden ser evitadas seleccionando un isótopo alternativo. Sin embargo, la elección de otro isótopo con menor abundancia supone una pérdida de sensibilidad que puede ser importante en ciertas aplicaciones<sup>[20]</sup>. En la tabla 4 se muestran las interferencias isobáricas para el periodo 4 de la tabla periódica.



**Tabla 4. Interferencias isobáricas para el periodo 4 de la tabla periódica**

| Masa Atómica | Elemento (% abundancia) | Interferente (%abundancia)         |
|--------------|-------------------------|------------------------------------|
| 39           | K (93.10)               | —                                  |
| 40           | Ca (96.97)              | Ar (99.6) <sup>a</sup> ; K (0.01)  |
| 41           | K (6.88)                | —                                  |
| 42           | Ca (0.64)               | —                                  |
| 43           | Ca (0.14)               | —                                  |
| 44           | Ca (2.06)               | —                                  |
| 45           | Sc (100)                | —                                  |
| 46           | —                       | Ca (0.003); Ti (7.93)              |
| 47           | —                       | Ti (7.28)                          |
| 48           | Ti (73.94)              | Ca (0.19)                          |
| 49           | —                       | Ti (5.51)                          |
| 50           | —                       | Ti (5.34); V (0.24); Cr (4.31)     |
| 51           | V (99.76)               | —                                  |
| 52           | Cr (83.76)              | —                                  |
| 53           | —                       | Cr (9.55)                          |
| 54           | —                       | Cr (2.38); Fe (5.82)               |
| 55           | Mn (100)                | —                                  |
| 56           | Fe (91.66)              | —                                  |
| 57           | —                       | Fe (2.19)                          |
| 58           | Ni (67.88)              | Fe (0.33)                          |
| 59           | Co (100)                | —                                  |
| 60           | Ni (26.23)              | —                                  |
| 61           | —                       | Ni (1.19)                          |
| 62           | —                       | Ni (3.66)                          |
| 63           | Cu (69.09)              | —                                  |
| 64           | Zn (48.89)              | Ni (1.08)                          |
| 65           | Cu (30.91)              | —                                  |
| 66           | Zn (27.81)              | —                                  |
| 67           | —                       | Zn (4.11)                          |
| 68           | —                       | Zn (18.57)                         |
| 69           | Ga (60.40)              | —                                  |
| 70           | —                       | Zn (0.62); Ge (20.52)              |
| 71           | Ga (39.60)              | —                                  |
| 72           | Ge (27.43)              | —                                  |
| 73           | —                       | Ge (7.76)                          |
| 74           | Ge (36.54)              | Se (0.87)                          |
| 75           | As (100)                | —                                  |
| 76           | —                       | Ge (7.76); Se (9.02)               |
| 77           | —                       | Se (7.58)                          |
| 78           | Se (23.52)              | Kr (0.35)                          |
| 79           | Br (50.54)              | —                                  |
| 80           | Se (49.82)              | Kr (2.27)                          |
| 81           | Br (49.46)              | —                                  |
| 82           | —                       | Se (9.19); Kr (11.56)              |
| 83           | Kr (11.55)              | —                                  |
| 84           | Kr (56.90)              | Sr (0.56) <sup>b</sup>             |
| 85           | —                       | —                                  |
| 86           | —                       | Kr (17.37); Sr (9.86) <sup>b</sup> |

#### 1.3.4.2. Interferencias poliatómicas

Las interferencias poliatómicas se deben a iones moleculares formados entre los elementos de la matriz, el gas del plasma, el solvente, ácidos y gases atmosféricos<sup>[19]</sup>. Estas interferencias son más difíciles de corregir ya que dependen de la naturaleza de la matriz. Es probable que los iones poliatómicos sean formados dentro de la interfase<sup>[20]</sup>. En la tabla 5 se muestran las interferencias poliatómicas potenciales.

**Tabla 5. Interferencias poliatómicas potenciales**

| Masa Atómica | Elemento<br>(% abundancia) | Interferencia poliatómica<br>(%abundancia)  |
|--------------|----------------------------|---|
| 39           | K (93.10)                  | $^{38}\text{Ar}^1\text{H}^+$  |
| 40           | Ca (96.97)                 | $^{40}\text{Ar}^+$  |
| 41           | K (6.88)                   | $^{40}\text{Ar}^1\text{H}^+$  |
| 42           | Ca (0.64)                  | $^{40}\text{Ar}^2\text{H}^+$  |
| 43           | Ca (0.14)                  | —   |
| 44           | Ca (2.06)                  | $^{12}\text{C}^{16}\text{O}^{16}\text{O}^+$   |
| 45           | Sc (100)                   | $^{12}\text{C}^{16}\text{O}^{16}\text{O}^1\text{H}^+$   |
| 46           | —                          | $^{14}\text{N}^{16}\text{O}^{16}\text{O}^+; ^{32}\text{S}^{14}\text{N}^+$   |
| 47           | —                          | $^{31}\text{P}^{16}\text{O}^+; ^{33}\text{S}^{14}\text{N}^+$  |
| 48           | Ti (73.94)                 | $^{31}\text{P}^{16}\text{O}^1\text{H}^+; ^{32}\text{S}^{16}\text{O}^+; ^{34}\text{S}^{14}\text{N}^+$                                  |
| 49           | —                          | $^{32}\text{S}^{16}\text{O}^1\text{H}^+; ^{33}\text{S}^{16}\text{O}^+; ^{14}\text{N}^{35}\text{Cl}^+$                                 |
| 50           | —                          | $^{34}\text{S}^{16}\text{O}^+; ^{36}\text{Ar}^{14}\text{N}^+$   |
| 51           | V (99.76)                  | $^{35}\text{Cl}^{16}\text{O}^+; ^{34}\text{S}^{16}\text{O}^1\text{H}^+; ^{14}\text{N}^{37}\text{Cl}^+; ^{35}\text{Cl}^{16}\text{O}^+$ |
| 52           | Cr (83.76)                 | $^{40}\text{Ar}^{12}\text{C}^+; ^{36}\text{Ar}^{16}\text{O}^+; ^{36}\text{S}^{16}\text{O}^+; ^{35}\text{Cl}^{16}\text{O}^1\text{H}^+$ |
| 53           | —                          | $^{37}\text{Cl}^{16}\text{O}^+$   |
| 54           | —                          | $^{40}\text{Ar}^{14}\text{N}^+; ^{37}\text{Cl}^{16}\text{O}^1\text{H}^+$  |
| 55           | Mn (100)                   | $^{40}\text{Ar}^{14}\text{N}^1\text{H}^+$   |
| 56           | Fe (91.66)                 | $^{40}\text{Ar}^{16}\text{O}^+$   |
| 57           | —                          | $^{40}\text{Ar}^{16}\text{O}^1\text{H}^+$   |
| 58           | Ni (67.88)                 | —   |
| 59           | Co (100)                   | —   |
| 60           | Ni (26.23)                 | —   |
| 61           | —                          | —   |
| 62           | —                          | —   |
| 63           | Cu (69.09)                 | $^{31}\text{P}^{16}\text{O}_2^+$  |
| 64           | Zn (48.89)                 | $^{31}\text{P}^{16}\text{O}_2^1\text{H}^+; ^{32}\text{S}^{16}\text{O}^{16}\text{O}^+; ^{32}\text{S}^{32}\text{S}^+$                   |
| 65           | Cu (30.91)                 | $^{33}\text{S}^{16}\text{O}^{16}\text{O}^+; ^{32}\text{S}^{33}\text{S}^+$   |
| 66           | Zn (27.81)                 | $^{34}\text{S}^{16}\text{O}^{16}\text{O}^+; ^{32}\text{S}^{34}\text{S}^+$   |
| 67           | —                          | $^{35}\text{Cl}^{16}\text{O}^{16}\text{O}^+$  |
| 68           | —                          | $^{40}\text{Ar}^{14}\text{N}^{14}\text{N}^+; ^{36}\text{S}^{16}\text{O}^{16}\text{O}^+; ^{32}\text{S}^{36}\text{S}^+$                 |
| 69           | Ga (60.40)                 | $^{37}\text{Cl}^{16}\text{O}^{16}\text{O}^+$  |
| 70           | —                          | $^{35}\text{Cl}_2^+; ^{40}\text{Ar}^{14}\text{N}^{16}\text{O}^+$  |
| 71           | Ga (39.60)                 | $^{40}\text{Ar}^{31}\text{P}^+; ^{36}\text{Ar}^{35}\text{Cl}^+$   |
| 72           | Ge (27.43)                 | $^{37}\text{Cl}^{35}\text{Cl}^+; ^{36}\text{Ar}^{36}\text{Ar}^+; ^{40}\text{Ar}^{32}\text{S}^+$                                       |
| 73           | —                          | $^{40}\text{Ar}^{33}\text{S}^+; ^{36}\text{Ar}^{37}\text{Cl}^+$   |
| 74           | Ge (36.54)                 | $^{37}\text{Cl}^{37}\text{Cl}^+; ^{36}\text{Ar}^{38}\text{Ar}^+; ^{40}\text{Ar}^{34}\text{S}^+$                                       |
| 75           | As (100)                   | $^{40}\text{Ar}^{35}\text{Cl}^+$  |
| 76           | —                          | $^{40}\text{Ar}^{36}\text{Ar}^+; ^{40}\text{Ar}^{36}\text{S}^+$   |
| 77           | —                          | $^{40}\text{Ar}^{37}\text{Cl}^+; ^{36}\text{Ar}^{40}\text{Ar}^1\text{H}^+$  |
| 78           | Se (23.52)                 | $^{40}\text{Ar}^{38}\text{Ar}^+$  |
| 79           | Br (50.54)                 | $^{40}\text{Ar}^{38}\text{Ar}^1\text{H}^+$  |
| 80           | Se (49.82)                 | $^{40}\text{Ar}^{40}\text{Ar}^+$  |
| 81           | Br (49.46)                 | $^{40}\text{Ar}^{40}\text{Ar}^1\text{H}^+$  |
| 82           | —                          | $^{40}\text{Ar}^{40}\text{Ar}^1\text{H}^1\text{H}^+$  |
| 83           | Kr (11.55)                 | —   |
| 84           | Kr (56.90)                 | —   |
| 85           | —                          | —   |
| 86           | —                          | —   |

#### 1.3.4.3. Interferencias por especies doblemente cargadas

Recordando que un analizador de masas discrimina por la relación masa/carga  $m/z$ , un ión doblemente cargado se registrará a la mitad de su masa real. Para este tipo de interferencias, son de particular interés la formación de especies doblemente cargadas de Ce, La, Sr, Th y Ba.<sup>[20]</sup>

#### 1.3.5. Soluciones para las interferencias

Como ya se mencionó anteriormente, los analizadores de doble enfoque poseen una elevada resolución tal que pueden minimizar las interferencias causadas por un ión a la misma masa nominal del ión de interés. Sin embargo, el elevado costo de estos instrumentos no lo hace accesible a muchos laboratorios, por lo cual se han desarrollado otras estrategias para reducir las interferencias espectrales cuando un analizador cuadrupolar o de baja resolución es utilizado, entre ellas las más importantes son el uso de plasmas fríos que no requieren modificación instrumental y celdas de colisión/reacción que si requieren una modificación del analizador de masas.<sup>[20]</sup>

##### 1.3.5.1. Condiciones de plasmas fríos

El uso de plasmas fríos fue desarrollado para reducir las interferencias del argón. Estas condiciones se refieren a la operación del ICP a baja potencia, 0,6 kW comparado con 1 kW a condiciones normales, y una inyección mayor del flujo de gas, 1,11 mL/min comparado con 0,71 mL/min. Ha sido reportado que el uso de estas condiciones reducen los iones de  $\text{Ar}^+$ ,  $\text{ArH}^+$ ,  $\text{ArO}^+$  y  $\text{Ar}_2^+$  pero

incrementa  $\text{H}_3\text{O}^+$  y  $\text{NO}^+$ <sup>[34]</sup>. Sin embargo, el uso de plasmas fríos son menos robustos, son más susceptibles a interferencias de la matriz y reduce la sensibilidad de elementos refractarios y de elementos con medio o alto potencial de ionización.<sup>[19]</sup>

### 1.3.5.2. Celdas de reacción

La celda de reacción usualmente toma la forma de un cuadrupolo u octopolo colocado después del *Skimmer* y antes del analizador cuadrupolar. En la figura 6 se muestra un esquema de la disposición de la celda de reacción en el equipo. Un gas tal como hidrógeno, helio o amoníaco, es introducido a la celda y por colisión, disocia o neutraliza los iones moleculares y/o sus precursores reduciendo así este tipo de interferencias. El gas juega un rol primordial, y este es elegido para que reaccione efectivamente con el ión molecular interferente pero no eficientemente con el analito.<sup>[19]</sup>

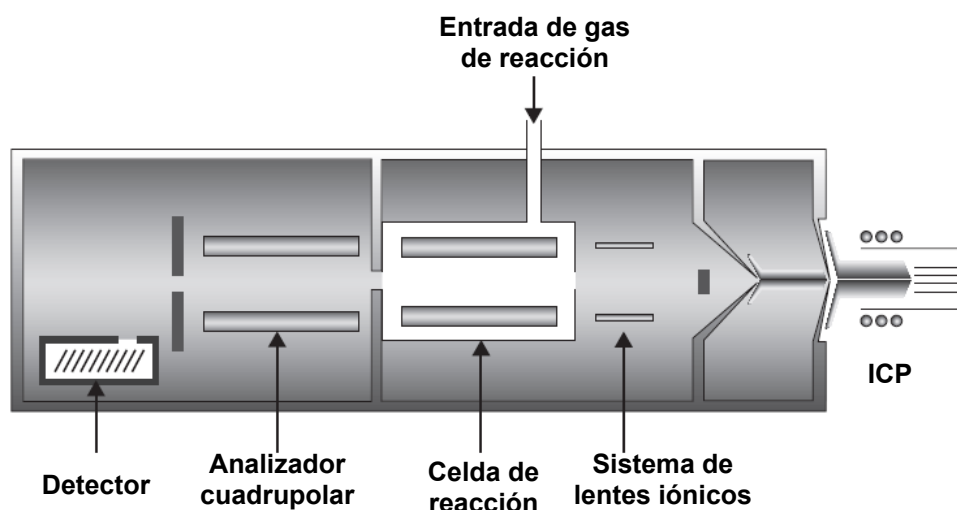


Figura 6. Diagrama de ubicación de la celda de reacción en un ICP-MS<sup>[19]</sup>

## **1.4. Antecedentes**

### **1.4.1. Formación y rompimiento de emulsiones para el análisis de crudos extrapesados mediante ICP-MS**

La emulsificación implica adicionar a la muestra una fase acuosa que contiene un tensioactivo en una proporción apropiada. Comúnmente, los tensioactivos se clasifican de acuerdo a su polaridad. Por lo tanto, podrían ser divididos principalmente en dos grupos, iónico y no iónico. Mediante la mezcla de agua, aceite y uno o más tensioactivos bajo condiciones experimentales controladas, se obtiene una mezcla opaca (es decir, emulsión) o una mezcla transparente (es decir, microemulsión).<sup>[21]</sup> La principal diferencia con emulsión es que las gotitas son mucho más pequeñas (en el orden de 5 a 100 nm), por tanto, la luz pasa a través sin dispersión.

Generalmente, para preparar una emulsión o microemulsión, el tensioactivo se disuelve en agua y luego se añade a la muestra. Se prepara la dispersión mediante agitación vigorosa o mediante el uso de un baño ultrasónico. Este método ha sido propuesto como una alternativa a la dilución de la muestra para la introducción a equipos ICP, porque la masa de materia orgánica que alcanza el plasma es mucho menor, y su principal ventaja es que los efectos de la matriz debido a la presencia de compuestos orgánicos se minimizan. Por otra parte, tanto estándares emulsionados como acuosos pueden ser empleados para realizar la curva de calibración.<sup>[22,23,24,25,26,27]</sup>

Cuando la emulsión se forma para luego romperla y extraer los elementos en la fase acuosa, existen nuevas variables a considerar para lograr una extracción eficiente. El tipo de tensioactivo o surfactante y su concentración son los que promueven la formación de la emulsión, un agente de extracción, generalmente  $\text{HNO}_3$  favorece la migración de los elementos a la fase acuosa. Adicionalmente, pueden influir los tiempos de agitación en la etapa de emulsión, temperatura de rompimiento entre otros.

Cassella R, y colaboradores (2010)<sup>[28]</sup> aplicaron la metodología de formación y rompimiento de emulsiones en la determinación de Cu, Fe, Ni y Pb en muestras de diesel mediante espectrometría de absorción atómica con vaporización electrotérmica. Una porción de 10 mL de diesel fue emulsionado con 2 mL de una solución ácida 10 %v/v de  $\text{HNO}_3$  y 7 % de Triton X-114, la emulsión se colocó por 15 min a 80 °C para romper la emulsión y obtener 3 fases i) superior: diesel, ii) media: solución acuosa y iii) inferior: fase rica en surfactante. Se tomaron 1,5 mL de la fase acuosa para análisis por ETAAS. En este trabajo se estudió el efecto del surfactante y del  $\text{HNO}_3$  obteniendo que ninguno tenía efecto sobre la señal de los elementos estudiados pero si sobre los tiempos requeridos para romper la emulsión. Se determinó la recuperación mediante el enriquecimiento con estándares organometálicos con resultados entre 85 y 109%.

Cassella R, y colaboradores (2012)<sup>[29]</sup> realizaron la determinación de Al, Cu, Mn, Ni, Sn y V en muestras de diesel mediante la formación y rompimiento de emulsiones y el análisis por ICP-MS. El diesel se emulsionó con un tensioactivo

en solución ácida (Triton X-114) para formar una emulsión estable de agua en aceite. A continuación, la emulsión fue rota por centrifugación durante 60 min a 3200 rpm, produciendo dos fases: (i) la fase orgánica, que contiene el diesel mezclado con el agente tensioactivo, y (ii) la fase acuosa, que contiene los metales extraídos a partir del diesel. Después, la fase acuosa se diluyó y se determinaron los analitos por ICP-MS usando el método de estándar interno. Los límites de detección para los elementos de interés estaban en el rango de 26 a 88 ng L<sup>-1</sup> y el porcentaje de recuperación para el enriquecimiento con estándares organometálicos entre 84-113 %. No se obtuvo variación de las señales con respecto al porcentaje de surfactante, sin embargo, la extracción de los elementos no era satisfactoria a bajas concentraciones de HNO<sub>3</sub>.

Recientemente, Trevelin A, y colaboradores (2016)<sup>[30]</sup> determinaron los elementos Ba, Ca, Mg y Na en muestras de crudo mediante la formación y rompimiento de emulsiones y el análisis por ICP OES. Aproximadamente 200 mg de la muestra de crudo fueron mezclados con 1 mL de xileno, luego de agitar, se agregaron 2 mL de una solución 5% Triton X-100 y 10 % HNO<sub>3</sub> y se mantuvo la mezcla en ultrasonido por 25 min y se llevó a 10 mL. La emulsión se colocó a 80 °C por 10 min y luego a centrifugación por 5 min a 4000 rpm. Finalmente se tomó una porción de 5 mL del extracto acuoso para el análisis por ICP OES. Se observó que la máxima intensidad para los elementos se obtuvo a 5% de surfactante y solo para el Ba se observaron mayores señales cuando se utilizó Triton X-100 como surfactante en lugar de Triton X-114. Para la concentración de HNO<sub>3</sub> en el rango de 1 a 20%, no se obtuvo mayor diferencia en cuanto a las señales por lo que se concluyó que 1% de HNO<sub>3</sub>



sería suficiente para promover la total extracción de los metales estudiados del crudo a la fase acuosa, sin embargo, se decidió utilizar 10% de HNO<sub>3</sub> ya que resultó en mejor recuperación cuando se enriqueció con estándares organometálicos (99 – 104%). Adicionalmente, se obtuvo buena concordancia con los valores del material de referencia 1634c para los elementos Ba y Na.

He Y, y colaboradores (2015)<sup>[31]</sup> realizaron la determinación de Mg, Cr, Ni, Cu y Pb en aceites lubricantes mediante la formación y rompimiento de emulsiones y el análisis por ICP-MS. Se mezclaron 4 mL de la muestra con 1 mL de tolueno y la mezcla se emulsificó con 1 ML de Triton X-114 en solución ácida. La emulsión se rompió mediante centrifugación por 10 min a 6000 rpm y la fracción acuosa llevada al ICP-MS. La veracidad del método se chequeó mediante análisis de recuperación, análisis de los estándares de referencia SRM 1084a y 1085b y comparación con digestión por microondas.

La metodología de formación y rompimiento de emulsiones ha sido también utilizada en otro tipo de muestras como aceites comestible y con diversas técnicas de análisis.<sup>[32,33,34,35,36,37,38]</sup>

En la tabla 6 se muestra un resumen de los trabajos más relevantes en cuanto a la determinación de metales en crudos mediante la formación y rompimiento de emulsiones.

**Tabla 6. Determinación de metales en crudos mediante la formación y rompimiento de emulsiones**

| <b>Matriz</b>       | <b>Preparación de muestra</b>   | <b>Equipo</b> | <b>Observaciones</b>   | <b>Autores</b>                                    |
|---------------------|---|---------------|--|---|
| Diesel              | Emulsión: Diesel/solución ácida Triton X-114 ; 10mL/2mL<br>Rompimiento: 80 °C   | ETAAS         | No evidenció efecto del Triton X-114 ni del HNO <sub>3</sub> en la determinación de los elementos Cu, Fe, Ni y Pb<br>Recuperación en diesel enriquecido 85 - 109%.   | Casella R. y colaboradores (2010) <sup>[28]</sup> |
| Diesel              | Emulsión: Diesel/solución ácida Triton X-114 ; 10mL/2mL<br>Rompimiento: centrifugación 60 min                                       | ICP-MS        | La extracción de los elementos no fue satisfactoria a bajas concentraciones de HNO <sub>3</sub> .<br>Recuperación en diesel enriquecido 84-113%.<br>Elementos: Al, Cu, Mn, Ni, Sn y V  | Casella R. y colaboradores (2012) <sup>[29]</sup> |
| Aceites lubricantes | Emulsión: Muestra/Tolueno/solución ácida Triton X-114 ; 4mL/1mL/1mL<br>Rompimiento: centrifugación 10 min a 6000 rpm                | ICP-MS        | La veracidad del método se chequeó mediante análisis de recuperación, análisis de los estándares de referencia SRM 1084a y 1085b y comparación con digestión por microondas.<br>Elementos: Mg, Cr, Ni, Cu y Pb   | He Y, y colaboradores (2015) <sup>[31]</sup>      |
| Crudo               | Emulsión: Muestra/Xileno/solución ácida Triton X-100 ; 200mg/1mL/2mL<br>Rompimiento: 80°C por 10min y centrifugación 5min a 4000rpm | ICP OES       | Mejores a 5% de surfactante. Para el Ba se observaron mayores señales con Triton X-100 en lugar de Triton X-114. No se observó variación respecto al HNO <sub>3</sub> entre 1 y 20%.<br>Recuperaciones: 99 – 104%. Buena concordancia para Ba y Na en CRM 1634c.<br>Elementos: Ba, Ca, Mg y Na | Trevelin A, y colaboradores(2016) <sup>[30]</sup> |

## 2. JUSTIFICACIÓN

Venezuela es hoy en día el país con la mayor cantidad de reservas internacionales de crudo, donde el 79,8% corresponde a crudo extrapesado, por lo tanto existe la necesidad de crear tecnologías u optimizar aquellas existentes para el mejor aprovechamiento del crudo. En este sentido, el conocimiento de la cantidad de metales proporciona información valiosa para el ajuste de procesos de refinación, información geoquímica y de contaminación ambiental. Por ejemplo, los elementos As, Cd, Co, Cr, Mo, Ni, Pb, V entre otros afectan la eficiencia de los procesos catalíticos. Ba, Mn y Mo son marcadores geoquímicos. As, Cd, Co y Pb tienen impacto ambiental y el As y Pb afectan a la salud humana. Debido a la importancia de los elementos trazas As, Ba, Cd, Co, Cr, Mn, Mo, Pb y Zn y la información que proporcionan a la industria petrolera, estos elementos fueron seleccionados para este trabajo de investigación.

Existen diversas técnicas para el análisis de metales trazas, entre ellas, la Espectrometría de Masas con Plasma Inductivamente Acoplado (ICP-MS) posee las ventajas de ser multielemental y alcanzar límites de detección bajos en el orden de  $\text{ng L}^{-1}$  y  $\mu\text{g L}^{-1}$ . Sin embargo, en el análisis de metales trazas en muestras de crudos, el tratamiento de la muestra es un paso determinante ya que los ICP-MS están diseñados principalmente para la introducción de soluciones acuosas.

En este trabajo se propone la extracción por formación y rompimiento de emulsiones (EFRE) como tratamiento de muestra para la determinación de metales trazas en muestras de crudos pesados y extrapesados por ICP-MS. EFRE posee la ventaja que solo se introduce el extracto acuoso de la emulsión evitando los problemas asociados a la introducción directa de muestras orgánicas tales como formación de carbón en la interfase, inestabilidad y/o extensión del plasma, entre otros. Además, EFRE es un tratamiento de muestra rápido en comparación a la digestión total de muestras por digestión ácida o calcinación, por lo que es más reproducible y menos susceptible a pérdidas por volatilización y a contaminación.

### **3. OBJETIVOS**

#### **3.1. General**

Evaluar los fenómenos y comportamiento asociado a la extracción por formación y rompimiento de emulsiones para el análisis de metales en crudos pesados y extrapesados por ICP-MS.

#### **3.2. Específicos**

- Evaluar el efecto de los diferentes parámetros involucrados en la extracción por formación y rompimiento de emulsiones: Concentración de Triton X-100, Concentración de HNO<sub>3</sub>, Temperatura de rompimiento, Tiempo de extracción, Relación crudo:xileno, Relación crudo:solución de extracción.
- Estudiar y optimizar las condiciones experimentales del método de extracción por formación y rompimiento de emulsión para los elementos As, Ba, Cd, Co, Cr, Mn, Mo, Pb y Zn.
- Comparación de la metodología de extracción por formación y rompimiento de emulsiones con la introducción directa de emulsiones.
- Validación del método mediante comparación con el material de referencia 1634c.

## 4. PARTE EXPERIMENTAL

### 4.1. Instrumentación

#### 4.1.1. ICP-MS

Se utilizó un **ICP-MS Agilent Technologies 7500ce** con las características que se muestran en la tabla 7.

**Tabla 7. Especificaciones del ICP-MS Agilent 7500ce**

|                   |   |
|-------------------|---|
| Nombre            | Agilent 7500 Series ICP-MS (Agilent 7500ce) |
| ICP               | Frecuencia: 27,12 MHz                       |
|                   | Potencia RF: máximo 1600 W                  |
|                   | Antorcha: tipo Fassel                       |
| Celda de colisión | Octopolar: H <sub>2</sub> , He u otro gas.  |
| MS                | Analizador de masas: cuadrupolar            |
|                   | Frecuencia: ≈ 3 MHz                         |
|                   | Rango de masas: 2 – 260 amu                 |
|                   | Detector: electromultiplicador              |

### 4.2. Muestras y reactivos

Las muestras de crudos pesados y extrapesados fueron suministradas por PDVSA-INTEVEP, Caracas, Venezuela, en la tabla 8 se muestran sus características generales. Se utilizaron tres estándares organometálicos Conostan, USA, "S-21" con 100 mg/Kg (p/p) de los metales Ag, Al, B, Ba, Ca, Cd, Cr, Cu, Fe, Mg, Mn, Mo, Na, Ni, P, Pb, Si, Sn, Ti, V y Zn, 100 mg/Kg de As y 300 mg/Kg de Co, Sc e Y. Para la disolución del crudo se utilizó Xileno

(puriss. p.a.) Sigma-Aldrich. El surfactante utilizado fue Triton X-100 Aldrich Chemical Company. Las soluciones acuosas de referencia de 1000 mg/Kg con trazabilidad NIST, Absolute Standards. Se utilizó ácido nítrico HNO<sub>3</sub> destilado.

**Tabla 8. Características generales de las muestras de crudos pesados y extrapesados**

| Muestra | °API a 60 °F | Gravedad específica 60/60 °F | Viscosidad cinemática (cSt) | Viscosidad cinemática (cSt) | Azufre (%P/P) | Punto de fluidez (°C) |
|---------|--------------|------------------------------|-----------------------------|-----------------------------|---------------|-----------------------|
| a       | 8,1          | 1,0136                       | 5021,0<br>(a 60°C)          | 310,4<br>(a 98,89°C)        | 4,21          | 24                    |
| b       | 11,0         | 0,9930                       | 6735<br>(a 37,78 °C)        | 2117<br>(a 50 °C)           | 2,8           | 18                    |
| c       | 20,6         | 0,9301                       | 259,2<br>(a 20 °C)          | 99,20<br>(a 37,8 °C)        | 2,4           | -33                   |
| d       | 15,1         | 0,9642                       | 1050<br>(a 37,78 °C)        | 221,9<br>(a 60 °C)          | 2,54          | -15                   |
| e       | 11,1         | 0,9919                       | 34090<br>(a 20 °C)          | 4102<br>(a 40 °C)           | 2,72          | 12                    |
| f       | 9,2          | 1,0057                       | 6723<br>(a 50 °C)           | 6190<br>(a 60 °C)           | 2,61          | 15                    |
| g       | 8,4          | 1,0114                       | 17045<br>(a 50 °C)          | 5507<br>(a 60 °C)           | 3,65          | 21                    |

#### ***4.3. Extracción por Formación y Rompimiento de Emulsiones (EFRE) para el análisis de elementos en crudos extrapesados por ICP-MS***

En la extracción por formación y rompimiento de emulsiones, la muestra de crudo, previamente mezclada con xileno para reducir su viscosidad, es emulsionada con una solución que contiene un surfactante, generalmente Triton X-100 o Triton X-114, y un agente de extracción, generalmente HNO<sub>3</sub>. El surfactante se agrega con la finalidad de reducir la tensión interfacial del medio, promover la emulsión e incrementar el contacto entre la solución de extracción

y la muestra de crudo. Se ha reportado que la concentración de surfactante tiene efecto sobre las señales de los elementos,<sup>[30]</sup> el tiempo en romper la emulsión cuando se realiza por centrifugación<sup>[28]</sup> y el tiempo que toma para formar la emulsión<sup>[29]</sup>. El HNO<sub>3</sub> facilita la extracción de los elementos presentes como complejos organometálicos en la fase orgánica a la fase acuosa.<sup>[28,29]</sup> Finalmente, para romper la emulsión, se aplica calentamiento, lo cual reduce la adsorción de los surfactantes en la interfase, disminuye la viscosidad de la fase orgánica y la rigidez de la película interfacial, esto provoca la coalescencia de las gotas y la separación de las fases<sup>[40]</sup> donde los analitos de interés se encuentran en la fase acuosa y son llevados al ICP-MS luego de la adición del estándar interno.

#### **4.3.1. Tratamiento de muestra**

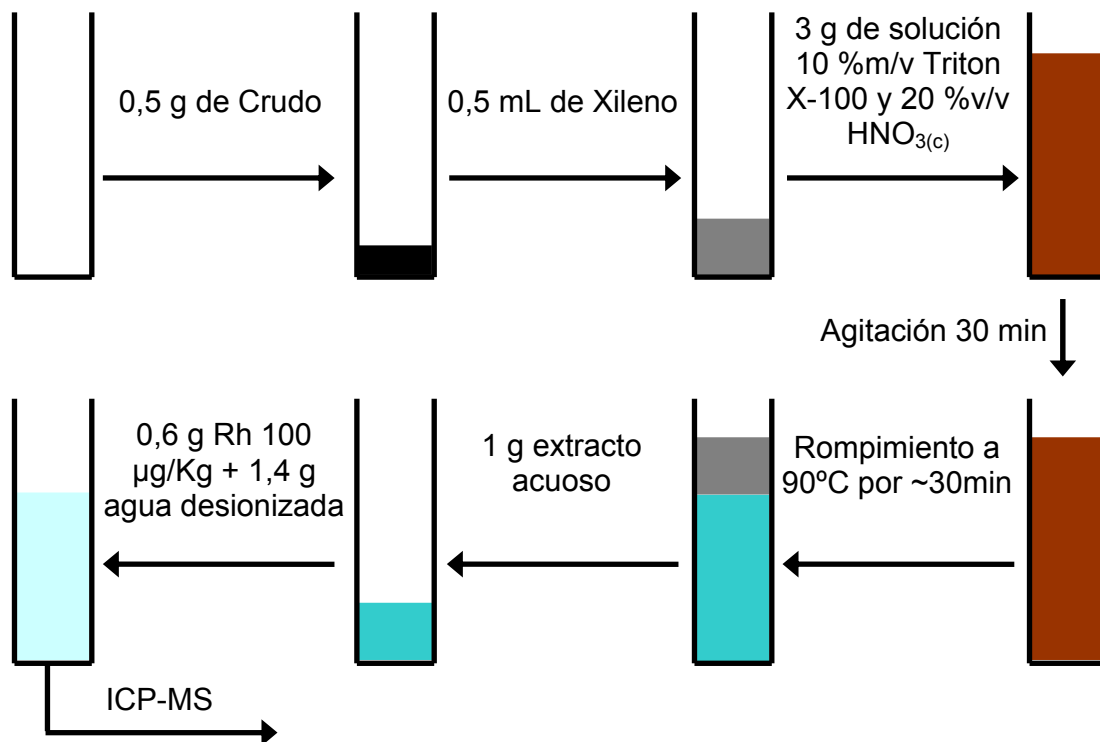
Se pesan aproximadamente 0,5 g de muestra de crudo en un tubo de centrifuga de 5 mL de capacidad. Se agregan 0,5 mL de xileno para reducir la viscosidad del crudo. Luego se agregan 3 g de la solución emulsificante (10% m/v Tritón X-100, 20% v/v HNO<sub>3(c)</sub>) y la mezcla se agita vigorosamente mediante vortex por 1min y luego en agitación continua por 30 min. Finalmente la mezcla se mantuvo en un baño de agua a 90 °C sin agitación hasta el rompimiento de la emulsión (aproximadamente 30 min). Se extrae 1 g de la fase acuosa, se agregan 0,6 g de la solución de estándar interno (Rh 100 µg/Kg) y se diluye a 3 g con agua desionizada para su análisis por ICP-MS. En la figura 7 se muestra un esquema del procedimiento.



Nota 1: todas las determinaciones de masa en este trabajo fueron realizadas en una balanza analítica de 0,0001 g de apreciación.

Nota 2: para la preparación de la solución emulsificante se disuelven 10 g de Triton X-100 en 50 mL de agua desionizada, se agregan 20 mL de HNO<sub>3(c)</sub> destilado y se enrasa a 100 mL con agua desionizada.

La curva de calibración se prepara a partir de soluciones acuosas estándar de 1000 mg/Kg en un rango entre 1 y 100 µg/Kg e incluyendo un blanco de patrón (0 µg/Kg) y todos con aproximadamente 20 µg/Kg de Rh como estándar interno. En cada uno de los patrones se simula la matriz de la muestra que finalmente es introducida al ICP-MS, es decir, 3,33 % m/v Tritón X-100 y 6,67 % v/v HNO<sub>3(c)</sub>. Las condiciones típicas de análisis en el ICP-MS se muestran en la tabla 9.



**Figura 7. Esquema del procedimiento de extracción por formación y rompimiento de emulsiones (EFRE)**

**Tabla 9. Condiciones típicas de análisis en el ICP-MS**

| Parámetro                           | EFRE   | IDE  |
|-------------------------------------|--|--|
| Potencia RF                         | 1500 W   | 1300 W   |
| Flujo gas de arrastre (Ar)          | 0,75 L/min   | 0,65 L/min   |
| Flujo de Oxígeno                    | 0 L/min  | 0,06 L/min   |
| Temperatura cámara de sedimentación | 2 °C   | 2 °C   |
| Diámetro interno del inyector       | 1 mm   | 1 mm   |
| Profundidad de muestreo             | 7 mm   | 7 mm   |
| Material de los conos               | Ni   | Pt   |
| Flujo de He en celda de colisión    | 0 mL/min   | 4 mL/min   |
| Tiempo de integración por punto     | 0,1 s  | 0,1 s  |
| Tiempo total de lectura             | ~100 s   | ~25 s  |
| Isótopos de cuantificación          | <sup>75</sup> As, <sup>138</sup> Ba,<br><sup>111</sup> Cd, <sup>59</sup> Co,<br><sup>53</sup> Cr, <sup>55</sup> Mn,<br><sup>98</sup> Mo, <sup>208</sup> Pb,<br><sup>66</sup> Zn, <sup>103</sup> Rh<br>(EI) y <sup>82</sup> Se (EI) | <sup>75</sup> As, <sup>138</sup> Ba,<br><sup>111</sup> Cd, <sup>59</sup> Co,<br><sup>55</sup> Mn, <sup>98</sup> Mo,<br><sup>208</sup> Pb, <sup>66</sup> Zn,<br><sup>103</sup> Rh (EI) y <sup>82</sup> Se<br>(EI) |

#### **4.4. Introducción Directa de Emulsiones (IDE) al ICP-MS**

En la introducción directa de emulsiones se desea obtener una emulsión homogénea y estable, por ello, la forma de preparación difiere en proporciones y reactivos a la metodología por EFRE, por ejemplo, no se agrega  $\text{HNO}_3$  ya que el cambio de pH de la solución acuosa inestabiliza la emulsión.<sup>[40]</sup> Se ha reportado<sup>[11,22,24]</sup> que las condiciones óptimas de preparación consiste en mezclar el crudo con una cantidad de xileno, luego con el surfactante puro hasta lograr una completa homogeneización y finalmente con agua hasta formar la emulsión. Una ventaja de este procedimiento es que se pueden utilizar patrones acuosos emulsificados para la curva de calibración<sup>[24]</sup>, sin embargo, entre sus desventajas se encuentra que debido a la gran cantidad de materia orgánica, la determinación es más susceptible a efectos matriz, se debe utilizar oxígeno, conos de platino y se pueden obstruir los conos de la interfase y el nebulizador.

##### **4.4.1. Tratamiento de muestra**

Se pesan aproximadamente 0,3 g de la muestra de crudo en un vial de 10 mL de capacidad, Se agregan 0,3 mL de xileno para reducir la viscosidad del crudo. Se agregan 0,15 g de Triton X-100 y se agita mediante vortex para lograr la homogeneización de la mezcla. Se agregan 0,2 g de la solución de estándar interno (Rh 500  $\mu\text{g}/\text{Kg}$  y Se 5000  $\mu\text{g}/\text{Kg}$ ). Finalmente se agrega agua

desionizada hasta completar 5 g y se agita vigorosamente para formar la emulsión.

La curva de calibración se prepara a partir de soluciones acuosas estándar de 1000 mg/Kg en un rango entre 1 y 100  $\mu\text{g/Kg}$  e incluyendo un blanco de patrón (0  $\mu\text{g/Kg}$ ) y todos con aproximadamente 20  $\mu\text{g/Kg}$  de Rh y 200  $\mu\text{g/Kg}$  de Se como estándares internos. Los patrones son emulsionados con las mismas proporciones de Triton X-100 y xileno que en las muestras (se agrega una porción adicional de xileno para completar la contribución de materia orgánica proveniente de la muestra). Las condiciones típicas de análisis en el ICP-MS se muestran en la tabla 9.

## 5. RESULTADOS Y DISCUSIONES

### ***5.1. Evaluación de los parámetros de Extracción por formación y rompimiento de emulsiones***

Los parámetros y los rangos evaluados de manera preliminar, en la extracción por formación y rompimiento de emulsiones fueron elegidos tomando como referencia los valores de trabajos previos<sup>[28,29]</sup> en la extracción de metales en diesel, sin embargo, debido a las características de los crudos pesados y extrapesados, se agregó como parámetro la adición de xileno para disminuir la viscosidad y facilitar el contacto del crudo y la solución de extracción, adicionalmente, se disminuyó la relación crudo : solución de extracción para aumentar la eficiencia de la extracción pero manteniendo el factor de dilución total en valores aceptables según las concentraciones de los metales en el crudo. Finalmente, los parámetros y rangos fueron:

- ✓ Factor A: concentración de Triton X-100; 2,5 – 7,5 %
- ✓ Factor B: concentración de HNO<sub>3</sub>; 5 – 15 %
- ✓ Factor C: temperatura de rompimiento; 70 – 90 °C
- ✓ Factor D: tiempo de extracción; 10 – 50 min
- ✓ Factor E: relación crudo : xileno; 1:0,5 – 1:1,5
- ✓ Factor F: relación crudo : solución de extracción; 1:4 – 1:8

La evaluación se llevó a cabo sobre la muestra de crudo extrapesado “a” pura y enriquecida con aproximadamente 500 µg/Kg de los elementos As, Ba, Cd, Co,

Cr, Mn, Mo, Pb y Zn. El crudo extrapesado “a” fue elegido para esta evaluación ya que según sus características fisicoquímicas (ver tabla 8) representa la matriz más compleja de crudo para la extracción de los metales. Un enriquecimiento de 500 µg/Kg está en el orden de concentración en el cual los metales estudiados se encuentran naturalmente en el crudo<sup>[9]</sup>.

Se utilizó un diseño factorial fraccionado  $2^{6-2}_{IV}$  con 5 réplicas del punto central mostrado en la tabla 10. Cada corrida se realizó por triplicado a excepción de las 5 réplicas del punto central (corrida 17). El diseño fue llevado a cabo de manera totalmente aleatoria. En las tablas 11 y 12 se muestran los resultados obtenidos.

La elección de este diseño se realizó con la intención de minimizar el número de experimentos sin dejar de obtener la información acerca de los efectos de los factores principales. Para 6 factores existen principalmente 4 diseños factoriales posibles:  $2^6$ ,  $2^{6-1}_{VI}$ ,  $2^{6-2}_{IV}$ ,  $2^{6-3}_{III}$ . El diseño  $2^6$  (el 2 significa dos niveles y el 6 el número de factores) ofrece información sobre los efectos (A, B, C, D, E y F) y todas sus interacciones (AB, AC..., ABC, ABD..., ABCDEF), sin embargo, el número de corridas asciende a 64. En el diseño  $2^{6-1}_{VI}$  solo se pierde información de las interacciones de ordenes superiores pero el número de corridas es aún alto (32). En el diseño  $2^{6-2}_{IV}$  solo se pierde información de algunas interacciones de dos factores. En el diseño  $2^{6-3}_{III}$  con 8 corridas, los efectos principales comienzan a ser alias con las interacciones de dos, es decir, no se puede resolver cual de los dos factores causa realmente el efecto.

Considerando que el estudio realizado es un estudio preliminar para conocer en primera medida el efecto de los factores principales, el diseño  $2^{6-2}_{IV}$  con 16 corridas fue la elección debido a que se obtienen los efectos de los factores principales sin ser alias de las interacciones de dos factores y con el menor número de experimentos. Se agregaron los puntos centrales para obtener información preliminar de la linealidad o curvatura de los efectos en función de los niveles de los factores. Finalmente, se realizaron 3 réplicas de cada corrida para obtener información acerca de la precisión del método.

**Tabla 10. Diseño  $2^{6-2}_{IV}$  para la evaluación de los parámetros de la extracción por formación y rompimiento de emulsiones**

| <b>Corrida</b> | <b>A:<br/>Concentración<br/>Triton X-100<br/>(%)</b> | <b>B:<br/>Concentración<br/>HNO<sub>3(c)</sub> (%)</b> | <b>C:<br/>Temperatura<br/>de<br/>rompimiento<br/>(°C)</b> | <b>D: Tiempo de<br/>agitación (min)</b> | <b>E: Relación<br/>Crudo:Xileno</b> | <b>F: Relación<br/>Crudo:Solución<br/>de extracción</b> |
|----------------|--|--|---|---|-------------------------------------|---|
| 1              | 2,5  | 5  | 70  | 10                                      | 1:0,5                               | 1:4   |
| 2              | 7,5  | 5  | 70  | 10                                      | 1:1,5                               | 1:4   |
| 3              | 2,5  | 15   | 70  | 10                                      | 1:1,5                               | 1:8   |
| 4              | 7,5  | 15   | 70  | 10                                      | 1:0,5                               | 1:8   |
| 5              | 2,5  | 5  | 90  | 10                                      | 1:1,5                               | 1:8   |
| 6              | 7,5  | 5  | 90  | 10                                      | 1:0,5                               | 1:8   |
| 7              | 2,5  | 15   | 90  | 10                                      | 1:0,5                               | 1:4   |
| 8              | 7,5  | 15   | 90  | 10                                      | 1:1,5                               | 1:4   |
| 9              | 2,5  | 5  | 70  | 50                                      | 1:0,5                               | 1:8   |
| 10             | 7,5  | 5  | 70  | 50                                      | 1:1,5                               | 1:8   |
| 11             | 2,5  | 15   | 70  | 50                                      | 1:1,5                               | 1:4   |
| 12             | 7,5  | 15   | 70  | 50                                      | 1:0,5                               | 1:4   |
| 13             | 2,5  | 5  | 90  | 50                                      | 1:1,5                               | 1:4   |
| 14             | 7,5  | 5  | 90  | 50                                      | 1:0,5                               | 1:4   |
| 15             | 2,5  | 15   | 90  | 50                                      | 1:0,5                               | 1:8   |
| 16             | 7,5  | 15   | 90  | 50                                      | 1:1,5                               | 1:8   |
| 17             | 5  | 10   | 80  | 30                                      | 1:1                                 | 1:6   |



**Tabla 11. Resultados en µg/Kg del diseño 2<sup>6-2</sup><sub>IV</sub> para la muestra de Crudo**

| Corrida | As   | Ba   | Cd  | Co  | Cr    | Mn  | Mo   | Pb  | Zn    |
|---------|------|------|-----|-----|-------|-----|------|-----|-------|
| 1       | 12,0 | 2009 | <18 | 291 | 11,6  | 241 | 168  | <18 | 42,1  |
| 1       | 15,0 | 1991 | <18 | 299 | 13,1  | 225 | 184  | <18 | 61,1  |
| 1       | 14,2 | 1949 | <18 | 267 | 9,9   | 225 | 184  | <18 | 54,5  |
| 2       | 27,3 | 2177 | <18 | 400 | 21,8  | 248 | 269  | <18 | 98,5  |
| 2       | 33,7 | 2302 | <18 | 433 | 23,2  | 380 | 288  | <18 | 110,6 |
| 2       | 59,0 | 2175 | <18 | 414 | 27,4  | 280 | 257  | <18 | 106,1 |
| 3       | 26,1 | 2346 | <18 | 424 | 79,2  | 314 | 806  | <18 | 504,2 |
| 3       | 35,6 | 2169 | <18 | 387 | 28,4  | 248 | 665  | <18 | 81,8  |
| 3       | 18,8 | 2191 | <18 | 400 | 24,6  | 252 | 683  | <18 | 100,8 |
| 4       | 80,7 | 2119 | <18 | 418 | 54,8  | 257 | 606  | <18 | 122,4 |
| 4       | 45,8 | 2208 | <18 | 436 | 42,9  | 620 | 591  | <18 | 154,4 |
| 4       | 50,8 | 2202 | <18 | 421 | 47,2  | 260 | 598  | <18 | 125,5 |
| 5       | 22,5 | 2265 | <18 | 318 | 18,8  | 244 | 544  | <18 | 90,0  |
| 5       | 17,6 | 2253 | <18 | 318 | 110,3 | 237 | 488  | <18 | 54,8  |
| 5       | 23,1 | 2290 | <18 | 319 | 20,0  | 239 | 551  | <18 | 52,4  |
| 6       | 40,0 | 2393 | <18 | 437 | 32,4  | 276 | 577  | <18 | 248,6 |
| 6       | 39,7 | 2392 | <18 | 442 | 34,2  | 278 | 564  | <18 | 78,5  |
| 6       | 41,4 | 2376 | <18 | 444 | 34,9  | 275 | 551  | <18 | 81,6  |
| 7       | 30,8 | 2150 | <18 | 341 | 26,0  | 249 | 679  | <18 | 95,0  |
| 7       | 37,5 | 2363 | <18 | 384 | 33,8  | 276 | 745  | <18 | 93,5  |
| 7       | 25,5 | 2084 | <18 | 330 | 25,4  | 252 | 646  | <18 | 112,2 |
| 8       | 60,5 | 2498 | <18 | 504 | 43,7  | 290 | 918  | <18 | 124,3 |
| 8       | 61,8 | 2591 | <18 | 520 | 49,8  | 433 | 924  | <18 | 128,8 |
| 8       | 57,8 | 2479 | <18 | 516 | 56,0  | 296 | 965  | <18 | 133,4 |
| 9       | 14,0 | 2150 | <18 | 356 | 17,6  | 262 | 305  | <18 | 27,4  |
| 9       | 18,5 | 2117 | <18 | 348 | 20,3  | 258 | 254  | <18 | 94,3  |
| 9       | 13,0 | 2145 | <18 | 349 | 16,3  | 246 | 274  | <18 | 34,0  |
| 10      | 31,4 | 2411 | <18 | 503 | 34,4  | 275 | 381  | <18 | 100,2 |
| 10      | 30,7 | 2341 | <18 | 497 | 33,4  | 265 | 382  | <18 | 87,8  |
| 10      | 31,1 | 2361 | <18 | 484 | 33,0  | 282 | 397  | <18 | 85,4  |
| 11      | 20,6 | 2190 | <18 | 393 | 20,5  | 250 | 631  | <18 | 492,3 |
| 11      | 21,7 | 2234 | <18 | 399 | 17,7  | 254 | 725  | <18 | 94,2  |
| 11      | 15,3 | 2249 | <18 | 388 | 20,4  | 247 | 751  | <18 | 78,8  |
| 12      | 43,2 | 2284 | <18 | 416 | 39,0  | 387 | 453  | <18 | 137,3 |
| 12      | 50,9 | 2421 | <18 | 456 | 46,4  | 286 | 397  | <18 | 123,2 |
| 12      | 37,5 | 2314 | <18 | 419 | 35,4  | 339 | 428  | <18 | 123,8 |
| 13      | 15,5 | 2243 | <18 | 306 | 16,0  | 227 | 370  | <18 | 66,3  |
| 13      | 13,9 | 2250 | <18 | 264 | 14,7  | 209 | 396  | <18 | 150,7 |
| 13      | 13,4 | 2225 | <18 | 289 | 15,9  | 223 | 384  | <18 | 82,9  |
| 14      | 26,3 | 2470 | <18 | 415 | 23,0  | 280 | 335  | <18 | 98,4  |
| 14      | 26,2 | 2462 | <18 | 414 | 23,1  | 281 | 364  | <18 | 105,4 |
| 14      | 24,2 | 2477 | <18 | 395 | 24,9  | 282 | 313  | <18 | 102,5 |
| 15      | 37,0 | 2175 | <18 | 387 | 42,4  | 251 | 1016 | <18 | 130,7 |
| 15      | 38,9 | 2173 | <18 | 383 | 39,3  | 251 | 972  | <18 | 77,7  |
| 15      | 41,4 | 2204 | <18 | 403 | 42,6  | 263 | 1019 | <18 | 84,5  |

**Tabla 11. Continuación. Resultados en  $\mu\text{g/Kg}$  del diseño 2<sup>6-2</sup><sub>IV</sub> para la muestra de Crudo**

| <b>Corrida</b> | <b>As</b> | <b>Ba</b> | <b>Cd</b> | <b>Co</b> | <b>Cr</b> | <b>Mn</b> | <b>Mo</b> | <b>Pb</b> | <b>Zn</b> |
|----------------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| 16             | 59,9      | 2374      | <18       | 513       | 73,5      | 283       | 1044      | <18       | 107,2     |
| 16             | 59,7      | 2400      | <18       | 526       | 75,3      | 353       | 1022      | <18       | 98,2      |
| 16             | 65,0      | 2431      | <18       | 515       | 63,8      | 302       | 1111      | <18       | 113,6     |
| 17             | 34,4      | 2227      | <18       | 429       | 36,1      | 261       | 543       | <18       | 76,2      |
| 17             | 31,3      | 2271      | <18       | 428       | 36,1      | 266       | 582       | <18       | 67,7      |
| 17             | 36,6      | 2262      | <18       | 419       | 37,0      | 260       | 544       | <18       | 90,5      |
| 17             | 34,7      | 2271      | <18       | 437       | 36,4      | 276       | 592       | <18       | 100,2     |
| 17             | 45,4      | 2222      | <18       | 432       | 36,6      | 259       | 519       | <18       | 118,1     |

**Tabla 12. Resultados en  $\mu\text{g/Kg}$  del diseño 2<sup>6-2</sup><sub>IV</sub> para la muestra de Crudo enriquecido**

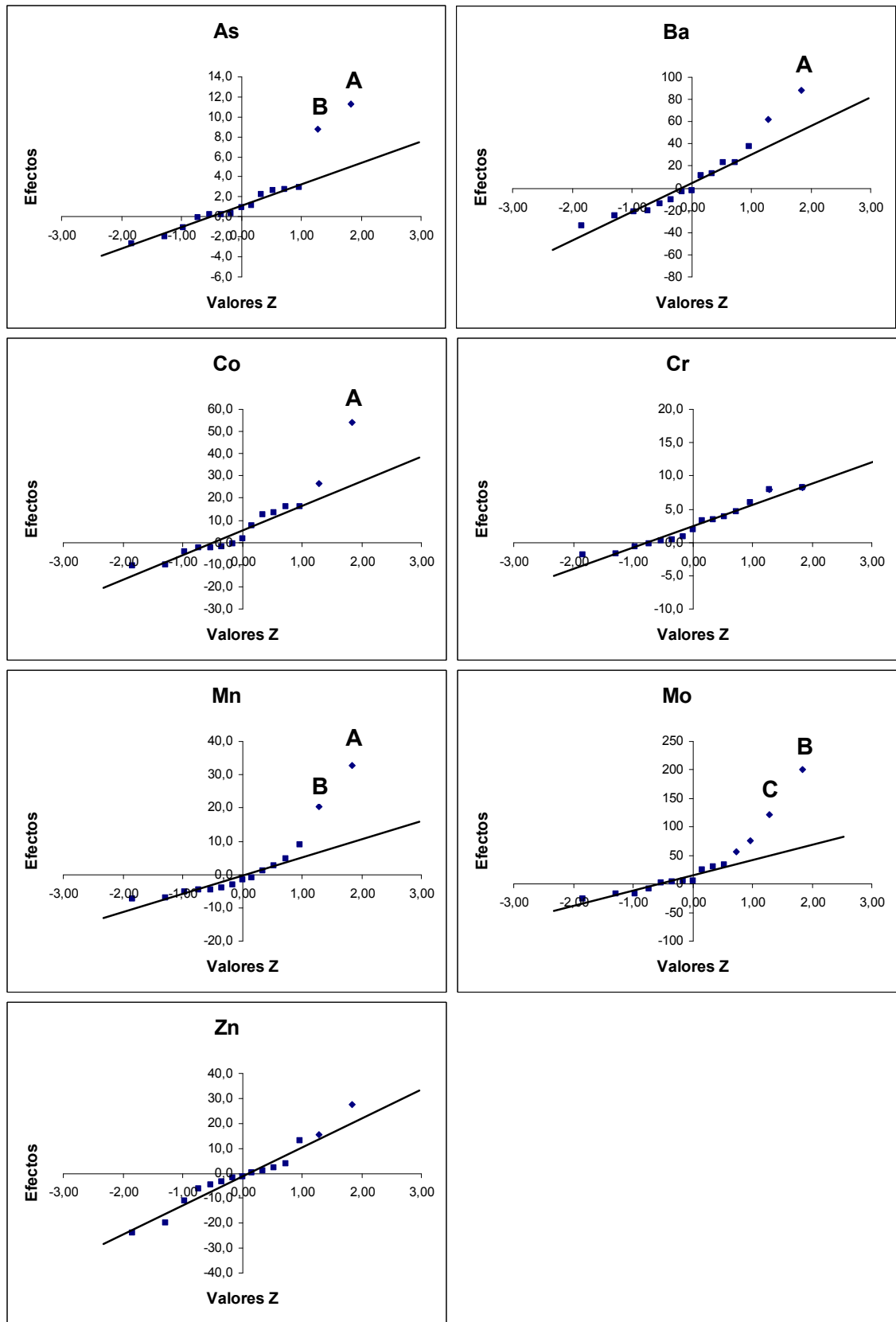
| Corrida | As  | Ba   | Cd  | Co   | Cr  | Mn   | Mo   | Pb  | Zn  |
|---------|-----|------|-----|------|-----|------|------|-----|-----|
| 1       | 219 | 2190 | 476 | 879  | 370 | 689  | 316  | 236 | 544 |
| 1       | 179 | 2212 | 492 | 925  | 383 | 766  | 315  | 239 | 513 |
| 1       | 182 | 2351 | 515 | 1001 | 413 | 771  | 328  | 254 | 596 |
| 2       | 165 | 2490 | 557 | 1132 | 423 | 852  | 426  | 256 | 628 |
| 2       | 197 | 2454 | 554 | 1130 | 423 | 856  | 378  | 258 | 611 |
| 2       | 169 | 2477 | 550 | 1121 | 410 | 845  | 419  | 261 | 630 |
| 3       | 155 | 2437 | 521 | 1121 | 459 | 777  | 1060 | 240 | 551 |
| 3       | 172 | 2380 | 512 | 1078 | 444 | 758  | 914  | 242 | 577 |
| 3       | 213 | 2415 | 521 | 1089 | 448 | 836  | 1038 | 246 | 616 |
| 4       | 229 | 2358 | 550 | 1191 | 516 | 841  | 503  | 228 | 632 |
| 4       | 271 | 2433 | 565 | 1154 | 527 | 858  | 571  | 252 | 676 |
| 4       | 251 | 2466 | 563 | 1248 | 545 | 872  | 561  | 239 | 662 |
| 5       | 145 | 2372 | 521 | 1098 | 376 | 795  | 739  | 240 | 573 |
| 5       | 169 | 2412 | 524 | 1114 | 385 | 800  | 822  | 238 | 552 |
| 5       | 155 | 2393 | 525 | 1118 | 384 | 800  | 859  | 244 | 556 |
| 6       | 255 | 2776 | 616 | 1305 | 555 | 949  | 900  | 258 | 686 |
| 6       | 210 | 2689 | 592 | 1257 | 541 | 905  | 867  | 273 | 637 |
| 6       | 260 | 2796 | 618 | 1369 | 592 | 948  | 829  | 271 | 721 |
| 7       | 181 | 2496 | 550 | 1159 | 475 | 862  | 1042 | 268 | 628 |
| 7       | 188 | 2560 | 559 | 1152 | 460 | 1167 | 1069 | 268 | 629 |
| 7       | 199 | 2510 | 541 | 1119 | 459 | 837  | 1084 | 257 | 619 |
| 8       | 224 | 2660 | 589 | 1277 | 567 | 956  | 1296 | 266 | 694 |
| 8       | 230 | 2742 | 598 | 1301 | 594 | 924  | 1280 | 297 | 730 |
| 8       | 217 | 2686 | 580 | 1262 | 566 | 883  | 1358 | 271 | 711 |
| 9       | 167 | 2397 | 535 | 1129 | 416 | 817  | 398  | 246 | 570 |
| 9       | 147 | 2415 | 535 | 1117 | 423 | 805  | 411  | 240 | 547 |
| 9       | 145 | 2342 | 523 | 1091 | 405 | 1059 | 408  | 223 | 519 |
| 10      | 257 | 2451 | 549 | 1191 | 412 | 820  | 635  | 245 | 576 |
| 10      | 218 | 2439 | 551 | 1181 | 416 | 810  | 645  | 261 | 609 |
| 10      | 163 | 2471 | 545 | 1192 | 415 | 823  | 587  | 246 | 627 |
| 11      | 189 | 2454 | 532 | 1103 | 458 | 808  | 1067 | 229 | 622 |
| 11      | 148 | 2412 | 521 | 1118 | 454 | 809  | 1026 | 251 | 617 |
| 11      | 191 | 2411 | 527 | 1088 | 453 | 798  | 1046 | 221 | 614 |
| 12      | 299 | 2372 | 553 | 1129 | 512 | 826  | 497  | 248 | 667 |
| 12      | 285 | 2351 | 549 | 1122 | 504 | 805  | 472  | 257 | 649 |
| 12      | 260 | 2461 | 554 | 1148 | 517 | 863  | 448  | 267 | 660 |
| 13      | 140 | 2332 | 460 | 603  | 261 | 502  | 549  | 231 | 477 |
| 13      | 137 | 2304 | 467 | 636  | 261 | 472  | 549  | 224 | 430 |
| 13      | 202 | 2397 | 494 | 648  | 278 | 503  | 577  | 245 | 457 |
| 14      | 202 | 2868 | 630 | 1278 | 541 | 972  | 601  | 288 | 746 |
| 14      | 195 | 2762 | 606 | 1209 | 520 | 906  | 600  | 284 | 917 |
| 14      | 183 | 2661 | 589 | 1182 | 505 | 900  | 498  | 268 | 675 |
| 15      | 199 | 2585 | 571 | 1292 | 560 | 911  | 1461 | 245 | 664 |
| 15      | 191 | 2514 | 548 | 1227 | 525 | 1105 | 1468 | 258 | 621 |
| 15      | 210 | 2729 | 588 | 1313 | 563 | 914  | 1591 | 260 | 743 |

**Tabla 12. Continuación. Resultados en  $\mu\text{g}/\text{Kg}$  del diseño  $2^{6-2}_{IV}$  para la muestra de Crudo enriquecido**

| Corrida | As  | Ba   | Cd  | Co   | Cr  | Mn  | Mo   | Pb  | Zn   |
|---------|-----|------|-----|------|-----|-----|------|-----|------|
| 16      | 321 | 2645 | 595 | 1424 | 645 | 927 | 1581 | 253 | 1205 |
| 16      | 228 | 2590 | 579 | 1376 | 615 | 893 | 1520 | 260 | 839  |
| 16      | 229 | 2744 | 597 | 1409 | 613 | 929 | 1634 | 270 | 706  |
| 17      | 242 | 2395 | 538 | 1097 | 483 | 868 | 589  | 257 | 636  |
| 17      | 243 | 2415 | 541 | 1112 | 490 | 814 | 644  | 271 | 629  |
| 17      | 213 | 2461 | 550 | 1156 | 490 | 853 | 704  | 248 | 648  |
| 17      | 251 | 2471 | 554 | 1209 | 528 | 871 | 814  | 221 | 654  |
| 17      | 201 | 2469 | 556 | 1136 | 496 | 838 | 687  | 279 | 680  |

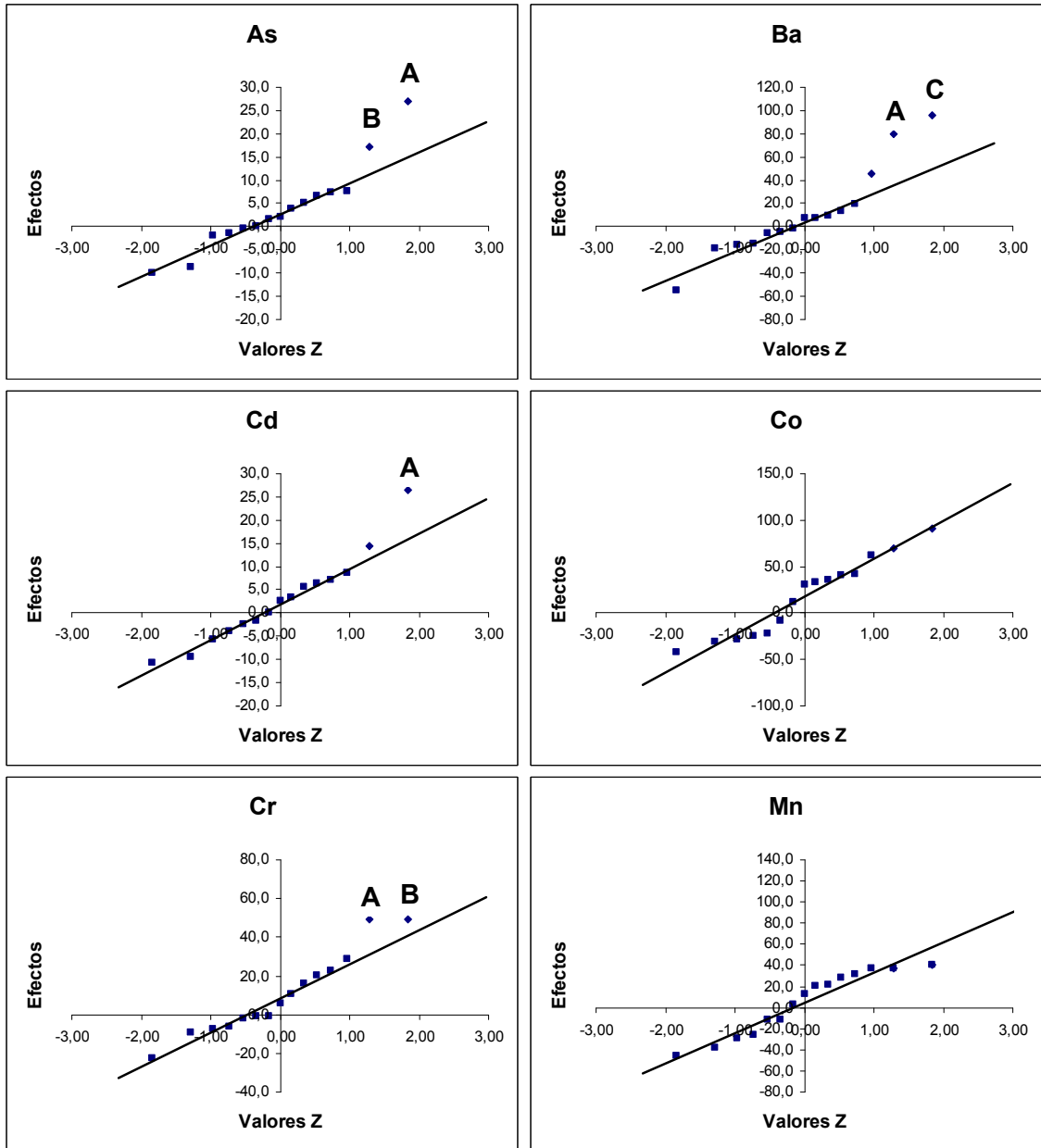
Las estimaciones de los efectos fueron analizadas mediante gráficos de probabilidad normal para determinar los factores que tienen efectos significativo sobre la concentración de los elementos (en el anexo A se encuentran los análisis de varianza). Los gráficos se muestran en las figuras 8 y 9.

El gráfico de probabilidad normal es una herramienta visual que nos permite determinar los factores significativos del diseño. Los valores de los efectos se grafican en función de los valores Z determinados por los valores tabulados de la distribución normal. Los efectos insignificantes siguen una distribución normal y tienden a localizarse sobre una línea recta en esta gráfica, por el contrario, los efectos significativos no se localizaran sobre la línea recta<sup>[39]</sup>. En las figuras 8 y 9 se indican con letras los efectos considerados significativos según este análisis, por ejemplo, para el As en la muestra de crudo, los factores considerados significativos fueron A y B concentración de Triton X-100 y concentración de  $\text{HNO}_{3(c)}$  respectivamente.



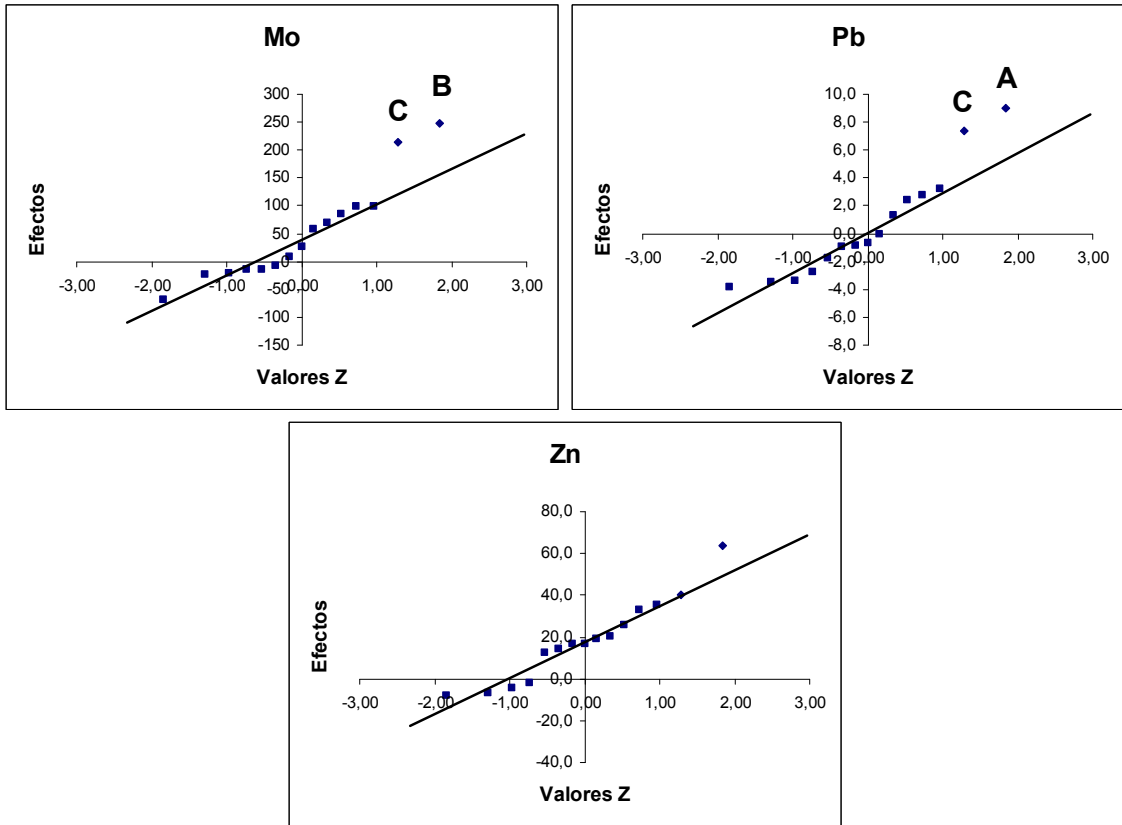
**Figura 8. Gráficos de probabilidad normal muestra de crudo**

(Factores: A: Concentración de Triton X-100, B: Concentración de HNO<sub>3</sub>(c), C: Temperatura de rompimiento)



**Figura 9. Gráficos de probabilidad normal muestra de crudo enriquecido con aprox. 500 µg/Kg de los elementos estudiados**

(Factores: A: Concentración de Triton X-100, B: Concentración de HNO<sub>3</sub>, C: Temperatura de rompimiento)



**Figura 9 continuación. Gráficos de probabilidad normal muestra de crudo enriquecido con aprox. 500 µg/Kg de los elementos estudiados**

(Factores: A: Concentración de Triton X-100, B: Concentración de HNO<sub>3</sub>, C: Temperatura de rompimiento)

En las tablas 13 y 14 se resume la información contenida en las figuras 8 y 9, donde se muestra para cada elemento el promedio de concentración obtenida en el diseño, los factores considerados significativos según los gráficos de probabilidad normal, su efecto y el porcentaje de variación del efecto con respecto al promedio.

**Tabla 13. Efectos significativos para la muestra de crudo**

| Elemento | Promedio (µg/Kg) | Factor*: efecto en µg/Kg (Porcentaje de variación del efecto respecto al promedio) |
|----------|------------------|--|
| As       | 34,1             | A: 11 (32%) – B: 9 (26%)   |
| Ba       | 2270             | A: 88 (4%)   |
| Cd       | <18              | -  |
| Co       | 404              | A: 54 (13%)  |
| Cr       | 34,7             | -  |
| Mn       | 279              | A: 33 (12%) – B: 20 (7%)   |
| Mo       | 565              | B: 200 (35%) – C: 121 (21%)  |
| Pb       | <18              | -  |
| Zn       | 113              | -  |

\*(Factores: A: Concentración de Triton X-100, B: Concentración de HNO<sub>3</sub>, C: Temperatura de rompimiento, D: Tiempo de agitación, E: Relación crudo:xileno y F: Relación crudo:solución de extracción)

**Tabla 14. Efectos significativos para la muestra de crudo enriquecido**

| Elemento | Promedio (µg/Kg) | Factor*: efecto en µg/Kg (Porcentaje de variación del efecto respecto al promedio) |
|----------|------------------|--|
| As       | 206              | A: 27 (13%) – B: 17 (8%)   |
| Ba       | 2492             | C: 95 (4%) – A: 80 (3%)  |
| Cd       | 549              | A: 26 (5%)   |
| Co       | 1142             | -  |
| Cr       | 473              | B: 49 (10%) – A: 49 (10%)  |
| Mn       | 845              | -  |
| Mo       | 805              | B: 249 (30%) – C: 215 (26%)  |
| Pb       | 253              | A: 9 (4%) – C: 7 (3%)  |
| Zn       | 641              | -  |

\*(Factores: A: Concentración de Triton X-100, B: Concentración de HNO<sub>3</sub>, C: Temperatura de rompimiento, D: Tiempo de agitación, E: Relación crudo:xileno y F: Relación crudo:solución de extracción)

En las tablas 13 y 14 se observa que de los seis factores estudiados, tres de ellos aparecen como significativos. La concentración de triton X-100 causa un efecto positivo en los elementos As, Ba, Co y Mn en la muestra de crudo y en As, Ba, Cd, Cr y Pb en la muestra de crudo enriquecida siendo más importante para el As en la muestra de crudo con un 32% respecto al promedio del diseño. La concentración de HNO<sub>3</sub> causa un efecto positivo en los elementos As, Mn y Mo en la muestra de crudo y en As, Cr y Mo en la muestra de crudo enriquecida siendo más significativo para el Mo en ambas muestras por encima del 30% respecto al promedio del diseño. Para determinar el efecto de estos



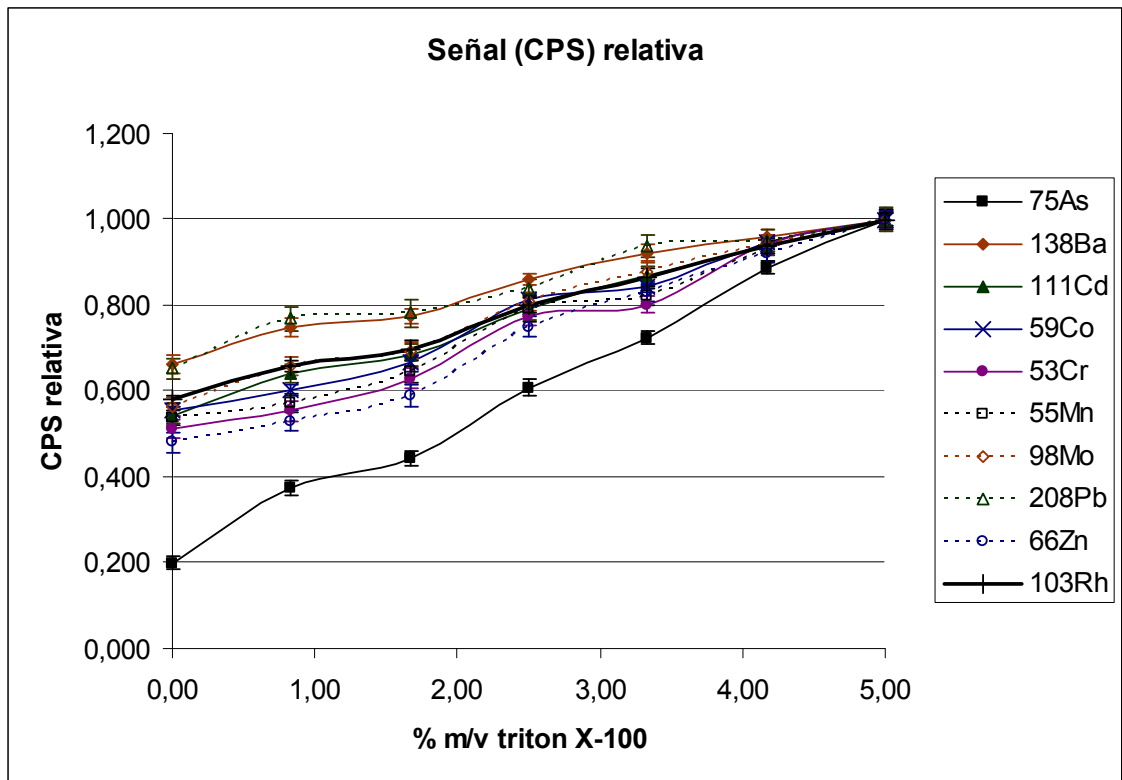
dos factores a niveles superiores y alcanzar unas condiciones robustas de análisis, ambos fueron estudiados por separado a diversas concentraciones. La temperatura de rompimiento también muestra un efecto positivo en algunos elementos, sin embargo, se decidió utilizar 90°C en los próximos experimentos ya que se obtienen las mayores concentraciones y no es posible utilizar temperaturas mayores.

## **5.2. Efecto de la concentración de triton X-100**

El efecto positivo del triton X-100 obtenido en el diseño factorial puede deberse a dos factores: (1) a una mejor extracción de los elementos en el crudo o (2) al efecto del surfactante sobre la señal de los elementos en el ICP-MS debido a que la curva de calibración se preparó con una concentración de triton X-100 intermedia (1,7 % m/v) del rango utilizado en el diseño factorial (0,8 – 2,5 %m/v). Por esta razón, antes de determinar el efecto de la concentración de triton X-100 sobre la extracción de los elementos en el crudo, se desea conocer su efecto sobre la señal de los elementos en el ICP-MS.

### **5.2.1. Efecto de la concentración de triton X-100 sobre la señal de los elementos en el ICP-MS**

Para determinar el efecto de la concentración de triton X-100 sobre la señal de los elementos, se prepararon soluciones de 20 µg/Kg entre 0 y 5 % de triton X-100, todas a 6,7 % v/v de HNO<sub>3(c)</sub>. En la figura 10 se muestra la señal de todos los elementos en función de la concentración de triton X-100.

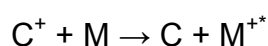


**Figura 10. Señal relativa de los elementos estudiados en función de la concentración de triton X-100**

La presencia de un surfactante disminuye la tensión superficial favoreciendo la más eficiente nebulización de la solución<sup>[19]</sup> aumentando así la señal de los elementos. El incremento de la señal debería ser igual para todos los elementos. Sin embargo, se observa de la figura 10 que el mayor aumento relativo de la señal es para el As.

El incremento de la señal de los elementos en presencia de compuestos orgánicos también ha sido observado previamente con compuestos como glicerol, glucosa y metano (no surfactantes).<sup>[40-42]</sup> Allain P. y colaboradores(1991)<sup>[40]</sup> estudiaron el incremento de la señal en función del potencial de ionización de un grupo de elementos, encontrando que aquellos

elementos con potenciales de ionización entre 9 y 11 eV eran más afectados cuando el glicerol era parte de la matriz. Abou-Shakra F. y colaboradores(1997)<sup>[42]</sup> sugirieron que este fenómeno podía ser explicado mediante una reacción de transferencia de carga entre los iones C<sup>+</sup> y el metal (M):

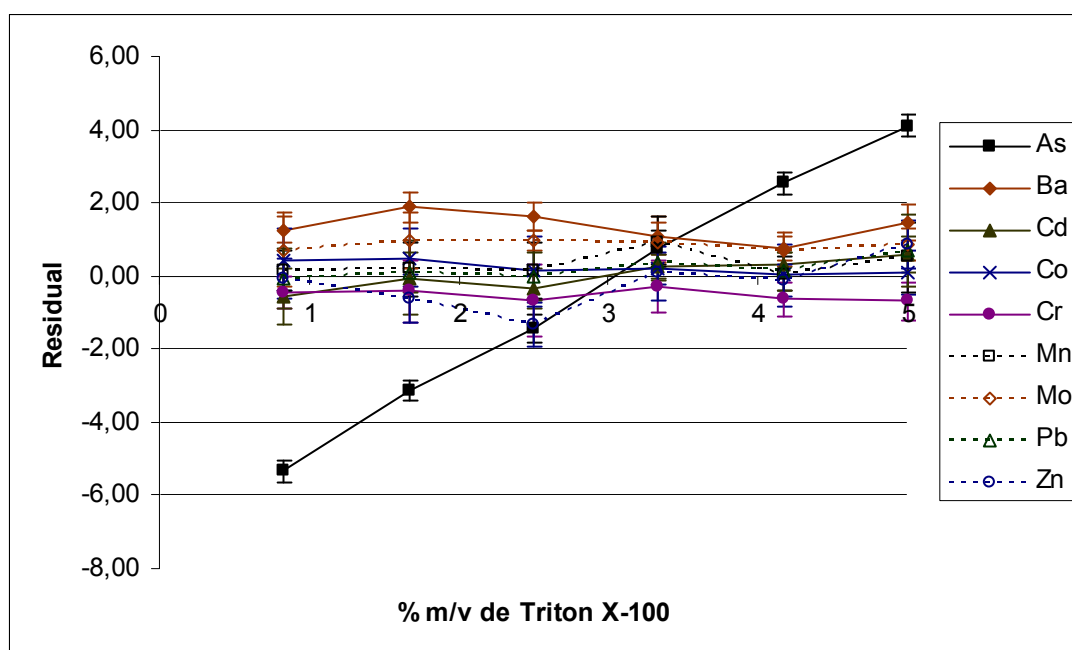


Las reacciones de transferencia de carga son más eficientes cuando el estado excitado del producto es cercano en energía al ión reactivo. Para el As, la energía requerida para generar el ión excitado As<sup>+\*</sup> es la suma del potencial de ionización (9,79 eV) más la energía de excitación (1,22 eV), el resultado (11,01 eV) es muy cercano al potencial de ionización del carbono (11,26 eV). Es por ello que el As es el elemento más afectado por la concentración de triton X-100 como se puede observar en la figura 10. A partir de allí, el comportamiento no parece seguir una tendencia clara en función del potencial de ionización, aunque el Zn (9,39 eV) es el siguiente más afectado, luego sigue el Cd (8,99 eV) encontrándose un comportamiento similar al resto de los elementos con potenciales de ionización entre 5,21 y 7,88 eV.

Para determinar si este comportamiento tiene efecto sobre la cuantificación de los elementos cuando se utiliza Rh como estándar interno, se prepararon soluciones estándar a 20 µg/Kg para su determinación. En la figura 11 se grafican los residuales (diferencia entre la concentración obtenida en el análisis

y la teórica) Vs la concentración de triton X-100 (en el anexo B se encuentran los valores de concentración).

Se observa que el As es el único elemento que presenta cambios en los residuales en función de la concentración de triton X-100, es decir, no se logró corregir el efecto con Rh como estándar interno. La magnitud del cambio es similar al efecto obtenido en el diseño factorial, por lo tanto, el efecto en el diseño, al menos para el As, puede ser explicado por la variación respecto a la concentración de triton X-100 y no por una mejor extracción del As en el crudo.



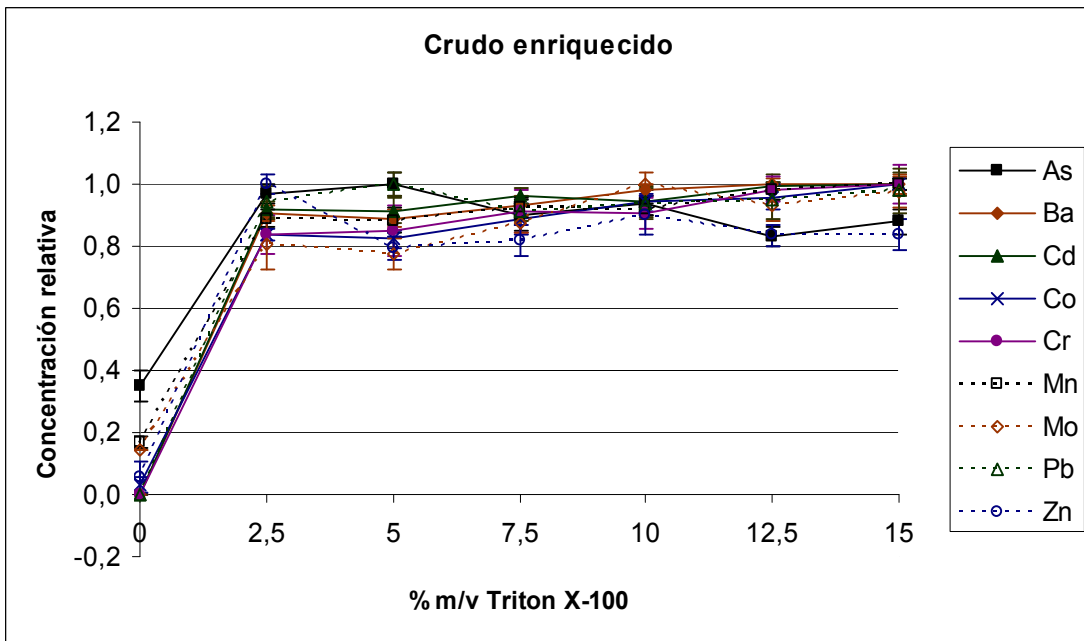
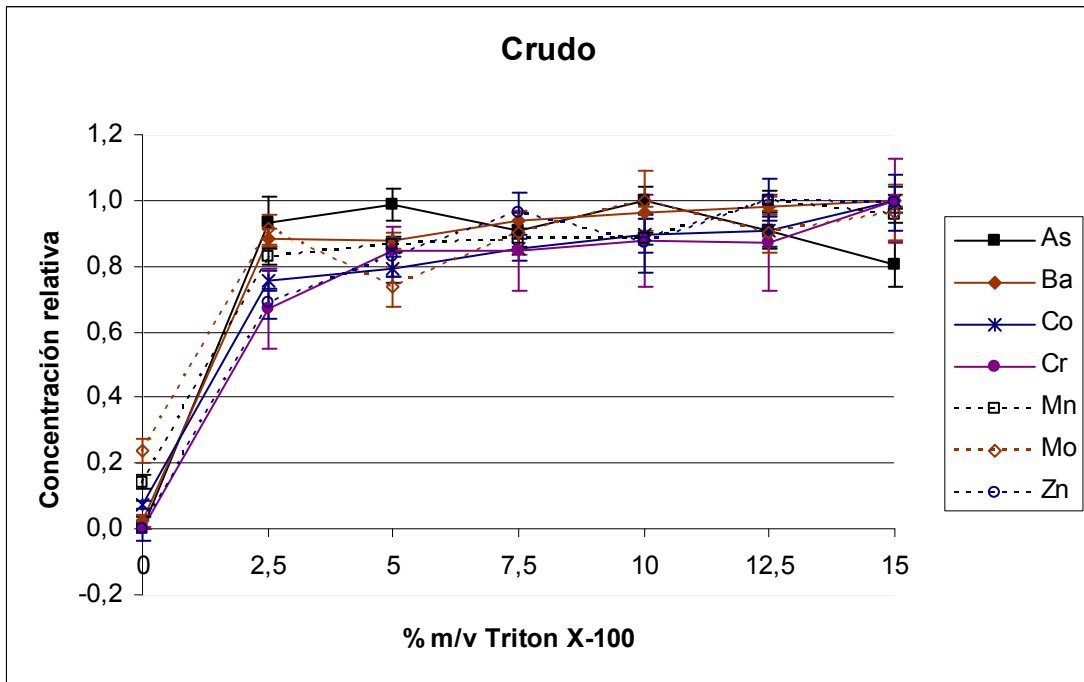
**Figura 11. Residuales de concentración de soluciones patrón en función del porcentaje de triton X-100 a) 5 µg/Kg y b) 20 µg/Kg**

Nota: cada punto graficado es el promedio de dos determinaciones.

### **5.2.2. Efecto de la concentración de triton X-100 sobre la extracción de los elementos en el crudo**

El efecto de la concentración de triton X-100 sobre la extracción de los elementos fue estudiado en el crudo "a" puro y enriquecido con soluciones a 0 - 2,5 - 5 - 7,5 - 10 - 12,5 - 15 % m/v de triton X-100, todas a 20% v/v de  $\text{HNO}_{3(c)}$ . Para cada concentración de surfactante estudiada, se preparó una curva de calibración diferente para que tanto patrones como muestras tuvieran la misma concentración de triton X-100 y  $\text{HNO}_3$ .

En la figura 12 se muestran los gráficos de la concentración relativa en función de la concentración de triton X-100. A 0 % m/v de triton X-100 los valores de concentración son muy bajos e incluso cero (por debajo del límite de cuantificación) en algunos elementos. En este caso, aunque la solución de extracción esta en contacto con el crudo, no existe una extracción eficiente debido a que la superficie de contacto entre ambas fases es mínima.



**Figura 12. Efecto de la concentración de Triton X-100 sobre la extracción de los elementos estudiados a) Crudo “a” y b) Crudo “a” enriquecido**

Nota: cada punto graficado es el promedio de dos réplicas.

La importancia de agregar el surfactante para formar la emulsión y así aumentar la superficie de contacto entre las fases se observa a partir de 2,5 %m/v de triton X-100 donde existe una extracción relativamente alta, sin embargo, para la muestra de crudo, la extracción de los elementos Cr, Co y Zn aún esta por debajo del 80% y parece alcanzar el máximo por encima de 7,5 % de Triton X-100. Finalmente se decidió trabajar a 10 % Triton X-100 para asegurar mayor robustez ya que se ha reportado que a mayor concentración de surfactante, las emulsiones tienden a tomar menos tiempo en formarse y más tiempo en romperse<sup>[28,29]</sup>, todo esto probablemente por una mejor y más eficiente emulsificación.

### **5.3. Efecto de la concentración de $HNO_3$**

El efecto positivo del  $HNO_3$  obtenido en el diseño factorial puede deberse a dos factores: (1) a una mejor extracción de los elementos en el crudo o (2) al efecto del ácido sobre la señal de los elementos en el ICP-MS debido a que la curva de calibración se preparó con una concentración de  $HNO_3$  intermedia (3,3 % m/v) del rango utilizado en el diseño factorial (1,7 – 5,0 % m/v). Por esta razón, antes de determinar el efecto de la concentración de  $HNO_3$  sobre la extracción de los elementos en el crudo, se desea conocer su efecto sobre la señal de los elementos a concentraciones conocidas.

### 5.3.1. Efecto de la concentración de HNO<sub>3</sub> sobre la señal de los elementos

Para determinar el efecto de la concentración de HNO<sub>3</sub> sobre la señal de los elementos, se prepararon soluciones estándar de 20 µg/Kg entre 1,7 y 10 % v/v HNO<sub>3(c)</sub>, todas a 3,3 %m/v de triton X-100. En la figura 13 se muestra la señal relativa en función de la concentración de HNO<sub>3</sub> y se observa que no existe cambio aparente en la señal y además el comportamiento de todos los elementos es similar.

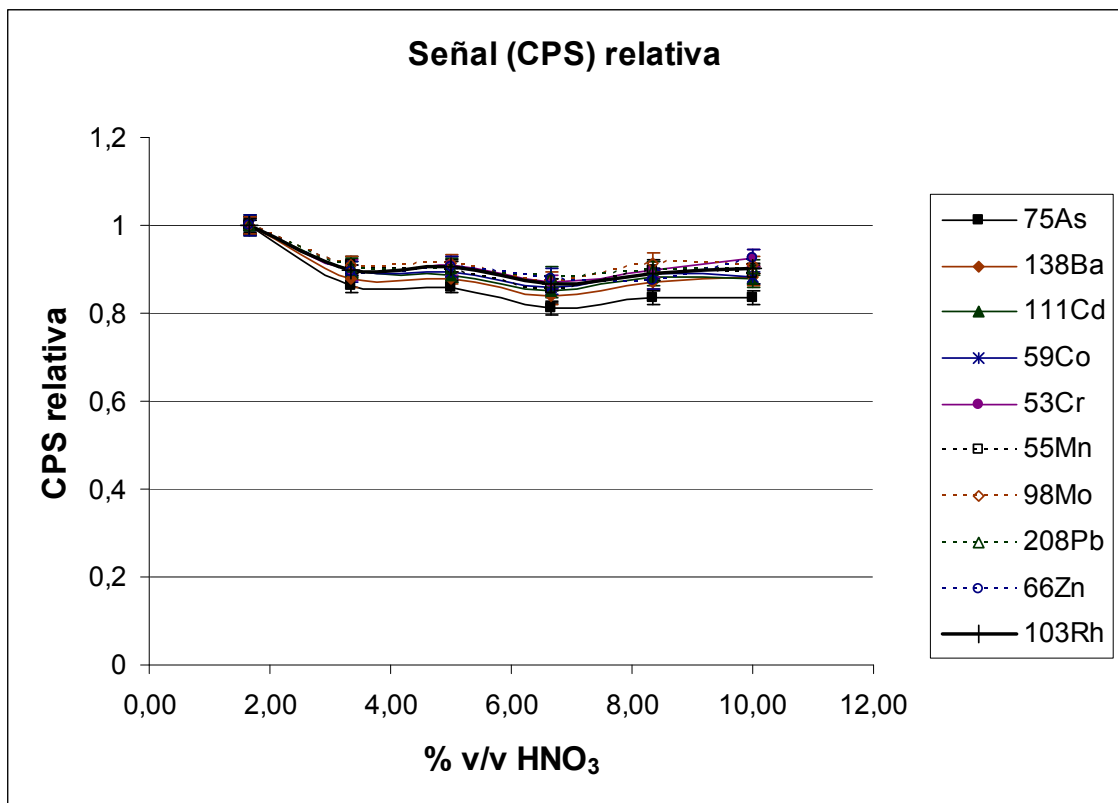
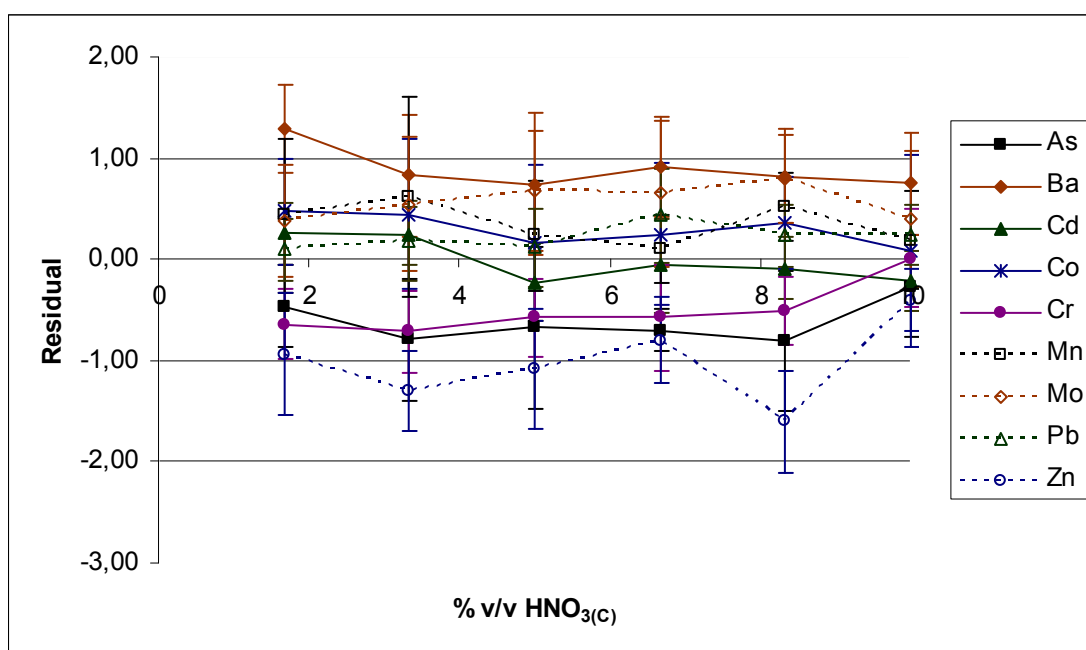


Figura 13. Señal relativa de los elementos estudiados en función de la concentración de triton X-100

Nota: cada punto graficado es el promedio de dos determinaciones.



En la figura 14 se grafican los residuales (la diferencia entre la concentración obtenida del análisis y la teórica) Vs % v/v HNO<sub>3</sub> (en el anexo B se encuentran los valores de concentración). No se observa cambio significativo de concentración de los elementos con respecto al porcentaje de HNO<sub>3</sub> lo que indica que el Rh logra compensar los cambios de señal producidos por la variación de la concentración de HNO<sub>3</sub> para así arrojar la misma concentración.

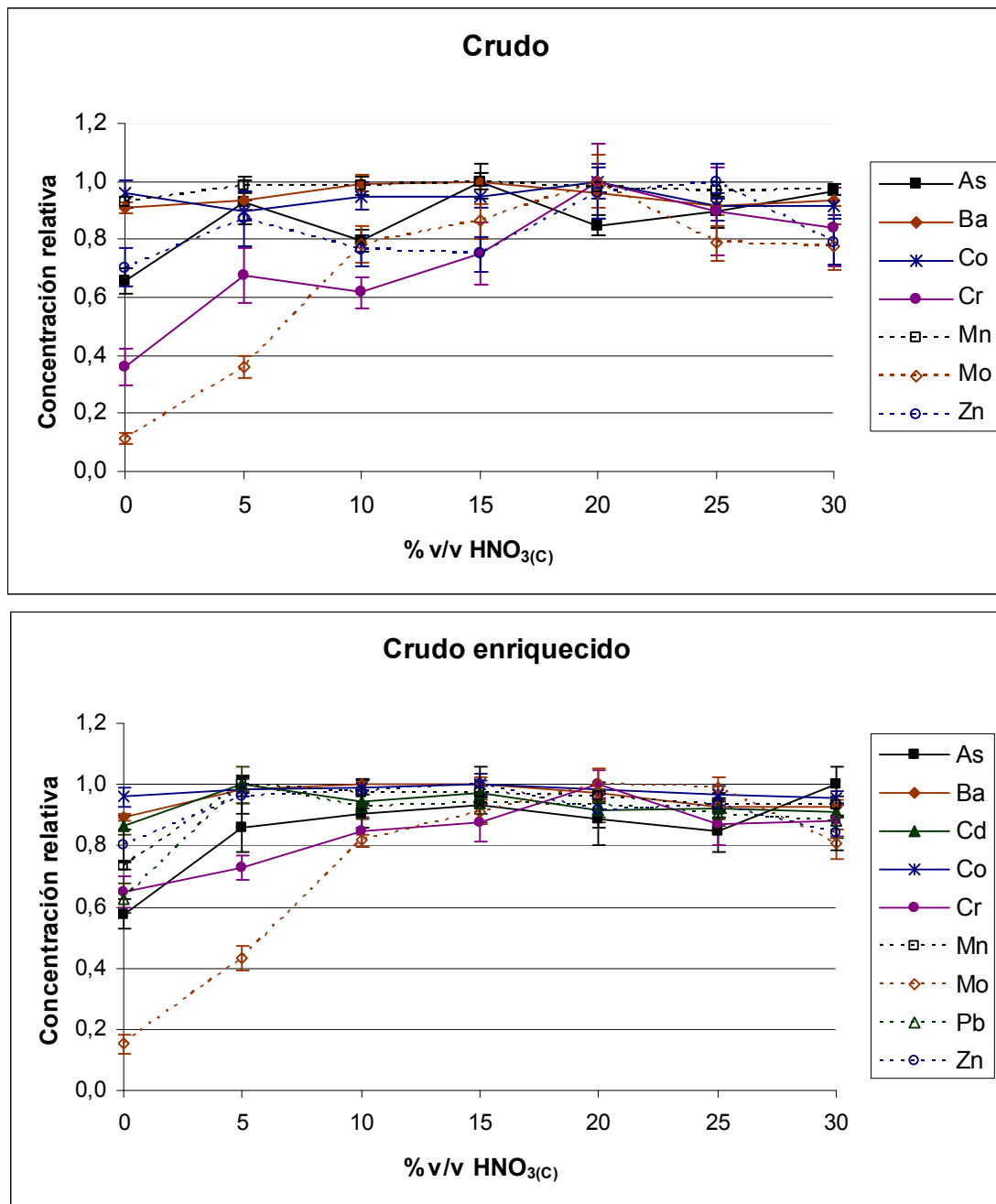


**Figura 14. Residuales de concentración de soluciones patrón en función del porcentaje de HNO<sub>3</sub> a 20 µg/Kg**

Nota: cada punto graficado es el promedio de dos determinaciones.

### **5.3.2. Efecto de la concentración de HNO<sub>3</sub> sobre la extracción de los elementos en el crudo**

El efecto de la concentración de HNO<sub>3</sub> sobre la extracción de los elementos fue estudiado en el crudo "a" puro y enriquecido con soluciones a 0 - 5 - 10 - 15 - 20 - 25 - 30 % v/v HNO<sub>3</sub>, todas a 10% m/v de triton X-100. Para cada concentración de HNO<sub>3</sub> estudiada, se preparó una curva de calibración diferente para que tanto patrones como muestras tuvieran la misma concentración de triton X-100 y HNO<sub>3</sub>. Los resultados se muestran en las figuras 15a y b.

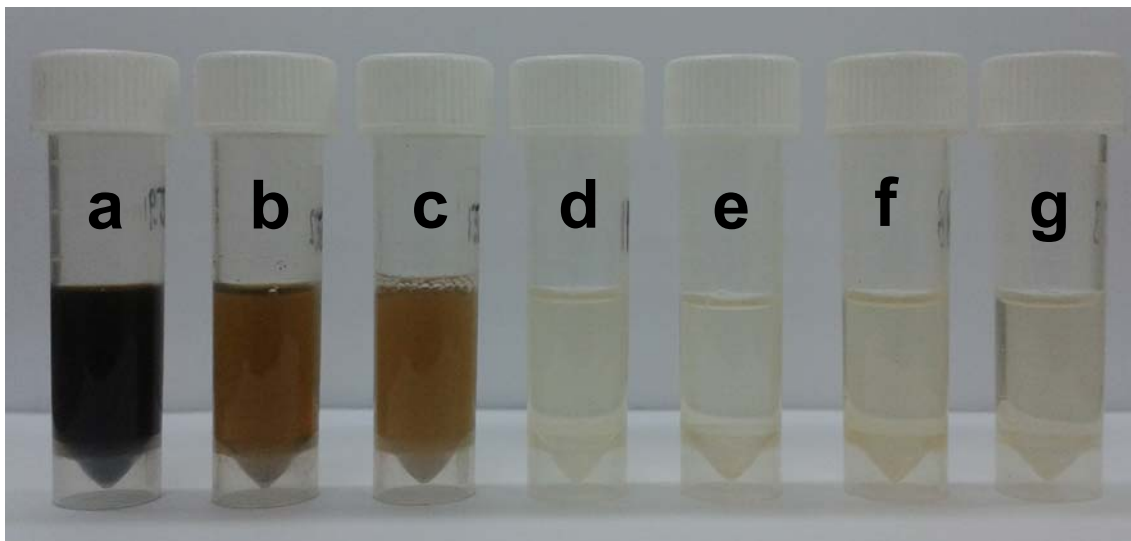


**Figura 15. Efecto de la concentración de HNO<sub>3</sub>(C) sobre la extracción de los elementos estudiados a) Crudo y b) Crudo enriquecido**

Nota: cada punto graficado es el promedio de dos réplicas.

Para la mayoría de los elementos, la concentración relativa aumenta de manera notoria en función de la concentración de  $\text{HNO}_{3(\text{C})}$  de 0% a 5 % v/v, punto en el cual, las concentraciones relativas sobrepasan el 80% exceptuando los elementos Mo y Cr que alcanzan niveles óptimos a partir de 15 % v/v  $\text{HNO}_{3(\text{C})}$ . Esto supone que los elementos Mo y Cr están más fuertemente enlazados a la fracción orgánica y por ello necesitan mayor concentración de  $\text{HNO}_3$  para ser extraídos, caso contrario al resto de los elementos que parecen estar débilmente enlazados a la fracción orgánica, o están de forma inorgánica en el crudo, que ya muestran buena recuperación a concentraciones bajas de  $\text{HNO}_3$ .

Adicionalmente, se observa en la figura 16 que a 0 % v/v  $\text{HNO}_{3(\text{C})}$  el extracto acuoso está contaminado en gran proporción con el crudo, siendo esto desfavorable ya que aumenta la cantidad de materia orgánica introducida al ICP-MS y el particulado puede obstruir los orificios del equipo. El aumento de la concentración de ácido desestabiliza las emulsiones<sup>[43]</sup> haciendo que los extractos acuosos sean más limpios y es a partir de 15 % v/v  $\text{HNO}_{3(\text{C})}$  donde las soluciones extraídas son más claras. Finalmente, se decidió trabajar a 20 % v/v  $\text{HNO}_{3(\text{C})}$  como condición más robusta.



**Figura 16. Soluciones introducidas al ICP-MS provenientes de la extracción en crudo con a) 0%, b) 5%, c) 10%, d) 15%, e) 20%, f) 25% y g) 30% v/v HNO<sub>3(C)</sub> todas a 10% triton X-100**

#### ***5.4. Efecto de la metodología de rompimiento de la emulsión: temperatura y centrifugación***

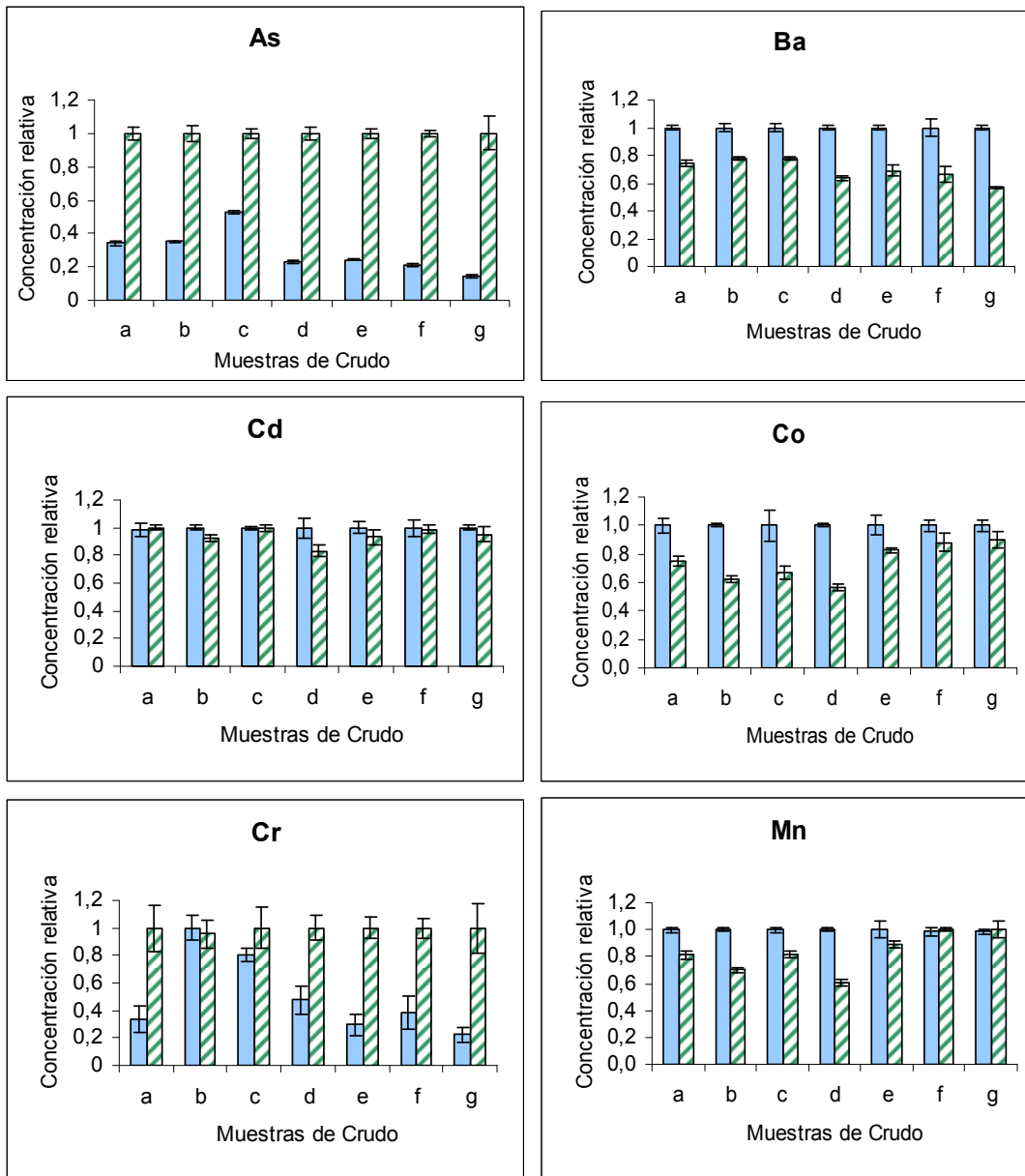
Un parámetro adicional no evaluado en el diseño factorial, es la forma de rompimiento de la emulsión. Se evaluaron dos metodologías de rompimiento de la emulsión en 7 muestras de crudos pesados y extrapesados, 1) por temperatura a 90 °C y 30 min y 2) por centrifugación durante 45 min a 4000 rpm. Los resultados se muestran en la figura 17, donde se grafica para cada elemento la concentración relativa en función de las diferentes muestras de crudo. En los casos donde la determinación de los elementos en las muestras originales de crudos era menor al límite de cuantificación, se utilizaron los valores de los crudos enriquecidos entre 100 y 500 µg/Kg, los resultados obtenidos se muestran en la tabla 15.

Nota: la concentración relativa “R” se refiere a la concentración del elemento entre la mayor concentración de ambas metodologías, por ejemplo  $[As]_{\text{temperatura}} = 28$ ,  $[As]_{\text{centrifugación}} = 82$ .  $R_{\text{temperatura}} = 28/82 = 0,34$  y  $R_{\text{centrifugación}} = 82/82 = 1$ .

**Tabla 15. Comparación tipo de rompimiento de emulsión (valores en  $\mu\text{g/Kg}$ )**

| Muestra | Tipo de rompimiento | As  | Ba    | Cd  | Co  | Cr  | Mn   | Mo   | Pb  | Zn  |
|---------|---------------------|-----|-------|-----|-----|-----|------|------|-----|-----|
| a       | Temperatura         | 28  | 2070  | 269 | 334 | 27  | 240  | 705  | 150 | 90  |
|         | Centrifugación      | 82  | 1530  | 273 | 251 | 81  | 195  | 211  | 156 | 87  |
| b       | Temperatura         | 76  | 251   | 297 | 205 | 342 | 164  | 148  | 171 | 270 |
|         | Centrifugación      | 216 | 195   | 274 | 127 | 327 | 115  | 19   | 148 | 263 |
| c       | Temperatura         | 53  | 326   | 521 | 36  | 489 | 578  | 105  | 296 | 44  |
|         | Centrifugación      | 101 | 253   | 519 | 24  | 609 | 470  | 35   | 313 | 55  |
| d       | Temperatura         | 28  | 286   | 84  | 264 | 78  | 123  | 132  | 61  | 199 |
|         | Centrifugación      | 121 | 182   | 70  | 150 | 163 | 75   | 25   | 52  | 187 |
| e       | Temperatura         | 49  | 660   | 217 | 290 | 210 | 1037 | 158  | 180 | 205 |
|         | Centrifugación      | 203 | 453   | 202 | 240 | 711 | 921  | 90   | 199 | 263 |
| f       | Temperatura         | 19  | 60152 | 317 | 555 | 284 | 1179 | 659  | 191 | 773 |
|         | Centrifugación      | 90  | 39678 | 312 | 488 | 735 | 1197 | 90   | 117 | 958 |
| g       | Temperatura         | 23  | 93    | 412 | 339 | 27  | 542  | 1065 | 47  | 284 |
|         | Centrifugación      | 155 | 53    | 393 | 306 | 120 | 550  | 463  | 40  | 393 |

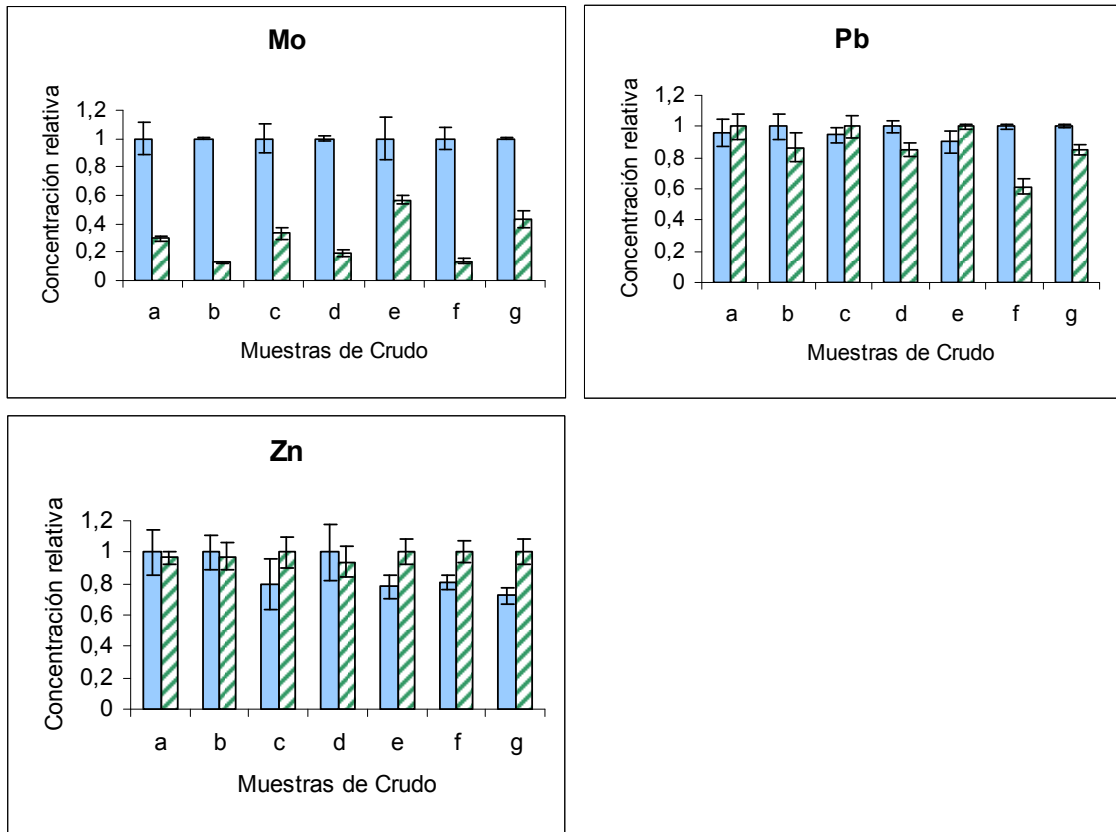
Nota: los valores sombreados en gris corresponden a las muestras de crudos enriquecidas con soluciones Conostan ya que la muestra original esta debajo del límite de cuantificación en al menos una de las dos metodologías. Cada valor es el promedio de tres réplicas.





**Figura 17. Comparación relativa de las concentraciones obtenidas en diferentes muestras de crudo pesados y extrapesados mediante dos métodos de rompimiento de emulsión: Temperatura (90 °C por 30 min) y Centrifugación (45 min a 4000rpm).**

■: Rompimiento por temperatura,  
 ▨: Rompimiento por centrifugación

Cada valor graficado es el promedio de tres réplicas.



**Figura 17. Continuación. Comparación relativa de las concentraciones obtenidas en diferentes muestras de crudo pesados y extrapesados mediante dos métodos de rompimiento de emulsión: Temperatura (90 °C**

**por 30 min) y Centrifugación (45 min). : Rompimiento por temperatura, : Rompimiento por centrifugación**

Cada valor graficado es el promedio de tres réplicas.

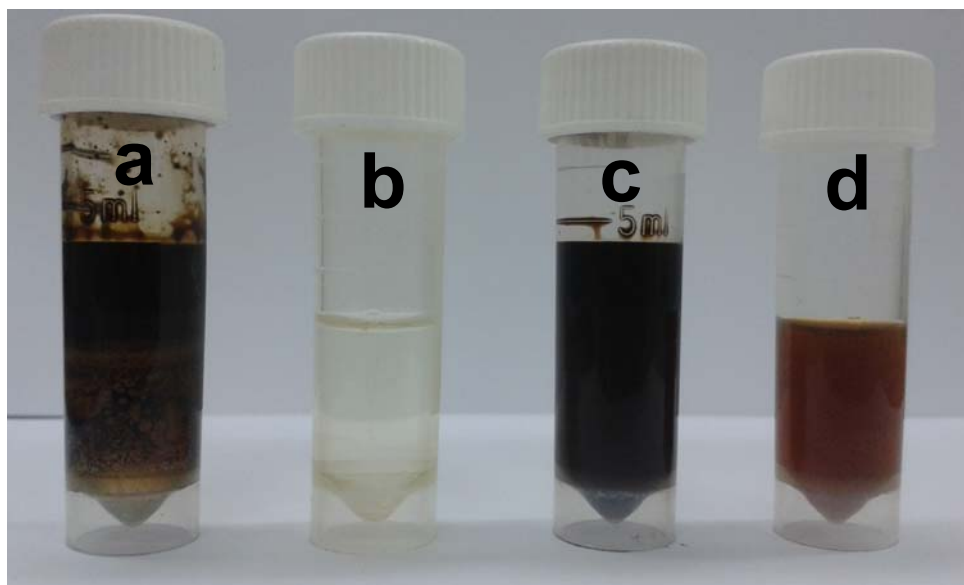


En la figura 17 se observa que para la mayoría de los elementos, realizar el rompimiento por temperatura es igual o más eficiente que realizar el rompimiento por centrifugación. La temperatura desestabiliza la emulsión, reduciendo la adsorción de los surfactantes en la interfase, disminuyendo la viscosidad de la fase orgánica y la rigidez de la película interfacial, esto provoca la coalescencia de las gotas y la separación de las fases.<sup>[43]</sup> Este proceso de separación no es inmediato, permitiendo que el HNO<sub>3</sub> actúe por un determinado periodo de tiempo a una mayor temperatura, aumentando su eficiencia en la extracción de los elementos. Sin embargo, para el As y Cr los valores obtenidos por centrifugación son considerablemente mayores que los obtenidos por temperatura, por lo que a continuación se muestran las pruebas adicionales realizadas para explicar su comportamiento.

### ***Arsénico***

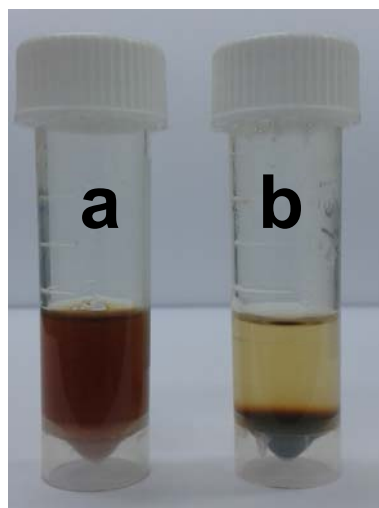
En general en el rompimiento por temperatura, la fase acuosa es clara, mientras que por centrifugación la fase acuosa es oscura y solo se observa la separación a trasluz (ver figura 18). Cuando la emulsión se rompe por temperatura a 90 °C, el triton X-100 al ser un surfactante no-iónico, migra hacia la fase orgánica debido a que se excede su punto de nube (63-69 °C a 1% en agua), disminuyendo su solubilidad en agua e incrementando su hidrofobicidad.<sup>[44]</sup> Para el As, este hecho es desfavorable ya que como se observó en la figura 10, las señales de As dependen de la concentración de triton X-100 y esta debe ser igual a la concentración de triton X-100 en la curva

de calibración, por lo tanto, si el triton X-100 migra a la fase orgánica, la señal del As disminuye explicando el comportamiento observado en la figura 17.



**Figura 18. Rompimiento de la emulsión por temperatura y centrifugación. a) rompimiento por temperatura, b) solución de “a” extraída y diluida para el ICP-MS, c) rompimiento por centrifugación, d) solución de “c” extraída y diluida para el ICP-MS**

Cuando la emulsión se rompe por centrifugación, se observa en la figura 18 que el extracto acuoso contiene materia orgánica proveniente del crudo. Al tomar la fase acuosa del rompimiento por centrifugación y calentarla a 90 °C, se observa la separación de una fase enriquecida en el surfactante y materia orgánica (la densidad del triton X-100 es 1,07 g/mL, ligeramente superior a la del agua y por ello se va al fondo del vial) (ver figura19).



**Figura 19. Calentamiento de la fase acuosa del rompimiento por centrifugación a) sin calentar, b) calentamiento a 90 °C, al fondo se observa la fase enriquecida en la materia orgánica**

Para determinar el efecto de la distribución de triton X-100 en las distintas fases se realizó por duplicado el rompimiento de emulsión de un crudo a las dos condiciones (temperatura y centrifugación). De cada réplica se tomaron dos porciones de 1 g, se agregó el estándar interno (Rh) y a una de las porciones se agregaron 0,15 mL de una solución de 400  $\mu\text{g}/\text{Kg}$  de los elementos estudiados para obtener 20  $\mu\text{g}/\text{Kg}$  de enriquecimiento al enrasar a 3 g con agua. Con este experimento se están agregando directamente 20  $\mu\text{g}/\text{Kg}$  de los elementos a las soluciones de ambos tipos de rompimiento de emulsión para determinar su recuperación. En la tabla 16 se muestran los resultados.

**Tabla 16. Recuperación de los elementos al agregarlos directamente sobre la solución a medir en el ICP-MS (valores en µg/Kg)**

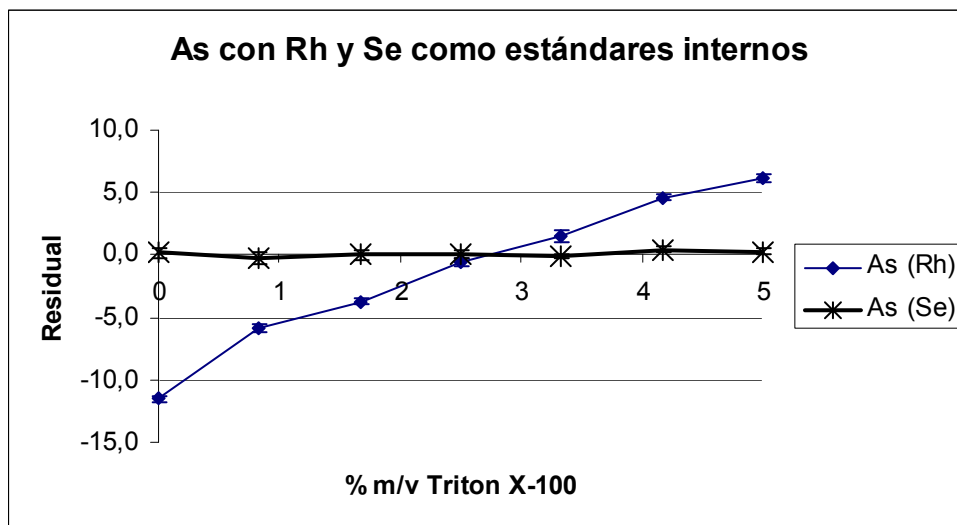
|                |                              | As         | Ba         | Cd        | Co         | Cr         | Mn         | Mo        | Pb         | Zn         |
|----------------|------------------------------|------------|------------|-----------|------------|------------|------------|-----------|------------|------------|
| Temperatura    | Crudo <sup>a</sup>           | 1,1        | 35,9       | <0,5      | 17,4       | <1         | 70,2       | 7,8       | <1         | 10,3       |
|                |                              | 1,1        | 37,0       | <0,5      | 18,0       | <1         | 72,8       | 8,1       | <1         | 10,7       |
|                | Añadido <sup>b</sup>         | 24,0       | 24,2       | 24,2      | 24,2       | 24,1       | 24,2       | 23,8      | 24,1       | 24,0       |
|                |                              | 22,4       | 22,6       | 22,6      | 22,5       | 22,4       | 22,6       | 22,2      | 22,5       | 22,4       |
|                | Crudo + añadido <sup>c</sup> | 14,8       | 60,6       | 23,5      | 41,6       | 24,8       | 91,9       | 28,4      | 22,2       | 34,8       |
|                |                              | 13,7       | 60,0       | 21,9      | 41,3       | 23,1       | 96,1       | 27,1      | 20,7       | 32,4       |
|                | Recuperado <sup>d</sup>      | 13,7       | 24,7       | 23,5      | 24,3       | 24,8       | 21,7       | 20,6      | 22,2       | 24,5       |
|                |                              | 12,6       | 23,0       | 21,9      | 23,3       | 23,1       | 23,3       | 19,0      | 20,7       | 21,7       |
|                | % <sup>e</sup>               | <b>57</b>  | <b>102</b> | <b>97</b> | <b>100</b> | <b>103</b> | <b>90</b>  | <b>86</b> | <b>92</b>  | <b>102</b> |
|                |                              | <b>56</b>  | <b>102</b> | <b>97</b> | <b>103</b> | <b>103</b> | <b>103</b> | <b>86</b> | <b>92</b>  | <b>97</b>  |
| Centrifugación | Crudo <sup>a</sup>           | 9,4        | 33,7       | <0,5      | 15,3       | 15,7       | 60,2       | 2,6       | <1         | 14,1       |
|                |                              | 7,7        | 27,4       | <0,5      | 12,5       | 13         | 49,2       | 2,2       | <1         | 11,5       |
|                | Añadido <sup>b</sup>         | 24,2       | 24,3       | 24,3      | 24,3       | 24,2       | 24,3       | 23,9      | 24,2       | 24,1       |
|                |                              | 23,9       | 24,1       | 24,0      | 24,0       | 23,9       | 24,0       | 23,7      | 24,0       | 23,9       |
|                | Crudo + añadido <sup>c</sup> | 35,7       | 58,8       | 22,7      | 36,4       | 37,2       | 88,5       | 22,9      | 23,6       | 36,9       |
|                |                              | 32,6       | 50,5       | 23,1      | 33,0       | 33,8       | 76,6       | 21,1      | 24,3       | 41,4       |
|                | Recuperado <sup>d</sup>      | 26,3       | 25,1       | 22,7      | 21,2       | 21,5       | 28,3       | 20,3      | 23,6       | 22,8       |
|                |                              | 24,9       | 23,1       | 23,1      | 20,6       | 20,9       | 27,4       | 18,8      | 24,3       | 29,8       |
|                | % <sup>e</sup>               | <b>109</b> | <b>103</b> | <b>93</b> | <b>87</b>  | <b>89</b>  | <b>116</b> | <b>85</b> | <b>97</b>  | <b>95</b>  |
|                |                              | <b>104</b> | <b>96</b>  | <b>96</b> | <b>86</b>  | <b>88</b>  | <b>114</b> | <b>80</b> | <b>101</b> | <b>125</b> |

a) valores de la determinación de la solución extraída del crudo "e", b) concentración agregada, c) valores de la determinación de la solución extraída del crudo más el añadido, d) valor "crudo + añadido" menos "crudo" y e) porcentaje de recuperación. Se muestran respectivamente los valores de las dos réplicas.

En la tabla 16 se puede observar que para todos los elementos y en ambas metodologías de rompimiento de emulsión se obtienen buenas recuperaciones, excepto para el As cuando el rompimiento se realiza por calentamiento. Esto indica que cuando la emulsión es llevada a 90 °C, parte del triton X-100 se une a la fase orgánica,<sup>[43]</sup> dejando a la fase acuosa con una deficiencia de surfactante afectando así negativamente las señales de As. Por lo tanto, para el As, el rompimiento por centrifugación es la mejor opción.

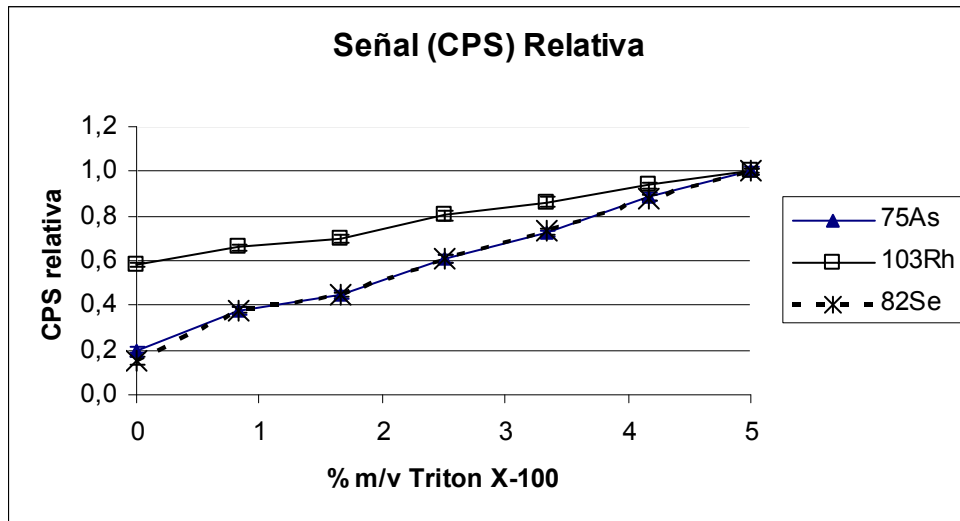
El As es un elemento con elevada energía de ionización (9,79 eV) por lo que es más susceptible a efectos de matriz. Del resto de los elementos estudiados, sigue el Zn con 9,39 eV, sin embargo, el Zn no fue afectado por las diferentes concentraciones de triton X-100 (ver figura 10).

Para determinar si el Se puede ser utilizado como estándar interno para el As ya que posee una energía de ionización de 9,75 eV similar al As, se preparó una serie de patrones a diferentes concentraciones de triton X-100 (0,8 – 1,7 – 2,5 – 3,3 – 4,2 – 5,0 % m/v) a 20 µg/Kg de los elementos estudiados evaluando, además del Rh, al Se como estándar interno. En las figura 20 y 21 se muestran los resultados.



**Figura 20. Residual de la determinación de As respecto al patrón de 20 µg/Kg utilizando Rh y Se como estándares internos para la cuantificación**

Cada punto es el promedio de dos determinaciones



**Figura 21. Señal relativa en Cuentas por Segundo (CPS) de As, Rh y Se en función del porcentaje de triton X-100**

Cada punto es el promedio de dos determinaciones

En la figura 20 se muestra que la dependencia del As con respecto al porcentaje de triton X-100 se compensa utilizando al Se como estándar interno, esto se debe a que ambos elementos son similares en cuanto a energía de ionización y peso atómico, de esta manera son afectados en una proporción similar por los efectos de matriz.

En la figura 21 se observa que la señal relativa de los elementos aumenta con el incremento del porcentaje de triton X-100, sin embargo, el incremento es mayor para los elementos con alta energía de ionización (As y Se), lo que indica que el surfactante está afectando los procesos en el plasma (como se explica en la sección 4.2.1) aumentando la ionización de As y Se y su señal.

El uso del Se como estándar interno (EI) en el rompimiento por temperatura se comparó con la centrifugación (y uso de Rh como EI) en una muestra de crudo,

los resultados se muestran en la tabla 17 donde se observa que no existen diferencias significativas entre ambos métodos. La desventaja de utilizar el Se como estándar interno es que este se puede encontrar en las muestras.

**Tabla 17. Comparación de As mediante rompimiento por centrifugación Vs rompimiento por temperatura usando Se como estándar interno**

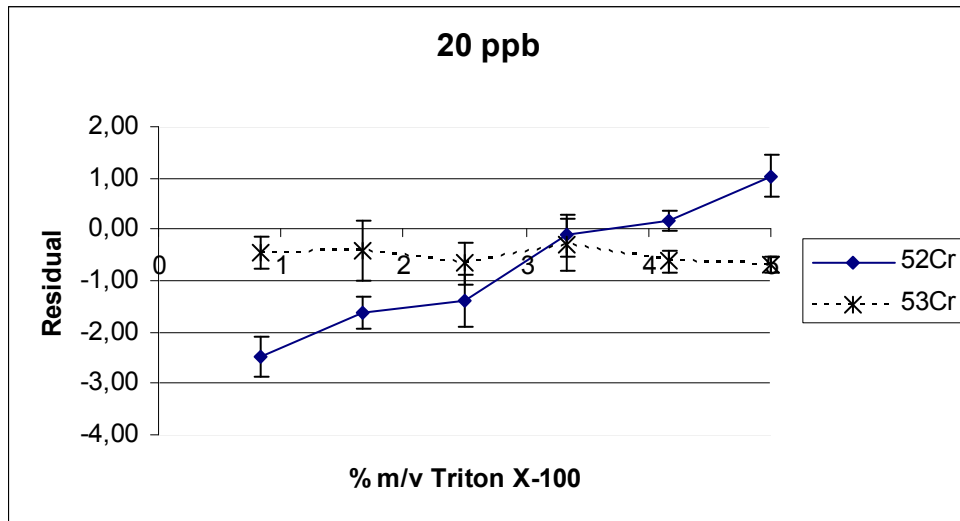
| Muestra    | As ( $\mu\text{g/Kg}$ )     |                          | T de Student | T crítico | ¿Diferencia significativa? |
|------------|-----------------------------|--------------------------|--------------|-----------|----------------------------|
|            | Centrifugación (Rh como EI) | Temperatura (Se como EI) |              |           |                            |
| g          | 174                         | 138                      | 0,81         | 2,77      | NO                         |
|            | 145                         | 146                      |              |           |                            |
|            | 147                         | 156                      |              |           |                            |
| Promedio   | <b>155</b>                  | <b>147</b>               |              |           |                            |
| Desviación | <b>16</b>                   | <b>9</b>                 |              |           |                            |

### **Cromo**

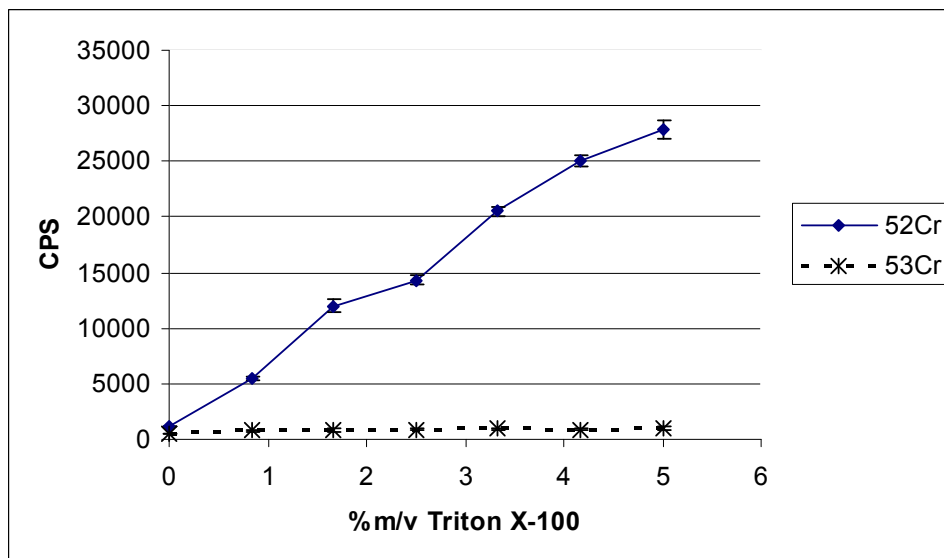
Como se observa en la figura 17, se obtienen mayores concentraciones de Cr cuando el rompimiento de la emulsión se realiza por centrifugación en comparación con el rompimiento por temperatura, lo que puede suponer una mejor extracción de este elemento, sin embargo, cuando la emulsión se rompe por centrifugación, el extracto acuoso queda enriquecido con materia orgánica proveniente del crudo (ver figura 18), pudiendo ocasionar algunas interferencias espectrales sobre el Cr.

Debido a la naturaleza orgánica del triton X-100, primero se determinó si este surfactante tenía algún efecto sobre los dos isótopos más abundantes del Cr ( $^{52}\text{Cr}$  83,79% y  $^{53}\text{Cr}$  9,50%) que sufren de algunas interferencias, principalmente  $^{40}\text{Ar}^{12}\text{C}^+$ ,  $^{36}\text{Ar}^{16}\text{O}^+$ ,  $^{35}\text{Cl}^{16}\text{O}^1\text{H}^+$  sobre  $^{52}\text{Cr}^+$  y  $^{40}\text{Ar}^{13}\text{C}^+$ ,  $^{40}\text{Ar}^{12}\text{C}^1\text{H}^+$ ,  $^{37}\text{Cl}^{16}\text{O}^+$  sobre  $^{53}\text{Cr}^+$ . Los resultados se muestran en la figura 22 donde se grafican los residuales de concentración de soluciones patrón de Cr (valor de la determinación por ICP-MS menos valor teórico) en función del porcentaje de triton X-100 a) 5  $\mu\text{g}/\text{Kg}$  y b) 20  $\mu\text{g}/\text{Kg}$ . Por otra parte, en la figura 23 se grafican las señales de los blancos (0  $\mu\text{g}/\text{Kg}$ ) a diferentes concentraciones de triton X-100.





**Figura 22. Residuales de concentración de soluciones patrón de Cr en función del porcentaje de triton X-100 a 20 µg/Kg**  
Cada punto es el promedio de dos determinaciones



**Figura 23. Señales de 52Cr y 53Cr en función del % m/v de triton X-100**  
Cada punto es el promedio de dos determinaciones. CPS: Cuentas por Segundo.

En la figura 22 se observa como los residuales de  $^{52}\text{Cr}$  aumentan en función de la concentración de triton X-100 mientras el isótopo  $^{53}\text{Cr}$  no se ve afectado. En

la figura 23 donde el Cr no está presente en la solución, la señal del  $^{52}\text{Cr}$  aumenta en función de la concentración de triton X-100 concluyendo que el efecto es debido a una interferencia espectral probablemente  $^{40}\text{Ar}^{12}\text{C}^+$ . El isótopo  $^{53}\text{Cr}$  no se vio afectado por la concentración del surfactante, por esta razón fue seleccionado para los análisis.

Aunque el isótopo  $^{53}\text{Cr}$  no fue afectado por la concentración del surfactante, la presencia de materia orgánica proveniente del crudo cuando se realiza la extracción y su posterior rompimiento por centrifugación (ver figura 18), puede ocasionar nuevas especies poliatómicas interferentes sobre el isótopo  $^{53}\text{Cr}$ .

Para determinar si la materia orgánica proveniente del crudo estaría formando especies poliatómicas interferentes, se realizó la determinación de tres muestras de crudo pesados y extrapesados con los dos métodos de rompimiento de emulsión (temperatura y centrifugación) y empleando la celda de colisión con y sin He, los resultados se muestran en la tabla 18.

Nota: las interferencias del elemento Cl no fueron consideradas ya que las señales en  $m/z = 77$  de  $^{40}\text{Ar}^{37}\text{Cl}^+$  fueron muy bajas para todas las muestras.

En la tabla 18 se observa que para la mayoría de los elementos, independientemente del método de rompimiento de emulsión, las diferencias en concentraciones con y sin He no son significativas. Mientras que para el Cr se observa que cuando se utiliza la celda de colisión con He las concentraciones son menores. Esto se debe a que el He colisiona con las

especies poliatómicas, rompiendo las moléculas y así minimizando las interferencias, sin embargo, la eficiencia de este proceso no es de 100% (se ha determinado que para el Cr el mejor gas de reacción es el  $\text{NH}_3$ ).<sup>[45]</sup>

Estos resultados muestran que el incremento de la señal obtenido por el método de rompimiento por centrifugación sobre la señal del Cr se debe a interferencias espectrales causadas por la materia orgánica proveniente del crudo y no por una mejor extracción.

Por otra parte, en el método de rompimiento por temperatura las soluciones extraídas no muestran presencia de materia orgánica (ver figura 18), por lo que se selecciona este método de rompimiento para el análisis de Cr utilizando He en la celda de colisión para minimizar las interferencias.

**Tabla 18. Comparación de análisis de muestras de crudo extrapesados con He y sin He en la celda de colisión del ICP-MS. Valores en µg/Kg**

| Muestra de crudo |                | As         | Ba         | Cd         | Co         | Cr        | Mn         | Mo         | Pb         | Zn         |            |
|------------------|----------------|------------|------------|------------|------------|-----------|------------|------------|------------|------------|------------|
| e                | T <sup>1</sup> | He         | <10        | 660        | <8         | 290       | <18        | 1037       | 158        | <16        | 205        |
|                  |                | Sin He     | <10        | 583        | <8         | 284       | <18        | 1146       | 127        | <16        | 168        |
|                  |                | Diferencia | N/A        | -77        | N/A        | -6        | N/A        | 109        | -31        | N/A        | -37        |
|                  |                | %          | <b>N/A</b> | <b>-12</b> | <b>N/A</b> | <b>-2</b> | <b>N/A</b> | <b>10</b>  | <b>-22</b> | <b>N/A</b> | <b>-20</b> |
|                  | C <sup>2</sup> | He         | 149        | 453        | <8         | 240       | 62         | 921        | 90         | <16        | 263        |
|                  |                | Sin He     | 137        | 490        | <8         | 223       | 229        | 879        | 74         | <16        | 206        |
|                  |                | Diferencia | -12        | 37         | N/A        | -17       | 167        | -42        | -16        | N/A        | -57        |
|                  |                | %          | <b>-8</b>  | <b>8</b>   | <b>N/A</b> | <b>-7</b> | <b>115</b> | <b>-5</b>  | <b>-20</b> | <b>N/A</b> | <b>-24</b> |
| f                | T <sup>1</sup> | He         | 19         | 60152      | <8         | 555       | <18        | 1179       | 659        | 191        | 773        |
|                  |                | Sin He     | 32         | 56494      | <8         | 609       | <18        | 1420       | 524        | 178        | 811        |
|                  |                | Diferencia | 13         | -3658      | N/A        | 54        | N/A        | 241        | -135       | -13        | 38         |
|                  |                | %          | <b>52</b>  | <b>-6</b>  | <b>N/A</b> | <b>9</b>  | <b>N/A</b> | <b>19</b>  | <b>-23</b> | <b>-7</b>  | <b>5</b>   |
|                  | C <sup>2</sup> | He         | 90         | 39678      | <8         | 488       | 107        | 1197       | 90         | 117        | 958        |
|                  |                | Sin He     | 94         | 53638      | <8         | 455       | 279        | 1067       | 107        | 197        | 807        |
|                  |                | Diferencia | 4          | 13960      | N/A        | -33       | 172        | -130       | 17         | 80         | -151       |
|                  |                | %          | <b>4</b>   | <b>30</b>  | <b>N/A</b> | <b>-7</b> | <b>89</b>  | <b>-11</b> | <b>17</b>  | <b>51</b>  | <b>-17</b> |
| g                | T <sup>1</sup> | He         | 23         | 93         | <8         | 339       | 27         | 542        | 1065       | 47         | 284        |
|                  |                | Sin He     | 40         | 90         | <8         | 390       | 46         | 648        | 740        | 39         | 352        |
|                  |                | Diferencia | 17         | -3         | N/A        | 51        | 19         | 106        | -325       | -8         | 68         |
|                  |                | %          | <b>55</b>  | <b>-4</b>  | <b>N/A</b> | <b>14</b> | <b>52</b>  | <b>18</b>  | <b>-36</b> | <b>-20</b> | <b>21</b>  |
|                  | C <sup>2</sup> | He         | 155        | 53         | <8         | 306       | 120        | 550        | 463        | 40         | 393        |
|                  |                | Sin He     | 157        | 79         | <8         | 309       | 202        | 521        | 517        | 37         | 311        |
|                  |                | Diferencia | 2          | 26         | N/A        | 3         | 82         | -29        | 54         | -3         | -82        |
|                  |                | %          | <b>1</b>   | <b>40</b>  | <b>N/A</b> | <b>1</b>  | <b>51</b>  | <b>-5</b>  | <b>11</b>  | <b>-7</b>  | <b>-23</b> |

1) Rompimiento de la emulsión por temperatura. 2) Rompimiento de la emulsión por centrifugación. Los valores son el promedio de tres réplicas

## **5.5. Estudio de recuperación**

Una vez establecidas las condiciones óptimas de análisis para el método de extracción por formación y rompimiento de emulsiones, se procede a realizar estudios de recuperación y comparación con el material de referencia 1634c para determinar el desempeño del método. En resumen, las condiciones óptimas son: para los elementos Ba, Cd, Co, Cr, Mn, Mo, Pb y Zn el rompimiento de la emulsión se realiza por temperatura, utilizando He en la celda de colisión para minimizar las interferencias sobre el Cr. Para el As, el rompimiento de la emulsión se debe realizar por centrifugación o utilizar Se como estándar interno (para más detalles ver sección 3.3.1).

Debido a que el comportamiento de las especies organometálicas en los estándares Conostan puede ser diferente en la matriz de los crudos, primero se realizó la EFRE sobre un aceite mineral enriquecido con los estándares organometálicos, sin utilizar el crudo. Los resultados se muestran en la tabla 19.

**Tabla 19. Estudio de recuperación sobre un aceite mineral enriquecido con estándares organometálicos**

| Muestra                   |                     | As*           | Ba            | Cd             | Co            | Cr             | Mn              | Mo                | Pb            | Zn             |
|---------------------------|---------------------|---------------|---------------|----------------|---------------|----------------|-----------------|-------------------|---------------|----------------|
| Aceite mineral + Conostan | µg/Kg               | 533           | 528           | 528            | 900           | 528            | 528             | 528               | 528           | 528            |
|                           | Recup. <sup>a</sup> | 145           | 315           | 517            | 885           | 517            | 607             | 374               | 244           | 526            |
|                           | Recup. <sup>a</sup> | 139           | 305           | 509            | 845           | 516            | 554             | 375               | 233           | 522            |
|                           | Recup. <sup>a</sup> | 150           | 299           | 526            | 849           | 526            | 549             | 377               | 236           | 529            |
|                           | Recup. (%)          | <b>26-28%</b> | <b>57-60%</b> | <b>96-100%</b> | <b>94-98%</b> | <b>98-100%</b> | <b>104-115%</b> | <b>70,8-71,5%</b> | <b>44-46%</b> | <b>99-100%</b> |
| T de Student <sup>1</sup> | 122                 | 48            | 2,2           | 3,2            | 2,8           | 2,2            | 147             | 85                | 1,1           |                |
| T crítico <sup>2</sup>    | 4,3                 | 4,3           | 4,3           | 4,3            | 4,3           | 4,3            | 4,3             | 4,3               | 4,3           |                |
| Diferencia <sup>3</sup>   | <b>Sí</b>           | <b>Sí</b>     | <b>No</b>     | <b>No</b>      | <b>No</b>     | <b>No</b>      | <b>Sí</b>       | <b>Sí</b>         | <b>No</b>     |                |

\*Para el As, el rompimiento de la emulsión se realizó por centrifugación. a) Se muestran los valores de tres réplicas. 1) Estadístico T de Student =  $|X-100|/(S/\text{raiz}(n))$ . 2) Valor crítico con  $\alpha = 0,05$  y  $n-1 = 2$ . 3) Si T de Student es mayor que T crítico, se concluye que existe diferencia significativa entre la recuperación obtenida y el valor esperado (100).

De los resultados obtenidos podemos observar que los elementos As, Ba, Mo y Pb no son extraídos 100% del aceite mineral enriquecido. Aunque los estándares organometálicos han sido ampliamente utilizados en estudios de recuperación para métodos de digestión total o introducción directa de la muestra, por su parecido a la matriz de crudo, para el método de extracción EFRE las pequeñas diferencias entre ambas matrices (crudo - aceite mineral) comienzan a ser importantes para algunos elementos, es decir, la efectividad del método EFRE depende de la matriz de estudio. Sin embargo, podemos utilizar los elementos Cd, Co, Cr, Mn y Zn, que no presentaron diferencias significativa con respecto al valor esperado de 100% de recuperación en el aceite mineral (ver tabla 19), para realizar el estudio de recuperación sobre las muestras de crudos pesados y extrapesados y así determinar si la matriz de crudo afecta la extracción de estos elementos.

Para realizar el estudio de recuperación sobre las muestras de crudos se enriquecieron diversas muestras con estándares organometálicos Conostan en un rango entre 100 y 700 µg/Kg aproximadamente, los resultados se muestran en la tabla 20. Se observa que se obtienen buenas recuperaciones entre 79 y 117% sin diferencias significativas al aplicar la prueba T de Student, lo que indica que el método EFRE funciona adecuadamente para los elementos Cd, Co, Cr, Mn y Zn en los tipos de muestras estudiados.

**Tabla 20. Estudio de recuperación de diversas muestras de crudos enriquecidas con estándares organometálicos (valores en µg/Kg)**

| Muestra |                           | Cd         | Co         | Cr         | Mn         | Zn         |
|---------|---------------------------|------------|------------|------------|------------|------------|
| a       | Muestra                   | <18        | 334        | 27         | 240        | 90         |
|         | Añadido                   | 301        | 468        | 301        | 301        | 301        |
|         | Recup. (%)                | <b>89</b>  | <b>101</b> | <b>97</b>  | <b>103</b> | <b>79</b>  |
| b       | Muestra                   | <18        | 205        | <18        | 164        | 270        |
|         | Añadido                   | 314        | 707        | 314        | 314        | 314        |
|         | Recup. (%)                | <b>95</b>  | <b>102</b> | <b>109</b> | <b>110</b> | <b>110</b> |
| c       | Muestra                   | <18        | 36         | <18        | <18        | 44         |
|         | Añadido                   | 532        | 714        | 532        | 532        | 532        |
|         | Recup. (%)                | <b>98</b>  | <b>107</b> | <b>92</b>  | <b>109</b> | <b>112</b> |
| d       | Muestra                   | <18        | 264        | <18        | 123        | 199        |
|         | Añadido                   | 89         | 397        | 89         | 89         | 89         |
|         | Recup. (%)                | <b>94</b>  | <b>104</b> | <b>88</b>  | <b>106</b> | <b>83</b>  |
| e       | Muestra                   | <18        | 290        | <18        | 1037       | 205        |
|         | Añadido                   | 219        | 713        | 219        | 219        | 219        |
|         | Recup. (%)                | <b>99</b>  | <b>95</b>  | <b>96</b>  | <b>117</b> | <b>85</b>  |
| f       | Muestra                   | <18        | 555        | <18        | 1179       | 773        |
|         | Añadido                   | 305        | 593        | 305        | 305        | 305        |
|         | Recup. (%)                | <b>104</b> | <b>101</b> | <b>93</b>  | <b>87</b>  | <b>87</b>  |
| g       | Muestra                   | <18        | 339        | 27         | 542        | 284        |
|         | Añadido                   | 443        | 453        | 443        | 443        | 443        |
|         | Recup. (%)                | <b>93</b>  | <b>103</b> | <b>102</b> | <b>101</b> | <b>99</b>  |
| -       | Promedio (%)              | 96         | 102        | 97         | 105        | 94         |
|         | T de Student <sup>1</sup> | 2,2        | 1,3        | 1,2        | 1,3        | 1,3        |
|         | T crítico <sup>2</sup>    | 2,45       | 2,45       | 2,45       | 2,45       | 2,45       |
|         | Diferencia <sup>3</sup>   | No         | No         | No         | No         | No         |

Los valores son el promedio de tres réplicas. 1) Estadístico T de Student =  $|X-100|/(S/\text{raiz}(n))$ . 2) Valor crítico con  $\alpha = 0,05$  y  $n-1 = 6$ . 3) Si T de Student es mayor que T crítico, se concluye que existe diferencia significativa entre la recuperación obtenida y el valor esperado (100).

## **5.6. Determinación de la veracidad por comparación con los valores certificados del material de referencia 1634c**

La determinación de los valores certificados en el material de referencia 1634c ofrece la ventaja que la matriz es similar a las muestras de interés y las especies químicas de los elementos de estudio son naturales y no sintéticas como en los estándares organometálicos. La desventaja de este material de referencia es que solo posee dos valores certificados de los elementos estudiados, As y Co y un valor informativo del Ba. Con este estudio podemos determinar la veracidad del As que no pudo ser obtenida en el estudio de recuperación y del Co para verificar que la forma química natural de este elemento en el material de referencia es extraíble en esta matriz.

Se aplicó la metodología EFRE a la determinación de As, Co y Ba en el material de referencia SRM 1634c Elementos Trazas en Fuel Oil, los resultados se muestran en la tabla 21. Para los elementos certificados As y Co no se obtuvo diferencia significativa con respecto a los valores de referencia, lo que indica que el método EFRE funciona adecuadamente para este tipo de matriz y forma química de estos elementos contenidos naturalmente en el material de referencia. Para el Ba se obtuvo una diferencia significativa con respecto al valor informativo en el certificado que a su vez indica que no es un valor certificado debido a heterogeneidad del material, por lo tanto, se desconoce en que medida afecta la falta de homogeneidad a la prueba de veracidad.



**Tabla 21. Determinación de As, Co y Ba en SRM 1634c Elementos Trazas en Fuel Oil mediante la extracción por formación y rompimiento de emulsiones e ICP-MS**

|   | <b>As*<br/>(µg/Kg)</b> | <b>Co (µg/Kg)</b> | <b>Ba (µg/Kg)</b>       |
|---|------------------------|-------------------|-------------------------|
| Réplica 1                                       | 127                    | 144               | 2901                    |
| Réplica 2                                       | 135                    | 138               | 2846                    |
| Réplica 3                                       | 129                    | 141               | 2872                    |
| Promedio  | <b>130,3</b>           | <b>141,0</b>      | <b>2873</b>             |
| Desviación                                      | 4,2                    | 3,0               | 28                      |
| Valor de referencia SRM 1634c                   | <b>142,6</b>           | <b>151,0</b>      | <b>1800<sup>1</sup></b> |
| Desviación del valor de referencia <sup>2</sup> | 3,2                    | 2,6               | n/s                     |
| T de Student                                    | -3,1                   | -3,2              | 67,5                    |
| T crítico $\alpha = 0,05$                       | 4,3                    | 4,3               | 4,3                     |
| ¿Diferencia significativa?                      | NO                     | NO                | SÍ                      |

\*Para el As, el rompimiento de la emulsión se realizó por centrifugación. Nota 1) Valor no certificado. 2) Debido a que el certificado presenta la incertidumbre expandida al 95% de confianza, se divide el valor dado en el certificado entre 2 para obtener la desviación típica. n/s no suministrado.

### **5.7. Comparación de los métodos Extracción por Formación y Rompimiento de Emulsiones (EFRE) e Introducción Directa de Emulsiones (IDE)**

El método EFRE ha demostrado tener buen desempeño en cuanto a la veracidad de los resultados al obtener buena recuperación de los elementos Cd, Co, Cr, Mn y Zn y sin diferencia significativa con los valores certificados de As y Co del material de referencia 1634c. Sin embargo, la veracidad no pudo ser determinada para los elementos Ba, Mo y Pb. Por esta razón se decidió comparar el método EFRE con la introducción directa de emulsiones (IDE) al ICP-MS que como se observa en la tabla 22, muestra también un buen

desempeño al comparar los resultados con los valores certificados de As y Co del material de referencia 1634c. En principio, ambos métodos de tratamiento de muestras son independientes ya que en EFRE se realiza una extracción mientras que en IDE la muestra es introducida directamente al ICP-MS. Los resultados se muestran en la tabla 23.

**Tabla 22. Determinación de As, Co y Ba en SRM 1634c Elementos Trazas en Fuel Oil mediante la introducción directa de emulsiones al ICP-MS**

|   | As (µg/Kg)   | Co (µg/Kg)   | Ba (µg/Kg)              |
|---|--------------|--------------|-------------------------|
| Réplica 1                                       | 153          | 141          | 2798                    |
| Réplica 2                                       | 144          | 139          | 2861                    |
| Réplica 3                                       | 149          | 148          | 2753                    |
| Promedio  | <b>148,7</b> | <b>142,7</b> | <b>2804</b>             |
| Desviación                                      | 4,5          | 4,7          | 54                      |
| Valor de referencia SRM 1634c                   | <b>142,6</b> | <b>151,0</b> | <b>1800<sup>1</sup></b> |
| Desviación del valor de referencia <sup>2</sup> | 3,2          | 2,6          | n/s                     |
| T de Student                                    | 1,5          | -2,2         | 32,1                    |
| T crítico $\alpha = 0,05$                       | 4,3          | 4,3          | 4,3                     |
| ¿Diferencia significativa?                      | NO           | NO           | SÍ                      |

Nota 1) Valor no certificado. 2) Debido a que el certificado presenta la incertidumbre expandida al 95% de confianza, se divide el valor dado en el certificado entre 2 para obtener la desviación típica. n/s no suministrado.

**Tabla 23. Comparación de extracción por formación y rompimiento de emulsiones Vs introducción directa de emulsiones**

| Muestra                           | Metodología       | As*         | Ba           | Co         | Cr         | Mn         | Mo         | Pb         | Zn          |
|-----------------------------------|-------------------|-------------|--------------|------------|------------|------------|------------|------------|-------------|
| a                                 | EFRE <sup>1</sup> | 82 ± 3      | 2070 ± 27    | 334 ± 17   | 27 ± 8     | 240 ± 4    | 705 ± 79   | <16        | 90 ± 13     |
|                                   | IDE <sup>1</sup>  | 68 ± 1      | 1973 ± 64    | 241 ± 9    | nd         | 195 ± 3    | 1324 ± 31  | <29        | 356 ± 4     |
|                                   | % <sup>2</sup>    | <b>19,0</b> | <b>5</b>     | <b>32</b>  | <b>n/a</b> | <b>21</b>  | <b>-61</b> | <b>n/a</b> | <b>-119</b> |
| b                                 | EFRE <sup>1</sup> | 116 ± 6     | 251 ± 8      | 205 ± 3    | <18        | 164 ± 2    | 148 ± 2    | <16        | 270 ± 29    |
|                                   | IDE <sup>1</sup>  | 124 ± 4     | 334 ± 9      | 303 ± 7    | nd         | 173 ± 3    | 251 ± 5    | <29        | 319 ± 4     |
|                                   | % <sup>2</sup>    | <b>-7</b>   | <b>-28</b>   | <b>-39</b> | <b>n/a</b> | <b>-5</b>  | <b>-52</b> | <b>n/a</b> | <b>-17</b>  |
| c                                 | EFRE <sup>1</sup> | <10         | <13          | 36 ± 4     | <18        | <12        | 105 ± 10   | <16        | 44 ± 9      |
|                                   | IDE <sup>1</sup>  | <32         | <147         | 48 ± 3     | nd         | <21        | 163 ± 3    | <29        | 359 ± 16    |
|                                   | % <sup>2</sup>    | <b>n/a</b>  | <b>n/a</b>   | <b>-29</b> | <b>n/a</b> | <b>n/a</b> | <b>-43</b> | <b>n/a</b> | <b>-156</b> |
| d                                 | EFRE <sup>1</sup> | 107 ± 4     | 286 ± 60     | 264 ± 2    | <18        | 123 ± 1    | 132 ± 2    | <16        | 199 ± 36    |
|                                   | IDE <sup>1</sup>  | 139 ± 5     | 384 ± 45     | 356 ± 6    | nd         | 129 ± 3    | 227 ± 6    | <29        | 342 ± 27    |
|                                   | % <sup>2</sup>    | <b>-26</b>  | <b>-29</b>   | <b>-30</b> | <b>n/a</b> | <b>-5</b>  | <b>-53</b> | <b>n/a</b> | <b>-53</b>  |
| e                                 | EFRE <sup>1</sup> | 149 ± 4     | 660 ± 13     | 290 ± 20   | <18        | 1037 ± 64  | 158 ± 23   | <16        | 205 ± 19    |
|                                   | IDE <sup>1</sup>  | 132 ± 3     | 594 ± 39     | 363 ± 12   | nd         | 1126 ± 20  | 267 ± 7    | <29        | 404 ± 7     |
|                                   | % <sup>2</sup>    | <b>12</b>   | <b>11</b>    | <b>-22</b> | <b>n/a</b> | <b>-8</b>  | <b>-51</b> | <b>n/a</b> | <b>-65</b>  |
| f                                 | EFRE <sup>1</sup> | 90 ± 2      | 60152 ± 3562 | 555 ± 22   | <18        | 1179 ± 31  | 659 ± 52   | 191 ± 2    | 773 ± 49    |
|                                   | IDE <sup>1</sup>  | 106 ± 6     | 52526 ± 3567 | 491 ± 9    | nd         | 1242 ± 76  | 1239 ± 28  | 205 ± 14   | 1050 ± 21   |
|                                   | % <sup>2</sup>    | <b>-16</b>  | <b>14</b>    | <b>12</b>  | <b>n/a</b> | <b>-5</b>  | <b>-61</b> | <b>-7</b>  | <b>-30</b>  |
| g                                 | EFRE <sup>1</sup> | 155 ± 16    | 93 ± 2       | 339 ± 15   | 27 ± 7     | 542 ± 12   | 1065 ± 12  | 47 ± 4     | 284 ± 21    |
|                                   | IDE <sup>1</sup>  | 180 ± 12    | 142 ± 9      | 374 ± 33   | nd         | 655 ± 28   | 1668 ± 98  | 47 ± 6     | 340 ± 12    |
|                                   | % <sup>2</sup>    | <b>-15</b>  | <b>-42</b>   | <b>-10</b> | <b>n/a</b> | <b>-19</b> | <b>-44</b> | <b>0</b>   | <b>-18</b>  |
| <b>Ts<sup>3</sup></b>             |                   | 6           | 9            | 9          | -          | 3          | 0          | -          | 0           |
| <b>T crítico<sup>4</sup></b>      |                   | 2           | 2            | 4          | -          | 2          | 4          | -          | 4           |
| <b>¿Diferencia significativa?</b> |                   | NO          | NO           | NO         | n/a        | NO         | SÍ         | -          | SÍ          |

\*Para el As, el rompimiento de la emulsión se realizó por centrifugación. Notas: 1) Valores en µg/Kg ± desviación estándar de tres replicas. 2) Diferencia porcentual (EFRE – IDE) / promedio \*100.  
 3) Ts: estadístico de la prueba de rangos con signo de Wilcoxon (ver anexo C para descripción). 4) Valor crítico de la prueba de Wilcoxon obtenido de la referencia 42. Si el estadístico Ts es mayor o igual al valor crítico, se acepta la hipótesis nula de que no existen diferencias significativas. Los valores de significación α para n = 6 es α = 0,0469 y para n = 7 es α = 0,0547. n/a: no aplica.

Se observa que para los elementos As, Ba, Co y Mn, el análisis estadístico de Wilcoxon<sup>[46]</sup> (ver anexo C) arrojó que no existen diferencias significativas entre ambos métodos y para la mayoría de los casos, la diferencia porcentual no excede el 30%.

Debido a que sólo fue posible cuantificar la cantidad de Pb en dos muestras, la comparación se realizó mediante una prueba T de Student, los resultados se muestran en la tabla 24. Se observa que no existe diferencia significativa entre ambos métodos para la determinación de Pb.

**Tabla 24. Comparación metodología de rompimiento de emulsiones Vs introducción directa de emulsiones en la determinación de Pb**

| Muestra    | Pb ( $\mu\text{g}/\text{Kg}$ ) |            | T de Student | T crítico         | ¿Diferencia significativa? |
|------------|--------------------------------|------------|--------------|-------------------|----------------------------|
|            | EFRE                           | IDE        |              |                   |                            |
| f          | 190                            | 189        | 1,63         | 4,30 <sup>1</sup> | NO                         |
|            | 190                            | 209        |              |                   |                            |
|            | 194                            | 216        |              |                   |                            |
| Promedio   | <b>191</b>                     | <b>205</b> |              |                   |                            |
| Desviación | <b>2</b>                       | <b>14</b>  |              |                   |                            |
| g          | 45                             | 40         | 0            | 2,77              | NO                         |
|            | 52                             | 49         |              |                   |                            |
|            | 44                             | 52         |              |                   |                            |
| Promedio   | <b>47</b>                      | <b>47</b>  |              |                   |                            |
| Desviación | <b>4</b>                       | <b>6</b>   |              |                   |                            |

Nota 1) valor crítico para la prueba T de Student suponiendo varianzas desiguales según prueba F de Fisher

Para todas las muestras el Cd estuvo por debajo del límite de cuantificación en ambas metodologías por lo que la comparación no pudo ser realizada. Adicionalmente, con estos resultados se concluye que los crudos venezolanos estudiados no contienen Cd en concentraciones detectables por estos métodos. Sin embargo, el método EFRE podría ser ajustado para obtener

factores de dilución más bajos realizando el estudio a mayores relaciones crudo : solución de extracción y/o reduciendo la dilución del extracto acuoso hasta la solución final introducida al ICP-MS.

No fue posible la determinación de Cr en la introducción directa de emulsiones debido al incremento de las señales de fondo por la gran cantidad de materia orgánica introducida al ICP-MS que produce los iones  $^{40}\text{Ar}^{12}\text{C}^+$ ,  $^{40}\text{Ar}^{13}\text{C}^+$  y  $^{40}\text{Ar}^{12}\text{C}^1\text{H}^+$  interfiriendo con los principales isótopos de Cr. Esto muestra una de las ventajas adicionales del método EFRE sobre IDE, ya que al solo introducir el extracto acuoso del rompimiento de la emulsión, se evita la introducción de toda la materia orgánica del crudo, que en conjunto con el oxígeno necesario para la combustión, incrementan las interferencias producidas por la matriz y la formación de óxidos.

Los resultados de la comparación de los métodos EFRE e IDE muestran ser equivalentes para la mayoría de los elementos (ver tablas 23 y 24), sin embargo, Mo y Zn mostraron tener diferencias significativas.

Para el Zn los resultados son mayores con el método IDE, esto puede deberse a interferencias producidas por los compuestos de azufre contenidos en los crudos y por el oxígeno introducido al ICP-MS, principalmente,  $^{34}\text{S}^{16}\text{O}^{16}\text{O}^+$  y  $^{32}\text{S}^{34}\text{S}^+$  sobre  $^{66}\text{Zn}^+$  ya que los crudos estudiados contienen entre 2 y 5% de azufre (ver tabla 8). Estos resultados muestran nuevamente las ventajas de EFRE con respecto a IDE al minimizar la cantidad de materia orgánica introducida al ICP-MS.

Para el Mo existe igualmente diferencia significativa entre los métodos EFRE e IDE (ver tabla 23). Los resultados menores por EFRE pueden deberse a una baja extracción de este elemento, recordando que el Mo fue el que mostró estar más unido a la fase orgánica requiriendo mayor cantidad de  $\text{HNO}_3$  para su extracción (ver figura 15) Por otro lado, las mayores concentraciones encontradas para IDE puede deberse a interferencias producidas por la materia orgánica u oxígeno introducido al ICP-MS, sin embargo, la razón específica es difícil de determinar sobre todo por la falta de materiales de referencia certificados con este elemento.

### **5.8. Precisión**

De los análisis de las muestras de crudos pesados y extrapesados podemos obtener la precisión en condiciones de repetibilidad. En la tabla 25 se puede observar que para el método EFRE el coeficiente de variación esta entre 1 y 15% para la mayoría de los elementos, aunque se encuentran algunos valores más altos para Ba, Cr y Zn, sin embargo, este estudio preliminar muestra una precisión aceptable para el método EFRE. Podemos observar en la tabla 26 que los coeficientes de variación para el método IDE están entre 1 y 13%, ligeramente menores a los obtenidos por el método EFRE, probablemente debido a que el método IDE posee menos pasos de preparación de muestra y por lo tanto es un poco más reproducible.

**Tabla 25. Precisión en condiciones de repetibilidad del método EFRE**

| Muestra | Réplica              | As*      | Ba           | Co       | Cr     | Mn        | Mo        | Pb      | Zn       |
|---------|----------------------|----------|--------------|----------|--------|-----------|-----------|---------|----------|
| a       | 1                    | 80       | 2076         | 334      | 35     | 243       | 716       | <16     | 91       |
|         | 2                    | 85       | 2093         | 350      | 20     | 241       | 777       | <16     | 77       |
|         | 3                    | 82       | 2041         | 317      | 24     | 236       | 621       | <16     | 103      |
|         | (X ± S) <sup>1</sup> | 82 ± 3   | 2070 ± 27    | 334 ± 17 | 27 ± 8 | 240 ± 4   | 705 ± 79  | n/a     | 90 ± 13  |
|         | CV <sup>2</sup>      | 4%       | 1%           | 5%       | 30%    | 2%        | 11%       | n/a     | 14%      |
| b       | 1                    | 113      | 243          | 206      | <18    | 163       | 147       | <16     | 302      |
|         | 2                    | 112      | 259          | 208      | <18    | 166       | 150       | <16     | 261      |
|         | 3                    | 123      | 250          | 203      | <18    | 163       | 148       | <16     | 246      |
|         | (X ± S) <sup>1</sup> | 116 ± 6  | 251 ± 8      | 205 ± 3  | n/a    | 164 ± 2   | 148 ± 2   | n/a     | 270 ± 29 |
|         | CV <sup>2</sup>      | 5%       | 3%           | 1%       | n/a    | 1%        | 1%        | n/a     | 11%      |
| c       | 1                    | <10      | <13          | 33       | <18    | <12       | 96        | <16     | 52       |
|         | 2                    | <10      | <13          | 35       | <18    | <12       | 105       | <16     | 35       |
|         | 3                    | <10      | <13          | 41       | <18    | <12       | 115       | <16     | 45       |
|         | (X ± S) <sup>1</sup> | n/a      | n/a          | 36 ± 4   | n/a    | n/a       | 105 ± 10  | n/a     | 44 ± 9   |
|         | CV <sup>2</sup>      | n/a      | n/a          | 11%      | n/a    | n/a       | 10%       | n/a     | 20%      |
| d       | 1                    | 110      | 245          | 265      | <18    | 123       | 131       | <16     | 237      |
|         | 2                    | 108      | 259          | 264      | <18    | 125       | 134       | <16     | 165      |
|         | 3                    | 102      | 355          | 262      | <18    | 123       | 132       | <16     | 196      |
|         | (X ± S) <sup>1</sup> | 107 ± 4  | 286 ± 60     | 264 ± 2  | n/a    | 123 ± 1   | 132 ± 2   | n/a     | 199 ± 36 |
|         | CV <sup>2</sup>      | 4%       | 21%          | 1%       | n/a    | 1%        | 2%        | n/a     | 18%      |
| e       | 1                    | 152      | 645          | 295      | <18    | 1080      | 130       | <16     | 213      |
|         | 2                    | 151      | 665          | 308      | <18    | 1068      | 172       | <16     | 183      |
|         | 3                    | 144      | 670          | 269      | <18    | 964       | 168       | <16     | 218      |
|         | (X ± S) <sup>1</sup> | 149 ± 4  | 660 ± 13     | 290 ± 20 | n/a    | 1037 ± 64 | 158 ± 23  | n/a     | 205 ± 19 |
|         | CV <sup>2</sup>      | 3%       | 2%           | 7%       | n/a    | 6%        | 15%       | n/a     | 9%       |
| f       | 1                    | 92       | 57332        | 566      | <18    | 1166      | 686       | 190     | 731      |
|         | 2                    | 88       | 57961        | 570      | <18    | 1214      | 694       | 190     | 826      |
|         | 3                    | 90       | 63792        | 530      | <18    | 1157      | 600       | 194     | 761      |
|         | (X ± S) <sup>1</sup> | 90 ± 2   | 60152 ± 3562 | 555 ± 22 | n/a    | 1179 ± 31 | 659 ± 52  | 191 ± 2 | 773 ± 49 |
|         | CV <sup>2</sup>      | 2%       | 6%           | 4%       | n/a    | 3%        | 8%        | 1%      | 6%       |
| g       | 1                    | 174      | 94           | 355      | 30     | 538       | 1075      | 45      | 286      |
|         | 2                    | 145      | 95           | 335      | 33     | 556       | 1053      | 52      | 263      |
|         | 3                    | 147      | 91           | 326      | 19     | 533       | 1071      | 44      | 304      |
|         | (X ± S) <sup>1</sup> | 155 ± 16 | 93 ± 2       | 339 ± 15 | 27 ± 7 | 542 ± 12  | 1065 ± 12 | 47 ± 4  | 284 ± 21 |
|         | CV <sup>2</sup>      | 10%      | 2%           | 4%       | 26%    | 2%        | 1%        | 9%      | 7%       |

\*Para el As, el rompimiento de la emulsión se realizó por centrifugación. Notas: 1) Valores en µg/Kg ± desviación estándar de tres réplicas. 2) Coeficiente de variación: desviación estándar / promedio \* 100.

**Tabla 26. Precisión en condiciones de repetibilidad del método IDE**

| Muestra | Réplica                    | As              | Ba                  | Co              | Mn               | Mo               | Pb              | Zn               |
|---------|----------------------------|-----------------|---------------------|-----------------|------------------|------------------|-----------------|------------------|
| a       | 1                          | 69              | 2026                | 249             | 198              | 1357             | <29             | 359              |
|         | 2                          | 67              | 1992                | 244             | 195              | 1295             | <29             | 356              |
|         | 3                          | 68              | 1902                | 231             | 192              | 1319             | <29             | 352              |
|         | <b>(X ± S)<sup>1</sup></b> | <b>68 ± 1</b>   | <b>1973 ± 64</b>    | <b>241 ± 9</b>  | <b>195 ± 3</b>   | <b>1324 ± 31</b> | <b>n/a</b>      | <b>356 ± 4</b>   |
|         | <b>CV<sup>2</sup></b>      | <b>1%</b>       | <b>3%</b>           | <b>4%</b>       | <b>2%</b>        | <b>2%</b>        | <b>n/a</b>      | <b>1%</b>        |
| b       | 1                          | 123             | 333                 | 310             | 172              | 249              | <29             | 323              |
|         | 2                          | 120             | 325                 | 297             | 176              | 247              | <29             | 315              |
|         | 3                          | 128             | 343                 | 301             | 171              | 256              | <29             | 320              |
|         | <b>(X ± S)<sup>1</sup></b> | <b>124 ± 4</b>  | <b>334 ± 9</b>      | <b>303 ± 7</b>  | <b>173 ± 3</b>   | <b>251 ± 5</b>   | <b>n/a</b>      | <b>319 ± 4</b>   |
|         | <b>CV<sup>2</sup></b>      | <b>3%</b>       | <b>3%</b>           | <b>2%</b>       | <b>2%</b>        | <b>2%</b>        | <b>n/a</b>      | <b>1%</b>        |
| c       | 1                          | <32             | <147                | 47              | <21              | 160              | <29             | 355              |
|         | 2                          | <32             | <147                | 51              | <21              | 162              | <29             | 376              |
|         | 3                          | <32             | <147                | 45              | <21              | 166              | <29             | 345              |
|         | <b>(X ± S)<sup>1</sup></b> | <b>n/a</b>      | <b>n/a</b>          | <b>48 ± 3</b>   | <b>n/a</b>       | <b>163 ± 3</b>   | <b>n/a</b>      | <b>359 ± 16</b>  |
|         | <b>CV<sup>2</sup></b>      | <b>n/a</b>      | <b>n/a</b>          | <b>6%</b>       | <b>n/a</b>       | <b>2%</b>        | <b>n/a</b>      | <b>4%</b>        |
| d       | 1                          | 144             | 348                 | 349             | 130              | 221              | <29             | 366              |
|         | 2                          | 138             | 369                 | 358             | 131              | 233              | <29             | 313              |
|         | 3                          | 134             | 434                 | 361             | 125              | 228              | <29             | 348              |
|         | <b>(X ± S)<sup>1</sup></b> | <b>139 ± 5</b>  | <b>384 ± 45</b>     | <b>356 ± 6</b>  | <b>129 ± 3</b>   | <b>227 ± 6</b>   | <b>n/a</b>      | <b>342 ± 27</b>  |
|         | <b>CV<sup>2</sup></b>      | <b>4%</b>       | <b>12%</b>          | <b>2%</b>       | <b>2%</b>        | <b>3%</b>        | <b>n/a</b>      | <b>8%</b>        |
| e       | 1                          | 130             | 558                 | 353             | 1103             | 262              | <29             | 406              |
|         | 2                          | 131             | 635                 | 376             | 1139             | 263              | <29             | 400              |
|         | 3                          | 135             | 589                 | 359             | 1136             | 275              | <29             | 414              |
|         | <b>(X ± S)<sup>1</sup></b> | <b>132 ± 3</b>  | <b>594 ± 39</b>     | <b>363 ± 12</b> | <b>1126 ± 20</b> | <b>267 ± 7</b>   | <b>n/a</b>      | <b>404 ± 7</b>   |
|         | <b>CV<sup>2</sup></b>      | <b>2%</b>       | <b>7%</b>           | <b>3%</b>       | <b>2%</b>        | <b>3%</b>        | <b>n/a</b>      | <b>2%</b>        |
| f       | 1                          | 113             | 48686               | 490             | 1330             | 1242             | 189             | 1073             |
|         | 2                          | 102             | 53158               | 500             | 1196             | 1265             | 209             | 1046             |
|         | 3                          | 103             | 55735               | 482             | 1201             | 1209             | 216             | 1032             |
|         | <b>(X ± S)<sup>1</sup></b> | <b>106 ± 6</b>  | <b>52526 ± 3567</b> | <b>491 ± 9</b>  | <b>1242 ± 76</b> | <b>1239 ± 28</b> | <b>205 ± 14</b> | <b>1050 ± 21</b> |
|         | <b>CV<sup>2</sup></b>      | <b>6%</b>       | <b>7%</b>           | <b>2%</b>       | <b>6%</b>        | <b>2%</b>        | <b>7%</b>       | <b>2%</b>        |
| g       | 1                          | 177             | 145                 | 346             | 630              | 1559             | 40              | 344              |
|         | 2                          | 193             | 132                 | 365             | 685              | 1749             | 49              | 349              |
|         | 3                          | 169             | 148                 | 410             | 651              | 1695             | 52              | 326              |
|         | <b>(X ± S)<sup>1</sup></b> | <b>180 ± 12</b> | <b>142 ± 9</b>      | <b>374 ± 33</b> | <b>655 ± 28</b>  | <b>1668 ± 98</b> | <b>47 ± 6</b>   | <b>340 ± 12</b>  |
|         | <b>CV<sup>2</sup></b>      | <b>7%</b>       | <b>6%</b>           | <b>9%</b>       | <b>4%</b>        | <b>6%</b>        | <b>13%</b>      | <b>4%</b>        |

Notas: 1) Valores en µg/Kg ± desviación estándar de tres réplicas. 2) Coeficiente de variación: desviación estándar / promedio \* 100.



## **5.9. Límites de detección y cuantificación**

Para ambas metodologías los límites de detección (LOD) y cuantificación (LOQ) fueron calculados como la concentración correspondiente en la curva de calibración a las señales:

Señal LOD = Señal del blanco + 3 \* Desviación estándar del blanco

Señal LOQ = Señal del blanco + 10 \* Desviación estándar del blanco

Donde la señal del blanco fue el promedio de 5 determinaciones de la solución patrón de 0 µg/Kg medidas de manera equidistante en una sesión de análisis de muestras.

En la tabla 27 se muestran los límites de detección, cuantificación y límites de cuantificación prácticos de acuerdo a las diluciones realizadas en el procedimiento de tratamiento de muestra. Se observa que se obtienen mejores límites de detección instrumental con la calibración del método de extracción por formación y rompimiento de emulsiones. Los límites de detección prácticos obtenidos para el método de formación y rompimiento de emulsiones pueden ser mejorados modificando las diluciones realizadas.

**Tabla 27. Límites de detección y cuantificación obtenidos. Valores en  $\mu\text{g/Kg}$**

| Metodología |                           | As*  | Ba   | Cd   | Co   | Cr   | Mn   | Mo   | Pb   | Zn   |
|-------------|---------------------------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|
| EFRE        | LOD <sup>1</sup>          | 0,17 | 0,21 | 0,13 | 0,15 | 0,31 | 0,20 | 0,22 | 0,27 | 0,60 |
|             | LOQ <sup>2</sup>          | 0,56 | 0,70 | 0,43 | 0,49 | 1,0  | 0,65 | 0,73 | 0,89 | 2,0  |
|             | LOQ práctico <sup>3</sup> | 10   | 13   | 8    | 9    | 18   | 12   | 13   | 16   | 36   |
| IDE         | LOD <sup>1</sup>          | 0,63 | 2,9  | 0,16 | 0,33 | nd   | 0,42 | 0,54 | 0,57 | 1,1  |
|             | LOQ <sup>2</sup>          | 2,1  | 9,8  | 0,54 | 1,1  | nd   | 1,4  | 1,8  | 1,9  | 3,6  |
|             | LOQ práctico <sup>4</sup> | 32   | 147  | 8    | 17   | nd   | 21   | 27   | 29   | 54   |

\*Para el As, el rompimiento de la emulsión se realizó por centrifugación. Notas 1) LOD = límite de detección. 2) LOQ = límite de cuantificación. 3) Límite de cuantificación utilizando 18 como factor de dilución. 4) Límite de cuantificación utilizando 15 como factor de dilución.

## 6. CONCLUSIONES

- Se determinó que de los factores estudiados, aquellos que afectan al método de extracción por formación y rompimiento de emulsiones (EFRE) en muestras de crudos pesados y extrapesados venezolanos son la concentración de triton X-100, concentración de  $\text{HNO}_3$  y temperatura de rompimiento de la emulsión.
- El As mostró un comportamiento diferente al resto de los elementos al aplicar la metodología EFRE con rompimiento por temperatura, por lo que se realizó un estudio adicional concluyendo que su análisis debe ser llevado a cabo por rompimiento de la emulsión por centrifugación o utilizar Se como estándar interno, ya que, al poseer características similares de potencial de ionización y masa atómica puede compensar los efectos producidos en el rompimiento por temperatura.
- Para la determinación de Cr se debe realizar el rompimiento de la emulsión por temperatura y utilizar He en la celda de colisión del ICP-MS para minimizar las interferencias poliatómicas.
- Aunque los estándares organometálicos han sido ampliamente utilizados en estudios de recuperación en crudos y derivados para métodos de digestión total o introducción directa de la muestra, se observó en este trabajo que el método EFRE es más sensible a los cambios de matriz obteniendo, por ejemplo, baja recuperación para As en el aceite mineral pero sin diferencias significativas con respecto al valor certificado en la determinación de este mismo elemento en el material de referencia 1634c.

- Se obtuvieron buenas recuperaciones para los elementos Cd, Co, Cr, Mn y Zn en crudos enriquecidos con estándares organometálicos, indicando que la matriz del crudo no afecta la extracción de estos elementos.
- Al aplicar la extracción por formación y rompimiento de emulsiones y análisis por ICP-MS a la determinación de As y Co en el material de referencia 1634c Elementos Trazas en Fuel Oil no se obtuvo diferencia significativa con respecto a los valores certificados, lo que indica que el método de extracción funciona adecuadamente para estos elementos en este tipo de matriz.
- La metodología EFRE se comparó con la introducción directa de emulsiones (IDE) sin obtener diferencias significativas para la mayoría de los elementos. Aunque IDE es más rápido en cuanto al tiempo empleado para la preparación de la muestra, EFRE ofrece la principal ventaja de minimizar la cantidad de materia orgánica introducida al ICP-MS, evitando las interferencias observadas sobre Cr y Zn, la formación de carbón en los conos de la interfase y la introducción de oxígeno al ICP-MS. Para el para Mo se observó diferencia significativa entre ambos métodos, sin embargo, a falta de materiales de referencia con valores certificados para el Mo no se pudo determinar cual de los métodos presenta la desviación.
- La precisión obtenida para el método EFRE, expresada como coeficiente de variación, esta entre 1 y 15% para la mayoría de los elementos, aunque se encuentran algunos valores más altos para Ba, Cr y Zn, sin

embargo, este estudio preliminar muestra una precisión aceptable. Para el método IDE los coeficientes de variación están entre 1 y 13%.

- Los límites de detección (LOD) obtenidos para EFRE están entre 0,13 y 0,60  $\mu\text{g L}^{-1}$  y los límites de cuantificación prácticos (LOQP) tomando en cuenta la dilución total realizada a la muestra en el tratamiento están entre 8 y 36  $\mu\text{g L}^{-1}$ . El método EFRE muestra más bajos límites de detección y límites de cuantificación prácticos en comparación con IDE los cuales están entre 0,16 y 2,9  $\mu\text{g L}^{-1}$  (LOD) y 8 y 147  $\mu\text{g L}^{-1}$  (LOQP).

## 7. BIBLIOGRAFÍA

[1] Duyck C., Miekeley N., Porto da Silveira C., Aucélio R., Campos R., Grinberg P., Brandão G. The determination of trace elements in crude oil and its heavy fractions by atomic spectrometry. *Spectrochimica Acta Part B.* 62 (2007) 939–951.

[2] Duyck C., Miekeley N., Porto da Silveira C., Szatmari P., Trace element determination in crude oil and its fractions by inductively coupled plasma mass spectrometry using ultrasonic nebulization of toluene Solutions. *Spectrochimica Acta Part B.* 57 (2002) 1979–1990.

[3] Sanchez R., Todolí J., Lienemann C., Mermet J. Determination of trace elements in petroleum products by inductively coupled plasma techniques: a critical review. *Spectrochimica Acta Part B.* 88 (2013) 104–126.

[4] Speight J. Handbook of Petroleum Product Analysis. John Wiley & Sons. New Jersey 2002. Cap 1.

[5] Speight J. The Desulfurization of Heavy Oils and Residua. Segunda Edición, Marcel Dekker. New York 1999. Cap. 1, 2 y 3.

[6] Akinlua A., Torto N., Ajayi T. Determination of rare earth elements in Niger Delta crude oils by inductively coupled plasma-mass spectrometry. *Fuel.* 87 (2008) 1469–1477.

- [7] BING-QUAN Z., JING-LIAN Z., XIANG-LIN T., XIANG-YANG C., CAI-YUAN F., YING L., JU-YING L. Pb, Sr, and Nd isotopic features in organic matter from China and their implications for petroleum generation and migration. *Geochimica et Cosmochimica Acta*. 65 (2001) 2555–2570.
- [8] Gondal M., Hussain T., Yamani H., Baig M. Detection of heavy metals in Arabian crude oil residue using laser induced breakdown spectroscopy. *Talanta*. 69 (2006) 1072–1078.
- [9] Caumette G., Lienemann C., Merdrignac I., Bouyssiére B., Lobinski R. Element speciation analysis of petroleum and related materials. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*. 24 (2009) 263-276.
- [10] De Souza R., Meliande A., Da Silveira C., Aucélio R.. Determination of Mo, Zn, Cd, Ti, Ni, V, Fe, Mn, Cr and Co in crude oil using inductively coupled plasma optical emission spectrometry and sample introduction as detergentless microemulsions. *Microchemical Journal*. 82 (2006) 137–141.
- [11] Lord C. Determination of Trace Metals in Crude Oil by Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry with Microemulsion Sample Introduction. *Analytical Chemistry*. 63 (1991) 1594-1599.
- [12] López L., Mónaco L., Galarraga L., Lira A., Cruz C. V/Ni ratio in maltene and asphaltene fractions of crude oils from the west Venezuela basin: correlation studies. *Chemical Geology*. 119 (1995) 255-262.

[13] Skoog D., Holler F., Nieman T. Principios de Análisis Instrumental. Quinta edición. McGraw HILL. Madrid, 2001. Cap. 7 y 12.

[14] Selby D., Creaser R., Fowler M. Re–Os elemental and isotopic systematics in crude oils. *Geochimica et Cosmochimica Acta*. 71 (2007) 378–386.

[15] Olsen S., Filby R., Brekke T., Isaksen G. Determination of Trace Elements in Petroleum Exploration Samples by Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry and Instrumental Neutron Activation Analysis. *Analyst*. 120 (1995) 1379-1390.

[16] Greenberg R., Bode P., De Nadai Fernandes E. Neutron activation analysis: A primary method of measurement. *Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy*. 66 (2011) 193-241.

[17] Heilmann J., Boulyga S., Heumann K. Development of an isotope dilution laser ablation ICP-MS method for multi-element determination in crude and fuel oil samples. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*. 24 (2009) 385–390.

[18] Becker J., Sela H., Dobrowolska J., Zoriy M., Becker J.S. Recent applications on isotope ratio measurements by ICP-MS and LA-ICP-MS on biological samples and single particles. *International Journal of Mass Spectrometry*. 270 (2008) 1–7.



[19] Hill S. Inductively Coupled Plasma Spectrometry and its Applications. Blackwell Publishing. Oxford, 2007. Cap. 2, 5 y 9.

[20] Dean J. Practical Inductively Coupled Plasma Spectroscopy. John Wiley & Sons Ltd. England 2005. Cap. 6.

[21] Burguera J., Burguera M. Analytical applications of organized assemblies for on-line spectrometric determinations: present and future. *Talanta*. 64 (2004) 1099–1108.

[22] Murillo M., Chirinos J. Study of the effect of organic emulsified samples in inductively coupled plasma atomic emission spectrometry. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*. 11 (1996) 253-257.

[23] Brenner I., Zander A., Kim S. Direct determination of lead in gasoline using emulsification and argon and argon–oxygen inductively coupled plasma atomic emission spectrometry. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*. 11 (1996) 91–97.

[24] Murillo M., Chirinos J. Use of emulsion Systems for the determination of sulfur, nickel and vanadium in heavy crude oil samples by inductively coupled plasma atomic emission spectrometry. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*. 9 (1994) 237-240.

[25] De Souza R., Silveira C., Aucelio R. Determination of refractory elements in used lubricating oil by ICPOES employing emulsified sample introduction and calibration with inorganic standards. *Analytical Sciences*. 20 (2004) 351–355.

[26] Santelli R., Oliveira E., Carvalho B., Bezerra M., Freire A. Total sulfur determination in gasoline, kerosene and diesel fuel using inductively coupled plasma optical emission spectrometry after direct sample introduction as detergent emulsions. *Spectrochimica Acta Part B*. 63 (2008) 800–804.

[27] Kumar S., Gangadharan S. Determination of trace elements in naphtha by inductively coupled plasma mass spectrometry using water-in-oil emulsions. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*. 14 (1999) 967–971.

[28] Cassella R., Brum D., De Paula C., Lima C. Extraction induced by emulsion breaking: a novel strategy for the trace metals determination in diesel oil samples by electrothermal atomic absorption spectrometry. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*. 25 (2010) 1704–1711.

[29] Cassella R., Brum D., Robaina N., Rocha A., Lima C. Extraction induced by emulsion breaking for metals determination in diesel oil by ICP-MS. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*. 27 (2012) 364–370.

- [30] Trevelin A., Marotto R., De Castro E., Brandão G., Cassella R., Carneiro M. Extraction induced by emulsion breaking for determination of Ba, Ca, Mg and Na in crude oil by inductively coupled plasma optical emission spectrometry. *Microchemical Journal*. 124 (2016) 338–343.
- [31] He Y., Zhao F., Zhou Y., Ahmad F., Ling Z. Extraction induced by emulsion breaking as a tool for simultaneous multi-element determination in used lubricating oils by ICP-MS. *Analytical Methods*. 7 (2015) 4493-4501.
- [32] Zanetti M., Teixeira C. Development and feasibility of emulsion breaking method for the extraction of cadmium from omega-3 dietary supplements and determination by flow injection TS-FF-AAS. *Microchemical Journal*. 127 (2016) 145–151.
- [33] Cassella R., Brumb D., Lima C., Caldas L., De Paula C. Multivariate optimization of the determination of zinc in diesel oil employing a novel extraction strategy based on emulsion breaking. *Analytica Chimica Acta*. 690 (2011) 79–85.
- [34] Bakircioglu D., Bakircioglu Y., Yurtsever S. Comparison of extraction induced by emulsion breaking, ultrasonic extraction and wet digestion procedures for determination of metals in edible oil samples in Turkey using ICP-OES. *Food Chemistry*. 138 (2013) 770–775.

- [35] Robaina N., Brum D., Cassella R. Application of the extraction induced by emulsion breaking for the determination of chromium and manganese in edible oils by electrothermal atomic absorption spectrometry. *Talanta*. 99 (2012) 104–112.
- [36] Pereira F., Zimpeck R., Brum D., Cassella R. Novel extraction induced by emulsion breaking as a tool for the determination of trace concentrations of Cu, Mn and Ni in biodiesel by electrothermal atomic absorption spectrometry. *Talanta*. 117 (2013) 32–38.
- [37] He Y., Chen J., Zhou Y., Wang X., Liu X. Extraction induced by emulsion breaking for trace multi-element determination in edible vegetable oils by ICP-MS. *Analytical Methods*. 6 (2014) 5105-5111.
- [38] Bakircioglu D., Topraksever N., Bakircioglu Y. Determination of zinc in edible oils by flow injection FAAS after extraction induced by emulsion breaking procedure. *Food Chemistry*. 151 (2014) 219–224.
- [39] Montgomery D. Diseño y análisis de experimentos. Limusa Wiley. Mexico DF. 2004.
- [40] Allain P., Jaunault L., Mauras Y., Mermet J. M., Delaporte T. Signal Enhancement of Elements Due to the Presence of Carbon-Containing Compounds in Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry. *Anal. Chem.*, 63 (1991) 1497-1498.

- [41] Machat J., Otruba V., Kanicky V. Spectral and non-spectral interferences in the determination of selenium by inductively coupled plasma atomic emission spectrometry. *J. Anal. At. Spectrom.*, 17 (2002) 1096–1102.
- [42] Abou-Shakra F., Rayman M., Ward N., Hotton V., Bastian G. Enzymatic Digestion for the Determination of Trace Elements in Blood Serum by Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry. *J. Anal. At. Spectrom.*, 12 (1997) 429–433.
- [43] Marfisi S., Salager J. Deshidratación de crudo – Principios y tecnología. Laboratorio FIRP. Mérida – Venezuela. 2004.
- [44] Weinheimer R., Varineau P. in *Nonionic Surfactants Organic Chemistry*, ed. Van Os N., Marcel Dekker, New York, USA, 1998, Vol, 72, Ch. 2, pp. 39-86.
- [45] D'Illo S., Violante N., Majorani C., Petrucci F. Dynamic reaction cell ICP-MS for determination of total As, Cr, Se and V in complex matrices: Still a challenge? A review. *Analytical Chimica Acta*. 698 (2011) 6–13.
- [46] Sokal R., Rohlf F. *Introduction to Biostatistics*. Reverté. Barcelona 1980.

## Anexo A

### Análisis de Varianza del Diseño $2^{6-1}_{IV}$

El diseño utilizado para la evaluación de los parámetros de formación y rompimiento de emulsiones es un diseño factorial fraccionado  $2^{6-2}_{IV}$  con 5 réplicas del punto central y tres réplicas de cada corrida mostrado en la tabla 10. En la tabla A.1 se muestra el diseño con la codificación de niveles (+1, 0 y -1).

En la tabla A.2 se muestra como ejemplo el análisis de varianza del As para la muestra de crudo y en la figura A.1 el gráfico de probabilidad normal.

En la tabla A.2 se muestra que aunque son 7 los factores significativos según los valores de probabilidad P, los factores A y B reúnen en conjunto alrededor del 82% de la variabilidad total, por lo que se consideran solo estos dos factores como significativos. Igual conclusión se llega a través del gráfico de probabilidad normal mostrado en la figura A.1.

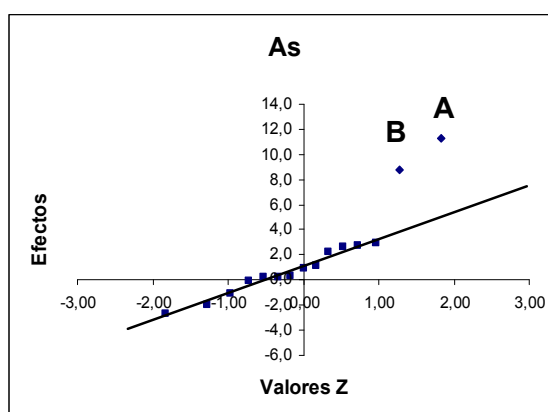
Tabla A.1. Diseño  $2^{6-2}_{IV}$  para la evaluación de los parámetros de formación y rompimiento de emulsiones

| Factor  | A: Concentración Triton X-100 (%) | B: Concentración $HNO_{3(c)}$ (%) | C: Temperatura de rompimiento ( $^{\circ}C$ ) | D: Tiempo de agitación (min) | E: Relación Crudo:Xileno | F: Relación Crudo:Solución de extracción |
|---------|-----------------------------------|-----------------------------------|---|------------------------------|--------------------------|--|
| Corrida |                                   |                                   |   |                              |                          |  |
| 1       | -1                                | -1                                | -1  | -1                           | -1                       | -1                                       |
| 2       | 1                                 | -1                                | -1  | -1                           | 1                        | -1                                       |
| 3       | -1                                | 1                                 | -1  | -1                           | 1                        | 1  |
| 4       | 1                                 | 1                                 | -1  | -1                           | -1                       | 1  |
| 5       | -1                                | -1                                | 1   | -1                           | 1                        | 1  |
| 6       | 1                                 | -1                                | 1   | -1                           | -1                       | 1  |
| 7       | -1                                | 1                                 | 1   | -1                           | -1                       | -1                                       |
| 8       | 1                                 | 1                                 | 1   | -1                           | 1                        | -1                                       |
| 9       | -1                                | -1                                | -1  | 1                            | -1                       | 1  |
| 10      | 1                                 | -1                                | -1  | 1                            | 1                        | 1  |
| 11      | -1                                | 1                                 | -1  | 1                            | 1                        | -1                                       |
| 12      | 1                                 | 1                                 | -1  | 1                            | -1                       | -1                                       |
| 13      | -1                                | -1                                | 1   | 1                            | 1                        | -1                                       |
| 14      | 1                                 | -1                                | 1   | 1                            | -1                       | -1                                       |
| 15      | -1                                | 1                                 | 1   | 1                            | -1                       | 1  |
| 16      | 1                                 | 1                                 | 1   | 1                            | 1                        | 1  |
| Central | 0                                 | 0                                 | 0   | 0                            | 0                        | 0  |

**Tabla A.2. Análisis de varianza del As para la muestra de crudo**

| Variable  | Efecto (µg/Kg) | SS    | %SS   | G.L. | C.M. | F     | P     |
|-----------|----------------|-------|-------|------|------|-------|-------|
| A         | 11,3           | 6141  | 51,8  | 1    | 6141 | 123,2 | <0,05 |
| B         | 8,7            | 3663  | 30,9  | 1    | 3663 | 73,5  | <0,05 |
| F         | 2,9            | 403   | 3,4   | 1    | 403  | 8,1   | <0,05 |
| C         | 2,8            | 366   | 3,1   | 1    | 366  | 7,3   | <0,05 |
| D         | -2,7           | 341   | 2,9   | 1    | 341  | 6,8   | <0,05 |
| AE        | 2,6            | 326   | 2,8   | 1    | 326  | 6,5   | <0,05 |
| AB        | 2,2            | 235   | 2,0   | 1    | 235  | 4,7   | <0,05 |
| AD        | -2,0           | 196   | 1,7   | 1    | 196  | 3,9   | 0,055 |
| BF        | 1,1            | 61    | 0,5   | 1    | 61   | 1,2   | 0,274 |
| AC        | -1,1           | 57    | 0,5   | 1    | 57   | 1,1   | 0,292 |
| BD        | 1,0            | 46    | 0,4   | 1    | 46   | 0,9   | 0,345 |
| E         | 0,4            | 6,3   | 0,1   | 1    | 6,3  | 0,1   | 0,725 |
| ABD       | 0,3            | 3,6   | 0,03  | 1    | 3,6  | 0,1   | 0,790 |
| ACD       | 0,2            | 2,4   | 0,02  | 1    | 2,4  | 0,0   | 0,827 |
| AF        | -0,1           | 0,2   | 0,002 | 1    | 0,2  | 0,0   | 0,947 |
| Curvatura |                | 30    |       | 1    | 30   | 0,6   | 0,440 |
| Error     |                | 1794  |       | 36   | 50   |       |       |
| Total     |                | 13673 |       | 52   |      |       |       |

A: Concentración Triton X-100 (%), B: Concentración HNO<sub>3</sub> (%), C: Temperatura de rompimiento (°C), D: Tiempo de agitación (min), E: Relación Crudo:Xileno, F: Relación Crudo:Solución de extracción. SS: Suma de cuadrados, %SS: porcentaje de contribución de la suma de cuadrados, G.L: Grados de libertad, C.M: Cuadrado medio, F: estadístico F de Fisher, P: Probabilidad.



**Figura A.1. Gráfico de probabilidad normal del As muestra de crudo. (Factores: A: Concentración de Triton X-100, B: Concentración de HNO<sub>3</sub>, C:Temperatura de rompimiento)**

Nota: para el cálculo del porcentaje de contribución %SS no se tomó en cuenta la suma de cuadrados del error ya que este valor se incrementa con el número



de réplicas por corrida sin ningún efecto sobre la magnitud del efecto principal. Tampoco se considero la suma de cuadrados de la curvatura ya que no tiene efecto en la magnitud de los efectos principales. Sin embargo, hacer esta exclusión no cambia la conclusión ya que de igual manera el mayor porcentaje de contribución lo tienen los factores A y B.

En las tablas de A.3 a A.8 y A.9 a A.17 se muestran los análisis de varianza para los elementos determinados en la muestra de crudo y la muestra de crudo enriquecida respectivamente.

**Tabla A.3. Análisis de varianza del Ba para la muestra de crudo**

| Variable  | Efecto (µg/Kg) | SS     | %SS  | G.L. | C.M.   | F     | P     |
|-----------|----------------|--------|------|------|--------|-------|-------|
| A         | 88,4           | 375051 | 45,0 | 1    | 375051 | 126,0 | <0,05 |
| C         | 61,7           | 182850 | 21,9 | 1    | 182850 | 61,4  | <0,05 |
| E         | 37,9           | 69082  | 8,3  | 1    | 69082  | 23,2  | <0,05 |
| BF        | -34,0          | 55486  | 6,7  | 1    | 55486  | 18,6  | <0,05 |
| AF        | -24,7          | 29211  | 3,5  | 1    | 29211  | 9,8   | <0,05 |
| D         | 23,5           | 26573  | 3,2  | 1    | 26573  | 8,9   | <0,05 |
| AC        | 22,8           | 24891  | 3,0  | 1    | 24891  | 8,4   | <0,05 |
| BD        | -21,4          | 22024  | 2,6  | 1    | 22024  | 7,4   | <0,05 |
| AE        | -20,2          | 19609  | 2,4  | 1    | 19609  | 6,6   | <0,05 |
| AB        | -13,7          | 9054   | 1,1  | 1    | 9054   | 3,0   | 0,090 |
| B         | 13,0           | 8115   | 1,0  | 1    | 8115   | 2,7   | 0,107 |
| AD        | 11,2           | 5991   | 0,7  | 1    | 5991   | 2,0   | 0,165 |
| ACD       | -10,4          | 5178   | 0,6  | 1    | 5178   | 1,7   | 0,196 |
| ABD       | -2,8           | 369    | 0,04 | 1    | 369    | 0,1   | 0,727 |
| F         | -2,2           | 224    | 0,03 | 1    | 224    | 0,1   | 0,785 |
| Curvatura |                | 2120   |      | 1    | 2120   | 0,7   | 0,404 |
| Error     |                | 107181 |      | 36   | 2977   |       |       |
| Total     |                | 943009 |      | 52   |        |       |       |

A: Concentración Triton X-100 (%), B: Concentración HNO<sub>3</sub> (%), C: Temperatura de rompimiento (°C), D: Tiempo de agitación (min), E: Relación Crudo:Xileno, F: Relación Crudo:Solución de extracción. SS: Suma de cuadrados, %SS: porcentaje de contribución de la suma de cuadrados, G.L: Grados de libertad, C.M: Cuadrado medio, F: estadístico F de Fisher, P: Probabilidad.

**Tabla A.4. Análisis de varianza del Co para la muestra de crudo**

| Variable  | Efecto (µg/Kg) | SS     | %SS   | G.L. | C.M.   | F     | P     |
|-----------|----------------|--------|-------|------|--------|-------|-------|
| A         | 54,1           | 140617 | 60,9  | 1    | 140617 | 745,5 | <0,05 |
| B         | 26,6           | 34077  | 14,8  | 1    | 34077  | 180,7 | <0,05 |
| E         | 16,2           | 12647  | 5,5   | 1    | 12647  | 67,1  | <0,05 |
| F         | 16,2           | 12521  | 5,4   | 1    | 12521  | 66,4  | <0,05 |
| AE        | 13,4           | 8677   | 3,8   | 1    | 8677   | 46,0  | <0,05 |
| AC        | 12,6           | 7584   | 3,3   | 1    | 7584   | 40,2  | <0,05 |
| AB        | -10,7          | 5518   | 2,4   | 1    | 5518   | 29,3  | <0,05 |
| BF        | -10,0          | 4808   | 2,1   | 1    | 4808   | 25,5  | <0,05 |
| D         | 7,4            | 2602   | 1,1   | 1    | 2602   | 13,8  | <0,05 |
| ACD       | -4,1           | 806    | 0,3   | 1    | 806    | 4,3   | <0,05 |
| BD        | -2,5           | 297    | 0,1   | 1    | 297    | 1,6   | 0,218 |
| AF        | -2,3           | 245    | 0,1   | 1    | 245    | 1,3   | 0,262 |
| ABD       | -2,0           | 186    | 0,1   | 1    | 186    | 1,0   | 0,327 |
| C         | 1,8            | 151    | 0,1   | 1    | 151    | 0,8   | 0,377 |
| AD        | -0,4           | 8      | 0,004 | 1    | 8      | 0,0   | 0,833 |
| Curvatura |                | 3394   |       | 1    | 3394   | 18,0  | <0,05 |
| Error     |                | 6790   |       | 36   | 189    |       |       |
| Total     |                | 240929 |       | 52   |        |       |       |

A: Concentración Triton X-100 (%), B: Concentración HNO<sub>3</sub> (%), C: Temperatura de rompimiento (°C), D: Tiempo de agitación (min), E: Relación Crudo:Xileno, F: Relación Crudo:Solución de extracción. SS: Suma de cuadrados, %SS: porcentaje de contribución de la suma de cuadrados, G.L: Grados de libertad, C.M: Cuadrado medio, F: estadístico F de Fisher, P: Probabilidad.

**Tabla A.5. Análisis de varianza del Cr para la muestra de crudo**

| Variable  | Efecto (µg/Kg) | SS    | %SS  | G.L. | C.M. | F    | P     |
|-----------|----------------|-------|------|------|------|------|-------|
| B         | 8,3            | 3302  | 29,0 | 1    | 3302 | 15,3 | <0,05 |
| F         | 7,9            | 3021  | 26,5 | 1    | 3021 | 14,0 | <0,05 |
| A         | 6,0            | 1734  | 15,2 | 1    | 1734 | 8,1  | <0,05 |
| C         | 4,6            | 1016  | 8,9  | 1    | 1016 | 4,7  | <0,05 |
| E         | 3,9            | 714   | 6,3  | 1    | 714  | 3,3  | 0,077 |
| AB        | 3,5            | 576   | 5,1  | 1    | 576  | 2,7  | 0,111 |
| AD        | 3,2            | 496   | 4,4  | 1    | 496  | 2,3  | 0,138 |
| BD        | 1,9            | 167   | 1,5  | 1    | 167  | 0,8  | 0,384 |
| AF        | -1,8           | 164   | 1,4  | 1    | 164  | 0,8  | 0,388 |
| D         | -1,7           | 136   | 1,2  | 1    | 136  | 0,6  | 0,433 |
| ACD       | 0,8            | 30    | 0,3  | 1    | 30   | 0,1  | 0,713 |
| AC        | -0,6           | 18    | 0,2  | 1    | 18   | 0,1  | 0,771 |
| BF        | 0,4            | 8     | 0,1  | 1    | 8    | 0,0  | 0,852 |
| AE        | 0,2            | 2     | 0,02 | 1    | 2    | 0,0  | 0,929 |
| ABD       | -0,2           | 1     | 0,01 | 1    | 1    | 0,0  | 0,940 |
| Curvatura |                | 16    |      | 1    | 16   | 0,1  | 0,787 |
| Error     |                | 7753  |      | 36   | 215  |      |       |
| Total     |                | 19153 |      | 52   |      |      |       |

A: Concentración Triton X-100 (%), B: Concentración HNO<sub>3</sub> (%), C: Temperatura de rompimiento (°C), D: Tiempo de agitación (min), E: Relación Crudo:Xileno, F: Relación Crudo:Solución de extracción. SS: Suma de cuadrados, %SS: porcentaje de contribución de la suma de cuadrados, G.L.: Grados de libertad, C.M.: Cuadrado medio, F: estadístico F de Fisher, P: Probabilidad.

**Tabla A.6. Análisis de varianza del Mn para la muestra de crudo**

| Variable  | Efecto (µg/Kg) | SS     | %SS  | G.L. | C.M.  | F    | P     |
|-----------|----------------|--------|------|------|-------|------|-------|
| A         | 32,6           | 51127  | 59,5 | 1    | 51127 | 15,1 | <0,05 |
| B         | 20,3           | 19751  | 23,0 | 1    | 19751 | 5,9  | <0,05 |
| AB        | 9,0            | 3919   | 4,6  | 1    | 3919  | 1,2  | 0,288 |
| C         | -7,4           | 2597   | 3,0  | 1    | 2597  | 0,8  | 0,386 |
| D         | -7,0           | 2339   | 2,7  | 1    | 2339  | 0,7  | 0,411 |
| AF        | -5,1           | 1256   | 1,5  | 1    | 1256  | 0,4  | 0,546 |
| ACD       | 4,8            | 1098   | 1,3  | 1    | 1098  | 0,3  | 0,572 |
| BD        | -4,6           | 1018   | 1,2  | 1    | 1018  | 0,3  | 0,586 |
| AD        | -4,5           | 989    | 1,2  | 1    | 989   | 0,3  | 0,592 |
| E         | -4,0           | 774    | 0,9  | 1    | 774   | 0,2  | 0,635 |
| AC        | -3,2           | 484    | 0,6  | 1    | 484   | 0,1  | 0,707 |
| F         | 2,7            | 352    | 0,4  | 1    | 352   | 0,1  | 0,749 |
| AE        | -1,6           | 126    | 0,1  | 1    | 126   | 0,04 | 0,848 |
| BF        | 1,3            | 75     | 0,1  | 1    | 75    | 0,02 | 0,882 |
| ABD       | -0,9           | 39     | 0,04 | 1    | 39    | 0,01 | 0,915 |
| Curvatura |                | 1147   |      | 1    | 1147  | 0,3  | 0,563 |
| Error     |                | 121494 |      | 36   | 3375  |      |       |
| Total     |                | 208585 |      | 52   |       |      |       |

A: Concentración Triton X-100 (%), B: Concentración HNO<sub>3</sub> (%), C: Temperatura de rompimiento (°C), D: Tiempo de agitación (min), E: Relación Crudo:Xileno, F: Relación Crudo:Solución de extracción. SS: Suma de cuadrados, %SS: porcentaje de contribución de la suma de cuadrados, G.L.: Grados de libertad, C.M.: Cuadrado medio, F: estadístico F de Fisher, P: Probabilidad.

**Tabla A.7. Análisis de varianza del Mo para la muestra de crudo**

| Variable  | Efecto (µg/Kg) | SS      | %SS  | G.L. | C.M.    | F      | P     |
|-----------|----------------|---------|------|------|---------|--------|-------|
| B         | 200,3          | 1926335 | 59,1 | 1    | 1926335 | 1580,9 | <0,05 |
| C         | 121,3          | 705843  | 21,6 | 1    | 705843  | 579,3  | <0,05 |
| F         | 75,6           | 274463  | 8,4  | 1    | 274463  | 225,2  | <0,05 |
| E         | 56,9           | 155135  | 4,8  | 1    | 155135  | 127,3  | <0,05 |
| AE        | 34,0           | 55490   | 1,7  | 1    | 55490   | 45,5   | <0,05 |
| AC        | 30,5           | 44616   | 1,4  | 1    | 44616   | 36,6   | <0,05 |
| AD        | -25,7          | 31771   | 1,0  | 1    | 31771   | 26,1   | <0,05 |
| BD        | 25,3           | 30742   | 0,9  | 1    | 30742   | 25,2   | <0,05 |
| AB        | -17,9          | 15388   | 0,5  | 1    | 15388   | 12,6   | <0,05 |
| ABD       | -17,4          | 14610   | 0,4  | 1    | 14610   | 12,0   | <0,05 |
| ACD       | -8,2           | 3198    | 0,1  | 1    | 3198    | 2,6    | 0,114 |
| A         | 6,1            | 1799    | 0,1  | 1    | 1799    | 1,5    | 0,232 |
| D         | 5,6            | 1527    | 0,05 | 1    | 1527    | 1,3    | 0,270 |
| AF        | 4,2            | 839     | 0,03 | 1    | 839     | 0,7    | 0,412 |
| BF        | 2,4            | 271     | 0,01 | 1    | 271     | 0,2    | 0,640 |
| Curvatura |                | 475     |      | 1    | 475     | 0,4    | 0,536 |
| Error     |                | 43866   |      | 36   | 1219    |        |       |
| Total     |                | 3306367 |      | 52   | 63584   |        |       |

A: Concentración Triton X-100 (%), B: Concentración HNO<sub>3</sub> (%), C: Temperatura de rompimiento (°C), D: Tiempo de agitación (min), E: Relación Crudo:Xileno, F: Relación Crudo:Solución de extracción. SS: Suma de cuadrados, %SS: porcentaje de contribución de la suma de cuadrados, G.L: Grados de libertad, C.M: Cuadrado medio, F: estadístico F de Fisher, P: Probabilidad.

**Tabla A.8. Análisis de varianza del Zn para la muestra de crudo**

| Variable  | Efecto (µg/Kg) | SS     | %SS   | G.L. | C.M.  | F   | P     |
|-----------|----------------|--------|-------|------|-------|-----|-------|
| B         | 27,6           | 36509  | 32,4  | 1    | 36509 | 5,2 | <0,05 |
| AE        | -24,0          | 27547  | 24,5  | 1    | 27547 | 3,9 | 0,056 |
| AB        | -19,7          | 18676  | 16,6  | 1    | 18676 | 2,6 | 0,113 |
| E         | 15,3           | 11255  | 10,0  | 1    | 11255 | 1,6 | 0,216 |
| AC        | 12,9           | 8011   | 7,1   | 1    | 8011  | 1,1 | 0,295 |
| C         | -11,0          | 5842   | 5,2   | 1    | 5842  | 0,8 | 0,370 |
| AD        | -6,3           | 1894   | 1,7   | 1    | 1894  | 0,3 | 0,608 |
| ACD       | -4,8           | 1090   | 1,0   | 1    | 1090  | 0,2 | 0,697 |
| ABD       | 3,9            | 741    | 0,7   | 1    | 741   | 0,1 | 0,748 |
| D         | -3,3           | 523    | 0,5   | 1    | 523   | 0,1 | 0,787 |
| AF        | 2,1            | 218    | 0,2   | 1    | 218   | 0,0 | 0,862 |
| F         | -1,7           | 133    | 0,1   | 1    | 133   | 0,0 | 0,892 |
| BD        | -1,5           | 106    | 0,1   | 1    | 106   | 0,0 | 0,903 |
| A         | 0,8            | 33     | 0,03  | 1    | 33    | 0,0 | 0,946 |
| BF        | 0,2            | 2      | 0,001 | 1    | 2     | 0,0 | 0,988 |
| Curvatura |                | 2861   |       | 1    | 2861  | 0,4 | 0,529 |
| Error     |                | 255066 |       | 36   | 7085  |     |       |
| Total     |                | 370505 |       | 52   | 7125  |     |       |

A: Concentración Triton X-100 (%), B: Concentración HNO<sub>3</sub> (%), C: Temperatura de rompimiento (°C), D: Tiempo de agitación (min), E: Relación Crudo:Xileno, F: Relación Crudo:Solución de extracción. SS: Suma de cuadrados, %SS: porcentaje de contribución de la suma de cuadrados, G.L: Grados de libertad, C.M: Cuadrado medio, F: estadístico F de Fisher, P: Probabilidad.

**Tabla A.9. Análisis de varianza del As para muestra de crudo enriquecido**

| Variable  | Efecto (µg/Kg) | SS    | %SS     | G.L. | C.M.  | F       | P     |
|-----------|----------------|-------|---------|------|-------|---------|-------|
| A         | 27,0           | 34957 | 51,9    | 1    | 34957 | 52,9    | <0,05 |
| B         | 17,1           | 14000 | 20,8    | 1    | 14000 | 21,2    | <0,05 |
| E         | -9,9           | 4662  | 6,9     | 1    | 4662  | 7,0     | <0,05 |
| ACD       | -8,6           | 3571  | 5,3     | 1    | 3571  | 5,4     | <0,05 |
| BD        | 7,7            | 2836  | 4,2     | 1    | 2836  | 4,3     | <0,05 |
| AF        | 7,3            | 2582  | 3,8     | 1    | 2582  | 3,9     | 0,056 |
| AB        | 6,7            | 2175  | 3,2     | 1    | 2175  | 3,3     | 0,078 |
| AD        | 5,2            | 1289  | 1,9     | 1    | 1289  | 1,9     | 0,171 |
| F         | 3,8            | 691   | 1,0     | 1    | 691   | 1,0     | 0,314 |
| ABD       | 2,2            | 239   | 0,4     | 1    | 239   | 0,4     | 0,551 |
| AE        | -1,9           | 168   | 0,3     | 1    | 168   | 0,3     | 0,617 |
| D         | 1,5            | 106   | 0,2     | 1    | 106   | 0,2     | 0,691 |
| BF        | -1,3           | 86    | 0,1     | 1    | 86    | 0,1     | 0,720 |
| AC        | -0,5           | 12    | 0,02    | 1    | 12    | 0,02    | 0,894 |
| C         | -0,02          | 0,03  | 0,00004 | 1    | 0,03  | 0,00004 | 0,995 |
| Curvatura |                | 3302  |         | 1    | 3302  | 5,0     | <0,05 |
| Error     |                | 23812 |         | 36   | 661   |         |       |
| Total     |                | 94488 |         | 52   | 1817  |         |       |

A: Concentración Triton X-100 (%), B: Concentración HNO<sub>3</sub> (%), C: Temperatura de rompimiento (°C), D: Tiempo de agitación (min), E: Relación Crudo:Xileno, F: Relación Crudo:Solución de extracción. SS: Suma de cuadrados, %SS: porcentaje de contribución de la suma de cuadrados, G.L: Grados de libertad, C.M: Cuadrado medio, F: estadístico F de Fisher, P: Probabilidad.

**Tabla A.10. Análisis de varianza del Ba para muestra de crudo enriquecido**

| Variable  | Efecto (µg/Kg) | SS      | %SS  | G.L. | C.M.   | F     | P     |
|-----------|----------------|---------|------|------|--------|-------|-------|
| C         | 95,4           | 437306  | 41,1 | 1    | 437306 | 136,6 | <0,05 |
| A         | 79,6           | 304415  | 28,6 | 1    | 304415 | 95,1  | <0,05 |
| AB        | -54,4          | 142140  | 13,3 | 1    | 142140 | 44,4  | <0,05 |
| AC        | 46,0           | 101619  | 9,5  | 1    | 101619 | 31,7  | <0,05 |
| B         | 20,0           | 19164   | 1,8  | 1    | 19164  | 6,0   | <0,05 |
| AF        | -18,5          | 16445   | 1,5  | 1    | 16445  | 5,1   | <0,05 |
| AD        | -16,1          | 12518   | 1,2  | 1    | 12518  | 3,9   | 0,056 |
| E         | -15,1          | 10983   | 1,0  | 1    | 10983  | 3,4   | 0,072 |
| F         | 13,2           | 8403    | 0,8  | 1    | 8403   | 2,6   | 0,114 |
| AE        | 9,2            | 4028    | 0,4  | 1    | 4028   | 1,3   | 0,269 |
| ACD       | 7,9            | 3003    | 0,3  | 1    | 3003   | 0,9   | 0,339 |
| D         | 7,3            | 2550    | 0,2  | 1    | 2550   | 0,8   | 0,378 |
| BF        | -5,6           | 1527    | 0,1  | 1    | 1527   | 0,5   | 0,494 |
| ABD       | -4,2           | 832     | 0,1  | 1    | 832    | 0,3   | 0,613 |
| BD        | -2,1           | 204     | 0,02 | 1    | 204    | 0,1   | 0,802 |
| Curvatura |                | 13707   |      | 1    | 13707  | 4,3   | <0,05 |
| Error     |                | 115254  |      | 36   | 3201   |       |       |
| Total     |                | 1194099 |      | 52   | 22963  |       |       |

A: Concentración Triton X-100 (%), B: Concentración HNO<sub>3</sub> (%), C: Temperatura de rompimiento (°C), D: Tiempo de agitación (min), E: Relación Crudo:Xileno, F: Relación Crudo:Solución de extracción. SS: Suma de cuadrados, %SS: porcentaje de contribución de la suma de cuadrados, G.L: Grados de libertad, C.M: Cuadrado medio, F: estadístico F de Fisher, P: Probabilidad.

**Tabla A.11 Análisis de varianza del Cd para muestra de crudo enriquecido**

| Variable  | Efecto (µg/Kg) | SS    | %SS   | G.L. | C.M.  | F     | P     |
|-----------|----------------|-------|-------|------|-------|-------|-------|
| A         | 26,4           | 33574 | 50,8  | 1    | 33574 | 260,3 | <0,05 |
| C         | 14,4           | 9886  | 15,0  | 1    | 9886  | 76,6  | <0,05 |
| AB        | -10,7          | 5458  | 8,3   | 1    | 5458  | 42,3  | <0,05 |
| E         | -9,3           | 4175  | 6,3   | 1    | 4175  | 32,4  | <0,05 |
| AC        | 8,6            | 3516  | 5,3   | 1    | 3516  | 27,3  | <0,05 |
| B         | 7,1            | 2444  | 3,7   | 1    | 2444  | 18,9  | <0,05 |
| F         | 6,3            | 1895  | 2,9   | 1    | 1895  | 14,7  | <0,05 |
| AF        | -5,8           | 1607  | 2,4   | 1    | 1607  | 12,5  | <0,05 |
| ACD       | 5,6            | 1500  | 2,3   | 1    | 1500  | 11,6  | <0,05 |
| BF        | -3,9           | 733   | 1,1   | 1    | 733   | 5,7   | <0,05 |
| AE        | 3,4            | 555   | 0,8   | 1    | 555   | 4,3   | <0,05 |
| BD        | 2,6            | 317   | 0,5   | 1    | 317   | 2,5   | 0,126 |
| ABD       | -2,5           | 300   | 0,5   | 1    | 300   | 2,3   | 0,136 |
| AD        | -1,6           | 129   | 0,2   | 1    | 129   | 1,0   | 0,324 |
| D         | 0,2            | 1     | 0,002 | 1    | 1     | 0,01  | 0,920 |
| Curvatura |                | 19    |       | 1    | 19    | 0,1   | 0,703 |
| Error     |                | 4643  |       | 36   | 129   |       |       |
| Total     |                | 70753 |       | 52   |       |       |       |

A: Concentración Triton X-100 (%), B: Concentración HNO<sub>3</sub> (%), C: Temperatura de rompimiento (°C), D: Tiempo de agitación (min), E: Relación Crudo:Xileno, F: Relación Crudo:Solución de extracción. SS: Suma de cuadrados, %SS: porcentaje de contribución de la suma de cuadrados, G.L: Grados de libertad, C.M: Cuadrado medio, F: estadístico F de Fisher, P: Probabilidad.

**Tabla A.12 Análisis de varianza del Co para muestra de crudo enriquecido**

| Variable  | Efecto (µg/Kg) | SS      | %SS  | G.L. | C.M.   | F      | P     |
|-----------|----------------|---------|------|------|--------|--------|-------|
| A         | 91,0           | 397800  | 29,0 | 1    | 397800 | 341,4  | <0,05 |
| F         | 70,1           | 235589  | 17,2 | 1    | 235589 | 202,2  | <0,05 |
| B         | 62,3           | 186382  | 13,6 | 1    | 186382 | 160,0  | <0,05 |
| AB        | -41,8          | 83680   | 6,1  | 1    | 83680  | 71,8   | <0,05 |
| AE        | 41,5           | 82700   | 6,0  | 1    | 82700  | 71,0   | <0,05 |
| AC        | 41,0           | 80497   | 5,9  | 1    | 80497  | 69,1   | <0,05 |
| ACD       | 35,7           | 61182   | 4,5  | 1    | 61182  | 52,5   | <0,05 |
| BD        | 33,2           | 52753   | 3,8  | 1    | 52753  | 45,3   | <0,05 |
| BF        | -30,7          | 45160   | 3,3  | 1    | 45160  | 38,8   | <0,05 |
| C         | 30,2           | 43679   | 3,2  | 1    | 43679  | 37,5   | <0,05 |
| AF        | -28,1          | 37878   | 2,8  | 1    | 37878  | 32,5   | <0,05 |
| E         | -24,7          | 29377   | 2,1  | 1    | 29377  | 25,2   | <0,05 |
| ABD       | -22,4          | 24166   | 1,8  | 1    | 24166  | 20,7   | <0,05 |
| AD        | 12,1           | 7054    | 0,5  | 1    | 7054   | 6,1    | <0,05 |
| D         | -8,2           | 3203    | 0,2  | 1    | 3203   | 2,7    | 0,106 |
| Curvatura |                | 0,3     |      | 1    | 0,3    | 0,0002 | 0,988 |
| Error     |                | 41949   |      | 36   | 1165   |        |       |
| Total     |                | 1413049 |      | 52   | 27174  |        |       |

A: Concentración Triton X-100 (%), B: Concentración HNO<sub>3</sub> (%), C: Temperatura de rompimiento (°C), D: Tiempo de agitación (min), E: Relación Crudo:Xileno, F: Relación Crudo:Solución de extracción. SS: Suma de cuadrados, %SS: porcentaje de contribución de la suma de cuadrados, G.L: Grados de libertad, C.M: Cuadrado medio, F: estadístico F de Fisher, P: Probabilidad.

**Tabla A.13. Análisis de varianza del Cr para muestra de crudo enriquecido**

| Variable  | Efecto (µg/Kg) | SS     | %SS  | G.L. | C.M.   | F     | P     |
|-----------|----------------|--------|------|------|--------|-------|-------|
| B         | 49,3           | 116868 | 31,7 | 1    | 116868 | 554,7 | <0,05 |
| A         | 49,2           | 116342 | 31,5 | 1    | 116342 | 552,2 | <0,05 |
| AC        | 28,6           | 39333  | 10,7 | 1    | 39333  | 186,7 | <0,05 |
| C         | 22,8           | 24926  | 6,8  | 1    | 24926  | 118,3 | <0,05 |
| E         | -22,2          | 23738  | 6,4  | 1    | 23738  | 112,7 | <0,05 |
| F         | 20,3           | 19780  | 5,4  | 1    | 19780  | 93,9  | <0,05 |
| BD        | 15,9           | 12203  | 3,3  | 1    | 12203  | 57,9  | <0,05 |
| AE        | 10,7           | 5452   | 1,5  | 1    | 5452   | 25,9  | <0,05 |
| AB        | -9,1           | 3936   | 1,1  | 1    | 3936   | 18,7  | <0,05 |
| AF        | -7,3           | 2561   | 0,7  | 1    | 2561   | 12,2  | <0,05 |
| ABD       | -6,5           | 2018   | 0,5  | 1    | 2018   | 9,6   | <0,05 |
| ACD       | 5,7            | 1579   | 0,4  | 1    | 1579   | 7,5   | <0,05 |
| BF        | -1,9           | 177    | 0,05 | 1    | 177    | 0,8   | 0,366 |
| D         | -1,0           | 48     | 0,01 | 1    | 48     | 0,2   | 0,635 |
| AD        | -0,9           | 40     | 0,01 | 1    | 40     | 0,2   | 0,666 |
| Curvatura |                | 3283   |      | 1    | 3283   | 15,6  | <0,05 |
| Error     |                | 7585   |      | 36   | 211    |       |       |
| Total     |                | 379868 |      | 52   | 7305   |       |       |

A: Concentración Triton X-100 (%), B: Concentración HNO<sub>3</sub> (%), C: Temperatura de rompimiento (°C), D: Tiempo de agitación (min), E: Relación Crudo:Xileno, F: Relación Crudo:Solución de extracción. SS: Suma de cuadrados, %SS: porcentaje de contribución de la suma de cuadrados, G.L.: Grados de libertad, C.M.: Cuadrado medio, F: estadístico F de Fisher, P: Probabilidad.

**Tabla A.14. Análisis de varianza de Mn para muestra de crudo enriquecido**

| Variable  | Efecto (µg/Kg) | SS     | %SS  | G.L. | C.M.  | F    | P     |
|-----------|----------------|--------|------|------|-------|------|-------|
| E         | -45,2          | 98086  | 16,3 | 1    | 98086 | 22,9 | <0,05 |
| AE        | 40,0           | 76627  | 12,8 | 1    | 76627 | 17,9 | <0,05 |
| AB        | -37,7          | 68363  | 11,4 | 1    | 68363 | 16,0 | <0,05 |
| A         | 37,6           | 67799  | 11,3 | 1    | 67799 | 15,9 | <0,05 |
| B         | 37,4           | 67043  | 11,2 | 1    | 67043 | 15,7 | <0,05 |
| ACD       | 31,1           | 46469  | 7,7  | 1    | 46469 | 10,9 | <0,05 |
| AF        | -29,3          | 41145  | 6,9  | 1    | 41145 | 9,6  | <0,05 |
| F         | 28,7           | 39502  | 6,6  | 1    | 39502 | 9,2  | <0,05 |
| BF        | -25,3          | 30755  | 5,1  | 1    | 30755 | 7,2  | <0,05 |
| AC        | 21,8           | 22769  | 3,8  | 1    | 22769 | 5,3  | <0,05 |
| C         | 20,8           | 20716  | 3,5  | 1    | 20716 | 4,8  | <0,05 |
| BD        | 12,7           | 7682   | 1,3  | 1    | 7682  | 1,8  | 0,189 |
| D         | -11,9          | 6747   | 1,1  | 1    | 6747  | 1,6  | 0,217 |
| ABD       | -11,2          | 6058   | 1,0  | 1    | 6058  | 1,4  | 0,242 |
| AD        | 3,0            | 426    | 0,1  | 1    | 426   | 0,1  | 0,754 |
| Curvatura |                | 96     |      | 1    | 96    | 0,0  | 0,882 |
| Error     |                | 153956 |      | 36   | 4277  |      |       |
| Total     |                | 754239 |      | 52   | 14505 |      |       |

A: Concentración Triton X-100 (%), B: Concentración HNO<sub>3</sub> (%), C: Temperatura de rompimiento (°C), D: Tiempo de agitación (min), E: Relación Crudo:Xileno, F: Relación Crudo:Solución de extracción. SS: Suma de cuadrados, %SS: porcentaje de contribución de la suma de cuadrados, G.L.: Grados de libertad, C.M.: Cuadrado medio, F: estadístico F de Fisher, P: Probabilidad.

**Tabla A.15. Análisis de varianza de Mo para muestra de crudo enriquecido**

| Variable  | Efecto (µg/Kg) | SS      | %SS  | G.L. | C.M.    | F      | P     |
|-----------|----------------|---------|------|------|---------|--------|-------|
| B         | 248,6          | 2965651 | 41,3 | 1    | 2965651 | 1217,3 | <0,05 |
| C         | 214,7          | 2212137 | 30,8 | 1    | 2212137 | 908,0  | <0,05 |
| E         | 99,4           | 473941  | 6,6  | 1    | 473941  | 194,5  | <0,05 |
| F         | 99,1           | 471568  | 6,6  | 1    | 471568  | 193,6  | <0,05 |
| AE        | 84,5           | 342551  | 4,8  | 1    | 342551  | 140,6  | <0,05 |
| AC        | 69,6           | 232296  | 3,2  | 1    | 232296  | 95,4   | <0,05 |
| AB        | -67,9          | 221036  | 3,1  | 1    | 221036  | 90,7   | <0,05 |
| BD        | 57,8           | 160637  | 2,2  | 1    | 160637  | 65,9   | <0,05 |
| D         | 27,0           | 34923   | 0,5  | 1    | 34923   | 14,3   | <0,05 |
| ABD       | -23,0          | 25418   | 0,4  | 1    | 25418   | 10,4   | <0,05 |
| A         | -21,5          | 22224   | 0,3  | 1    | 22224   | 9,1    | <0,05 |
| ACD       | -14,9          | 10648   | 0,1  | 1    | 10648   | 4,4    | <0,05 |
| AD        | -13,3          | 8491    | 0,1  | 1    | 8491    | 3,5    | 0,070 |
| AF        | 7,5            | 2681    | 0,04 | 1    | 2681    | 1,1    | 0,301 |
| BF        | -6,8           | 2230    | 0,03 | 1    | 2230    | 0,9    | 0,345 |
| Curvatura |                | 76541   |      | 1    | 76541   | 31,4   | <0,05 |
| Error     |                | 87704   |      | 36   | 2436    |        |       |
| Total     |                | 7350678 |      | 52   | 141359  |        |       |

A: Concentración Triton X-100 (%), B: Concentración HNO<sub>3</sub> (%), C: Temperatura de rompimiento (°C), D: Tiempo de agitación (min), E: Relación Crudo:Xileno, F: Relación Crudo:Solución de extracción. SS: Suma de cuadrados, %SS: porcentaje de contribución de la suma de cuadrados, G.L: Grados de libertad, C.M: Cuadrado medio, F: estadístico F de Fisher, P: Probabilidad.

**Tabla A.16. Análisis de varianza del Pb para muestra de crudo enriquecido**

| Variable  | Efecto (µg/Kg) | SS    | %SS   | G.L. | C.M. | F     | P     |
|-----------|----------------|-------|-------|------|------|-------|-------|
| A         | 9,0            | 3901  | 38,3  | 1    | 3901 | 27,3  | <0,05 |
| C         | 7,4            | 2609  | 25,6  | 1    | 2609 | 18,3  | <0,05 |
| AB        | -3,8           | 711   | 7,0   | 1    | 711  | 5,0   | <0,05 |
| AF        | -3,5           | 577   | 5,7   | 1    | 577  | 4,0   | 0,052 |
| F         | -3,4           | 562   | 5,5   | 1    | 562  | 3,9   | 0,055 |
| AE        | 3,2            | 483   | 4,7   | 1    | 483  | 3,4   | 0,074 |
| E         | -2,8           | 366   | 3,6   | 1    | 366  | 2,6   | 0,118 |
| AC        | 2,8            | 363   | 3,6   | 1    | 363  | 2,5   | 0,120 |
| AD        | 2,4            | 285   | 2,8   | 1    | 285  | 2,0   | 0,166 |
| D         | -1,7           | 143   | 1,4   | 1    | 143  | 1,0   | 0,324 |
| B         | 1,3            | 82    | 0,8   | 1    | 82   | 0,6   | 0,452 |
| BF        | -0,9           | 43    | 0,4   | 1    | 43   | 0,3   | 0,585 |
| ACD       | -0,8           | 33    | 0,3   | 1    | 33   | 0,2   | 0,633 |
| BD        | -0,6           | 19    | 0,2   | 1    | 19   | 0,1   | 0,716 |
| ABD       | -0,04          | 0,1   | 0,001 | 1    | 0,1  | 0,001 | 0,979 |
| Curvatura |                | 30    |       | 1    | 30   | 0,2   | 0,648 |
| Error     |                | 5140  |       | 36   | 143  |       |       |
| Total     |                | 15349 |       | 52   |      |       |       |

A: Concentración Triton X-100 (%), B: Concentración HNO<sub>3</sub> (%), C: Temperatura de rompimiento (°C), D: Tiempo de agitación (min), E: Relación Crudo:Xileno, F: Relación Crudo:Solución de extracción. SS: Suma de cuadrados, %SS: porcentaje de contribución de la suma de cuadrados, G.L: Grados de libertad, C.M: Cuadrado medio, F: estadístico F de Fisher, P: Probabilidad.



**Tabla A.17. Análisis de varianza del Zn para muestra de crudo enriquecido**

| Variable  | Efecto (µg/Kg) | SS     | %SS  | G.L. | C.M.   | F    | P     |
|-----------|----------------|--------|------|------|--------|------|-------|
| A         | 63,7           | 194893 | 38,6 | 1    | 194893 | 37,1 | <0,05 |
| B         | 40,4           | 78204  | 15,5 | 1    | 78204  | 14,9 | <0,05 |
| C         | 35,5           | 60578  | 12,0 | 1    | 60578  | 11,5 | <0,05 |
| AC        | 32,8           | 51631  | 10,2 | 1    | 51631  | 9,8  | <0,05 |
| ACD       | 25,5           | 31091  | 6,2  | 1    | 31091  | 5,9  | <0,05 |
| BD        | 20,4           | 19961  | 4,0  | 1    | 19961  | 3,8  | 0,059 |
| AD        | 19,3           | 17966  | 3,6  | 1    | 17966  | 3,4  | 0,073 |
| AE        | 16,5           | 13110  | 2,6  | 1    | 13110  | 2,5  | 0,123 |
| D         | 16,4           | 12886  | 2,6  | 1    | 12886  | 2,5  | 0,126 |
| BF        | 14,6           | 10182  | 2,0  | 1    | 10182  | 1,9  | 0,173 |
| F         | 12,5           | 7527   | 1,5  | 1    | 7527   | 1,4  | 0,239 |
| AB        | -8,3           | 3301   | 0,7  | 1    | 3301   | 0,6  | 0,433 |
| E         | -6,6           | 2092   | 0,4  | 1    | 2092   | 0,4  | 0,532 |
| ABD       | -4,4           | 937    | 0,2  | 1    | 937    | 0,2  | 0,675 |
| AF        | -1,9           | 165    | 0,03 | 1    | 165    | 0,0  | 0,860 |
| Curvatura |                | 391    |      | 1    | 391    | 0,1  | 0,787 |
| Error     |                | 189218 |      | 36   | 5256   |      |       |
| Total     |                | 694132 |      | 52   |        |      |       |

A: Concentración Triton X-100 (%), B: Concentración HNO<sub>3</sub> (%), C: Temperatura de rompimiento (°C), D: Tiempo de agitación (min), E: Relación Crudo:Xileno, F: Relación Crudo:Solución de extracción. SS: Suma de cuadrados, %SS: porcentaje de contribución de la suma de cuadrados, G.L: Grados de libertad, C.M: Cuadrado medio, F: estadístico F de Fisher, P: Probabilidad.

## Anexo B

Valores utilizados para los gráficos de residuales de concentración de soluciones patrón en función del porcentaje de triton X-100 y % HNO<sub>3(c)</sub>

**Tabla B.1. Análisis de patrones de 20 µg/Kg a diferentes concentraciones de Triton X-100 (Valores en µg/Kg)**

| % Triton |                 | As          | Ba         | Cd          | Co         | Cr*         | Cr**        | Mn         | Mo         | Pb         | Zn          |
|----------|-----------------|-------------|------------|-------------|------------|-------------|-------------|------------|------------|------------|-------------|
| 0,8      | Análisis        | 14,9        | 21,6       | 19,8        | 20,8       | 17,7        | 19,8        | 20,5       | 20,7       | 20,2       | 20,1        |
|          | Patrón          | 20,2        | 20,4       | 20,3        | 20,3       | 20,2        | 20,2        | 20,3       | 20,0       | 20,3       | 20,2        |
|          | <b>Residual</b> | <b>-5,3</b> | <b>1,3</b> | <b>-0,6</b> | <b>0,4</b> | <b>-2,5</b> | <b>-0,4</b> | <b>0,1</b> | <b>0,7</b> | <b>0,0</b> | <b>-0,1</b> |
| 1,7      | Análisis        | 17,2        | 22,3       | 20,4        | 20,9       | 18,7        | 19,9        | 20,6       | 21,1       | 20,4       | 19,7        |
|          | Patrón          | 20,3        | 20,4       | 20,4        | 20,4       | 20,3        | 20,3        | 20,4       | 20,1       | 20,3       | 20,3        |
|          | <b>Residual</b> | <b>-3,1</b> | <b>1,9</b> | <b>0,0</b>  | <b>0,5</b> | <b>-1,6</b> | <b>-0,4</b> | <b>0,2</b> | <b>1,0</b> | <b>0,1</b> | <b>-0,6</b> |
| 2,5      | Análisis        | 19,0        | 22,2       | 20,2        | 20,7       | 19,1        | 19,8        | 20,8       | 21,3       | 20,5       | 19,1        |
|          | Patrón          | 20,5        | 20,6       | 20,6        | 20,6       | 20,5        | 20,5        | 20,6       | 20,3       | 20,5       | 20,4        |
|          | <b>Residual</b> | <b>-1,4</b> | <b>1,6</b> | <b>-0,4</b> | <b>0,1</b> | <b>-1,4</b> | <b>-0,7</b> | <b>0,1</b> | <b>1,0</b> | <b>0,0</b> | <b>-1,3</b> |
| 3,3      | Análisis        | 21,3        | 21,8       | 20,9        | 20,8       | 20,4        | 20,3        | 21,6       | 21,3       | 21,0       | 20,6        |
|          | Patrón          | 20,5        | 20,7       | 20,7        | 20,6       | 20,5        | 20,5        | 20,7       | 20,3       | 20,6       | 20,5        |
|          | <b>Residual</b> | <b>0,8</b>  | <b>1,1</b> | <b>0,3</b>  | <b>0,2</b> | <b>-0,1</b> | <b>-0,3</b> | <b>0,9</b> | <b>0,9</b> | <b>0,4</b> | <b>0,1</b>  |
| 4,2      | Análisis        | 23,1        | 21,5       | 21,1        | 20,7       | 20,8        | 20,0        | 20,8       | 21,1       | 20,8       | 20,4        |
|          | Patrón          | 20,6        | 20,7       | 20,7        | 20,7       | 20,6        | 20,6        | 20,7       | 20,4       | 20,7       | 20,6        |
|          | <b>Residual</b> | <b>2,5</b>  | <b>0,8</b> | <b>0,3</b>  | <b>0,0</b> | <b>0,2</b>  | <b>-0,6</b> | <b>0,0</b> | <b>0,7</b> | <b>0,1</b> | <b>-0,1</b> |
| 5,0      | Análisis        | 24,6        | 22,1       | 21,2        | 20,7       | 21,5        | 19,8        | 21,1       | 21,2       | 21,2       | 21,3        |
|          | Patrón          | 20,5        | 20,6       | 20,6        | 20,6       | 20,5        | 20,5        | 20,6       | 20,3       | 20,5       | 20,4        |
|          | <b>Residual</b> | <b>4,1</b>  | <b>1,5</b> | <b>0,6</b>  | <b>0,1</b> | <b>1,0</b>  | <b>-0,7</b> | <b>0,5</b> | <b>0,9</b> | <b>0,7</b> | <b>0,9</b>  |

\*Utilizando el isótopo <sup>52</sup>Cr para la cuantificación. \*\*Utilizando el isótopo <sup>53</sup>Cr para la cuantificación.

Residual = análisis – Patrón.

**Tabla B.2. Análisis de patrones de 20 µg/Kg a diferentes concentraciones de HNO<sub>3(C)</sub> (Valores en µg/Kg)**

| <b>%v/v<br/>HNO<sub>3(C)</sub></b> |                 | <b>As</b>   | <b>Ba</b>  | <b>Cd</b>   | <b>Co</b>  | <b>Cr</b>   | <b>Mn</b>  | <b>Mo</b>  | <b>Pb</b>  | <b>Zn</b>   |
|------------------------------------|-----------------|-------------|------------|-------------|------------|-------------|------------|------------|------------|-------------|
| <b>1,7</b>                         | Análisis        | 20,6        | 23,2       | 21,5        | 21,7       | 20,5        | 21,7       | 21,3       | 21,3       | 20,1        |
|                                    | Patrón          | 21,1        | 21,2       | 21,2        | 21,2       | 21,1        | 21,2       | 20,9       | 21,2       | 21,1        |
|                                    | <b>Residual</b> | <b>-0,5</b> | <b>2,0</b> | <b>0,3</b>  | <b>0,5</b> | <b>-0,6</b> | <b>0,4</b> | <b>0,4</b> | <b>0,1</b> | <b>-0,9</b> |
| <b>3,3</b>                         | Análisis        | 19,1        | 21,8       | 20,7        | 20,9       | 19,7        | 21,1       | 20,7       | 20,6       | 19,0        |
|                                    | Patrón          | 20,3        | 20,5       | 20,5        | 20,5       | 20,4        | 20,5       | 20,2       | 20,4       | 20,3        |
|                                    | <b>Residual</b> | <b>-1,3</b> | <b>1,3</b> | <b>0,2</b>  | <b>0,4</b> | <b>-0,7</b> | <b>0,6</b> | <b>0,5</b> | <b>0,2</b> | <b>-1,3</b> |
| <b>5,0</b>                         | Análisis        | 19,1        | 21,9       | 20,4        | 20,8       | 20,0        | 20,9       | 21,0       | 20,7       | 19,4        |
|                                    | Patrón          | 20,5        | 20,7       | 20,7        | 20,7       | 20,6        | 20,7       | 20,4       | 20,6       | 20,5        |
|                                    | <b>Residual</b> | <b>-1,5</b> | <b>1,2</b> | <b>-0,2</b> | <b>0,2</b> | <b>-0,6</b> | <b>0,2</b> | <b>0,7</b> | <b>0,1</b> | <b>-1,1</b> |
| <b>6,7</b>                         | Análisis        | 18,4        | 21,6       | 20,2        | 20,5       | 19,5        | 20,3       | 20,6       | 20,6       | 19,3        |
|                                    | Patrón          | 20,1        | 20,2       | 20,2        | 20,2       | 20,1        | 20,2       | 19,9       | 20,2       | 20,1        |
|                                    | <b>Residual</b> | <b>-1,7</b> | <b>1,3</b> | <b>-0,1</b> | <b>0,2</b> | <b>-0,6</b> | <b>0,1</b> | <b>0,6</b> | <b>0,4</b> | <b>-0,8</b> |
| <b>8,3</b>                         | Análisis        | 18,5        | 22,0       | 20,3        | 20,8       | 19,8        | 21,0       | 20,9       | 20,6       | 18,7        |
|                                    | Patrón          | 20,3        | 20,4       | 20,4        | 20,4       | 20,3        | 20,4       | 20,1       | 20,4       | 20,3        |
|                                    | <b>Residual</b> | <b>-1,8</b> | <b>1,5</b> | <b>-0,1</b> | <b>0,4</b> | <b>-0,5</b> | <b>0,5</b> | <b>0,8</b> | <b>0,2</b> | <b>-1,6</b> |
| <b>10</b>                          | Análisis        | 18,4        | 21,7       | 20,0        | 20,3       | 20,1        | 20,4       | 20,3       | 20,4       | 19,7        |
|                                    | Patrón          | 20,1        | 20,3       | 20,2        | 20,2       | 20,1        | 20,3       | 19,9       | 20,2       | 20,1        |
|                                    | <b>Residual</b> | <b>-1,8</b> | <b>1,4</b> | <b>-0,2</b> | <b>0,1</b> | <b>0,0</b>  | <b>0,2</b> | <b>0,4</b> | <b>0,2</b> | <b>-0,4</b> |

Residual = análisis – Patrón.

## Anexo C

### Prueba de rangos con signos de Wilcoxon<sup>[46]</sup>

La prueba de rangos con signos de Wilcoxon es una prueba no paramétrica para el modelo de comparaciones pareadas, se utiliza como alternativa a la prueba T de Student de observaciones pareadas cuando la distribución subyacente no cumple con ser simétrica, unimodal y/o continua.

#### Método

- 1) Calcular las diferencias entre los  $n$  pares de observaciones.
- 2) Ordenar estas diferencias de menor a mayor sin considerar el signo.
- 3) Asignar a los rangos los signos originales de las diferencias.
- 4) Sumar los rangos positivos y negativos por separado. La suma que sea menor en valor absoluto,  $T_s$ , se compara con los valores de la tabla de valores críticos.
- 5) Si  $T_s$  es mayor que  $T_{crítico}$  al nivel de significancia establecido ( $\alpha$ ), se acepta la hipótesis nula de que no existen diferencias significativas.

Nota: como el nivel exacto de probabilidad deseado no puede obtenerse con valores críticos enteros de T, se dan los valores de probabilidad aproximados al nivel deseado.

## Ejemplo

Se utilizan los valores de la tabla 20 (comparación de los dos métodos) para el As. En la tabla C.1 se muestran los valores para la prueba de Wilcoxon.

**Tabla C.1. Prueba de Wilcoxon para la comparación de la determinación de As mediante formación y rompimiento de emulsiones Vs introducción directa de emulsiones**

| Muestra                                       | As ( $\mu\text{g/Kg}$ ) |     | Diferencia | Rango |
|---|-------------------------|-----|------------|-------|
|   | EFRE                    | IDE |            |       |
| a   | 82                      | 68  | 14         | 2     |
| b   | 116                     | 124 | -8         | -1    |
| d   | 107                     | 139 | -32        | -6    |
| e   | 149                     | 132 | 17         | 4     |
| f   | 90                      | 106 | -16        | -3    |
| g   | 155                     | 180 | -25        | -5    |
| <b>Suma de rangos positivos (Ts)</b>          |                         |     |            | 6     |
| <b>Suma absoluta de rangos negativos (Ts)</b> |                         |     |            | 15    |

Para  $n = 6$ , el valor crítico es  $T_{\text{crítico}} = 2$  con  $\alpha = 0,0469$ . Como  $T_s = 6$  es mayor que  $T_{\text{crítico}}$ , se concluye que no existen diferencias significativas entre ambos métodos.