



INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL
ESCUELA SUPERIOR DE INGENIERÍA MECÁNICA Y ELÉCTRICA
UNIDAD ZACATENCO



SECCIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN

**“Fluorescencia de Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos
(HAPs) en agua de mar”**

T E S I S

Que para obtener el grado de
MAESTRO EN CIENCIAS EN INGENIERÍA ELECTRÓNICA

Presenta
ING. SERGIO LOERA ARROYO

Directores de tesis
DR. SUREN STOLIK ISAKINA
DR. JUAN MANUEL LÓPEZ CARRETO

Ciudad de México, Noviembre del 2016

Resumen

Los sistemas ópticos comerciales utilizados para la detección de fugas o derrames de hidrocarburos en el océano son costosos y requieren un tiempo de hasta 30 minutos para analizar las muestras y cuantificar los resultados. Por otro lado, estos instrumentos son calibrados para detectar la emisión de fluorescencia de la muestra en condiciones de presión atmosférica y temperatura constante. Sin embargo, se requiere comprobar si la calibración es la adecuada al modificar las condiciones de presión y temperatura.

Para optimizar el costo y tiempo de cuantificación de la muestra se implementó un sistema óptico de medición compuesto por un diodo emisor de luz (LED) ultravioleta de 255 nm, una fuente de corriente regulada, un portamuestra con una cubeta de cuarzo y un espectrómetro. Se caracterizó el sistema con dos compuestos aromáticos presentes en hidrocarburos, Fenantreno y Antraceno disueltos en agua de mar artificial. Así mismo, se realizó un estudio para determinar el comportamiento de la fluorescencia variando las condiciones de temperatura en un intervalo de 4°C hasta 24 °C, a presión atmosférica y concentración constante y finalmente se diseñó un sistema presurizado con Argón en un intervalo de 6 psig hasta 24 psig para realizar pruebas de fluorescencia a temperatura ambiente y concentración constante.

Se diseñó, montó y caracterizó un sistema óptico capaz de detectar la emisión de fluorescencia del Fenantreno y Antraceno en el intervalo de 330-430 nm y 360-480 nm respectivamente, con un tiempo de un minuto por cada medición. Se observó que la intensidad de fluorescencia de ambos compuestos, Fenantreno y Antraceno, aumenta al disminuir la temperatura a presión y concentración constantes y se incrementa cuando aumenta la presión a temperatura ambiente y concentración constantes.

Abstract

Available commercial optical systems used for detecting hydrocarbons leaks or spills in the ocean are expensive and require up to 30 minutes to analyze the samples. Furthermore, these instruments are calibrated to detect the fluorescence emission of the sample at atmospheric pressure and constant temperature. However, this calibration has to be verified when the conditions of pressure and temperature are modified.

In order to optimize the cost and the time of sample quantification, an optical measurement system with an ultraviolet Light Emitting Diode (LED) of 255 nm, a regulated current source, a sample holder with a quartz cell and a spectrometer was built. Two aromatic compounds present in hydrocarbons, Phenanthrene and Anthracene, were dissolved on artificial seawater and were used to characterize the system. Furthermore, tests were performed to determine the behavior of the fluorescence by varying conditions of temperature in a range of 4 °C to 24 °C, at atmospheric pressure and constant concentration and finally an Argon pressurized system was designed in a range of 6 psig to 24 psig for fluorescence testing at constant temperature and concentration.

An optical system able to detect the fluorescence emission of Phenanthrene and Anthracene in a range of 330-430 nm and 360-480 nm respectively, with a time of one minute for each measurement was designed, built and characterized. It was observed that the fluorescence intensity of both compounds, Phenanthrene and Anthracene, increases with decreasing temperature at constant pressure and concentration. Also, the fluorescent signal increases with the pressure raise at atmospheric temperature and constant concentration.

Agradecimientos

Para poder realizar esta tesis fue necesario del apoyo de varias personas a las cuales quiero agradecer de todo corazón.

Agradezco a Dios por haberme permitido llegar hasta este punto y haberme dado salud para lograr mis objetivos.

Agradezco a la casa de estudios del Instituto Politécnico Nacional por la formación académica que me ha brindado durante dos años, como maestro en ciencias.

Agradezco al Instituto Mexicano del Petróleo por brindarme la oportunidad de continuar mis estudios de posgrado, en especial al Dr. Vinicio Suro Pérez y al Ing. Roberto Javier Ortega Ramírez, quienes confiaron en mí y me apoyaron para realizar mis estudios de maestría.

Agradezco al Dr. Miguel Angel Valenzuela Zapata que me permitió el ingreso al laboratorio de Catálisis y Materiales, facilitándome el equipo de su laboratorio, así como los compuestos utilizados para desarrollar los experimentos de este trabajo de tesis.

Muy especialmente al Dr. Suren Stolik Isakina y al Dr. Juan Manuel López Carreto, mis asesores, quienes fueron parte invaluable para el desarrollo de esta tesis. Gracias por sus conocimientos, y consejos que me dieron para realizar este trabajo

A mis coasesores el Dr. Jose Manuel de la Rosa Vázquez y la Dra. Alma Rosa Valor Reed por sus ideas, sugerencias, apoyo en la realización del trabajo y a quienes admiro por su dedicación y empeño en lograr sus proyectos.

A todo el personal académico, al personal de apoyo y a la comunidad estudiantil de la Maestría en Ciencias en Ingeniería Electrónica de la ESIME-Zacatenco. De manera particular me gustaría agradecer por todo el apoyo y enseñanzas al Dr. José Hiram Espina Hernández, al Dr. Francisco Javier Gallegos Funes, al Dr. Alberto Jorge Rosales Silva, al Dr. José Alberto Pérez Benítez y al Sr. Fernando Moctezuma

Agradezco a la Maestra Patricia Vázquez por el tiempo que me dedico, por sus sabios consejos y su apoyo para llevar a cabo los experimentos dentro del laboratorio de Catálisis y Materiales.

Agradezco a Alfredo, Josué, Samuel, Mauricio, Karen, Karina, Josué Daniel, mis mejores amigos, los cuales me apoyaron y alentaron durante estos dos años de trabajo.

Agradezco al grupo de trabajo del laboratorio de fotónica entre ellos a Eduardo Arista, Mario y Joel por su apoyo incondicional para el desarrollo de este trabajo de tesis y también a Elder, Isaac, Abraham, Adrián y José Luis.

Agradezco a mis padres Jovita y José por haberme apoyado durante todos mis estudios de hasta el nivel de licenciatura y por inculcarme el trabajo como principal herramienta en la vida y por alentarme día a día para continuar siempre en mis estudios.

Agradezco a mi abuelita Esperanza por sus oraciones y su amor que me brindó desde pequeño, aunque no está conmigo siempre la llevo dentro de mi corazón.

Este trabajo te lo dedico a ti Erica Salas Herrera, esposa mía, quien mejor que tú por enseñarme como luchar y pelear por lo que se desea, sin ti nunca hubiera llegado hasta estas instancias, gracias por toda tú paciencia, comprensión y amor que me has brindado todo el tiempo que hemos estado juntos. Gracias por educar a mis hijos el tiempo que no he estado con ellos. Gracias por respetar mis decisiones y apoyarme en los momentos más difíciles. No pude haber escogido mejor persona.

También dedico este trabajo a mis hijos Jessica, Sergio y Jonatan David, para demostrarles que se pueden realizar nuestras metas con esfuerzo y dedicación.

“Todas las cosas son posibles para el que cree”

Marcos 9:23

Índice General

| | |
|---|-------------|
| Acta de Revisión de Tesis | I |
| Resumen | III |
| Abstract | IV |
| Agradecimientos | V |
| Índice General | VII |
| Índice de Figuras | X |
| Índice de Tablas | XIII |
| Abreviaturas | XIV |
| Objetivo General | XVI |
| Objetivos Particulares | XVI |
| Alcance | XVII |
| Justificación | XVII |
| | |
| Capítulo 1 Introducción y estado del arte | 1 |
| 1.1 Introducción | 1 |
| 1.2 Definición de Hidrocarburos | 1 |
| 1.3 SELECCIÓN de compuestos HAPs en agua de mar..... | 3 |
| 1.4 Medición de fluorescencia de HAPs en diferentes crudos | 4 |
| 1.5 Métodos de medición de HAPs. | 6 |
| 1.6 Normas medioambientales para regulación de contaminación en agua | 10 |
| 1.7 Contaminantes petrogénicos en el Golfo de México..... | 11 |
| 1.8 Características del Golfo de México | 15 |
| 1.9 Teoría de la fluorescencia molecular..... | 17 |
| 1.10 Tiempo de vida y eficiencia cuántica | 21 |
| 1.11 Efectos de la geometría de la muestra | 23 |
| 1.12 Corrección del espectro de emisión | 24 |

| | | |
|---|--|-----------|
| 1.13 | Conclusiones | 25 |
| Capítulo 2 Materiales y equipos..... | | 26 |
| 2.1 | Introducción | 26 |
| 2.2 | HAPs utilizados | 26 |
| 2.3 | Sustituto de agua de océano..... | 27 |
| 2.4 | Preparación de las muestras..... | 28 |
| 2.5 | Equipo para estudio de fluorescencia variando la concentración a presión y temperatura ambiental..... | 30 |
| 2.6 | Diseño y montaje de fuente de corriente | 33 |
| 2.7 | Caracterización de potencia óptica del LED de 255 nm | 39 |
| 2.8 | Equipo para estudio de fluorescencia variando la temperatura a presión ambiental y concentración constante | 41 |
| 2.9 | Equipo para estudio de fluorescencia variando la presión a temperatura ambiental y concentración constante | 42 |
| 2.10 | Conclusiones | 44 |
| Capítulo 3 Medición de Fluorescencia del Fenantreno y el Antraceno en agua de mar artificial con diferentes concentraciones a presión y temperatura ambiente | | 46 |
| 3.1 | Introducción | 46 |
| 3.2 | Medición de fluorescencia en agua bidestilada | 46 |
| 3.3 | Valor máximo de fluorescencia del Fenantreno y el Antraceno | 47 |
| 3.4 | Medición de fluorescencia del Fenantrano y el Antraceno en agua de mar artificial con diferentes concentraciones a presión y temperatura ambiente..... | 48 |
| 3.5 | Ajuste lineal de resultados | 52 |
| 3.6 | Análisis de picos de fluorescencia..... | 54 |
| 3.7 | Curvas de calibración de Fenantreno..... | 54 |
| 3.8 | Curvas de calibración de Antraceno..... | 57 |

| | | |
|--|---|-----------|
| 3.9 | Medición de fluorescencia del Fenantreno y de Antraceno con espectrofluorómetro Shimadzu | 60 |
| 3.10 | Conclusiones | 62 |
| Capítulo 4 Medición de fluorescencia del Fenantreno y Antraceno en agua de mar artificial con diferentes temperaturas a presión y concentración constantes | | 63 |
| 4.1 | Introducción | 63 |
| 4.2 | Medición de fluorescencia del Fenantreno y Antraceno en agua de mar artificial con diferentes temperaturas a presión ambiental y concentración constante..... | 63 |
| 4.3 | Conclusiones | 70 |
| Capítulo 5 Medición de fluorescencia del Fenantreno y Antraceno en agua de mar artificial con diferentes presiones a temperatura ambiente y concentración constante | | 72 |
| 5.1 | Introducción | 72 |
| 5.2 | Pruebas iniciales | 72 |
| 5.3 | Medición de fluorescencia del Fenantreno y de Antraceno en agua de mar con diferentes presiones a temperatura ambiente y concentración constante | 73 |
| 5.4 | Conclusiones | 79 |
| Conclusiones Generales | | 81 |
| Recomendaciones para el trabajo a futuro | | 83 |
| Apéndices | | 84 |
| A. | Diagrama de la fuente de corriente con lectura de potencia | 84 |
| B. | Programación del PIC 16F876A | 85 |
| C. | Hoja de especificaciones del espectrofluorómetro Shimadzu | 88 |
| Referencias | | 89 |

Índice de Figuras

| | Página |
|---|--------|
| Figura 1-1 Clasificación de Hidrocarburos | 1 |
| Figura 1-2 Porcentaje de HAPs en crudos | 5 |
| Figura 1-3 Espectros de fluorescencia de petróleos crudos producidos en México [16]..... | 6 |
| Figura 1-4 Sistema de medición por Cromatografía | 7 |
| Figura 1-5 Sistema de medición de esparcimiento Raman | 8 |
| Figura 1-6 Polígono occidental del Golfo de México | 16 |
| Figura 1-7 Diagrama de niveles de energía | 18 |
| Figura 1-8 Diagrama de Jablonski simplificado | 22 |
| Figura 1-9 Varios arreglos geométricos para la observación de fluorescencia | 23 |
| Figura 2-1 Estructura molecular de Antraceno y Fenantreno | 27 |
| Figura 2-2 Alcohol metílico para realizar la solución madre | 29 |
| Figura 2-3 Fluorescencia de Metanol, Fenantreno y Antraceno | 30 |
| Figura 2-4 Sistema óptico para la medición de fluorescencia en laboratorio | 31 |
| Figura 2-5 Voltaje de control de la fuente de corriente | 35 |
| Figura 2-6 Medición de corriente durante un minuto | 37 |
| Figura 2-7 Medición de corriente durante veinte minutos | 38 |
| Figura 2-8 Simulación 3D de la placa del circuito impreso de la fuente de corriente | 38 |
| Figura 2-9 Montaje de la fuente de corriente | 39 |
| Figura 2-10 Vista frontal del medidor | 40 |
| Figura 2-11 Corriente vs Potencia óptica del LED de 255 nm | 40 |
| Figura 2-12 Sistema de regulación de temperatura y agitación magnética | 42 |
| Figura 2-13 Sistema presurizado para estudio de fluorescencia | 43 |
| Figura 2-14 Diseño y montaje final de la fibra óptica | 44 |

| | |
|---|----|
| Figura 2-15 Diseño y montaje del portaventana de cuarzo | 44 |
| Figura 3-1 Emisión de fluorescencia del Fenantreno y el Antraceno..... | 46 |
| Figura 3-2 Valor máximo de fluorescencia del Fenantreno y del Antraceno a diferentes concentraciones..... | 47 |
| Figura 3-3 Hoja de cálculo para disoluciones en agua de mar artificial | 50 |
| Figura 3-4 Fluorescencia de Fenantreno en agua de mar artificial..... | 51 |
| Figura 3-5 Fluorescencia de Antraceno en agua de mar artificial..... | 52 |
| Figura 3-6 Hoja de cálculo de ajuste lineal..... | 53 |
| Figura 3-7 Cálculo de coeficientes de la ecuación lineal del Fenantreno | 53 |
| Figura 3-8 Concentración vs Amplitudes Pico 1-4 de Fenantreno..... | 55 |
| Figura 3-9 Concentración vs Área bajo la curva de Fenantreno..... | 55 |
| Figura 3-10 Gráfico de ecuaciones de Fenantreno | 57 |
| Figura 3-11 Concentración vs Amplitud Picos 1, 2, 3 y 4 de Antraceno | 58 |
| Figura 3-12 Concentración vs Área bajo la curva de Antraceno..... | 58 |
| Figura 3-13 Gráfico de ecuaciones de Antraceno | 60 |
| Figura 3-14 Espectro de Fenantreno con espectrofluorómetro Shimadzu..... | 61 |
| Figura 3-15 Espectro de Antraceno con espectrofluorómetro Shimadzu..... | 62 |
| Figura 4-1 Fluorescencia del Fenantreno en función de la temperatura..... | 64 |
| Figura 4-2 Temperatura vs Intensidades Pico 1, 2, 3 y 4 de Fenantreno | 64 |
| Figura 4-3 Temperatura vs Área bajo la curva de Fenantreno | 65 |
| Figura 4-4 Gráfica de las ecuaciones del Fenantreno en función de la temperatura | 67 |
| Figura 4-5 Fluorescencia del Antraceno en función de la temperatura..... | 68 |
| Figura 4-6 Fluorescencia del Antraceno Picos 1, 2, 3 y 4 en función de la temperatura... | 68 |
| Figura 4-7 Área bajo la curva de Antraceno en función de la temperatura | 69 |
| Figura 4-8 Gráfica de las ecuaciones del Antraceno en función de la temperatura | 70 |
| Figura 5-1 Pruebas de hermeticidad del contenedor..... | 72 |

| | |
|--|----|
| Figura 5-2 Medición de fluorescencia de fibra óptica | 73 |
| Figura 5-3 Fluorescencia de Fenantreno a diferentes presiones..... | 74 |
| Figura 5-4 Fluorescencia del Fenantreno Picos 1, 2, 3 y 4 en función de la presión | 74 |
| Figura 5-5 Área bajo la curva de Fenantreno en función de la presión | 75 |
| Figura 5-6 Gráfica de las ecuaciones del Fenantreno en función de la presión..... | 76 |
| Figura 5-7 Fluorescencia de Antraceno a diferentes presiones..... | 77 |
| Figura 5-8 Fluorescencia del Antraceno Picos 1,2,3 y 4 en función de la presión | 77 |
| Figura 5-9 Área bajo la curva de Antraceno..... | 78 |
| Figura 5-10 Gráfica de las ecuaciones del Antraceno en función de la presión..... | 79 |

Índice de Tablas.

| | Página |
|--|--------|
| Tabla 1-1 Compuestos HAPs más peligrosos..... | 3 |
| Tabla 1-2 Clasificación de crudo de México..... | 5 |
| Tabla 1-3 Instrumentos ópticos de fluorescencia para la medición de HAPs en agua..... | 9 |
| Tabla 1-4 Normas nacionales para determinar la contaminación del agua | 10 |
| Tabla 1-5 Mayores derrames de hidrocarburos..... | 14 |
| Tabla 2-1 Propiedad fisicoquímica de los HAPs..... | 26 |
| Tabla 2-2 Sales minerales de sustituto de agua de océano | 28 |
| Tabla 2-3 Códigos programados en el microcontrolador | 36 |
| Tabla 3-1 Coeficientes del ajuste lineal de Fenantreno..... | 56 |
| Tabla 3-2 Ecuaciones de curvas de calibración de Fenantreno | 56 |
| Tabla 3-3 Coeficientes del ajuste lineal de Antraceno..... | 59 |
| Tabla 3-4 Ecuaciones de curvas de calibración de Antraceno | 59 |
| Tabla 4-1 Coeficientes del ajuste lineal de Fenantreno en función de la temperatura..... | 65 |
| Tabla 4-2 Ecuaciones de Fenantreno en función de la temperatura | 66 |
| Tabla 4-3 Coeficientes del ajuste de Antraceno en función de la temperatura | 69 |
| Tabla 4-4 Ecuaciones de Antraceno en función de la temperatura | 69 |
| Tabla 5-1 Ajuste de resultados de Fenantreno..... | 75 |
| Tabla 5-2 Coeficientes del ajuste no lineal de Fenantreno..... | 75 |
| Tabla 5-3 Ajuste de resultados de Antraceno | 78 |
| Tabla 5-4 Ecuaciones del ajuste lineal de Antraceno..... | 78 |

Abreviaturas

| | |
|------------------|--|
| ADC | <i>“Analog to Digital Converter”</i> (Convertidor Analógico Digital) |
| CARIPOL | <i>“Marine Pollution Monitoring Program in the Caribbean”</i> (Programa de Monitoreo de Contaminación Marina en el Caribe) |
| CAS | <i>“Chemical Abstracts Service”</i> (Servicio de Compendios Químicos) |
| CCD | <i>“Charge Coupled Device”</i> (Dispositivo de Acoplamiento de Carga) |
| CONACYT | Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología |
| CPU | <i>“Central Processing Unit”</i> (Unidad de Procesamiento Central) |
| EPA | <i>“Environmental Pollution Agency”</i> (Agencia de Protección Ambiental de Estados Unidos) |
| FDA | <i>“Food and Drug Administration”</i> (Administración de Alimentos y Medicamentos) |
| HAPs | Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos |
| I ² C | <i>“Inter-Integrated Circuit Protocol”</i> (Protocolo de Integración de Circuitos Internos) |
| k_{nr} | Valor de decaimiento no radiativo |
| LabVIEW | <i>“Laboratory Virtual Instrument Engineering Workbench”</i> (Banco de Trabajo de Ingeniería de Instrumentos Virtuales de Laboratorio) |
| Laptop | Computadora Portátil |
| LCD | <i>“Liquid Cristal Display”</i> (Pantalla de Cristal Líquido) |
| LED | <i>“Light Emitting Diode”</i> (Diodo Emisor de Luz) |
| mA | Mili Amperes |
| MISPEC | <i>“Multiparametric In-Situ Spectroscopic Measuring Platform for Coastal Monitoring”</i> (Plataforma de Medición Espectroscópica de Múltiples Parámetros en Sitio para el Monitoreo de Costas) |
| ms | Mili Segundos |
| mW | Mili Watt |

| | |
|-----------|--|
| nm | Nanómetro |
| ppm | Partes por Millón |
| RGC | Región del Gran Caribe |
| SEMARNAT | Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales |
| SERS | <i>“Surface Enhanced Raman Scattering”</i> (Esparcimiento Raman con Mejoramiento de Superficie) |
| SMA | <i>“Sub Miniature versión A”</i> (Versión Sub Miniatura A) |
| SPI | <i>“Serial Peripheral Interface”</i> (Interface Periférica Serial) |
| TEC | <i>“Termo Electric Cooler”</i> (Enfriador Termo eléctrico) |
| UNESCO | <i>“United Nations Educational Scientific and Cultural Organization”</i> (Organización Cultural, Científica y Educacional de las Naciones Unidas) |
| USB | <i>“Universal Serial Bus”</i> (Bus Serial Universal) |
| UV | Ultra Violeta |
| Γ | Valor de decaimiento radiativo |
| λ | Longitud de onda |

Objetivo General

Desarrollar y caracterizar un sistema óptico de medición de fluorescencia para la detección de Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos (HAPs) en agua de mar artificial que permita desarrollar a futuro proyectos relacionados con el monitoreo de la contaminación durante la extracción del crudo en aguas profundas.

Objetivos Particulares

1. Diseñar e implementar un sistema óptico para la detección de hidrocarburos en agua de mar artificial.
2. Utilizar compuestos aromáticos característicos del crudo para realizar pruebas de fluorescencia con agua de mar artificial.
3. Implementar el sistema óptico de medición para verificar si es posible optimizar el costo y el tiempo de análisis de la muestra utilizando un LED UV en lugar de una lámpara de Xenón.
4. Realizar el diseño y montaje de la fuente de corriente regulada por voltaje para suministrar energía eléctrica al LED UV.
5. Identificar los límites de detección del sistema óptico de medición y verificar si cumple con lo establecido en la normatividad.
6. Determinar el comportamiento de la fluorescencia de los HAPs en agua de mar artificial en un intervalo de concentración de 1 a 13 $\mu\text{g/L}$, a presión y temperatura ambiente.
7. Determinar el comportamiento de la fluorescencia de los HAPs en agua de mar artificial en un intervalo de temperatura de 4 a 24 $^{\circ}\text{C}$, a presión ambiental y concentración constantes.
8. Determinar el comportamiento de la fluorescencia de los HAPs en agua de mar artificial en un intervalo de presión de 6 a 24 psig a temperatura ambiente y concentración constantes.

Alcance

Este trabajo consiste en la elaboración de estudios de fluorescencia de hidrocarburos aromáticos policíclicos disueltos en agua de mar artificial. Para desarrollar dichos estudios se utilizan diferentes condiciones de concentración, presión y temperatura, en cada experimento se modifica el valor de una condición y se mantienen fijas las otras dos condiciones. El sistema desarrollado es el primer paso para desarrollar en un futuro un sistema que permita la detección de fugas o derrames de hidrocarburos en el océano en aguas con profundidad de 1400 m.

Justificación

Los sistemas ópticos comerciales utilizados para la detección de fugas o derrames de hidrocarburos son costosos y utilizan lámparas de Xenón, con promedio de vida útil de 2000 horas, estos sistemas requieren un tiempo de pre calentamiento de 30 minutos para realizar la medición de la concentración de la muestra. Por otro lado, estos sistemas generalmente son calibrados en condiciones de operación de presión y temperatura ambiente y no consideran la posible modificación de presión y temperatura de la muestra. Los sistemas basados en la detección de luz son sistemas no invasivos que no alteran las propiedades de la muestra y pueden ser utilizados para realizar mediciones in situ, lo cual reduce el tiempo de medición en comparación con el tiempo que tardan los laboratorios (30 horas) derivados de los procedimientos de manejo y extracción de la muestra.

En los siguientes párrafos se describe la importancia de la medición de contaminación de HAPs derivados de fuentes petrogénicas y se incluye la propuesta de este trabajo para llevar a cabo los estudios de fluorescencia mediante la implementación de un sistema óptico con un LED UV, utilizado para reducir el tiempo de detección de la concentración de la muestra y contribuir a la detección oportuna de dichos contaminantes.

Riesgos a la salud humana

Se han realizado estudios que demuestran que los HAPs son riesgosos para la salud del hombre al estar en contacto con la piel o al ser ingeridos en alimentos o agua contaminada, ya que producen mutaciones cancerígenas a nivel celular [1].

Impacto ambiental

Debido a que la reforma energética en México aprobada en Diciembre de 2013, promueve la práctica de exploraciones y perforaciones de petróleo costa afuera en Veracruz, Campeche y Yucatán, así como el aumento de la producción de petróleo y del tráfico de buques para su movilización. Es necesario que los estados costeros mexicanos del Golfo de México tengan eficientes sistemas para la detección de fugas y planes de contingencia ambiental para prevenir accidentes, también se debe desarrollar infraestructura humana y tecnológica que permita detectar correctamente la concentración de contaminantes HAPs que posibilite el estudio del impacto y los efectos de posibles derrames petroleros [2].

Detección de HAPs en otros países

En Estados Unidos se ha realizado la fundación del proyecto “*Multiparametric In-Situ Spectroscopic Measuring Platform for Coastal Monitoring*” (MISPEC) para el monitoreo de su ecosistema marino, el cual incluye una plataforma de medición de múltiples parámetros espectroscópicos *in situ*, monitoreado desde la costa con sensores ópticos. En Europa, tanto en el mar mediterráneo, como en las costas de Inglaterra se realizan constantes mediciones para el monitoreo de la concentración de HAPs en agua de mar por medio de la realización de análisis cromatográfico en laboratorio [3].

Situación actual en México

El Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) ha lanzado una convocatoria para realizar una inversión mayor a mil quinientos millones de pesos, para la creación de un sistema de observaciones y modelos numéricos, capaz de generar escenarios y evaluar consecuencias de posibles derrames de hidrocarburos en el Golfo de México [4].

Entre los objetivos del proyecto del CONACYT se encuentra la generación de tecnología para monitorear de manera continua el ecosistema del Golfo de México y algunas técnicas que permitan la medición en tiempo real, de modo que se puedan utilizar en el caso de un derrame y que junto con modelos numéricos permitan estimar su dispersión y posibles consecuencias.

El proyecto del CONACYT, tendrá una duración de cinco años y prevé el desarrollo de plataformas de observación oceanográfica, modelos de simulación y escenarios de la

capacidad natural de respuesta ante derrames de petróleo a gran escala en el Golfo de México [4].

El CONACYT incluye cinco líneas de acción basadas en: plataformas de observación oceanográfica, diseño de bases para el monitoreo ambiental, creación de modelos predictivos, estudios para la degradación natural de hidrocarburos y análisis de derrames.

Propuesta del sistema óptico de medición

Se propone realizar la implementación de un sistema óptico de relativamente bajo costo, con un LED UV de bajo consumo eléctrico, con un tiempo de vida superior al de las lámparas de Xenón, el cual no requiere pre calentamiento y por lo tanto reduce el tiempo de medición de la concentración de la muestra hasta un minuto. También se propone realizar diferentes estudios de temperatura y presión para determinar el comportamiento de la fluorescencia de la muestra y verificar que el sistema óptico es adecuado para la detección oportuna de fugas y derrames de hidrocarburos. Adicionalmente el sistema óptico diseñado deberá ser capaz de detectar concentraciones de Hidrocarburos, establecidas en las regulaciones ambientales y contribuir en el desarrollo e implementación de sistemas de monitoreo ambiental de las costas del Golfo de México.

Capítulo 1 Introducción y estado del arte

1.1 Introducción

En este capítulo se dan a conocer las principales características de los HAPs, se realiza una breve descripción de los métodos más importantes para la medición de HAPs en agua de mar, se incluyen las condiciones de operación requeridas para la detección de fugas y derrames de hidrocarburos en el Golfo de México y finalmente se describe el principio de fluorescencia molecular del sistema óptico de medición.

1.2 Definición de Hidrocarburos

Los hidrocarburos son compuestos químicos formados por moléculas de hidrógeno y carbono. De acuerdo a la naturaleza de su enlace, estos se clasifican en aromáticos y alifáticos, ver Figura 1-1.

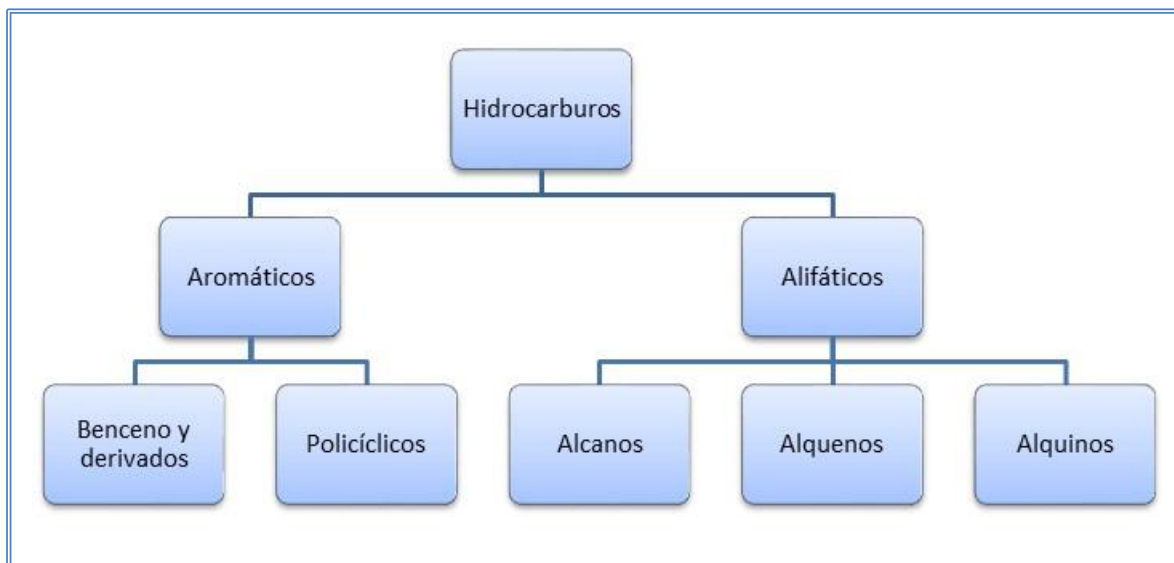


Figura 1-1 Clasificación de Hidrocarburos

Hidrocarburos aromáticos

Los hidrocarburos aromáticos están formados por anillos de carbono en forma de hexágono y átomos de hidrógeno unidos a cada vértice del anillo. El benceno es el compuesto más simple formado solamente por un anillo, le sigue el naftaleno formado por dos anillos y finalmente están los HAPs formados por más de dos anillos.

Las principales fuentes de hidrocarburos aromáticos derivados del benceno son la destilación de la hulla y una serie de procesos petroquímicos, en particular la destilación catalítica, la destilación del petróleo crudo y la alquilación de hidrocarburos aromáticos de las series más bajas [5, 6].

Hidrocarburos Alifáticos

Los hidrocarburos alifáticos son aquellos compuestos cuyos enlaces moleculares del carbono forman cadenas abiertas. Estos enlaces pueden ser simples (alcanos), dobles (alquenos) y triples (alquinos).

Los hidrocarburos alifáticos son ampliamente utilizados como disolventes, ya que pueden disolver sustancias aceitosas como grasas, resinas, caucho, entre otras. Esta propiedad los hace muy útiles en la industria para la obtención de sustancias como pinturas, pegamentos, entre otros, así como también son de gran utilidad en la síntesis en química orgánica, donde son a menudo utilizados como materia prima [5, 6].

Hidrocarburos aromáticos policíclicos

Los HAPs son compuestos químicos que frecuentemente se encuentran en grupos de dos o más compuestos. Se encuentran en forma natural en el medio ambiente pero también pueden ser producidos por el hombre. En su forma más simple los HAPs son sólidos con intervalo de apariencia incolora a blanco o amarillo pálido a verde.

Los HAPs son de particular interés debido a que son muy persistentes porque no se pueden quemar fácilmente y pueden permanecer en el ambiente por largos periodos de tiempo. Individualmente los HAPs cambian de comportamiento, algunos cambian de estado en el aire transformándose en vapor muy fácilmente y la mayoría de ellos no se disuelven fácilmente en el agua.

Los compuestos HAPs son utilizados en la creación de pinturas para la industria automotriz y también se utilizan para la producción de tintes, plásticos, pesticidas, cigarrillos y algunos incluso son usados en medicinas.

La exposición a los HAPs puede ser a través del contacto de la piel con suelo contaminado por HAPs o productos como aceites pesados, alquitrán de carbón, techos de alquitrán o

creosota el cual es un líquido que se encuentra en el alquitrán de carbón y se usa para preservar la madera [5, 6].

Un número determinado de compuestos de HAPs han causado tumores en animales de laboratorio donde han sido expuestos a HAPs a través de comida, aire contaminado y por el contacto directo en su piel. Otros efectos incluyen daños en la piel, en los fluidos del cuerpo y en el sistema inmunológico, sin embargo, estos efectos no han sido vistos en seres humanos. Los estudios en animales han mostrado que la exposición de ratones a 308 ppm de HAPs específicamente benzo(a)pireno en comida durante 10 días, ha causado defectos de nacimiento en sus crías mientras que una exposición a 923 ppm de benzo(a)pireno en alimento del ratón ha causado problemas en su hígado y en su sangre [5].

Existen alrededor de 100 diferentes combinaciones de HAPs, sin embargo los compuestos HAPs que son más peligrosos están definidos por la “*Environmental Pollution Agency*” (EPA) y se enlistan en la Tabla 1-1, incluyendo el número de identificación asignado por la “*Chemical Abstracts Service*” (CAS) [6].

Tabla 1-1 Compuestos HAPs más peligrosos

| No. | Compuesto | No. CAS |
|-----|----------------------|----------|
| 1 | Acenafteno | 83-32-9 |
| 2 | Acenaftileno | 208-96-8 |
| 3 | Antraceno | 120-12-7 |
| 4 | Benzo(g,h,i)perileno | 191-24-2 |
| 5 | Fluoreno | 86-73-7 |
| 6 | Fenantreno | 85-01-8 |
| 7 | Pireno | 129-00-0 |

1.3 SELECCIÓN de compuestos HAPs en agua de mar

Para determinar los compuestos químicos utilizados se realizó una investigación del estado del arte en donde se revisaron los principales compuestos aromáticos utilizados para la medición de contaminantes en agua de mar. Holth determinó que existen diferentes contenidos de aromáticos en función de la procedencia del crudo, entre los compuestos utilizados destacan el Fenantreno, Antraceno, Acenafteno, Fluoreno, Fluoranteno, Pyreno, Benzo(a)Antraceno, Criseno y Trifenileno [7], Selli realizó experimentos con Acenafteno, Benzo(k)Fluoranteno, Benzo(g,h,i)Perileno, Fluoranteno, Fluoreno, Naftaleno, Fenantreno

y Pireno disueltos con pequeños volúmenes de Acetonitrilo y agua bidestilada [8], Schwarz realizó la medición de espectros de fluorescencia de cinco HAPs representativos el Benceno, Naftaleno, Antraceno, Pyreno, Fluoranteno y Benzo[e]Pyreno disueltos en Etanol y agua bidestilada [9], Schmidt realizó la detección de HAPs en agua de mar utilizando Antraceno, Benzo(a)Antraceno, Fluoranteno, Fenantreno y Pyreno previamente disueltos en Metanol y en agua de mar artificial [10], Giamarchi realizó estudios para determinar múltiples componentes de HAPs en agua, los componentes utilizados fueron Naftaleno, Fluoreno, Fenantreno, Fluoranteno, y Benzo(a)Pyreno disueltos en una solución madre de Acetonitrilo y después en soluciones hijas de agua [11], finalmente Tedetti realizó un fluorómetro sumergible para la detección de HAPs en agua de mar, los compuestos detectados fueron Fenantreno, Naftaleno, Fluoreno y Pireno disueltos en Metanol y en agua de mar recolectada a 5 m de profundidad [12, 13].

Durante la investigación de los HAPs se pudo observar que estos compuestos no son fáciles de adquirir y en algunos casos el suministro está restringido solamente para fines de uso militar en Estados Unidos. Por otra parte, los medidores ópticos comerciales utilizan comúnmente para la medición de HAPs compuestos tales como el Fenantreno y Antraceno debido a que tienen mayor eficiencia cuántica de fluorescencia (aproximadamente 0.2 para Antraceno y 0.1 para Fenantreno) [14], la eficiencia cuántica se define como la cantidad de fotones emitidos entre el número de fotones incidentes.

Los HAPs tienen estructuras moleculares en forma de anillo, el número de anillos determina si el compuesto es ligero o pesado, a menor número de anillos el compuesto es ligero y soluble en agua, mientras que en el caso contrario el compuesto es pesado e insoluble en agua. Para llevar a cabo los estudios de fluorescencia para la detección de hidrocarburos en agua de mar se pretende utilizar compuestos ligeros con mayor solubilidad en agua.

1.4 Medición de fluorescencia de HAPs en diferentes crudos

El contenido de HAPs en diferentes crudos se indica en la gráfica de la Figura 1-2 en donde se puede apreciar el crudo ligero de Arabia con un 38% de contenido de HAPs, seguido del crudo del norte con un 15% y finalmente el diésel con un 10% aproximadamente. El contenido de aromáticos en el crudo de México está reportado con un 20-30% [15].

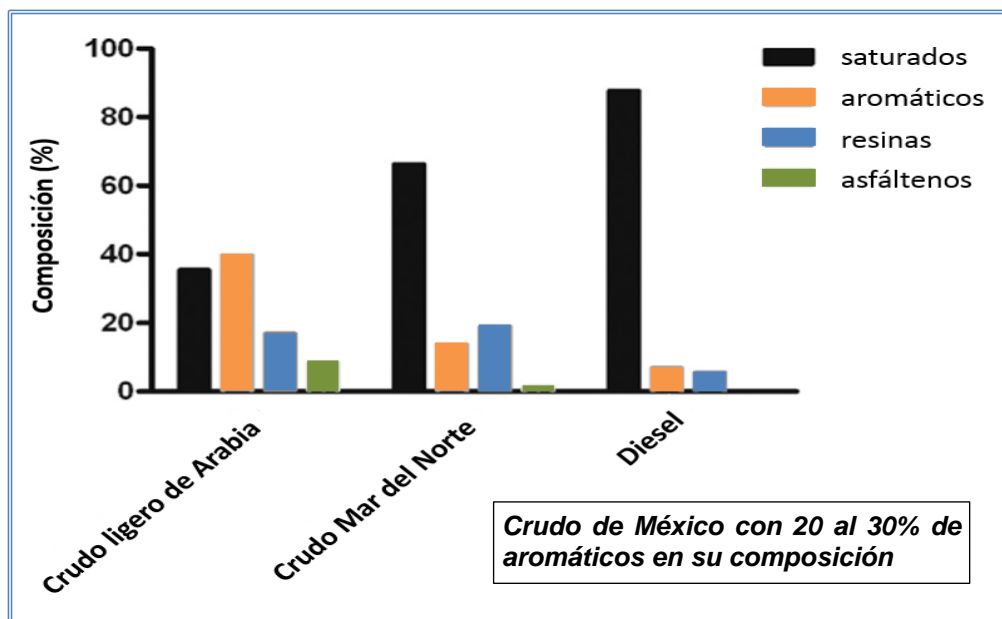


Figura 1-2 Porcentaje de HAPs en crudos

En un trabajo previo desarrollado en el 2014 en la ESIME Zacatenco [16], se obtuvieron los espectros de fluorescencia de cuatro tipos de crudo que se producen en México (Maya, Istmo, Olmeca y Altamirano). La Figura 1-3 muestra los resultados obtenidos al excitar las muestras con el LED UV de 255 nm. La Tabla 1-2 indica la clasificación del crudo de acuerdo a su densidad en grados API “American Petroleum Institute”, excepto el crudo Altamirano [17].

Tabla 1-2 Clasificación de crudo de México

| Aceite crudo | Densidad (g/cm ³) | Densidad grados API | Tipo crudo / (Grados API) |
|--------------|-------------------------------|---------------------|---------------------------|
| Extrapesado | >1.0 | 10.0 | |
| Pesado | 1.0 - 0.92 | 10.0 - 22.3 | Maya / (22) |
| Mediano | 0.92 - 0.87 | 22.3 - 31.1 | |
| Ligero | 0.87 - 0.83 | 31.1 - 39 | Istmo / (33.6) |
| Superligero | < 0.83 | > 39 | Olmeca / (39.3) |

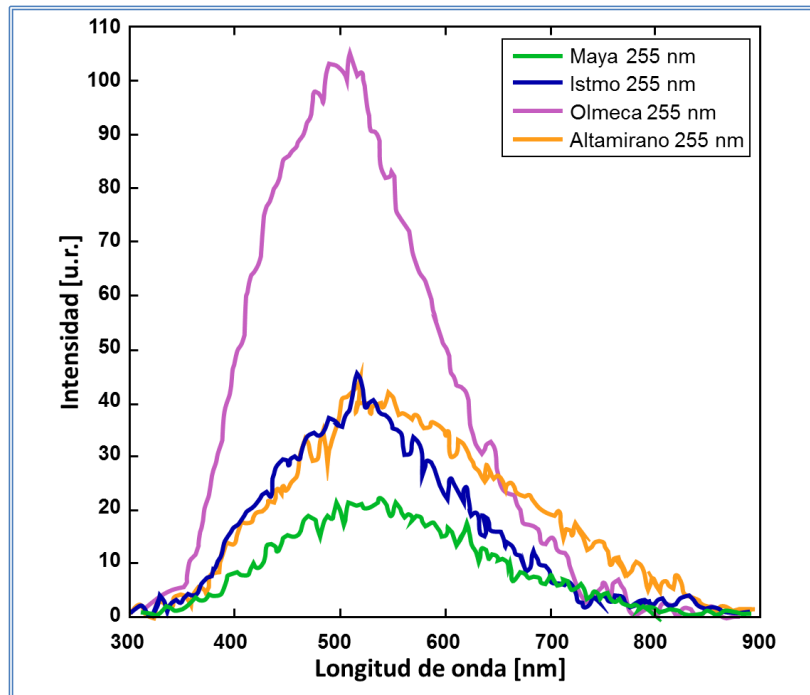


Figura 1-3 Espectros de fluorescencia de petróleos crudos producidos en México [16]

En los espectros se observa que existe una relación entre la fluorescencia y la densidad de cada uno de ellos. Cuando se excita con 255 nm, el petróleo Maya, que es el más denso de todos presenta una menor intensidad de Fluorescencia, mientras que el Olmeca, que es el más ligero de todos presenta una intensidad de fluorescencia mayor.

1.5 Métodos de medición de HAPs.

Cromatografía

El análisis para la detección de HAPs por medio de la cromatografía consiste en la extracción previa de grandes cantidades de agua que son enviadas para su posterior análisis a través de un cromatógrafo en un laboratorio. La Figura 1-4 muestra las principales etapas de este sistema de medición. Estos métodos son laboriosos, requieren de largos periodos de tiempo para su análisis y son muy caros por lo tanto no son aptos para el monitoreo local en donde se producen variaciones temporales o espaciales, (por ejemplo, en los estuarios o en fuentes puntuales) y se requiere un monitoreo localizado y eficiente (por ejemplo, alarmas, sensores de detección, entre otros) [10].

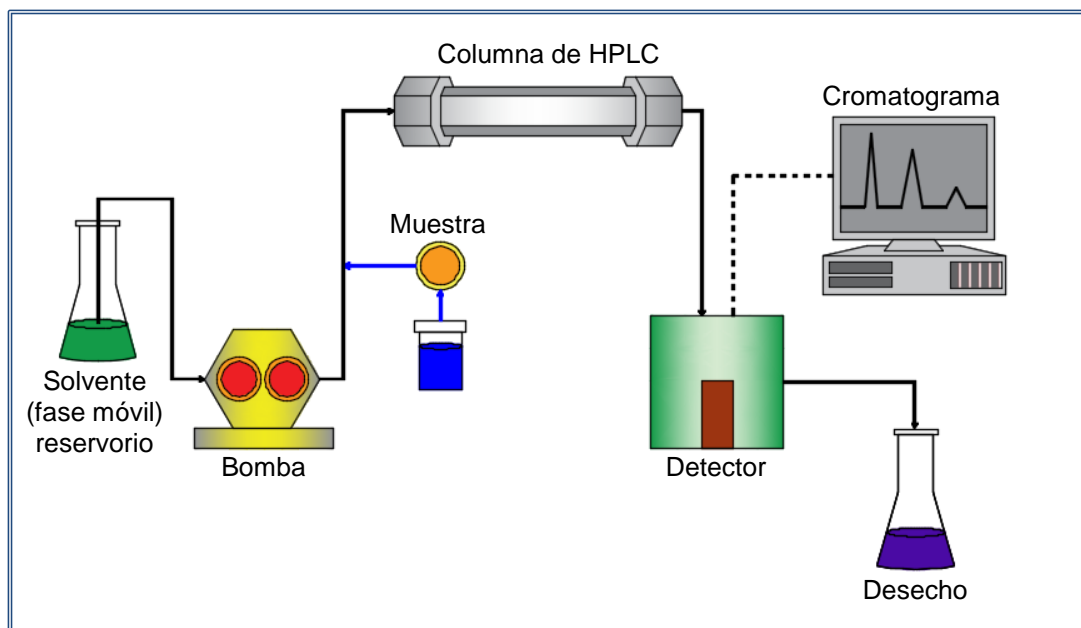


Figura 1-4 Sistema de medición por Cromatografía

Esparcimiento Raman

El esparcimiento Raman es una técnica de espectroscopia vibracional donde la luz láser incidente es inelásticamente esparcida por la muestra. La frecuencia de la radiación esparcida es desplazada de acuerdo a la excitación de los modos de vibración que son característicos de las moléculas de la muestra, este cambio de frecuencia de la luz esparcida se denomina efecto Raman (llamado así en honor a su descubridor, el físico hindú C. V. Raman) y se debe a que algunos fotones de la luz incidente interactúan con el material, creando o modificando vibraciones moleculares.

Los espectros Raman que se generan son adecuados para la identificación de sustancias, ver Figura 1-5. Una de las limitantes es la fracción de intensidad espontánea de esparcimiento de Raman que es relativamente baja, lo que es un factor limitante para el análisis de trazas.

Esto se puede mejorar mediante la implementación de soluciones a base de gel, técnica mejor conocida como “*Surface Enhanced Raman Scattering*” (SERS). Con esta mejora las señales que se producen, con las moléculas bajo investigación, se adjuntan a nano estructuras de coloides metálicas tales como la plata o el oro, lo que produce usualmente una amplificación en magnitud de 6-8 veces [10] [18] [19] [20].

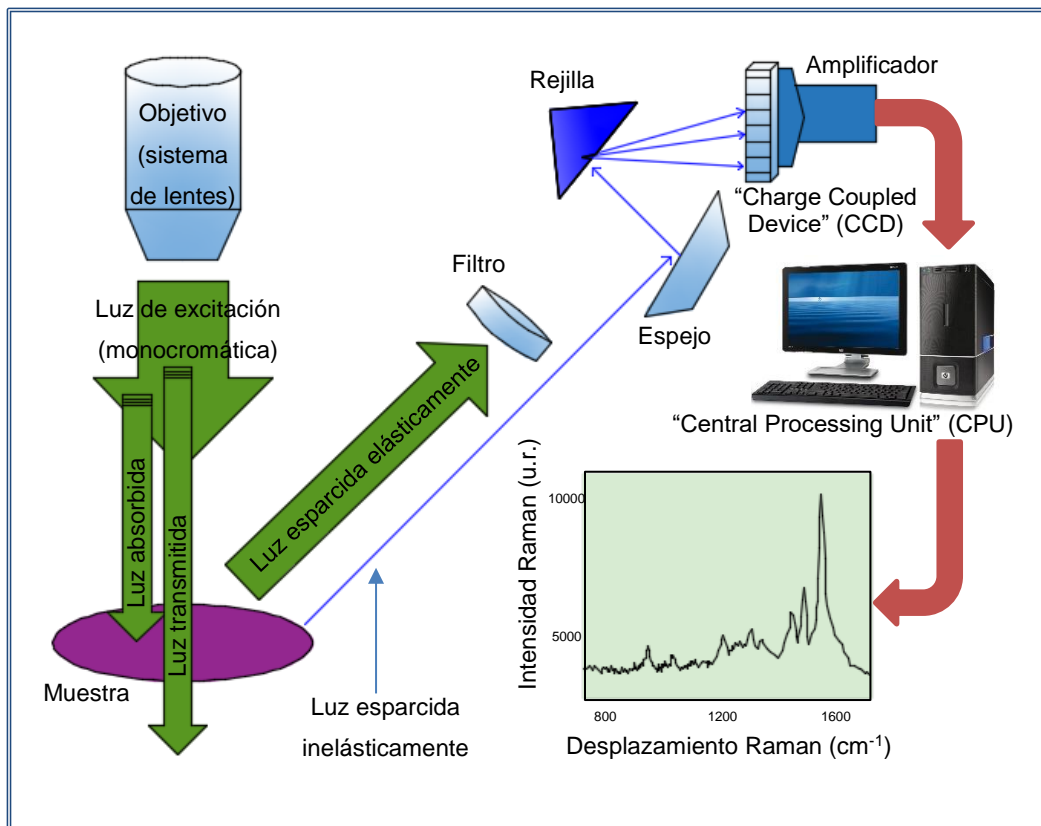


Figura 1-5 Sistema de medición de esparcimiento Raman

Espectroscopia de fluorescencia

Es una técnica de espectrometría molecular en la cual se irradia una muestra diluida en un solvente con un haz de luz de excitación y por medio de una fibra óptica se envía la emisión resultante de fluorescencia, hacia un espectrómetro capaz de medir el espectro de la intensidad de fluorescencia de la muestra. Esta señal de fluorescencia es única para cada tipo de muestra y está determinada de acuerdo a su estructura molecular [21].

Esta técnica es comúnmente utilizada para la cuantificación de concentración de muestras diluidas, debido a que es directamente proporcional a la intensidad de excitación. Este comportamiento, sin embargo, solamente es lineal en diluciones con bajas concentraciones, generalmente por debajo del límite de solubilidad de la muestra.

La ventaja de este tipo de medición es que puede ser aplicada en áreas peligrosas, ya que es posible utilizar una fibra óptica para excitar la muestra con un haz de luz proveniente de un LED o un láser y también con otra fibra óptica es posible adquirir la señal de fluorescencia sin alterar la muestra.

Un sistema de espectroscopia óptica de fluorescencia está compuesto por una fuente de luz, una celda de muestreo y un espectrómetro para la medición de fluorescencia.

Los sistemas ópticos de fluorescencia comerciales tienen en promedio un costo de \$400,000.00 pesos, utilizan como fuente de excitación un haz de luz producido por una lámpara de Xenón, con un tiempo de vida aproximado de dos mil horas y para garantizar que la irradiancia sea constante requieren un tiempo de calentamiento de hasta 30 minutos. Por lo anterior se realizó una investigación para reemplazar la lámpara de Xenón por un LED UV de 255 nm, Sensor Electronic Technology Inc, UVCLEAN-255, potencia óptica instantánea de 1-3 mW, con un periodo de vida aproximadamente de 10,000 horas [22].

La Tabla 1-3 muestra instrumentos ópticos para la medición de HAPs disueltos en agua que utilizan el principio de fluorescencia. Los límites de detección reportados en la segunda fila de la tabla corresponden al sistema de medición óptico de fluorescencia del proyecto actual con pruebas en agua de mar artificial. En la tabla se aprecia que el tiempo requerido para el análisis comparado con otros sistemas desarrollados en el mercado es 10 veces más rápido.

Tabla 1-3 Instrumentos ópticos de fluorescencia para la medición de HAPs en agua

| Sistema de medición | Lugar de desarrollo | Compuesto detectado | Tiempo de análisis | Límites de detección |
|---------------------------------|---|----------------------------|---------------------------|---|
| Medidor óptico de Fluorescencia | Laboratorio de fotónica (IPN) | Fenol y Naftaleno | 5 min | 0.05 mg/L |
| Medidor óptico de Fluorescencia | Laboratorio de fotónica (IPN) | Fenantreno y Antraceno | 3 min | Fenantreno 1µg/L y Antraceno 1µg/L |
| Medidor óptico de Fluorescencia | Estados Unidos, Gran Bretaña y Alemania | Fenantreno | 30 min | Aguas someras y aguas profundas |

1.6 Normas medioambientales para regulación de contaminación en agua

Normas nacionales

En la Tabla 1-4 se indica una breve descripción de las normas oficiales mexicanas, emitidas por la Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales (SEMARNAT) encargadas de regular la contaminación del agua y su aplicación para la determinación de los niveles máximos de contaminantes permitidos.

Tabla 1-4 Normas nacionales para determinar la contaminación del agua

| No. | Clave | Descripción | Aplicación |
|-----|--------------------------------|--|---|
| 1 | NOM-001-ECOL/ SEMARNAT-1996 | Establece los límites máximos permisibles de contaminantes en las descargas de aguas residuales en Bienes Nacionales. | El límite máximo de aceite y grasa es 15 mg/L, en ríos, embalses naturales y artificiales y aguas costeras. |
| 2 | NOM-002-ECOL/ SEMARNAT-1996 | Establece los límites máximos permisibles de contaminantes en las descargas de aguas Residuales a los sistemas de alcantarillado urbano o municipal. | Los límites máximos de aceites y grasas son: 50, 75 y 100 mg/L, en las descargas de agua residual. |
| 3 | NOM-003-ECOL/ SEMARNAT-1997 | Establece los límites máximos permisibles de contaminantes para las aguas residuales tratadas que se reúsen en servicios al público. | El límite máximo de aceites y grasas es de 15 mg/L para reúso en servicios al público. |
| 4 | NOM-127-SSA1- 1994 | Salud ambiental, agua para uso y consumo humano-límites permisibles de calidad y tratamientos a que debe someterse el agua para su potabilización. | El límite de detección para el Hexaclorobenceno es de 0.01 mg/L y en Plaguicidas: Aldrín y Dieldrín (Separados o combinados) es de 0.03 µg/L. |
| 5 | NOM-143- SEMARNAT-2003 | Establece las especificaciones ambientales para el manejo de agua congénita asociada a hidrocarburos | El límite máximo de hidrocarburos es 15 mg/L de agua congénita en agua dulce y en aguas costeras y zonas marinas es de 40 mg/L. |
| 6 | NOM-179-SSA1- 1998 | Vigilancia y evaluación del control de calidad del agua para uso y consumo humano, distribuida por sistemas de abastecimiento público. | No indica límites permisivos. |

En la tabla anterior se puede observar que la norma NOM-143-SEMARNAT-2003 es la única que establece límites máximos de 15 mg/L de hidrocarburos en fuentes de agua congénita descargadas en agua dulce, mientras que en zonas costeras y zonas marinas el valor máximo es de 40 mg/L.

Normas extranjeras

La normatividad extranjera establece el nivel máximo de 10 µg/L en zonas costeras no contaminadas por HAPs [6], este valor fue utilizado como punto de partida para realizar los experimentos en laboratorio y encontrar el nivel mínimo de detección por el método de espectroscopia de fluorescencia irradiando la muestra con un LED UV.

Para el consumo humano las normas extranjeras establecen niveles de 0.03 µg/L en mezclas de HAPs y la Unión Europea define como nivel máximo permisible 0.2 µg/L [6]. Estos valores son utilizados para proteger a los consumidores humanos de productos biológicos acuáticos colectados en ambientes con una posible contaminación por HAPs. El único método capaz de obtener estos valores de detección es a través de cromatografía en laboratorio.

La “*Food and Drug Administration*” (FDA) establece niveles de prevención en el consumo de animales que tengan concentraciones totales de Antraceno y Fenantreno, en los siguientes valores: camarones y cangrejos (1,846 mg/L), ostras (2,000 mg/L) y peces de aleta (490 mg/L) [23].

1.7 Contaminantes petrogénicos en el Golfo de México

Los hidrocarburos del petróleo y sus derivados pueden penetrar en el mar en forma de crudos no refinados, con una gran cantidad de compuestos insolubles. Los petróleos refinados, gasolinas y otros combustibles fósiles, tienen un alto contenido de compuestos solubles que pueden extenderse a grandes distancias por las corrientes oceánicas. La contaminación petrogénica se manifiesta en dos formas, primero en la contaminación crónica debida a descargas petrogénicas sistemáticas al mar por fuentes terrestres o marinas y segundo a través de la contaminación aguda a menudo catastrófica por derrames de hidrocarburos al mar [24].

Según estimados, el 90% de las cargas contaminantes por petróleo que ingresan en las aguas costeras de la región están relacionadas con fuentes industriales, señalándose las refinerías y las plantas petroquímicas como las principales fuentes de contaminación costera por petróleo [25].

El proyecto *“Marine Pollution Monitoring Program in the Caribbean”* (CARIPOL), ha suministrado información disponible sobre los niveles de contaminación por petróleo en aguas costeras y sedimentos del Caribe. Estos resultados indican que la concentración de hidrocarburos disueltos y dispersos es generalmente baja en áreas costeras abiertas y relativamente alta en áreas costeras cerradas. En sedimentos recientes de acuerdo a los niveles medios de hidrocarburos totales reportados, indicaron la presencia de una contaminación ligera en la región, con una reducida influencia sobre las especies marinas analizadas [26].

En zonas costeras próximas a refinerías de petróleo, termoeléctricas y complejos petroquímicos en general se registró una tendencia al aumento de los niveles de contaminación por petróleo, influido por las emisiones de estas fuentes [27].

La zona marino-costera mexicana del Golfo de México es una de las mayores cuencas de hidrocarburos con una producción superior a las 115 333 barriles por día, sujeta a un intenso tráfico de buques petroleros que movilizan más de 5 millones de barriles diarios y donde se vierten al mar cerca de 7 millones de barriles al año por el lavado de sus tanques, que ejercen contaminación ambiental en los principales ríos, lagunas costeras y estuarios de la zona [28].

El 50% de los ecosistemas costeros mexicanos del Golfo de México rebasan el límite permisible de hidrocarburos disueltos para aguas superficiales no contaminadas según criterios de la *“United Nations Educational Scientific and Cultural Organization”* (UNESCO) [29], en particular la laguna de Términos en Campeche que registró el nivel más alto de contaminación, seguida por el río Tuxpan y la laguna del Ostión en Veracruz. El río Tonalá, ocupa el primer lugar con presencia de HAPs [30].

Los estudios más detallados de organismos marinos (peces, moluscos y crustáceos) se desarrollaron en la década de 80-90s en la región del río Coatzacoalcos, donde se detectaron altas concentraciones de HAPs de elevada toxicidad y potencial carcinogénico,

resultando uno de los sitios más contaminados por hidrocarburos del petróleo en el Caribe [30].

Esta información señala que las aguas y los sedimentos del Golfo de México están más contaminados en relación con otras áreas en la Región del Gran Caribe (RGC). Estos resultados muestran la intensa actividad petrolera y los aportes persistentes de hidrocarburos del petróleo a los ecosistemas costeros mexicanos [28].

Otras vías importantes de contaminación son los accidentes marítimos en instalaciones costa fuera “*offshore*” en el Golfo de México, como consecuencia de roturas de ductos, explosiones e incendios en los pozos, desbordamientos y mal funcionamiento de los equipos.

La productividad y el comercio de la RGC dependen en gran medida del transporte marítimo. Cada año alrededor de 50,000 embarcaciones cruzan las aguas de la región y alrededor de 82.5% utilizan las facilidades portuarias de la región [31].

Existen aproximadamente 100 refinerías de petróleo en la RGC que procesan alrededor de 500,106 toneladas de petróleo por año. El 75% de estas refinerías operan en las costas del Golfo de México, pero el petróleo refinado es transportado a otros países de la RGC generando un intenso tráfico marítimo de supertanqueros con varias rutas de distribución interna que movilizan como promedio 5 millones de barriles de crudo por día [28]. De ahí el gran riesgo y vulnerabilidad que se encuentra sometido el Mar Caribe ante los derrames de hidrocarburos.

El derrame de hidrocarburos ocurrido en el pozo de petróleo IXTOC I (1979) en el banco de Campeche, al sureste del Golfo de México durante las operaciones de perforación de gas y petróleo, ocasionó la fuga de 30 mil barriles diarios de petróleo crudo ligero durante diez meses para un total de 475,000 toneladas métricas [32]. El petróleo derramado contaminó gran parte del litoral del golfo mexicano y dañó severamente su franja costera, constituida principalmente de playas arenosas e islas de barreras que protegían a lagunas costeras, estuarios y humedales, ecosistemas que aún no se han estabilizado.

Otro accidente ocurrido fue el de la plataforma petrolífera semi sumergible de posicionamiento dinámico de aguas ultra-profundas “*Deepwater Horizon*” utilizada bajo contrato por la “*British Petroleum*”, la cual se construyó en el año 2001 y estuvo situada en

el Golfo de México, que se hundió el 22 de abril de 2010 como resultado de una explosión que había tenido lugar dos días antes provocando el más importante vertido de petróleo de la historia, estimado en 780 millones de litros de crudo [33].

La Tabla 1-5 representa los principales derrames de hidrocarburos ocurridos en la región desde 1962 hasta el año 2010 [33].

Tabla 1-5 Mayores derrames de hidrocarburos.

| Año | Zona del Derrame | Millones de Litros |
|------------|--|---------------------------|
| 1962 | Argea Prima, Guárnica, Puerto Rico | 11 |
| 1967 | Fuga en tubería, Louisiana, USA | 25 |
| 1968 | Witwater, cerca de la isla Galeta en Panamá | 3 Diesel |
| 1970 | Reventón en plataforma de ultramar | 10 |
| 1971 | Santa Augusta, St. Croix, U.S.V.I | 13 Crudo |
| 1973 | Zoe Colocotronis, Cabo Rojo, Puerto Rico | 5 Crudo |
| 1975 | Garbis, Cayos de la Florida US | 24-5 Crudo |
| 1976 | Ruptura de cañería en Corpus Christi, TX | 1 Crudo |
| 1977 | Embarcación sin identificar, Bahía de Guayanilla, PR | 2 Crudo venezolano |
| 1979 | Burhah Agate, Texas USA | 5-41 |
| 1979 | Atlantic Empress, afueras de Trinidad y Tobago | 158 |
| 1979 | 80 Ixtoc I, Explosión en plataforma marina | 528-1,626 Crudo |
| 1984 | Alvenus, Louisiana USA | 25 |
| 1985 | Ranger, Explosión en plataforma, Texas, USA | 24-52 |
| 1986 | Refinería las Minas, Panamá | 8 Crudo |
| 1991 | Vista Bella Barge, afueras de St. Kitts y Nevis | 2 |
| 1994 | Berman, San Juan Puerto Rico | 375 Gasolina No. 6 |
| 1997 | Nisos Amorgos, Buque tanque Golfo de Venezuela | 3.2 |
| 2000 | Barco desconocido, La Habana Cuba* | 0.4 Crudo |
| 2010 | BP, Golfo de México | 780 Crudo |

Diversos autores en otras regiones tropicales, han demostrado el impacto que ocasiona la descarga de petróleo en el medio marino, en particular la alta densidad de instalaciones petroleras y los deficientes sistemas de alcantarillados han intervenido en la degradación física de importantes áreas y cambios dinámicos en la ecología de ecosistemas frágiles

tales como los arrecifes de coral, lechos de pastizales marinos, bosques de manglares y poblaciones de peces y mariscos mar adentro, en ocasiones con efectos irreversibles [2].

1.8 Características del Golfo de México

La cuenca del Golfo de México posee una longitud de 1,600 km en la línea este-oeste, 1,300 km en la línea norte-sur en su porción occidental y 900 km en las porciones central y oriental, la Figura 1-6 muestra el polígono occidental del Golfo de México decretado en el “tratado sobre límites marítimos entre los estados unidos mexicanos y los Estados Unidos de América” en 1978. La superficie del Golfo de México, incluyendo el cuerpo de agua y los humedales costeros, de México y Estados Unidos, es de 1,942,500 km². Sólo el cuerpo de agua tiene una superficie aproximada de 1,507,639 km² [34].

La profundidad promedio del Golfo es 1,615 m, y el volumen de agua es aproximadamente 2,434,000 km³ [34]. La temperatura promedio de las aguas en el Golfo de México a la profundidad de 1400 m, es aproximadamente de 4 °C [19].

El tipo de mareas en esta región se caracteriza por su homogeneidad, predominando la marea diurna; a nivel general que oscila con la del océano Atlántico. La zona económica exclusiva mexicana es del orden de 0.9×10^6 km² que representan 55% de la superficie total del Golfo. Es un mar interior diverso con características físicas y químicas resultado de su ubicación latitudinal; desde tropical, subtropical hasta templado, con climas distintos, catalogados como épocas de secas (primavera), lluvias (verano, otoño) y nortes (invierno) [33].

Tiene aportes permanentes de seis principales ríos que drenan directamente al Golfo: el Pánuco, el Coatzacoalcos, el Papaloapan, el Grijalva-Usumacinta a través del Frontera, el Champotón y el Bravo, y por parte de los Estados Unidos de América el Misisipí, entre otros [34].

En los Estados Unidos, el 38% de las reservas de petróleo y 48% de las reservas de gas natural, se ubican en las costas del Golfo. En México se produce más del 80% del petróleo y más del 95% de gas natural en las costas del Golfo de México [34].

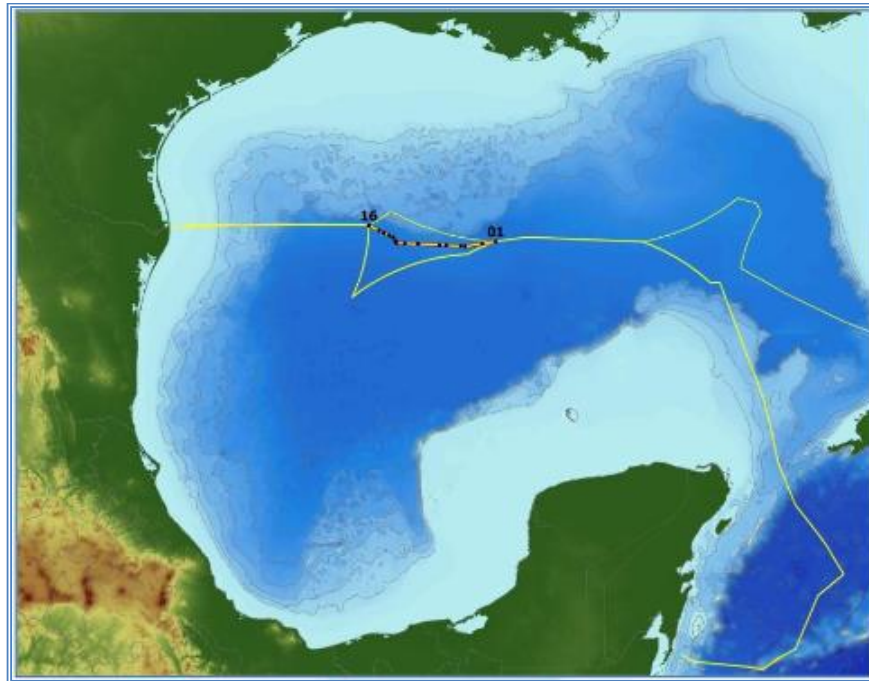


Figura 1-6 Polígono occidental del Golfo de México

En Estados Unidos 45% del tonelaje de embarque pasa a través de los puertos del Golfo, y en México el 75% del tonelaje de embarque utiliza los puertos de esta zona [34].

Las actividades que modulan la economía del Golfo de México son: la explotación de petróleo y gas, la industria petroquímica, el transporte marítimo, los recursos pesqueros, la producción de energía eléctrica, la expansión urbana, el turismo, los usos agropecuarios y forestales en la llanura costera [34].

La zona costera sur del estado de Tamaulipas está bajo la influencia de una creciente zona metropolitana que integra a las ciudades de Tampico, Madero y Altamira (incorporando las localidades de Pueblo Viejo, Pánuco y Tampico Alto del estado de Veracruz). Esta región es uno de los polos de desarrollo urbano, industrial y portuario, de mayor importancia económica de la región costera del Golfo de México [34].

El nivel de concentración de HAPs reportado en 2013 para la sonda de Campeche en el Golfo de México es en promedio de 121.2 $\mu\text{g/L}$ [35].

1.9 Teoría de la fluorescencia molecular

La fluorescencia molecular se mide excitando una muestra por una radiación con una longitud de onda que corresponde a una banda de absorción, también llamada longitud de onda de excitación y midiendo la emisión a una longitud de onda mayor llamada longitud de onda de emisión o de fluorescencia.

Generalmente la emisión de fotoluminiscencia se mide en una dirección perpendicular con relación al haz incidente para evitar medir esta última. La emisión de vida corta que ocurre con duración aproximada de 10^{-9} s, se llama fluorescencia, mientras que la luminiscencia que dura más tiempo, aproximadamente 10^{-3} s, se denomina fosforescencia.

La Figura 1-7 muestra un diagrama parcial de niveles de energía para una especie molecular hipotética [36]. Se muestran tres estados de energía electrónica, el estado basal E_0 y los estados excitados E_1 y E_2 . Cada uno de los estados electrónicos se muestra con otros cuatro niveles vibracionales excitados. Cuando estas especies son irradiadas con una banda de longitudes de onda λ_1 a λ_5 , los cinco niveles vibracionales del primer estado electrónico excitado, E_1 , son ocupados de forma momentánea. De manera similar cuando las moléculas se irradian con una banda más energética formada de ondas menores, λ_1' a λ_5' , los cinco niveles vibracionales del estado electrónico de energía más alto E_2 son ocupados brevemente [36].

Una vez que la molécula es excitada hacia un nivel E_1 o un nivel E_2 , pueden ocurrir varios procesos que provocan que la molécula pierda su exceso de energía. Los procesos de desexcitación pueden ser radiativos y no radiativos. La relajación vibracional, descrita por las pequeñas flechas ondeantes entre los niveles de energía vibracional, tiene lugar durante las colisiones entre las moléculas excitadas y las moléculas del disolvente. La relajación no radiativa entre los niveles vibracionales más bajos de un estado electrónico excitado y los niveles vibracionales más altos de otro estado electrónico también pueden ocurrir. Este tipo de relajación en algunas ocasiones llamada conversión interna, está referenciado con las dos flechas ondeantes más largas en la Figura 1-7. La conversión interna es mucho menos eficiente que la relajación vibracional, de tal manera que el tiempo de vida promedio de un estado electrónico excitado está entre 10^{-9} y 10^{-6} s. el mecanismo exacto por el que estos dos procesos de relajación ocurren está actualmente bajo estudio, pero el resultado neto es un pequeño aumento en la temperatura del medio [36].

La fluorescencia se observa casi siempre desde el estado electrónico excitado más bajo E_1 al estado basal E_0 . La fluorescencia generalmente ocurre desde el nivel vibracional más bajo E_1 hacia varios niveles vibracionales E_0 , debido a que los procesos de conversión interna y relajación vibracional son muy rápidos en comparación con la fluorescencia. Por lo tanto, un espectro de fluorescencia usualmente consta de una sola banda con muchas líneas estrechas que representan las transiciones desde el nivel vibracional más bajo de E_1 a los distintos niveles vibracionales de E_0 [36].

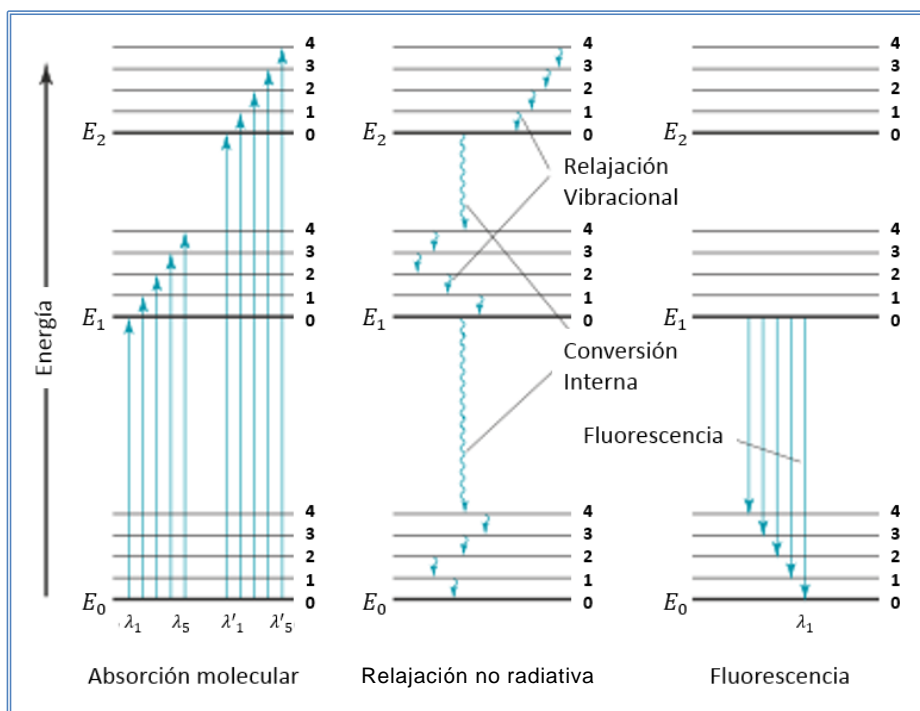


Figura 1-7 Diagrama de niveles de energía

La línea con la que termina la banda de fluorescencia en la longitud de onda menor o en el lado de alta energía λ_1 es idéntica en energía a la línea marcada como λ_1 en el diagrama de absorción molecular. Dado que las líneas de fluorescencia en esta banda se originan en el estado vibracional más bajo de E_1 , todas las otras líneas en la banda tienen menor energía o mayor longitud de onda que la línea correspondiente a λ_1 . Las bandas de fluorescencia molecular están compuestas en su mayoría de líneas que tienen longitudes de onda más largas, una mayor frecuencia y por lo tanto, tienen menor energía que la banda de radiación absorbida responsable de su excitación. Este desplazamiento hacia una mayor longitud de onda se llama desplazamiento de Stokes [36].

Debido a que las diferencias de energía entre los estados vibracionales son prácticamente las mismas para el estado basal y para el estado excitado, la absorción, o espectro de excitación, y el espectro de fluorescencia para un compuesto por lo general aparecen como imágenes especulares una de la otra, las cuales se traslapan cerca del origen de transición (nivel vibracional 0 de E_1 al nivel vibracional 0 de E_0). Hay muchas excepciones para la regla de la imagen especular, particularmente cuando el estado excitado y el estado basal tienen diferentes geometrías moleculares o cuando se originan diferentes bandas de fluorescencia a partir de diferentes partes de la molécula [36].

Como se muestra en la Figura 1-7, la fluorescencia es uno de los diversos mecanismos por los que una molécula puede regresar al estado basal después de que ha sido excitada por absorción de radiación. Todas las moléculas que absorben radiación tienen el potencial de fluorescer, pero la mayoría de los compuestos no lo hace porque su estructura permite trayectorias sin radiación para que ocurra la relajación a una velocidad mayor que la emisión de fluorescencia. La eficiencia cuántica de la fluorescencia molecular es simplemente la relación entre el número de moléculas que fluorescen y el número de moléculas excitadas, o la relación de fotones emitidos y fotones absorbidos. Las moléculas altamente fluorescentes, como la fluoresceína, tienen eficiencias cuánticas cercanas a la unidad en ciertas condiciones. Las especies que no fluorescen o que muestran una fluorescencia muy débil tienen eficiencias cuánticas que son básicamente igual a cero [36].

Fluorescencia y estructura

Los HAPs fluorescen al ser diluidos y presentan una eficiencia cuántica que aumenta con el número de anillos y con su grado de condensación, además la emisión de fluorescencia es más intensa en comparación con los compuestos de carbono alifáticos [37].

Una reacción de sustitución en los anillos de los compuestos aromáticos, provoca desplazamientos en la longitud de onda de máxima absorción, lo que se acompaña de cambios en las bandas de fluorescencia [37].

Efecto de la temperatura y de los disolventes

En la mayoría de las moléculas, la eficiencia cuántica de la fluorescencia disminuye cuando aumenta la temperatura debido a que la frecuencia de colisión aumenta a elevadas

temperaturas lo cual incrementa la posibilidad de relajación colisional. Una disminución en la viscosidad del disolvente produce el mismo efecto [37].

Quantificación de la muestra

Para la determinación cuantitativa de los elementos químicos en una muestra se utiliza la ley de Beer, donde la absorbancia es directamente proporcional a la concentración de las especies absorbentes “*c*” y a la longitud de la trayectoria “*b*”, del medio absorbente, como se expresa en la ecuación (1-1) [37]:

$$A = \log\left(\frac{P_0}{P}\right) = abc \quad (1-1)$$

Donde:

- a* Es una constante de proporcionalidad llamada absorptividad que define la cantidad de luz que absorbe una sustancia, también se conoce como coeficiente de absorción.
- P*₀ Es la energía radiante incidente también denominada como intensidad incidente *I*₀.
- P* Es la energía radiante transmitida también conocida como intensidad transmitida *I*.
- b* Es la longitud que atraviesa la luz en el medio.
- c* Es la concentración de la especie absorbente en el medio.

La intensidad de fluorescencia es directamente proporcional (lineal) a la concentración. Hay sin embargo factores que afectan esta relación lineal. Cuando la concentración es muy grande, la luz no puede atravesar la muestra para producir la excitación; así que a muy altas concentraciones se puede presentar muy baja fluorescencia (extinción debido a la concentración). A concentraciones intermedias, una porción de la superficie de la muestra más cercana a la luz absorbe demasiada luz provocando que solamente una pequeña parte de luz atraviese el resto de la muestra; así las lecturas no serán lineales, hasta que se encuentren dentro del intervalo de la curva de calibración [37].

Debido a que existen factores asociados a los instrumentos de medición los cuales afectan la linealidad, las muestras deben ser probadas con los instrumentos específicos que serán utilizados en el estudio, si se cambia el tamaño de la cubeta o se introducen filtros ópticos

para diferentes longitudes de onda, se debe también volver a medir la linealidad. Para probar la linealidad, simplemente se toman lecturas de concentraciones altas de la muestra y se diluyen por un factor (1:1, 1:10, entre otros) y se toma una lectura de la muestra diluida, si es lineal, la lectura disminuirá por el mismo factor que la disolución, si no es lineal, la lectura podría incrementarse al ser diluida, si está dentro del intervalo de la curva de calibración, la lectura disminuirá, pero no tanto como se esperaría por la disolución. Aunque una curva de calibración para una aplicación específica puede probar ser no lineal, si la curva es reproduciblemente exacta, entonces la calibración es exacta [37].

Existen factores que reducen, o extinguen la fluorescencia y afectan la linealidad como por ejemplo la temperatura, estos factores pueden ser controlados a través del diseño de instrumentos y la implementación de métodos apropiados.

La probabilidad de fluorescencia disminuye cuando se produce el efecto de relajación por colisiones entre moléculas, que resultan en la pérdida de excitación de energía como calor en lugar de luz. Las especies que son particularmente eficientes en inducir el proceso de relajación por colisión son conocidas como extintores de colisión (por ejemplo, iones de yoduro, moléculas de oxígeno, radicales de nitrógeno). La fluorescencia también puede perderse por extinción estática, donde la interacción del fluoróforo con un agente extintor forma un compuesto no fluorescente estable, debido a que este compuesto típicamente tiene un espectro de absorción diferente del fluoróforo, la presencia de un cambio de absorción es determinado por este tipo de agente extintor (por comparación, la extinción por colisión es una interacción de estado excitado transitorio y no afecta el espectro de absorción). Un caso especial de extinción estática es la auto extinción, donde el fluoróforo y el agente extintor son de la misma especie. La auto extinción es particularmente evidente en soluciones concentradas de trazas extintas [37].

1.10 Tiempo de vida y eficiencia cuántica

El tiempo de vida del estado excitado y la eficiencia cuántica de la fluorescencia son las características más importantes de un fluoróforo. La eficiencia cuántica es el cociente entre el número de fotones emitidos y el número de fotones absorbidos para cada valor de longitud de onda. Las sustancias con mayor eficiencia cuántica, aproximadamente la unidad, tales como rodaminas muestran una mayor emisión. El tiempo de vida es el valor promedio del tiempo que dura el estado de excitación, es importante ya que determina el

tiempo de interacción del fluoróforo con el ambiente y proporciona información de la emisión. [36]

El significado de la eficiencia cuántica y el tiempo de vida se representan mejor por el diagrama de Jablonski simplificado que se muestra en la Figura 1-8, en este diagrama se muestra la absorción de energía " $h\nu_A$ " y el proceso de relajación al estado basal el cual puede ser en forma de emisión de fluorescencia " $h\nu_F$ " o bien a través de choque entre partículas o aumento de temperatura " k_{nr} " [36].

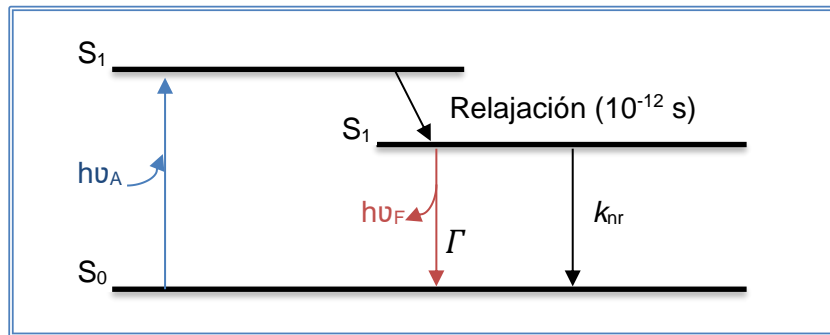


Figura 1-8 Diagrama de Jablonski simplificado

Los valores de las constantes Γ y k_{nr} describen la liberación de energía desde el nivel de excitación, por lo que la fracción de fluoróforos que son liberados a través de la emisión y por lo tanto Q está dado por la ecuación (1-2):

$$Q = \frac{\Gamma}{\Gamma + k_{nr}} \quad (1-2)$$

Donde:

Γ Es el valor de decaimiento radiativo o valor de emisión del fluoróforo, también es conocido como la probabilidad de transformación de un átomo en la unidad de tiempo [t^{-1}].

k_{nr} Es el valor de decaimiento no radiativo al estado basal [t^{-1}].

La eficiencia cuántica puede ser cercana a la unidad si el decaimiento no radiativo es más pequeño que el valor del decaimiento radiativo, esto es $k_{nr} < \Gamma$. Se puede notar que la eficiencia cuántica de la fluorescencia es siempre menor que la unidad debido a las pérdidas de Stokes [36].

1.11 Efectos de la geometría de la muestra

La intensidad aparente de fluorescencia y la distribución espectral dependen de la densidad óptica de la muestra y de la geometría específica de iluminación de la muestra. La geometría comúnmente utilizada para medir la fluorescencia es iluminando centralmente la cubeta donde se introduce la muestra y observando la intensidad de fluorescencia en un ángulo recto desde el centro de iluminación. Otros arreglos geométricos incluyen la iluminación descentrada cara-frontal, ver Figura 1-9. La iluminación descentrada reduce la longitud de la trayectoria que atraviesa la luz en el medio, lo cual puede compensarse usando cubetas con longitudes de dirección menores que 1 cm, estos métodos son utilizados generalmente para disminuir los efectos de filtrado debidos a altas densidades ópticas o muestras turbias [36].

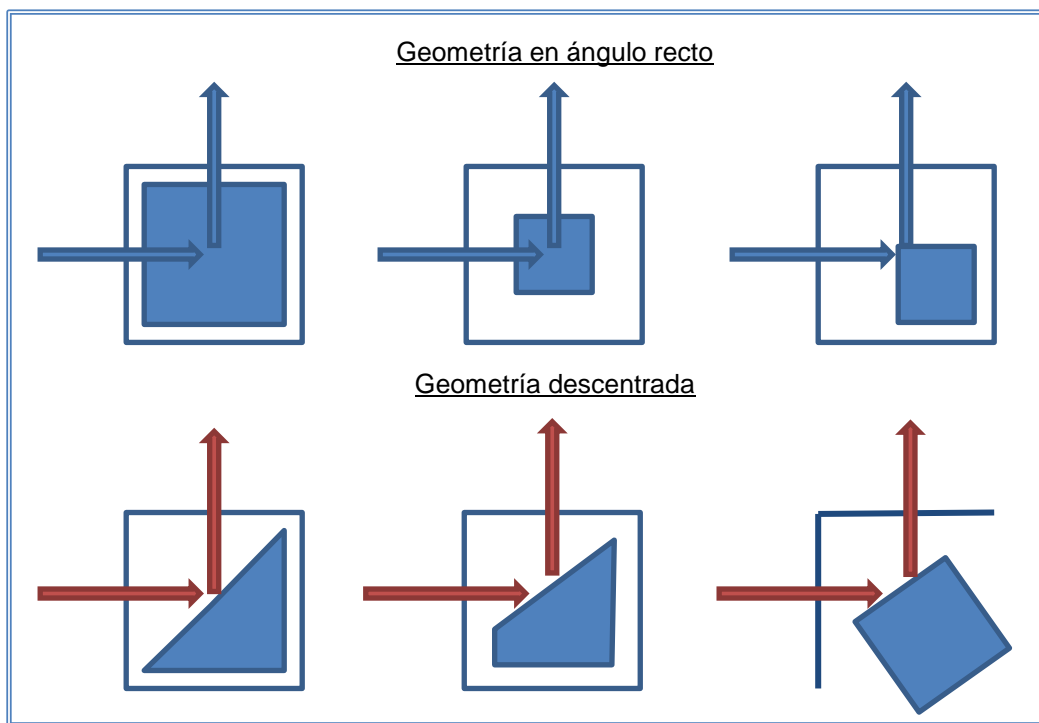


Figura 1-9 Varios arreglos geométricos para la observación de fluorescencia

La iluminación del tipo cara-frontal se utiliza con frecuencia usando cubetas triangulares o cuadradas orientadas 45° en relación al rayo de incidencia, en lo posible este arreglo debe descartarse ya que se refleja una mayor cantidad de luz directamente en el detector, incrementando la probabilidad de que un rayo de luz interfiera con la medición de fluorescencia. Cuando se requiere utilizar el tipo de iluminación cara-frontal, es necesario orientar la superficie iluminada alrededor de 30° del rayo incidente. Este procedimiento tiene

dos ventajas: en primer lugar, menos luz reflejada ingresa al detector y en segundo lugar la luz incidente es distribuida sobre un área de mayor superficie, reduciendo la sensibilidad de la medición al lugar preciso de la cubeta dentro del porta cubeta. Una desventaja de esta orientación es una reducción de sensibilidad debido a que una fracción de luz incidente es reflejada fuera de la superficie de la cubeta [36].

Es importante reconocer que la intensidad de la fluorescencia es proporcional a la concentración solamente en un intervalo limitado de densidades ópticas, debido a los efectos de filtrado interno. Estos efectos pueden disminuir la intensidad de excitación en el punto de observación o disminuir la fluorescencia observada por la absorción de la fluorescencia. La importancia relativa de cada proceso depende de la densidad óptica de la muestra a las longitudes de onda de emisión y excitación [36].

1.12 Corrección del espectro de emisión

Para corregir el espectro de medición es necesario conocer la eficiencia de la dependencia de longitud de onda del sistema de detección, lo cual es difícil de calcular y consume tiempo al realizar la medición de los factores de corrección de cualquier espectrómetro en específico. Aun teniendo en cuenta las correcciones los resultados obtenidos se aproximan al $\pm 10\%$ de exactitud. Por esta razón los espectros técnicamente observados son usualmente reportados sin correcciones. Si es necesario considerar un método simple y confiable para obtener los factores de corrección necesarios se debe comparar el espectro de emisión de una sustancia estándar con el espectro corregido para esta misma sustancia. Los espectros considerados para este propósito han sido reportados para una gran variedad de fluoróforos que incluyen el sulfato de quinina, 3-aminofalimida, m-nitrodimetilanilina y 4-dimetilamino-4'nitrotolueno. Las longitudes de onda de emisión de estos compuestos cubren el intervalo de 300 a 800 nm y los datos están listados en forma gráfica y numérica. Para obtener los factores de corrección se graban los espectros de emisión del componente estándar y se comparan con el espectro estándar. Con este simple método de comparación se evitan las dificultades inherentes a los procedimientos más rigurosos [36].

1.13 Conclusiones

Los hidrocarburos aromáticos policíclicos están presentes en el crudo y son altamente contaminantes, por lo que deben ser detectados oportunamente en caso de derrames y fugas en el océano.

El Fenantreno y Antraceno son compuestos utilizados para la cuantificación de contaminación por HAPs en agua de mar, debido a que presentan una mayor solubilidad en agua de mar y su eficiencia cuántica de fluorescencia puede ser utilizada para la cuantificación de la concentración de la muestra.

En México la composición del crudo extraído de los campos de explotación, tiene entre un 20 y 30% de contenido de aromáticos, incluyendo ambos compuestos Fenantreno y Antraceno.

El Fenantreno y el Antraceno absorben energía cuando son irradiados con una fuente que emite una longitud de onda de 255 nm, de acuerdo a lo reportado en artículos de referencia.

El principio de fluorescencia utilizado por el medidor óptico sólo es válido para un determinado intervalo de concentración de la muestra debido al fenómeno de auto extinción y el nivel de solubilidad de la muestra en agua de mar, así que se deben realizar pruebas para determinar los límites de concentración detectados por el medidor en función de la muestra analizada.

La normatividad extranjera indica que el límite máximo de concentración de HAPs para costas libres de contaminación es de 10 µg/L, por esta razón se deben realizar pruebas de fluorescencia con bajas concentraciones para verificar si es posible detectar ese nivel de concentración.

El medidor óptico que será implementado debe ser capaz de operar a diferentes profundidades del océano en donde se modifican las condiciones de temperatura y presión, en general al aumentar la profundidad de la muestra, la presión aumenta y la temperatura disminuye. Por lo anterior se deben realizar estudios de fluorescencia variando las condiciones de presión y temperatura.

Capítulo 2 Materiales y equipos

2.1 Introducción

En este capítulo se describe el sistema de medición, incluyendo el diseño y montaje de la fuente de corriente para alimentar el LED UV de 255 nm, la caracterización de la fuente de corriente y el LED UV y la implementación de los equipos y materiales requeridos para la realización de estudios de fluorescencia con diferentes concentraciones y modificando las condiciones de temperatura y presión.

2.2 HAPs utilizados

A partir de analizar la solubilidad y la disponibilidad de estos compuestos se determinó realizar las mediciones con dos hidrocarburos aromáticos: Fenantreno y Antraceno. Estos compuestos fueron adquiridos en el laboratorio de catálisis del IPN, con grado analítico y pureza del 98%, estos compuestos se presentan en la Tabla 2-1 que incluye el número de anillos, peso molecular y solubilidad en agua de estos compuestos [38].

Tabla 2-1 Propiedad fisicoquímica de los HAPs

| Compuesto (acrónimo) | N° de anillos | PM | Sol. agua (mg/L) |
|------------------------------|---------------|-----|------------------|
| Naftaleno (Naf) | 2 | 128 | 31 |
| Acenaftileno (AcPi) | 3 | 152 | 3.5 |
| Acenafteno (Ace) | 3 | 154 | 3.9 |
| Fluoreno (Fl) | 3 | 166 | 1.98 |
| Fenantreno (Fen) | 3 | 178 | 1.3 |
| Antraceno (Ant) | 3 | 178 | 0.073 |
| Fluoranteno (Flu) | 3 | 202 | 0.26 |
| Pireno (Pir) | 4 | 202 | 0.14 |
| Benzo(a)Antraceno (BaA) | 4 | 228 | 0.04 |
| Criseno (Cri) | 4 | 228 | 0.002 |
| Benzo(b)fluoranteno (BbF) | 5 | 252 | 0.0012 |
| Benzo(k)fluoranteno (BkF) | 5 | 252 | 6.0 E-4 |
| Benzo(a)pireno (BaP) | 5 | 252 | 0.0038 |
| Dibenzo(a,h)Antraceno (DahA) | 5 | 278 | 5.0 E-4 |
| Benzo(ghi)perileno (BghiP) | 6 | 276 | 3.0 E-4 |
| Indeno(1,2,3-cd)pireno (Ind) | 6 | 276 | 0.053 |

El nivel de solubilidad del Fenantreno en agua de mar es de 0.644 mg/L a condiciones normales de presión y temperatura (1 atm y 25 °C), por esta razón se trabajaron muestras con niveles de concentración por debajo de 0.6 mg/L para que fuera posible disolver las muestras [39].

Para realizar los experimentos se prepararon muestras iniciales disolviendo el Fenantreno y Antraceno con agua bidestilada, obtenida de un filtro Milli-Q, sistema millipore. Posteriormente se realizaron pruebas con agua de mar artificial.

De acuerdo a la literatura reportada la solubilidad del Fenantreno disminuye cuando se utiliza agua salada en lugar de agua dulce, el valor de solubilidad del Fenantreno es de 0.644 mg/L [39] y para el Antraceno no se encontró el valor de solubilidad en agua salada. Por lo anterior se propuso realizar una disolución del Fenantreno y Antraceno en una solución de Metanol el cual es un solvente orgánico capaz de disolver compuestos químicos orgánicos.

La Figura 2-1 indica la estructura molecular del Antraceno y Fenantreno en donde se aprecian los tres anillos característicos de cada compuesto.

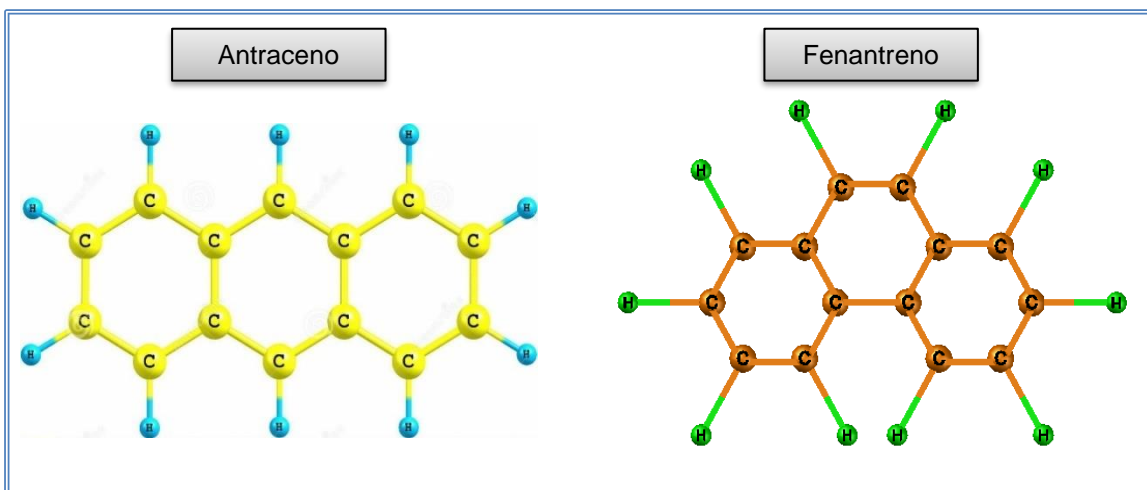


Figura 2-1 Estructura molecular de Antraceno y Fenantreno

2.3 Sustituto de agua de océano

Para la preparación de agua de mar artificial se prepararon dos litros de sustituto de agua de mar de acuerdo al estándar para la preparación de sustituto de agua de océano ASTM D-1141-98 [40], utilizado para pruebas de laboratorio donde se requiere evaluar la

contaminación de petróleo. Las principales sales minerales utilizadas se encuentran listadas en la Tabla 2-2. Para la preparación del sustituto de agua de mar, se mezclaron las cantidades de sales minerales y se disolvieron en un litro de agua bidestilada.

Tabla 2-2 Sales minerales de sustituto de agua de océano

| Sales Minerales | g/L |
|---------------------------------|-------|
| NaCl | 24.53 |
| MgCl ₂ | 5.20 |
| Na ₂ SO ₄ | 4.09 |
| CaCl ₂ | 1.16 |
| KCl | 0.695 |
| NaHCO ₃ | 0.201 |
| KBr | 0.101 |

2.4 Preparación de las muestras

Los experimentos para la detección de HAPs en agua de mar se realizaron primero disolviendo Antraceno y Fenantreno en agua bidestilada de laboratorio, para saber si estas muestras fluorescen con agua bidestilada y establecer los parámetros tales como tiempo de integración configurado en el espectrómetro QE-65000, irradiancia requerida para excitar la muestra, entre otros. Estos valores sirvieron como base para los experimentos realizados con agua de mar artificial.

Para poder disolver las muestras de Antraceno y Fenantreno en agua de mar artificial se utilizó un solvente orgánico que no interfiere con la fluorescencia de estos compuestos.

El agua es un elemento polar que únicamente disuelve sustancias polares, mientras que el Antraceno y Fenantreno son sustancias apolares que sólo se disuelven en solventes apolares, es decir en solventes orgánicos.

Las moléculas polares y no polares son tipos de uniones covalentes en las que dos o más átomos comparten electrones hasta tener ambos ocho en su último orbital. Las polares se dan entre elementos con distinta electronegatividad o capacidad de atraer electrones, como ocurre por ejemplo en el caso del H₂O (agua). Las no polares se dan entre átomos del mismo elemento, ya que tienen igual electronegatividad. Un ejemplo de ellas es el oxígeno O₂[41].

Se utilizó Metanol (alcohol metílico) como solvente orgánico para la disolución inicial del Fenantreno y Antraceno, posteriormente se realizaron las disoluciones con agua de mar artificial a diferentes concentraciones. La Figura 2-2 muestra el compuesto utilizado para realizar la solución madre donde se puede apreciar el número CAS 67-56-1 y su grado de pureza mayor que 99.8%. Las propiedades físicas del Metanol son densidad 0.7918 g/cm^3 , masa molar de 32.04 g/mol y es totalmente soluble en agua [42].

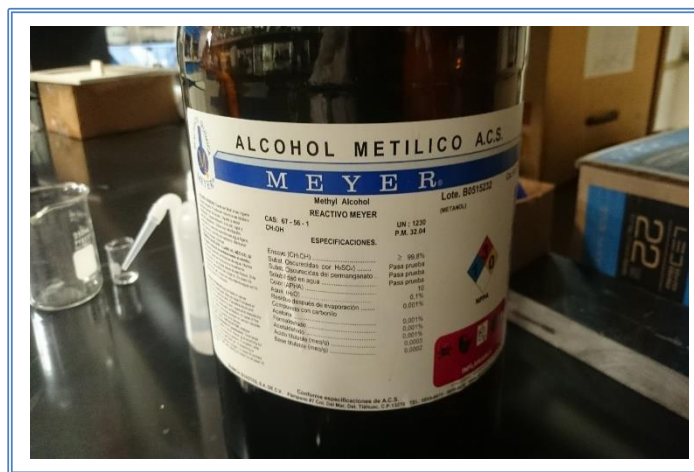


Figura 2-2 Alcohol metílico para realizar la solución madre

Después se realizaron pruebas para verificar que los espectros de fluorescencia del Metanol, Fenantreno y Antraceno no interfieren entre ellos, la Figura 2-3 muestra las intensidades de fluorescencia de cada uno de los compuestos y donde se puede apreciar la intensidad de fluorescencia correspondiente al LED UV de 255 nm para todas las mediciones, seguido de la intensidad de fluorescencia del Metanol en el intervalo de 260 a 360 nm, después se observa el espectro de fluorescencia del Fenantreno en el intervalo de 320 a 430 nm y finalmente el espectro de fluorescencia del Antraceno en el intervalo de 360 a 470 nm, por lo que se aprecia que la fluorescencia del Metanol tiene un mínimo solapamiento con la fluorescencia del Fenantreno en el intervalo de 330 nm hasta 360 nm.

Los parámetros utilizados para la obtención de estos espectros son: Metanol con una concentración de 10 mg/L , Fenantreno y Antraceno en concentraciones desde $1 \text{ } \mu\text{g/L}$ hasta $13 \text{ } \mu\text{g/L}$, sistema de radiación con LED UV de 255nm, fuente de corriente con 160mA, potencia óptica de radiación de 2.5 mW, y tiempo de integración de 5 s.

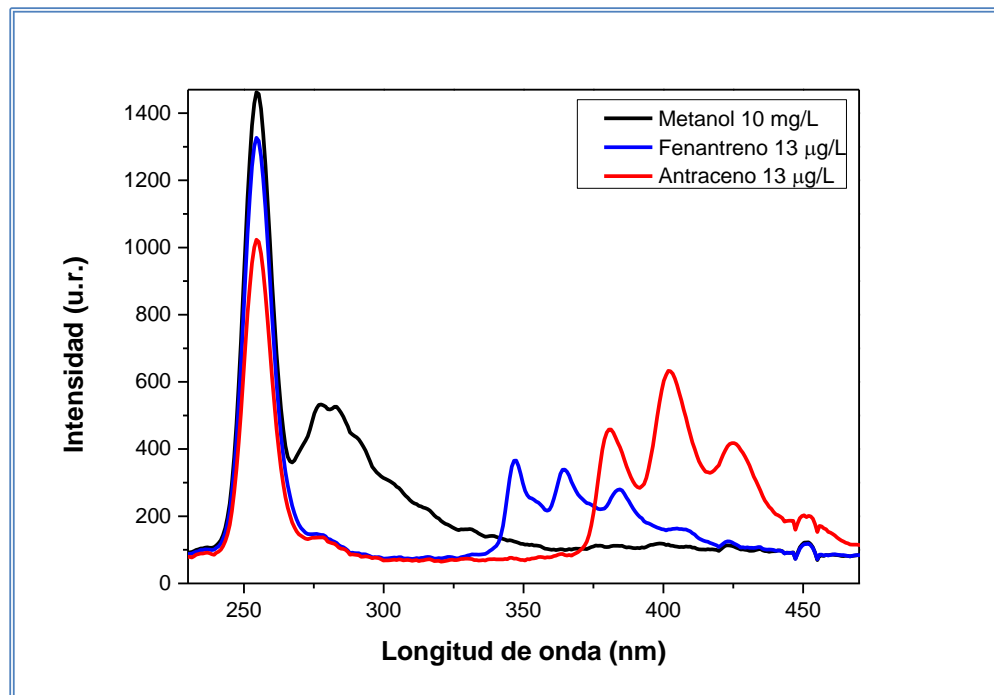


Figura 2-3 Fluorescencia de Metanol, Fenantreno y Antraceno

Como se observa en la Figura 2-3, la fluorescencia del Metanol no interfiere con la fluorescencia del Fenantreno y del Antraceno, para el caso del Fenantreno el espectro de fluorescencia se encuentra en el intervalo de los 325 nm hasta 420 nm, mientras que para el Antraceno su espectro comienza a partir de los 360 nm hasta 460 nm. Para el caso del Fenantreno la emisión máxima se presenta en 340 nm, mientras que para el Antraceno está en 405 nm.

2.5 Equipo para estudio de fluorescencia variando la concentración a presión y temperatura ambiental

Para la obtención de las curvas de calibración del Fenantreno y Antraceno el equipo de laboratorio utilizado fue el siguiente:

- Espectrómetro QE65000 Ocean Optics
- Sistema de radiación (fuente de corriente, LED 255 nm, portacubeta, fibra óptica y cubeta de cuarzo)
- Software de adquisición de espectros “*Laboratory Virtual Instrument Engineering Workbench*” (LabVIEW)
- Agitador sónico

- Horno de secado
- Agua bidestilada
- Matraz aforado
- Micropipeta
- Pizeta
- Termómetro
- Balanza analítica

En la Figura 2-4 se muestran los principales componentes del sistema de medición en laboratorio para la detección de fluorescencia de HAPs en agua de mar artificial. Este sistema tiene como fuente de luz un diodo emisor de luz ultravioleta cuyo espectro tiene un ancho de banda de 9 nm, lo que es suficiente para estudios de fluorescencia, con esto se evita el uso de fuentes de luz de amplio espectro (lámparas de Xenón) con filtros y/o monocromadores para seleccionar la luz de excitación, que normalmente son voluminosos y no permitirían la portabilidad del sistema.

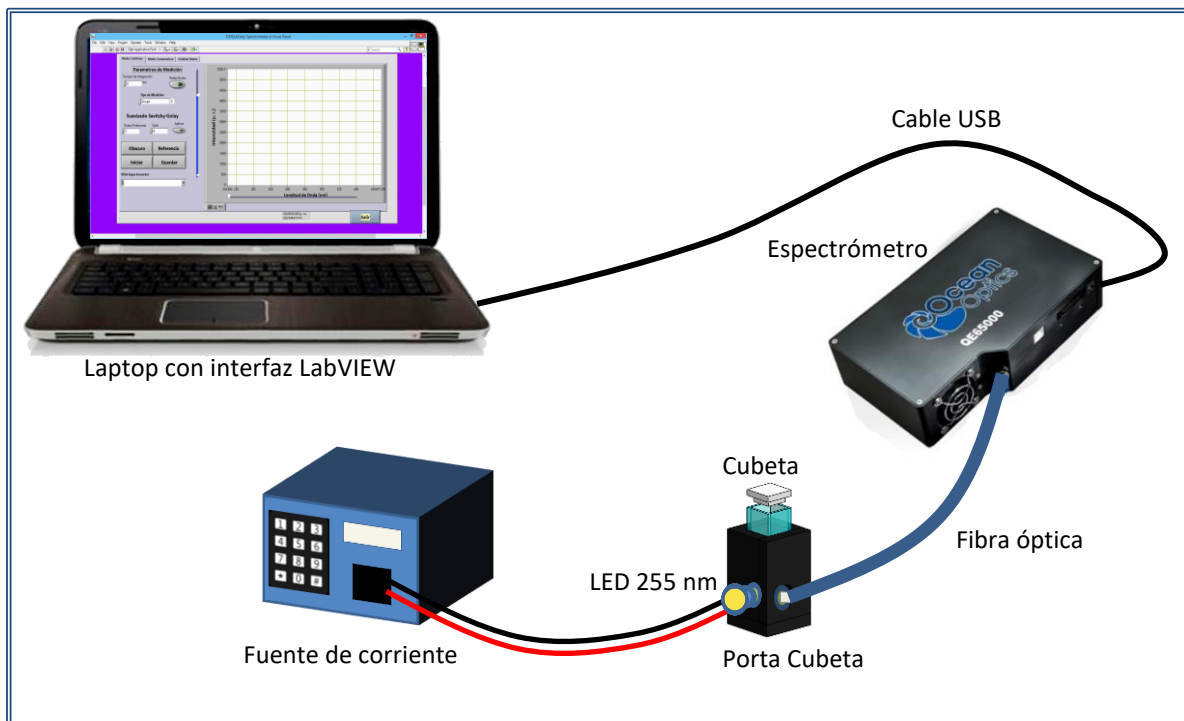


Figura 2-4 Sistema óptico para la medición de fluorescencia en laboratorio

El detector del espectrómetro es un CCD (*Charge Coupled Device*), con el cual se puede medir el espectro completamente sin necesidad de realizar un barrido a través del intervalo de longitudes de onda que se desee medir.

El espectrómetro utilizado es de la marca Ocean Optics modelo QE-65000, el cual tiene una alta sensibilidad a la luz Ultra Violeta (UV) con las siguientes características:

- Detector CCD Hamamatsu S7031-1006 con 1044 x 64 pixeles
- “*Analog to Digital Converter*” (ADC) de 16 bits
- Intervalo de medición: 200-1200 nm
- Tiempo de Integración: 8 ms-10 min
- Resolución óptica de 2 nm
- Bajo consumo de potencia: 250 mA, 5V DC
- Interfaces: USB (“*Universal Serial Bus*”) 2.0 “*High Speed*” (480 Mbps), RS-232 (115 kbaud), SPI (“*Serial Peripheral Interface*”) e I²C (“*Inter-Integrated Circuit protocol*”)
- Abertura de entrada 1 mm X 10 μ m
- Cuenta con un TEC (“*Termo Electric Cooler*”) para mantener baja la corriente oscura
- Dimensiones: 182 mm x 110 mm x 47 mm
- Peso: 1.18 kg

El espectrómetro tiene una abertura de 1 mm X 10 μ m y la luz a medir se acopla por medio de una fibra óptica, una vez dentro del dispositivo, el haz de luz es colimado por medio de un espejo y se envía hacia una rejilla de difracción, encargada de separar el haz de luz incidente en las diferentes longitudes de onda que lo componen. Después, cada componente de diferente longitud de onda (λ) es concentrado en una zona específica del CCD (Dispositivo de Acoplamiento de Carga), el cual está formado por 1044 x 64 pixeles. Cada pixel es un dispositivo semiconductor fotosensible que tiene incorporado un capacitor al que se le aplica un potencial eléctrico positivo. El electrón liberado cuando un fotón incide sobre el fotodetector, será almacenado en el capacitor, el cual puede almacenar tanta carga como su capacidad lo permita, sin embargo, una práctica común en los espectrómetros es determinar un tiempo de integración, el cual impondrá un límite en el almacenamiento de carga. Una vez finalizado dicho tiempo de integración, la carga almacenada en el capacitor de cada pixel de cada columna será desplazada, en el caso de un CCD de abajo hacia arriba, por medio de la aplicación de secuencias ordenadas de potencial a un registro de corrimiento serial, para que la carga total de cada columna sea convertida en voltaje y este último digitalizado y enviado a la computadora. Dicho voltaje será una medida del flujo de fotones incidentes en esa columna del CCD y por la óptica del espectrómetro, cada columna

estará asociada a una longitud de onda. Una vez enviado el espectro medido, se reinicia el conteo de fotones utilizando la metodología descrita arriba.

La computadora portátil se utiliza para capturar los espectros de fluorescencia obtenidos por el espectrómetro. La interfaz fue desarrollada en LabVIEW y su función es mostrar, guardar y grabar los espectros de fluorescencia generados por el espectrómetro, la interfaz tiene un control para introducir el tiempo de integración y un filtrado para suavizar el espectro a través de un promediador de señal.

Para realizar las mediciones se utiliza un portacubeta encargado de fijar la cubeta de cuarzo que contiene la muestra. El portacubeta está diseñado de tal forma que en una pared se incluye un conector “*Sub Miniature versión A*” (SMA) para transmitir la fluorescencia por medio de una fibra óptica hacia el espectrómetro y la otra pared localizada en ángulo recto tiene un orificio para introducir el LED de excitación de la muestra.

La fuente de corriente utilizada genera una salida con corriente estable utilizada para alimentar el LED de excitación. Esta fuente permite seleccionar el valor de corriente que será entregado para el LED de 255 nm. El valor de corriente máximo que soporta el LED es de 160 mA.

La fibra óptica utilizada para detectar la fluorescencia tiene un canal con un diámetro de 400 μm , trabaja en un intervalo de 200 nm - 1100 nm y tiene una apertura numérica de 0.22, equivalente a un ángulo de 12.7° en el aire.

2.6 Diseño y montaje de fuente de corriente

De acuerdo a la información en la hoja de datos del fabricante del LED UV de 255 nm, se requiere utilizar una fuente de corriente para garantizar la correcta operación y funcionamiento del LED, por esa razón se realizó el diseño y montaje de una fuente de corriente regulada por voltaje. En el apéndice A se muestra el diagrama eléctrico de la fuente de corriente con display para la selección de potencia. La fuente de alimentación eléctrica desarrollada para el LED de 255 nm, es una fuente de corriente regulada por voltaje, los componentes utilizados para construir la fuente son:

- Microcontrolador (PIC-16F876A)
- Convertidor digital analógico de 12 bits (LTC-1257)

- Convertidor DC-DC (RCD-24-PL)
- Regulador de voltaje (LM-7805)
- Circuito integrado de voltaje de referencia (REF-02)
- Transistor (2N-3904)
- Teclado de 3X4
- Pantalla de cristal líquido LCD de 16X2
- Caja fenólica

La fuente de corriente tiene un display para ingresar el valor de la corriente que será suministrado hacia el LED UV, una vez que ha sido seleccionado el valor de la corriente, se calcula el voltaje para regular la fuente de corriente a través de una dependencia lineal entre la corriente de salida y el voltaje aplicado acorde a la ecuación (2-1).

$$y = mx + b \quad (2-1)$$

Donde:

y Es el valor de corriente

x Es el valor de voltaje

m Es la pendiente de la recta

b Es el punto de intersección de la recta con el eje vertical en el plano

El convertidor DC-DC (RCD-24-PL) ha sido diseñado para alimentar dispositivos LEDs de alto consumo de corriente ya que funciona como una fuente de corriente constante reductora. Este dispositivo se polariza en un intervalo de 6 - 36 VCD y envía a su salida una corriente de 0 - 1 A, también tiene una entrada de control analógico para regular la salida de corriente. El dispositivo encargado de enviar la señal de control hacia el convertidor DC-DC (RCD-24-PL) es el convertidor Digital Analógico de 12 bits (DAC LTC-1257). En la Figura 2-5 se presenta la gráfica del voltaje de control que utiliza para entregar a la salida de la fuente un valor determinado de corriente.

En el Apéndice B se muestra el programa desarrollado en el programa PIC-C Compiler para la programación del PIC-16F876A. El valor utilizado para programar la salida del

microcontrolador y generar el código que posteriormente se envía hacia el convertidor digital analógico está dado por la ecuación (2-6).

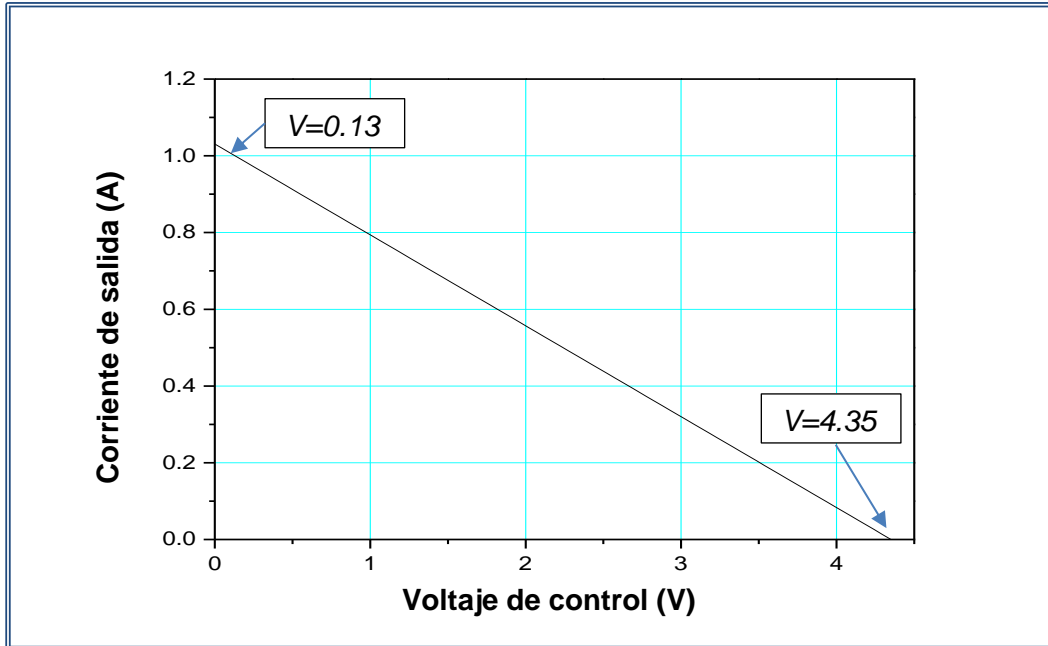


Figura 2-5 Voltaje de control de la fuente de corriente

Cuando el valor de la corriente es cero, el voltaje de salida es de 4.35 V así que el valor de b queda como la ecuación (2-2):

$$b = -m(4.35) \quad (2-2)$$

Cuando el voltaje es 0.13 V, el valor de la corriente es de 1 A, por lo tanto b queda como la ecuación (2-3):

$$b = 1 - m(0.13) \quad (2-3)$$

Sustituyendo (2-3) en (2.2) y calculando m se obtiene la ecuación (2-4):

$$m = \frac{1}{(-4.35 + 0.13)} = -0.2369 \quad (2-4)$$

Sustituyendo m en (2.2) y calculando b se obtiene la ecuación (2-5):

$$b = -(-0.2369)(4.2) = 1.0308 \quad (2-5)$$

Finalmente la ecuación de regulación de voltaje en función de la corriente queda como la ecuación (2-6):

$$\text{Voltaje} = \frac{\text{Corriente} - 1.0308}{-0.2369} \quad (2-6)$$

La corriente máxima de operación del LED UV es de 160 mA, este valor está configurado en el programa del PIC-16F876A, para no ser rebasado y garantizar que el LED UV opere bajo condiciones normales de voltaje entre 5 - 15 V y de corriente entre 0 - 160 mA.

El DAC (LTC-1257) tiene una resolución de 12 bits y se pueden obtener 2^n combinaciones es decir $2^{12}=4096$. La fórmula para calcular el código del voltaje generado por el DAC (LTC-1257) se indica en la ecuación (2-7), con un valor de V_{REF} de 5 VCD.

$$\text{Código} = \frac{\text{Voltaje} \times 2^{12}}{V_{REF}} \quad (2-7)$$

La resolución de la fuente es de 5 VCD entre 4095 pasos ($2^{12}-1$), quedando como 1.22 mV, en la Tabla 2-3 se indican los valores de corriente en un intervalo de corriente de 10 – 160 mA y los códigos generados por el microcontrolador para generar el voltaje de control de la fuente de corriente hacia el (DAC LTC-1257). El valor de voltaje se obtiene de sustituir la corriente en la ecuación (2.6) y el código se obtiene de la ecuación (2.7).

En la Figura 2-6 se muestran las mediciones obtenidas durante un periodo de dos minutos con muestras tomadas cada cinco segundos y se incluyen los valores promedio y la desviación estándar para cada medición. La máxima desviación estándar es de 0.06 mA y la mínima es de 0.01 mA, el intervalo de corriente de 10 a 160mA representa el valor de corriente de operación del LED UV de 255 nm.

Tabla 2-3 Códigos programados en el microcontrolador

| No. | Corriente (mA) | Voltaje (V) | Código |
|-----|----------------|-------------|--------|
| 1 | 10 | 4.31 | 3530 |
| 2 | 20 | 4.27 | 3495 |
| 3 | 30 | 4.22 | 3461 |
| 4 | 40 | 4.18 | 3426 |
| 5 | 50 | 4.14 | 3392 |
| 6 | 60 | 4.1 | 3357 |

| No. | Corriente (mA) | Voltaje (V) | Código |
|-----|----------------|-------------|--------|
| 7 | 70 | 4.05 | 3322 |
| 8 | 80 | 4.01 | 3288 |
| 9 | 90 | 3.97 | 3253 |
| 10 | 100 | 3.93 | 3219 |
| 11 | 110 | 3.89 | 3184 |
| 12 | 120 | 3.84 | 3150 |
| 13 | 130 | 3.8 | 3115 |
| 14 | 140 | 3.76 | 3080 |
| 15 | 150 | 3.72 | 3046 |
| 16 | 160 | 3.68 | 3011 |

Posteriormente se realizaron pruebas de medición de corriente durante 20 minutos para probar la estabilidad de la fuente en un periodo de operación continua y se obtuvo la siguiente gráfica de la Figura 2-7.

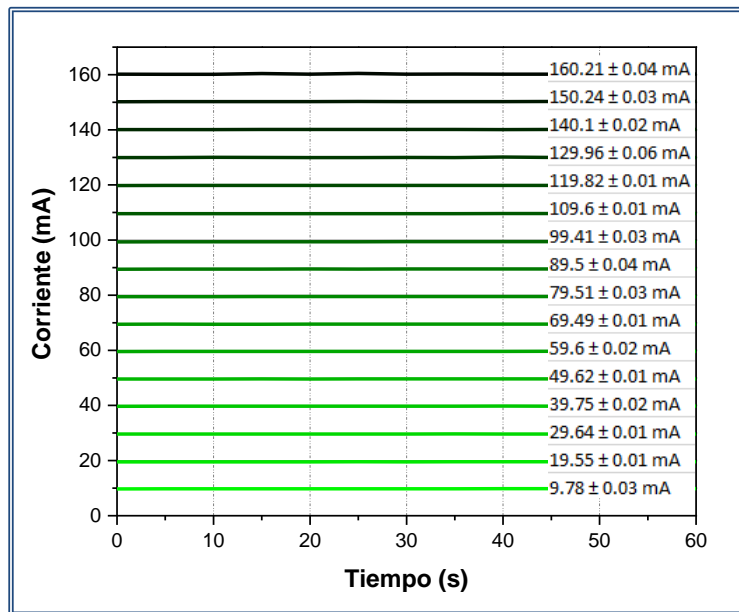


Figura 2-6 Medición de corriente durante un minuto

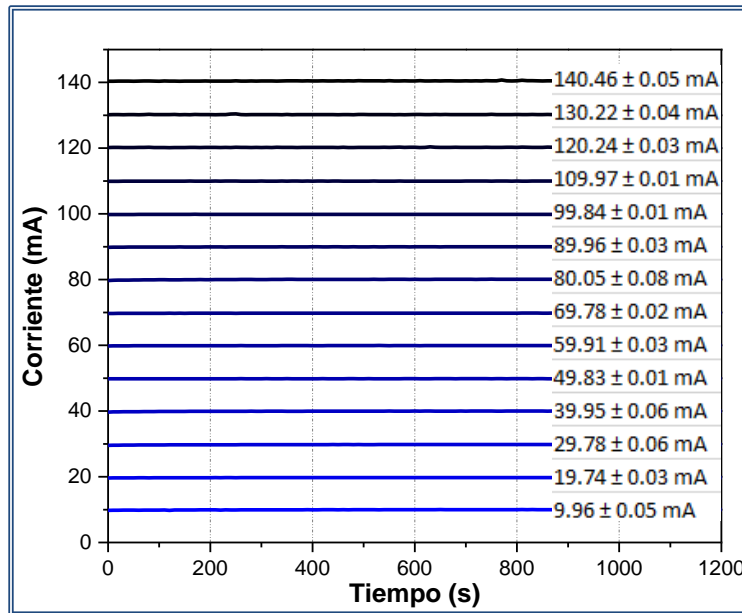


Figura 2-7 Medición de corriente durante veinte minutos

En la Figura 2-7 se observa que la mínima desviación estándar es de 0.01 mA y la máxima es de 0.08 mA, lo cual garantiza que el LED estará protegido al no sufrir variaciones de corriente y la potencia radiante emitida será suficientemente estable.

La simulación en el software Proteus y el diseño final de la fuente de corriente construida se indican en la Figura 2-8 y en la Figura 2-9 respectivamente.

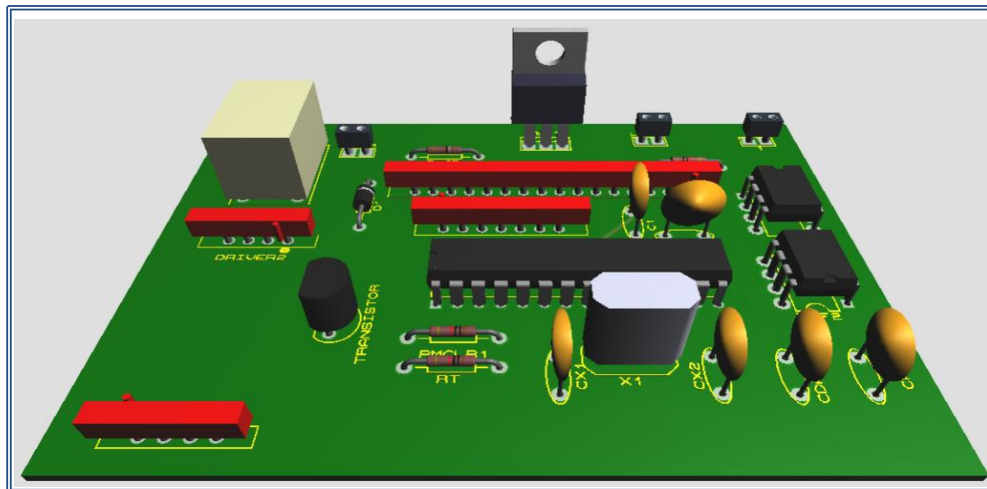


Figura 2-8 Simulación 3D de la placa del circuito impreso de la fuente de corriente

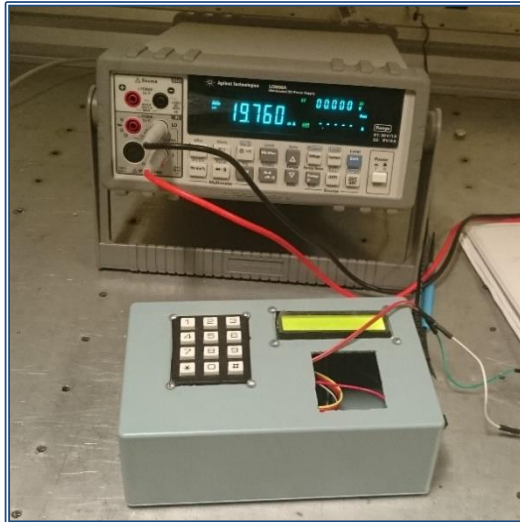


Figura 2-9 Montaje de la fuente de corriente

Después de caracterizar la fuente de corriente se procede a caracterizar el LED UV para obtener el valor máximo de irradiación con el que serán excitadas las muestras.

2.7 Caracterización de potencia óptica del LED de 255 nm

La caracterización de la potencia óptica del LED de 255 nm, se realizó con un medidor y un sensor de potencia térmico de la marca Thorlabs, modelo S302C. La Figura 2-10 indica la vista panel frontal del medidor.

En la Figura 2-11 se presenta la irradiancia emitida y el nivel de corriente en mA para el LED UV de 255 nm, estos valores se obtuvieron colocando el sensor de potencia térmico, una placa de cuarzo y el LED de 255 nm. Para obtener la gráfica se obtuvieron cien puntos de medición por cada valor de corriente, después se promediaron los valores medidos, incluyendo la incertidumbre asociada. El software utilizado para realizar las mediciones fue proporcionado por el fabricante Thorlabs y se denomina “PM100-PM200 Utility”.



Figura 2-10 Vista frontal del medidor

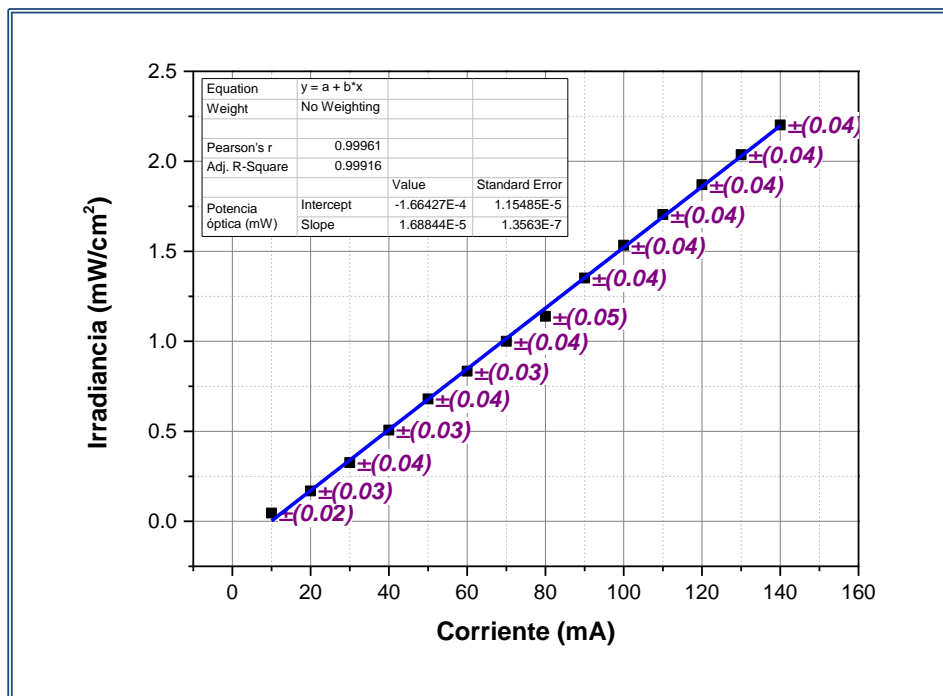


Figura 2-11 Corriente vs Potencia óptica del LED de 255 nm

En esta gráfica se puede apreciar que la máxima desviación estándar corresponde al valor de 0.05 mW/cm² y el valor mínimo es de 0.02 mW/cm², las variaciones son atribuidas principalmente por el aumento de temperatura del LED UV y el tiempo de estabilización requerido por el sensor térmico para realizar la medición. Se observa que las mediciones se ajustan a una recta con un valor “R² ajustado” mayor de 0.999.

2.8 Equipo para estudio de fluorescencia variando la temperatura a presión ambiental y concentración constante

Para realizar los estudios del comportamiento de la fluorescencia dependiendo de la temperatura, se utilizó el equipo de medición del numeral 2.5 y adicionalmente el siguiente equipo de laboratorio:

- Dilución de Fenantreno/Antraceno en agua de mar artificial
- Micropipeta
- Piseta (Matraz de lavado)
- Termómetro
- Matraz aforado
- Vaso refrigerante
- Sistema de regulación de temperatura
- Sistema de agitación con bala magnética

En la Figura 2-12 se muestra el equipo utilizado para realizar los experimentos para el estudio de fluorescencia variando la temperatura y manteniendo la presión y concentración constantes.

El intervalo de temperatura utilizado para realizar estas pruebas fue de 4 °C hasta 26 °C, con incrementos de 2 °C. Con este intervalo se pretende cubrir diferentes niveles de profundidad, donde la temperatura disminuye a medida que aumenta la profundidad debido a una menor radiación solar que incide sobre la superficie del mar. El valor de 4 °C corresponde con el nivel de temperatura reportado en la literatura para una profundidad de 1400 m bajo el nivel del mar. [19]

El sistema utilizado para regular la temperatura es un sistema de refrigeración de recirculación de la marca Polyscience modelo 1160-A, para trabajar en un intervalo de temperatura desde -20 hasta 40 °C.

El sistema de agitación utilizado fue de la marca Corning modelo PC-320, que permite obtener desde 60 hasta 1100 rpm.

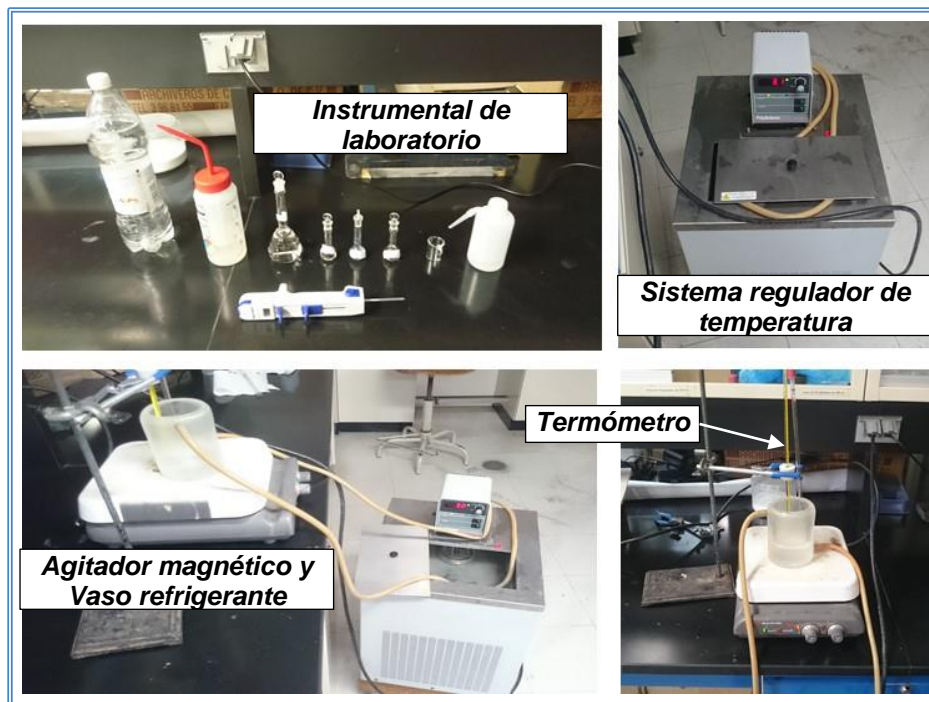


Figura 2-12 Sistema de regulación de temperatura y agitación magnética

2.9 Equipo para estudio de fluorescencia variando la presión a temperatura ambiental y concentración constante

Para realizar los estudios de fluorescencia variando la presión se utilizó el equipo de medición del numeral 2.5 y se construyó un sistema para simular diferentes presiones en el intervalo de 6 hasta 22 psig con incrementos de 2 psig. El equipo utilizado fue el siguiente:

- Disolución de Fenantreno/Antraceno en agua de mar artificial
- Sistema de presurización
- Sistema de agitación con bala magnética

En la Figura 2-13 se muestra el equipo utilizado para realizar los experimentos para el estudio de fluorescencia variando la presión a temperatura ambiente y concentración constante.

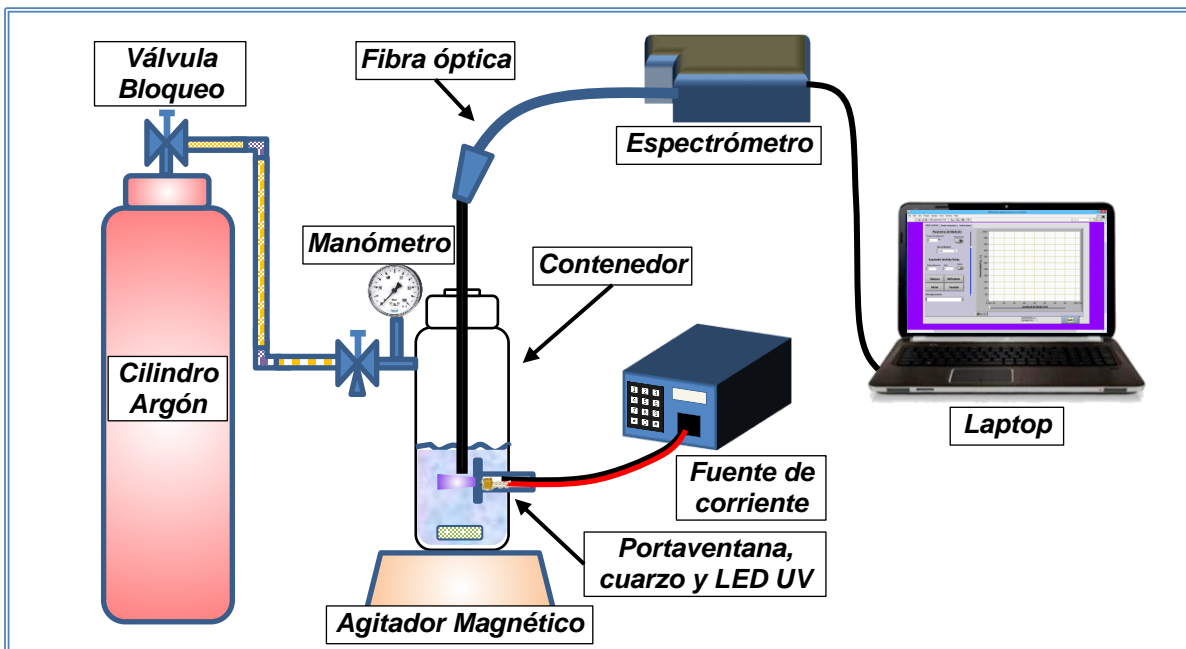


Figura 2-13 Sistema presurizado para estudio de fluorescencia

Para desarrollar este sistema se utilizó un recipiente capaz de soportar hasta 30 psi, este recipiente fue diseñado para presurizar el sistema con un gas inerte (Argón) y poder excitar la muestra con el LED de 255 nm a través de una ventana de cuarzo.

El sistema incluye en la tapa del contenedor un sistema de inserción de fibra óptica con un barril roscado utilizado para sellar el contenedor sin degollar la fibra al momento de roscar la tapa.

La fibra óptica se utiliza para capturar la radiación de fluorescencia dentro de la muestra y llevarla hacia el espectrómetro QE-65000. El diámetro de la fibra es de 600 μm , tiene un extremo de acero inoxidable en contacto con la muestra y otro extremo con un conector SMA para interconectar la fibra con el espectrómetro QE-65000. La Figura 2-14 muestra el diseño y el montaje final de la fibra óptica.

La fibra óptica fue diseñada y adaptada específicamente para realizar las pruebas de fluorescencia dentro del contenedor presurizado por lo que será necesario posteriormente realizar pruebas para verificar si la fibra óptica presenta fluorescencia al ser radiada con el LED UV.

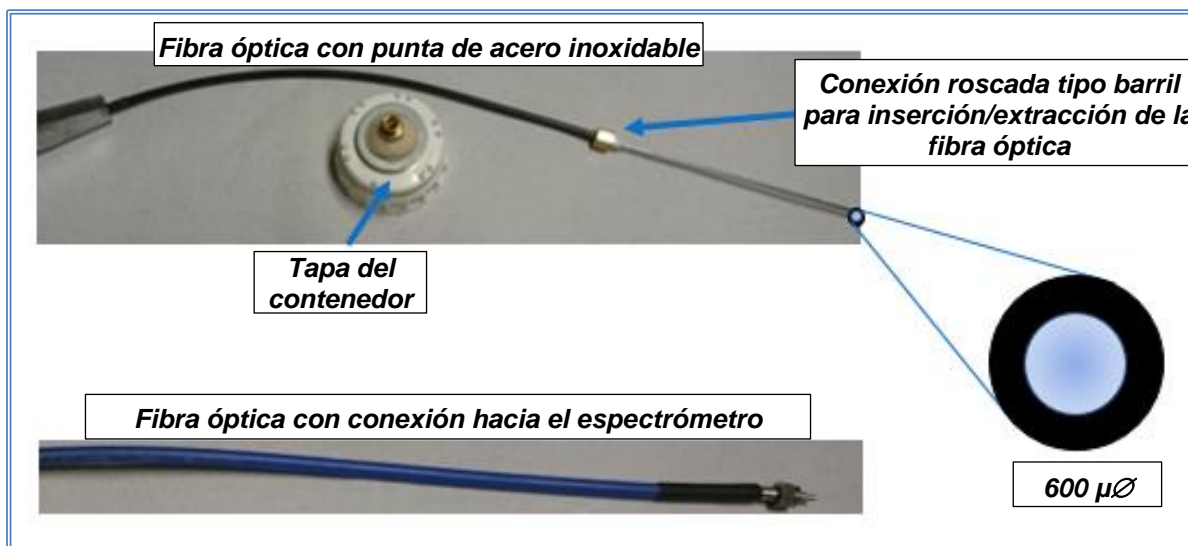


Figura 2-14 Diseño y montaje final de la fibra óptica

Se diseñó en Solidworks™ un portaventana de latón para irradiar la muestra directamente con el LED UV. El portaventana tiene un diámetro interno de 1 cm para insertar dentro un casquillo de aluminio con el LED UV. La ventana de cuarzo es de 2 mm de espesor y es adecuada para soportar una presión neta de 248 psig dentro del contenedor [43], la irradiancia medida con la ventana de cuarzo fue de 1.9 mW/cm². La Figura 2-15 muestra el diseño final y una vista del portaventana dentro del contenedor.



Figura 2-15 Diseño y montaje del portaventana de cuarzo

2.10 Conclusiones

Aunque el Fenantreno y Antraceno son más solubles que otros compuestos aromáticos en el agua de mar, se tuvo que utilizar un solvente orgánico (Metanol) para obtener una

solución madre y diluir las muestras en agua de mar artificial. Se comprobó que la fluorescencia del solvente orgánico Metanol, utilizado para preparar la solución madre, no interfiere con los espectros de fluorescencia del Fenantreno y Antraceno.

Se realizó el diseño y montaje de una fuente de corriente, para la alimentación del LED UV de 255 nm. Las pruebas de caracterización de la fuente muestran que esta entrega valores estables de corriente y por lo tanto se mantiene constante la emisión del LED UV.

Se realizó la programación del microcontrolador de la fuente de corriente, para obtener diferentes valores de corriente y proteger el LED UV sin rebasar el límite de corriente máximo establecido por el fabricante.

Se caracterizó la irradiancia del LED UV de 255 nm con diferentes valores de corriente.

Se observó que la intensidad de fluorescencia máxima de las muestras se obtiene con una irradiancia de 2.5 mW/cm^2 , en la cubeta de cuarzo y de 1.9 mW/cm^2 en la ventana de cuarzo de 2 mm de espesor.

Se realizó el montaje experimental para desarrollar las pruebas de fluorescencia variando la temperatura a presión ambiental y concentración constante. Los resultados se muestran en el capítulo 4.

Se realizó el diseño y montaje de un sistema presurizado para desarrollar pruebas de fluorescencia variando la presión a temperatura ambiente y concentración constante. Los resultados se muestran en el capítulo 5.

Capítulo 3 Medición de Fluorescencia del Fenantreno y el Antraceno en agua de mar artificial con diferentes concentraciones a presión y temperatura ambiente

3.1 Introducción

En este capítulo se muestran los espectros del Fenantreno y Antraceno diluidos en agua bidestilada, también se indican los límites de detección obtenidos con este sistema basado en el principio de fluorescencia, así como los resultados de la cuantificación de fluorescencia y las conclusiones de las pruebas de fluorescencia con diferentes concentraciones a presión y temperatura ambiente.

3.2 Medición de fluorescencia en agua bidestilada

Inicialmente se realizaron pruebas en el laboratorio de Catálisis de Materiales donde se prepararon muestras del Fenantreno y el Antraceno para detectar la emisión de fluorescencia cuando son excitados con el LED de 255 nm. En la Figura 3-1 se muestra una gráfica donde se aprecian ambos espectros de fluorescencia del Fenantreno y el Antraceno diluidos en agua bidestilada a una concentración de 0.4 mg/L, el tiempo de integración configurado en el espectrómetro es de 5 segundos y la irradiancia es de 2.5 mW/cm². Las pruebas se realizaron manteniendo constantes la presión ambiental de 10.3 psi y la temperatura de 22 °C.

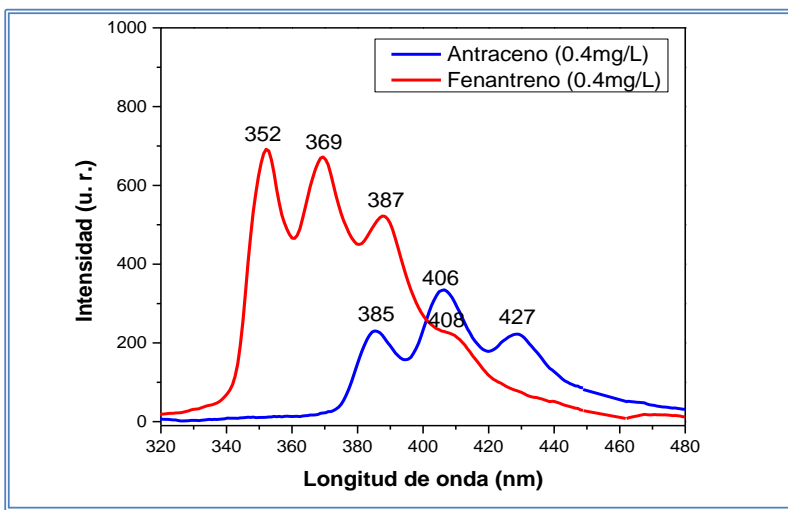


Figura 3-1 Emisión de fluorescencia del Fenantreno y el Antraceno

En la gráfica anterior se aprecia que el Fenantreno presenta cuatro picos con intensidad de fluorescencia en los 352, 369, 387, y 408 nm, mientras que en el caso del Antraceno presenta tres picos con intensidad de fluorescencia en 385, 406 y 427 , esta información podría ser útil para realizar futuros experimentos con mezclas entre ambos compuestos y poder utilizar el valor de emisión de fluorescencia máximo del Pico 1 del Fenantreno el cual no interfiere con el máximo valor de fluorescencia de Antraceno en el Pico 2.

3.3 Valor máximo de fluorescencia del Fenantreno y el Antraceno

Existen factores que afectan la linealidad de la fluorescencia de la muestra entre ellos se encuentra la composición química de la muestra, la distancia que atraviesa la luz en el medio y la reducción de la fluorescencia debido a una alta concentración de la muestra [44]. La probabilidad que esto suceda aumenta conforme aumenta la concentración como se muestra en la Figura 3-2 para el Fenantreno y Antraceno. Para obtener estos resultados se prepararon diluciones de Fenantreno/Antraceno en agua de mar artificial a las siguientes concentraciones: 0.1, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, y 1 mg/L, las muestras fueron irradiadas con el LED de 255 nm, con una irradiancia de 2.5 mW/cm², con un tiempo de integración de 5 segundos, las mediciones se tomaron a presión ambiental de 10 psi y temperatura de 21 °C.

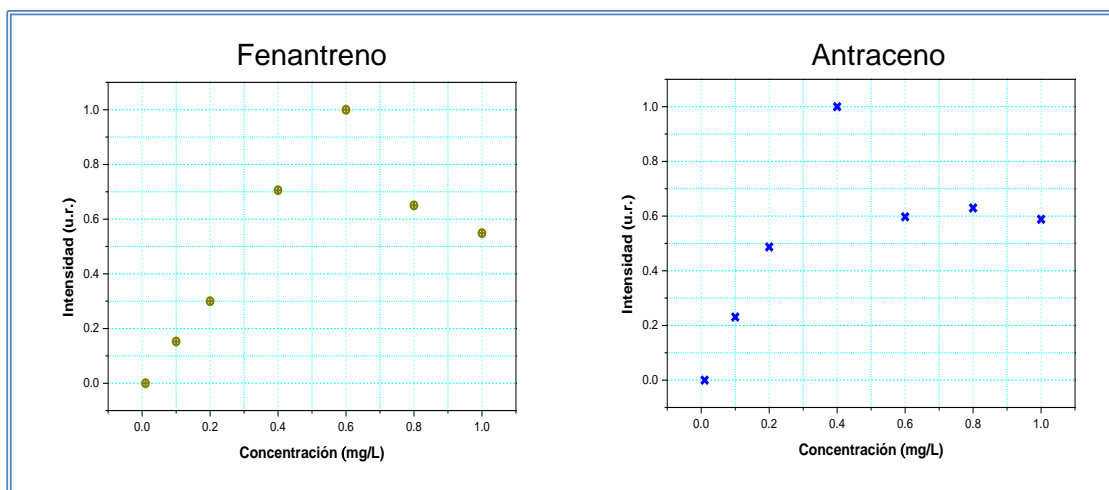


Figura 3-2 Valor máximo de fluorescencia del Fenantreno y del Antraceno a diferentes concentraciones

En la gráfica anterior se observa que el valor máximo de intensidad de fluorescencia en el Fenantreno se obtiene aproximadamente para concentraciones de 0.6 mg/L lo cual concuerda con lo indicado en la literatura para el nivel de solubilidad del Fenantreno en

agua de mar que es de 0.644 mg/L, a condiciones normales de presión y temperatura [39], mientras que para el caso del Antraceno el nivel de emisión máximo de fluorescencia se encuentra alrededor de 0.4 mg/L, en ambos casos se busca obtener resultados a bajas concentraciones para poder detectar niveles de concentración establecidos en la normatividad, que son del orden de 10 µg/L, por lo anterior se realizaron pruebas para encontrar el nivel mínimo de detección y validar la posibilidad de que este instrumento pueda ser utilizado en aplicaciones para la detección de fugas de crudo en zonas costeras.

3.4 Medición de fluorescencia del Fenantrano y el Antraceno en agua de mar artificial con diferentes concentraciones a presión y temperatura ambiente

Para poder observar el comportamiento de la fluorescencia en las condiciones en que se encuentra la muestra en las costas del Golfo de México, primero se realizaron experimentos en laboratorio con agua de mar artificial a presión y temperatura constantes los materiales y equipos utilizados para realizar estos experimentos se encuentran listados a continuación:

- Espectrómetro QE65000 Ocean Optics
- Sistema de radiación (fuente de corriente, LED 255nm, portacubeta, fibra óptica y cubeta de cuarzo)
- Software de adquisición de espectros LabVIEW
- Matraz aforado
- Agitador
- Horno de secado
- Agua bidestilada
- Agua de mar artificial
- Micropipeta
- Termómetro
- Balanza analítica

En primer lugar, se realizó la preparación de agua de mar artificial, mezclando 1 L de agua bidestilada con las sales de la Tabla 2-2, donde cada una de las sales fueron pesadas en la balanza analítica del laboratorio de química.

Para la preparación de la disolución madre en la balanza analítica se pesó 1 mg de Fenantreno y se disolvió dentro de un matraz aforado de 100 mL de Metanol, después se agitó la muestra durante 10 minutos, al final se obtuvo una concentración de 10 mg/L. El mismo procedimiento se realizó para obtener la misma concentración de la solución madre de Antraceno.

A continuación, se realizaron las diluciones tomando la solución madre y el agua de mar artificial previamente preparada, para ello se calculó el volumen V_1 de solución madre requerido para preparar las diluciones utilizando una concentración fija C_1 de 10 mg/L diluida en agua de mar artificial en un volumen fijo V_2 de 10 mL, para obtener las concentraciones C_2 en los siguientes valores propuestos: 0.001, 0.003, 0.005, 0.007, 0.009, 0.011 y 0.013 mg/L.

La ecuación utilizada para obtener las diluciones es la siguiente:

$$\text{Cantidad de soluto} = CV \quad (3-1)$$

En donde C es la concentración y V el volumen.

Cuando se hace una dilución, el volumen de la solución aumenta de un volumen inicial V_1 a un volumen final V_2 , por el contrario, la concentración disminuye de la inicial C_1 a la final C_2 , sin embargo, la cantidad de soluto permanece invariable, puesto que, la dilución consiste en agregar solvente a una solución concentrada y no en agregar más soluto. Por lo tanto, la cantidad de soluto en el volumen inicial sto_{V_1} es igual a la cantidad de soluto en el volumen final sto_{V_2} , o sea que:

$$\text{Cantidad de } sto_{V_1} = \text{Cantidad de } sto_{V_2} \quad (3-2)$$

Aplicando la ecuación (3-1) se tendría:

$$\text{Cantidad de } sto_{V_1} = C_1V_1$$

$$Cantidad\ de\ soluto_{V_2} = C_2V_2$$

Y puesto que la cantidad de soluto inicial es igual al final, se obtiene la ecuación (3-3) que se denomina la ecuación de dilución [45].

$$C_1V_1 = C_2V_2 \tag{3-3}$$

Las magnitudes en ambos miembros de la ecuación deben expresarse en las mismas unidades de concentración y volumen.

La Figura 3-3 indica la hoja de cálculo utilizada para encontrar los valores C_2 requeridos para las diluciones en agua de mar artificial.

| Preparación de disoluciones | | | | Volumen V2 (mL) | | 10 |
|-----------------------------|---------|---------|-------|-----------------|------|----|
| No. | C1 mg/L | V1 L | V1 µL | C2 mg/L | V2 L | |
| 1 | 10 | 1E-06 | 1 | 0.001 | 0.01 | |
| 2 | 10 | 3E-06 | 3 | 0.003 | 0.01 | |
| 3 | 10 | 5E-06 | 5 | 0.005 | 0.01 | |
| 4 | 10 | 7E-06 | 7 | 0.007 | 0.01 | |
| 5 | 10 | 9E-06 | 9 | 0.009 | 0.01 | |
| 6 | 10 | 1.1E-05 | 11 | 0.011 | 0.01 | |
| 7 | 10 | 1.3E-05 | 13 | 0.013 | 0.01 | |

Figura 3-3 Hoja de cálculo para disoluciones en agua de mar artificial

La concentración mínima lograda con el instrumental de laboratorio de química, fue de 1µg/L, valor que se encuentra por debajo del valor máximo establecido en la normatividad de 10 µg/L para costas libres de contaminación por HAPs.

Para obtener la primera dilución con una concentración de 0.001 mg/L se utiliza un matraz aforado de 10 mL, llenado parcialmente con agua de mar artificial, después con una micropipeta se introduce 1 µL de solución madre dentro del matraz aforado de 10 mL, se agrega agua de mar artificial hasta el nivel de aforo, la dilución obtenida es agitada durante 3 minutos y finalmente se mide el espectro de fluorescencia con el sistema de radiación y

el espectrómetro. El resto de las diluciones fueron preparadas siguiendo el procedimiento anterior.

En la Figura 3-4 se indican los resultados de fluorescencia obtenidos para el Fenantreno con las concentraciones de 1 hasta 19 $\mu\text{g/L}$ con incrementos de 2 $\mu\text{g/L}$. El nivel máximo de fluorescencia se encuentra en el pico 1, localizado en los 348 nm, seguido de los Picos 2, 3 y 4 con 364, 384 y 406 nm respectivamente. En la gráfica se puede observar que el espectro de fluorescencia del Fenantreno, aumenta cuando se incrementa la concentración de las diluciones. A partir de estos resultados es posible cuantificar los espectros mediante un tratamiento de análisis de picos de fluorescencia y determinar las curvas de calibración para los espectros de fluorescencia obtenidos. Otra técnica aplicada de cuantificación es calculando el área bajo la curva para cada uno de los espectros medidos y finalmente realizar una comparación entre ambos métodos.

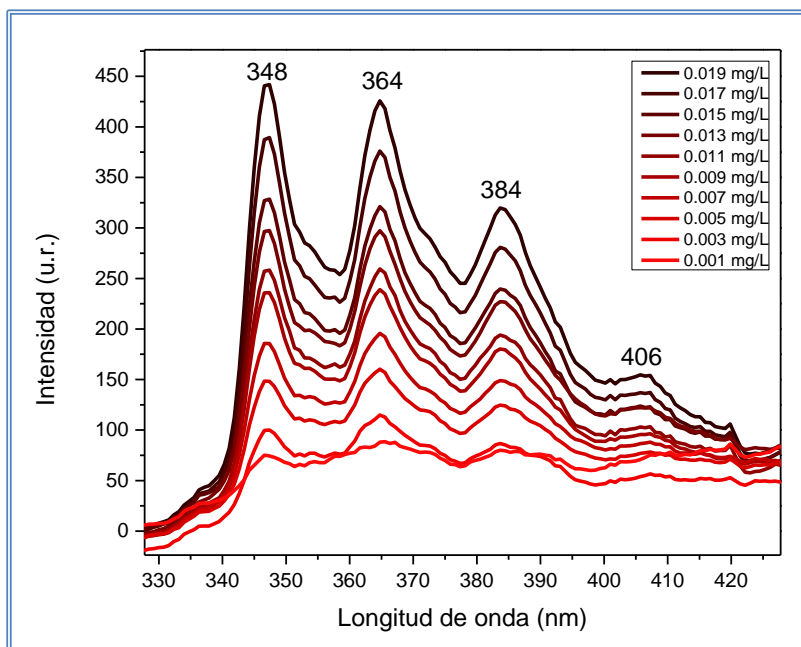


Figura 3-4 Fluorescencia de Fenantreno en agua de mar artificial

Una vez obtenidos los espectros de fluorescencia del Fenantreno se realizaron experimentos con el Antraceno, con los valores de concentración de 1 hasta 13 $\mu\text{g/L}$ con incrementos de 2 $\mu\text{g/L}$, los resultados se muestran en la Figura 3-5, donde también se aprecia que el espectro de fluorescencia del Antraceno tiende a incrementarse a medida que se aumenta la concentración de las diluciones. En esta figura se aprecia que el nivel máximo de intensidad de fluorescencia se obtiene en el segundo pico del espectro

localizado en los 403 nm, seguido por el Pico 1, 3 y 4 con 380, 426 y 446 nm, respectivamente.

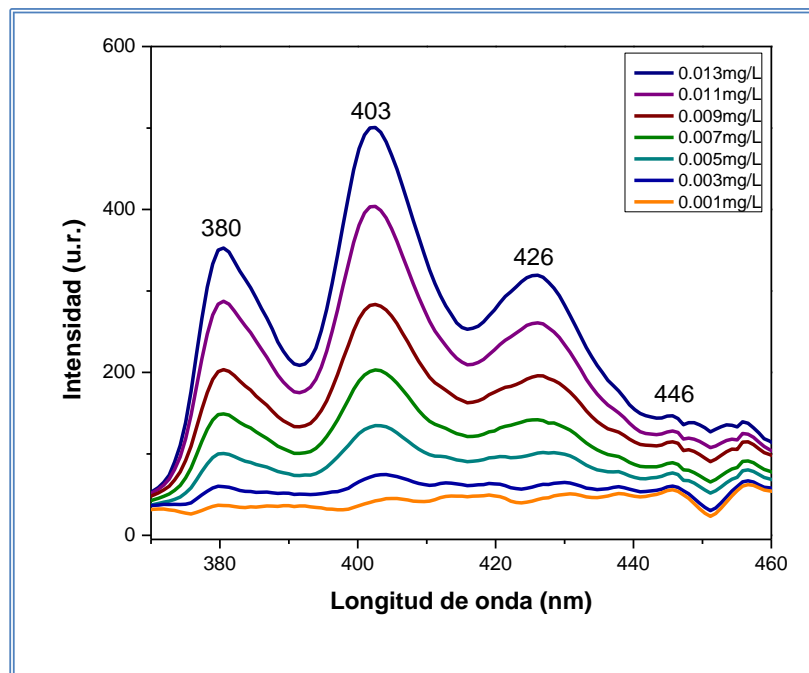


Figura 3-5 Fluorescencia de Antraceno en agua de mar artificial

Los parámetros utilizados para la obtención de los espectros de fluorescencia del Fenantreno y del Antraceno fueron con el LED de 255nm, corriente del LED de 160mA, irradiancia de 2.5 mW, tiempo de integración configurado en el espectrómetro de 5 s, temperatura ambiente de 23 °C y presión atmosférica de 534.8 mmHg.

3.5 Ajuste lineal de resultados

Se trazaron las curvas de calibración del Fenantreno y el Antraceno a presión y temperatura constantes, para ello en una hoja de cálculo se realizó un ajuste lineal por el método de mínimos cuadrados. La Figura 3-6 muestra la hoja de cálculo utilizada para realizar el ajuste lineal del Fenantreno a diferentes concentraciones y la Figura 3-7 muestra el cálculo de los coeficientes de la ecuación lineal con sus respectivas desviaciones estándar.

| <i>i</i> | <i>Xi</i> | <i>yi</i> | <i>Xi yi</i> | <i>Xi²</i> | <i>yi²</i> | <i>(n+mx_i -y_i)²</i> | <i>(xi -ymed)</i> | <i>(yi -ymed)</i> |
|----------|-----------|-----------|--------------|-----------------------|-----------------------|--|-------------------|-------------------|
| 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 2 | 1.00E-03 | 0.01493 | 0.00001493 | 0.000001 | 0.0002229 | 0.000536803 | 0.000001 | 0.0002229 |
| 3 | 0.003 | 0.15314 | 0.00045942 | 0.000009 | 0.02345186 | 0.000163951 | 0.000009 | 0.02345186 |
| 4 | 0.005 | 0.24885 | 0.00124425 | 0.000025 | 0.06192632 | 3.94094E-05 | 0.000025 | 0.06192632 |
| 5 | 0.007 | 0.34527 | 0.00241689 | 0.000049 | 0.11921137 | 2.12559E-07 | 0.000049 | 0.11921137 |
| 6 | 0.009 | 0.48183 | 0.00433647 | 0.000081 | 0.23216015 | 0.001209954 | 0.000081 | 0.23216015 |
| 7 | 0.011 | 0.53074 | 0.00583814 | 0.000121 | 0.28168495 | 0.000343815 | 0.000121 | 0.28168495 |
| 8 | 0.013 | 0.63078 | 0.00820014 | 0.000169 | 0.39788341 | 0.000430102 | 0.000169 | 0.39788341 |
| 9 | 0.015 | 0.69858 | 0.0104787 | 0.000225 | 0.48801402 | 0.003044341 | 0.000225 | 0.48801402 |
| 10 | 0.017 | 0.8645 | 0.0146965 | 0.000289 | 0.74736025 | 7.23827E-05 | 0.000289 | 0.74736025 |
| 11 | 0.019 | 1 | 0.019 | 0.000361 | 1 | 0.001744829 | 0.000361 | 1 |
| 11 | 0.1 | 4.96862 | 0.06668544 | 0.00133 | 3.35191523 | 0.007755303 | 0.00133 | 3.35191523 |
| N | Sx | Sy | Sxy | Sxx | Syy | X² | SSR | TSS |

Figura 3-6 Hoja de cálculo de ajuste lineal

Los resultados se corroboraron con el software Origin para obtener los valores de la ecuación lineal (3-4), los cuales se indican en la Figura 3-8 como “*Slope*” (pendiente) e “*Intercept*” (Intersección) para el caso de *m* y *n*, respectivamente.

$$y = mx + n \tag{3-4}$$

$$m = \frac{NS_{xy} - S_x S_y}{NS_{xx} - S_x S_x} = 51.118324 \quad \varepsilon(m) = \sqrt{\frac{N}{NS_{xx} - S_x S_x} \frac{\chi^2(n, m)}{N-2}} = 1.43081665$$

$$n = \frac{S_{xx} S_y - S_x S_{xy}}{NS_{xx} - S_x S_x} = -0.01301931 \quad \varepsilon(n) = \sqrt{\frac{S_{xx}}{NS_{xx} - S_x S_x} \frac{\chi^2(n, m)}{N-2}} = 0.01573307$$

$$r = \frac{NS_{xy} - S_x S_y}{\sqrt{NS_{xx} - S_x S_x} \sqrt{NS_{yy} - S_y S_y}} = 0.99649298 \quad r^2 = 1 - [(1 - r^2) \frac{n - 1}{n - k - 1}] = 0.99212305$$

Figura 3-7 Cálculo de coeficientes de la ecuación lineal del Fenantreno

Sustituyendo los valores de *m*, *n* y la desviación estándar \mathcal{E} en la ecuación (3-4), obtenidos de las figuras 3-6 y 3-7, se obtiene la ecuación (3-5), que representa el ajuste lineal para la cuantificación de fluorescencia del pico 1 del Fenantreno.

$$y = (51.11 \pm 1.43)x - 0.01 \pm .01 \tag{3-5}$$

3.6 Análisis de picos de fluorescencia

Para realizar el análisis de picos se utilizó una función gaussiana en la que se introducen cuatro constantes correspondientes al centro del pico, amplitud del pico, ancho de onda y el valor de ajuste en el eje de ordenadas. La función para realizar la aproximación de picos para el espectrómetro está dada por la ecuación (3-6).

$$y = y_0 + Ae^{-\frac{(x-x_c)^2}{(2w)^2}} \quad (3-6)$$

Donde:

- y Valor de ajuste en el eje de las ordenadas
- w Ancho de la campana
- A Amplitud del pico
- x_c centro del pico en el eje de las abscisas

Una vez seleccionados los picos de fluorescencia se procede a realizar la aproximación de la onda espectral por medio de una sumatoria de funciones gaussianas que representan el espectro de fluorescencia para cada uno de los picos representativos.

Después se procede a la cuantificación de fluorescencia tomando como referencia la máxima amplitud para el pico que presenta mayor fluorescencia y se grafican los resultados.

3.7 Curvas de calibración de Fenantreno

Las curvas de calibración obtenidas para la amplitud de los picos 1, 2, 3 y 4 del Fenantreno se indican en la Figura 3-8, así mismo en la Figura 3-9 se indica la curva obtenida del área bajo la curva para diferentes concentraciones. Para la obtención de estas gráficas se prepararon diluciones con Fenantreno en un intervalo de concentraciones desde 1 µg/L hasta 13 µg/L con incrementos de 2 µg/L, se utilizó el LED UV de 255 nm con una irradiancia de 2.5 mW, tiempo de integración configurado en el espectrómetro de 5 segundos, a presión ambiental y temperatura constantes.

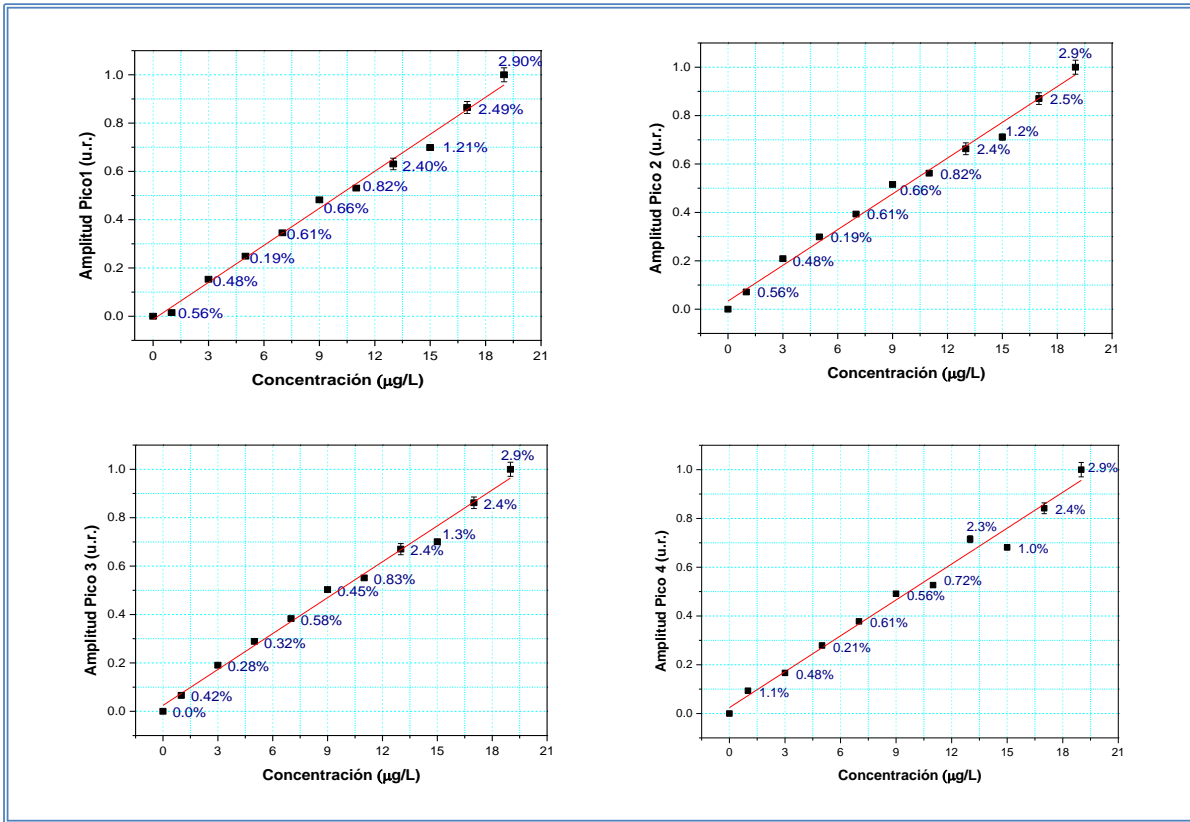


Figura 3-8 Concentración vs Amplitudes Pico 1-4 de Fenantreno

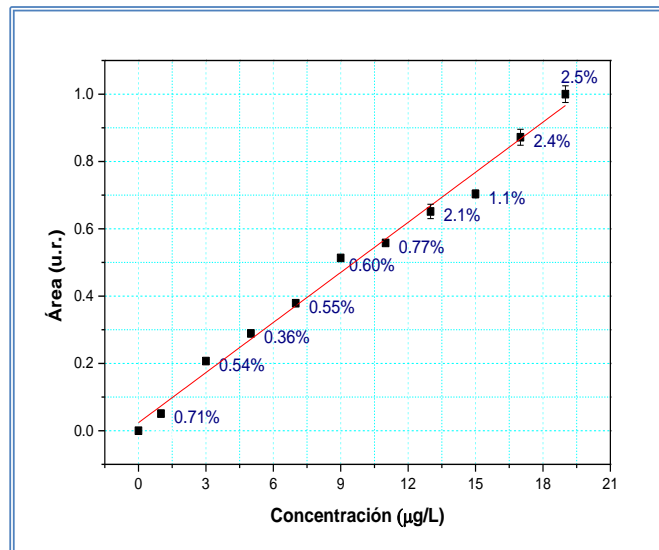


Figura 3-9 Concentración vs Área bajo la curva de Fenantreno

El coeficiente de correlación de Pearson “r” es una medida adimensional utilizada para evaluar la relación lineal entre dos variables cuantitativas, la correlación de Pearson es

independiente de la escala de medida de las variables, El coeficiente R^2 ajustado es un modelo de regresión lineal que mide el porcentaje de variación de la variable dependiente pero teniendo en cuenta el número de variables incluidas en el modelo [46].

Los coeficientes de correlación de “ R^2 ajustado” del Fenantreno se encuentran resumidos en la siguiente tabla:

Tabla 3-1 Coeficientes del ajuste lineal de Fenantreno

| Compuesto Fenantreno | Pico 1 | Pico 2 | Pico 3 | Pico 4 | Área |
|----------------------|--------|--------|--------|--------|--------|
| R^2 ajustado | 0.9922 | 0.9902 | 0.9909 | 0.9843 | 0.9891 |

De acuerdo a los resultados anteriores la intensidad de fluorescencia del Pico 1 presenta una mejor relación lineal comparado con los demás valores que corresponden a los Picos 2, 3 y 4 así como el área. Estos valores pueden ser utilizados para calibrar el medidor y realizar mediciones de compuestos donde se desconoce el nivel de concentración de la muestra, en un intervalo de medición desde 1 $\mu\text{g/L}$ hasta 0.6 mg/L .

Las ecuaciones de los espectros normalizados para los Picos 1, 2, 3, 4 y el Área bajo la curva del Antraceno se encuentran en la Tabla 3-4.

Tabla 3-2 Ecuaciones de curvas de calibración de Fenantreno

| No. | Compuesto | Fenantreno |
|-----|-----------------|-----------------------------------|
| 1 | Ecuación Pico 1 | $y=(51.11\pm 1.43)x-0.01\pm 0.01$ |
| 2 | Ecuación Pico 2 | $y=(49.23\pm 1.54)x+0.03\pm 0.01$ |
| 3 | Ecuación Pico 3 | $y=(49.44\pm 1.49)x+0.02\pm 0.01$ |
| 4 | Ecuación Pico 4 | $y=(49.04\pm 1.95)x+0.02\pm 0.02$ |
| 5 | Ecuación Área | $y=(49.6\pm 1.63)x+0.02\pm 0.01$ |

Graficando todas las ecuaciones se obtiene la Figura 3-10, donde se puede apreciar que las ecuaciones correspondientes al Pico 1 y Pico 3 tienen mayor pendiente y por lo tanto mayor sensibilidad para detectar la concentración de la muestra.

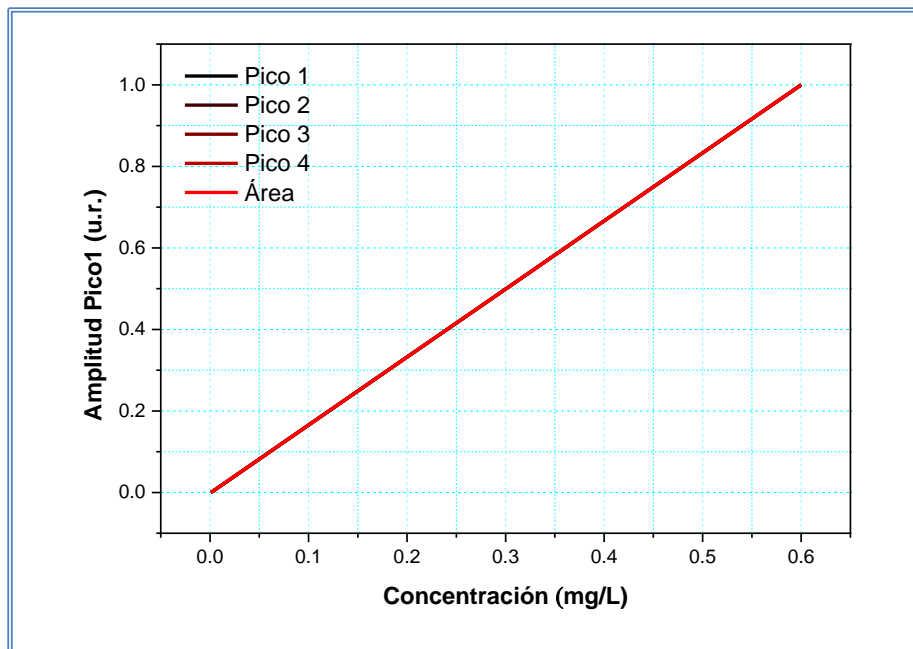


Figura 3-10 Gráfico de ecuaciones de Fenantreno

3.8 Curvas de calibración de Antraceno

Después se realizó el ajuste de calibración para la muestra de Antraceno considerando el comportamiento de la fluorescencia para cada uno de los picos de emisión y también se realizó el análisis del área bajo la curva. Para llevar a cabo estos experimentos se prepararon muestras de Antraceno diluidas en agua de mar artificial con las siguientes concentraciones: 1, 3, 5, 7, 9, 11 y 13 $\mu\text{g/L}$, las muestras se agitaron y se midieron los espectros con el sistema de radiación del laboratorio excitando la muestra con el LED UV de 255 nm, el tiempo de integración configurado en el espectrómetro es de 5 segundos, la temperatura de las muestras es de 23°C, la presión atmosférica es de 535 mmHg y las pruebas se realizaron a presión y temperatura constantes.

En la Figura 3-11 se muestran las intensidades de los Picos 1-4 de fluorescencia del Antraceno para diferentes concentraciones y en la Figura 3-12 la intensidad de fluorescencia correspondiente al área bajo la curva para diferentes concentraciones de Antraceno.

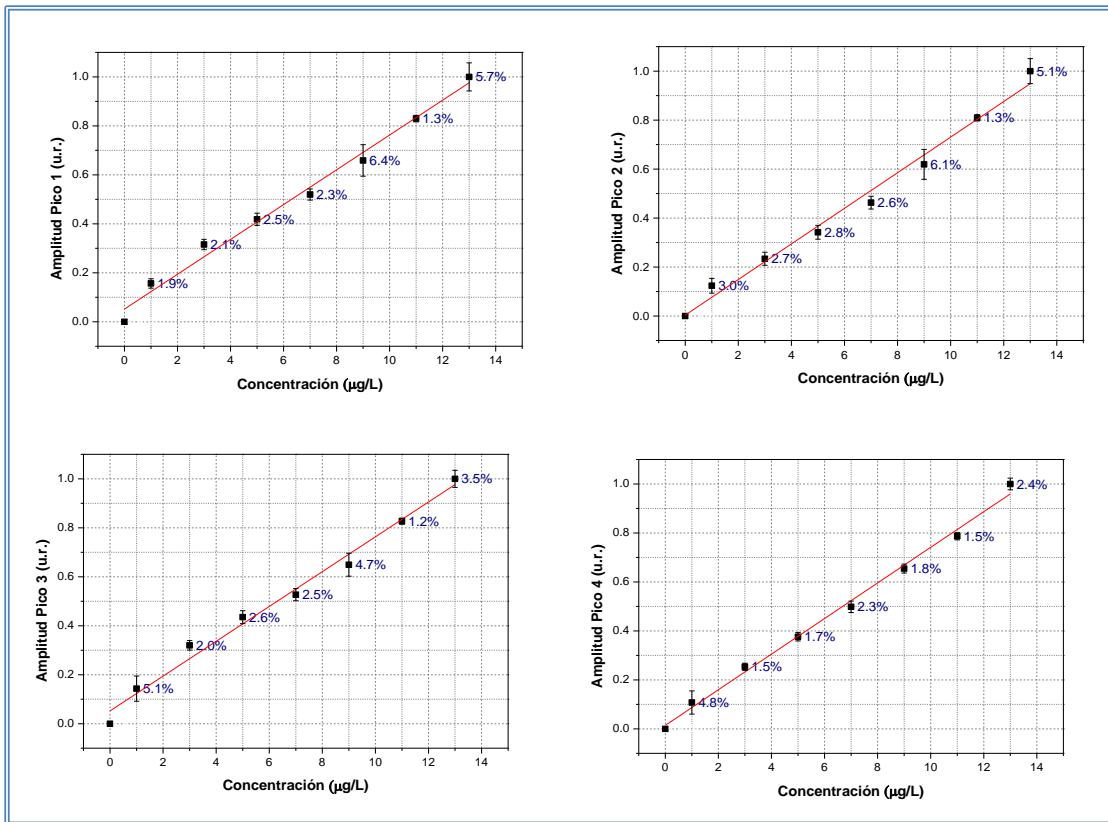


Figura 3-11 Concentración vs Amplitud Picos 1, 2, 3 y 4 de Antraceno

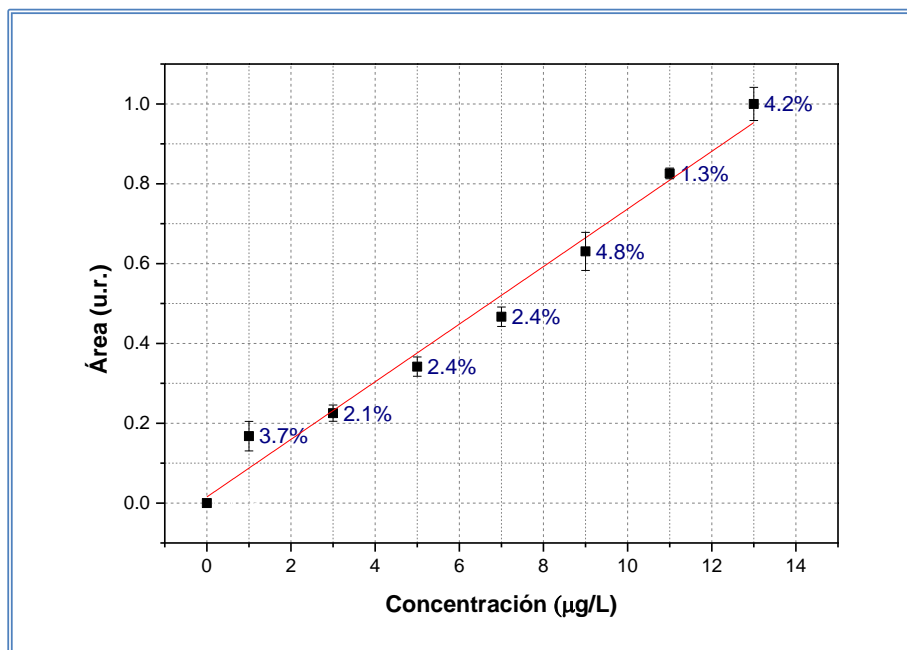


Figura 3-12 Concentración vs Área bajo la curva de Antraceno

Los coeficientes de correlación de “R² ajustado” del Antraceno se encuentran resumidos en la siguiente tabla:

Tabla 3-3 Coeficientes del ajuste lineal de Antraceno

| Compuesto Antraceno | Pico 1 | Pico 2 | Pico 3 | Pico 4 | Área |
|-------------------------|--------|--------|--------|--------|--------|
| R ² ajustado | 0.9866 | 0.9863 | 0.9855 | 0.9939 | 0.9795 |

El mejor ajuste lineal se obtuvo con el Pico 4, seguido del Pico 1, Pico 2, Pico 3 y finalmente el Área, estos valores pueden ser utilizados para calibrar el medidor y realizar mediciones de compuestos donde se desconoce el nivel de concentración del Antraceno, en un intervalo de medición desde 1 µg/L hasta 0.4 mg/L.

Las ecuaciones de los espectros normalizados para los Picos 1, 2, 3, 4 y el Área del Antraceno se encuentran en la Tabla 3-4.

Tabla 3-4 Ecuaciones de curvas de calibración de Antraceno

| No. | Compuesto | Antraceno |
|-----|-----------------|-----------------------------------|
| 1 | Ecuación Pico 1 | $y=(71.08\pm 3.11)x+0.05\pm 0.02$ |
| 2 | Ecuación Pico 2 | $y=(72.67\pm 3.22)x+0.00\pm 0.02$ |
| 3 | Ecuación Pico 3 | $y=(71.09\pm 3.25)x+0.05\pm 0.02$ |
| 4 | Ecuación Pico 4 | $y=(72.71\pm 2.14)x+0.01\pm 0.01$ |
| 5 | Ecuación Área | $y=(72.15\pm 2.14)x+0.01\pm 0.01$ |

Graficando todas las ecuaciones se obtiene la Figura 3-13, donde se puede apreciar que para el intervalo del medidor las ecuaciones correspondientes al Pico 4 y Pico 2 tienen mayor pendiente y por lo tanto mayor sensibilidad para detectar la concentración de la muestra.

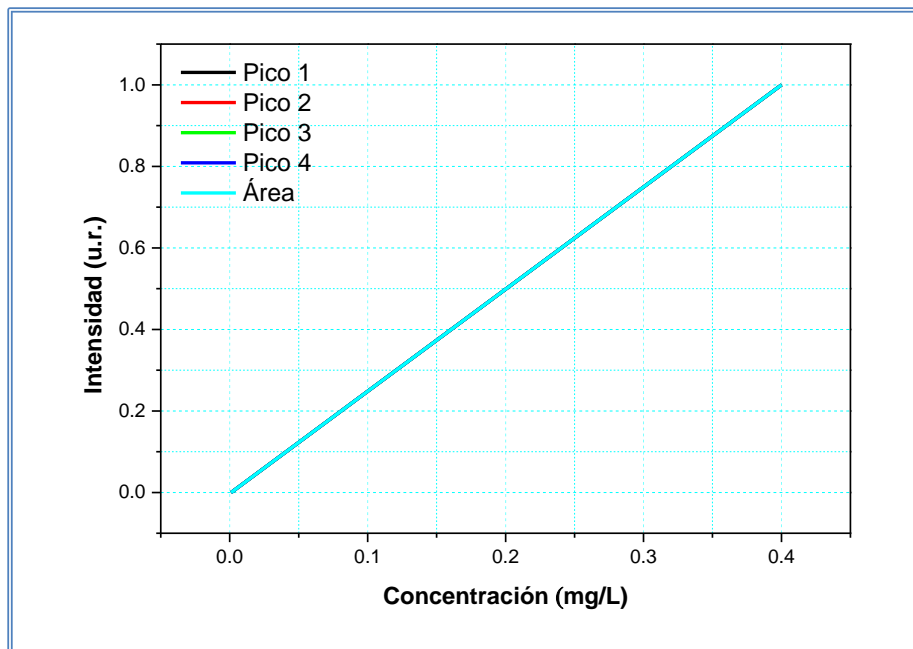


Figura 3-13 Gráfico de ecuaciones de Antraceno

3.9 Medición de fluorescencia del Fenantreno y de Antraceno con espectrofluorómetro Shimadzu

Para verificar que los espectros de fluorescencia detectados con el espectrómetro QE-65000, tienen la misma forma y también que el espectro de fluorescencia aumenta a medida que se incrementa la concentración de la muestra, se realizaron mediciones con otro espectrofluorómetro de la marca Shimadzu, modelo RF-5301PC. Este espectrofluorómetro es equipo convencional de laboratorio y usa como fuente de iluminación una lámpara de Xenón. El apéndice C muestra la hoja de especificaciones de este medidor.

Primero se prepararon diluciones de Fenantreno en concentraciones de 13, 15, 17 y 19 $\mu\text{g/L}$, se agitaron las muestras y se procedió a medir los espectros de fluorescencia con el equipo Shimadzu.

La Figura 3-14, muestra los resultados obtenidos del espectro de fluorescencia de Fenantreno a diferentes concentraciones y con presión atmosférica y temperatura constantes. En esa gráfica se puede apreciar que se detectan cuatro picos de emisión de fluorescencia a longitudes de onda de 348, 364, 384 y 406 nm respectivamente. También

se observa que la intensidad de fluorescencia aumenta a medida que se incrementa el nivel de concentración de la muestra.

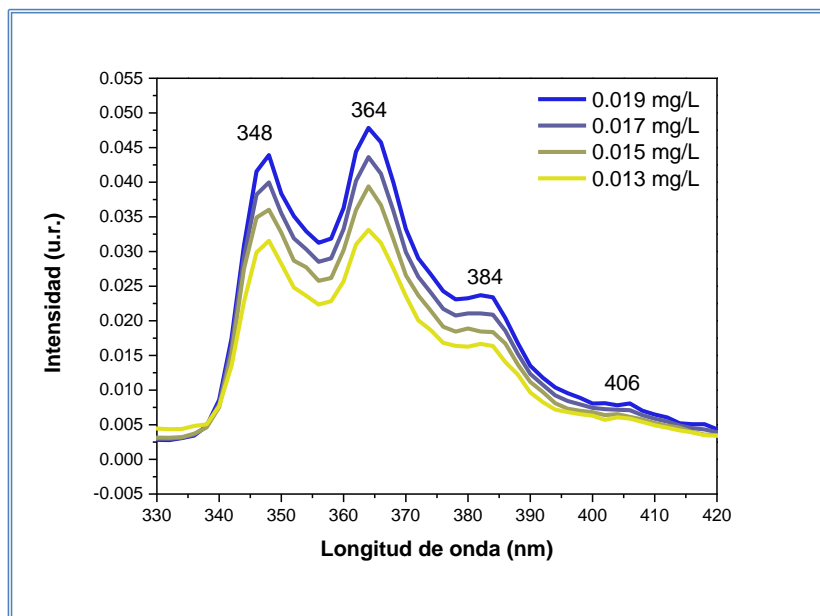


Figura 3-14 Espectro de Fenantreno con espectrofluorómetro Shimadzu

En la gráfica anterior se aprecia que las longitudes de onda de los picos con intensidad máxima de fluorescencia, corresponden con las longitudes de onda del espectro de fluorescencia del espectrómetro QE-65000.

Después se realizó el mismo experimento, solamente que esta vez se prepararon muestras de Antraceno con las siguientes concentraciones: 7, 9, 11 y 13 $\mu\text{g/L}$. En la Figura 3-15, se muestran los espectros de fluorescencia obtenidos con el espectrofluorómetro Shimadzu, en donde se aprecia que la emisión de fluorescencia tiene cuatro picos con longitudes de onda de 380, 403, 426 y 446 nm, respectivamente.

Los parámetros utilizados en el espectrofluorómetro Shimadzu fueron los siguientes: fuente de excitación de 255nm, intervalo de emisión de 300-475 para el Fenantreno, intervalo de emisión de 360-480 para el Antraceno, resolución de 2 nm, tiempo aproximado de medición de espectros de 5 minutos, después de pre calentar la lámpara de Xenón.

En la gráfica de la Figura 3-15 también se considera que las longitudes de onda de los picos con intensidad máxima de fluorescencia, corresponden con las longitudes de onda del espectro de fluorescencia del espectrómetro QE-65000, cuando son excitados con el LED

UV de 255 nm, con ello se tiene la certeza de que las mediciones realizadas con el equipo de laboratorio son válidas para la medición de fluorescencia de muestras del Fenantreno y el Antraceno.

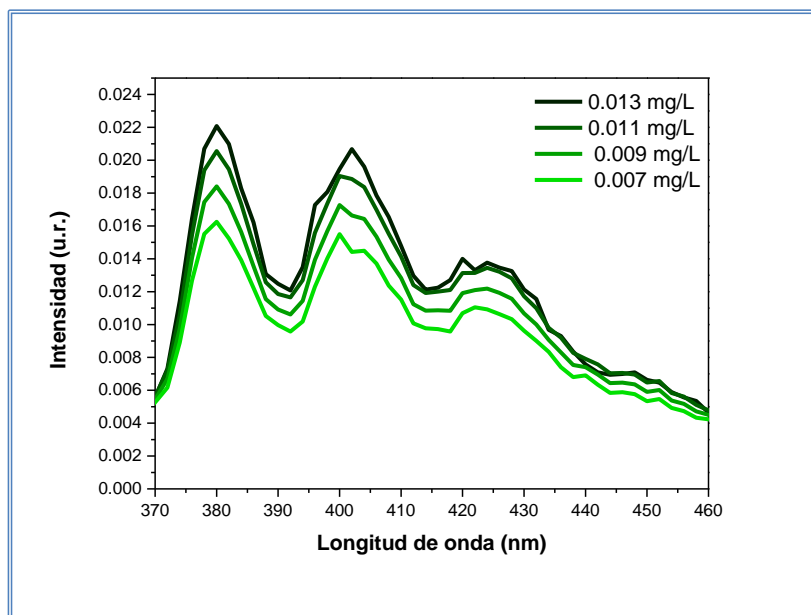


Figura 3-15 Espectro de Antraceno con espectrofluorómetro Shimadzu

El tiempo utilizado para realizar las mediciones en el espectrofluorómetro Shimadzu fue aproximadamente de 5 minutos por cada medición y el tiempo de calentamiento de la lámpara de Xenón fue de 15 minutos.

3.10 Conclusiones

La fluorescencia del Fenantreno y Antraceno se incrementa linealmente en función de la concentración en el intervalo de 1 $\mu\text{g/L}$ - 0.4 mg/L, manteniendo la presión y la temperatura constantes.

Con este experimento se demostró que el sistema de medición de espectroscopia de fluorescencia es capaz de detectar HAPs en agua de mar artificial en concentraciones bajas desde 1 $\mu\text{g/L}$ hasta 0.6 mg/L para el caso del Fenantreno y de 1 $\mu\text{g/L}$ hasta 0.4 mg/L para el caso del Antraceno.

El nivel de concentración detectado para el caso del Antraceno y Fenantreno se encuentra 10 veces por debajo del máximo límite permisivo establecido en la normatividad de 10 $\mu\text{g/L}$, para costas libres de contaminación [6].

Capítulo 4 Medición de fluorescencia del Fenantreno y Antraceno en agua de mar artificial con diferentes temperaturas a presión y concentración constantes

4.1 Introducción

Debido a que la fluorescencia está estrechamente relacionada con la temperatura, se realizaron experimentos en laboratorio con agua de mar artificial a presión ambiental, fijando una concentración de 10 $\mu\text{g/L}$ y después se varió la temperatura en un intervalo de 4 hasta 26 $^{\circ}\text{C}$ para determinar el comportamiento de la fluorescencia.

4.2 Medición de fluorescencia del Fenantreno y Antraceno en agua de mar artificial con diferentes temperaturas a presión ambiental y concentración constante

Inicialmente se realizó la preparación de una dilución de 10 $\mu\text{g/L}$ de Fenantreno y se vertió en el frasco de recirculación refrigerante, después se utilizó el sistema de agitación con bala magnética para agitar la muestra en todo tiempo y se fijó el sistema de regulación de temperatura para obtener una medición con el termómetro dentro del frasco de 4 $^{\circ}\text{C}$, a continuación, se introdujo la muestra en la cubeta de medición y se midió el espectro de fluorescencia con el sistema de irradiación y el espectrómetro QE-65000. El procedimiento anterior se repitió para los siguientes valores de temperatura: 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24 y 26 $^{\circ}\text{C}$.

La Figura 4-1, muestra los espectros de fluorescencia obtenidos para el Fenantreno con una concentración fija de 10 $\mu\text{g/L}$, presión atmosférica de 535 mmHg y temperatura variable en un intervalo de 4 $^{\circ}\text{C}$ hasta 26 $^{\circ}\text{C}$. En esta figura se puede apreciar que no existe corrimiento de longitud de onda en los cuatro picos del espectro de fluorescencia.

Una vez que se obtuvieron los espectros de fluorescencia se realizó la cuantificación utilizando el análisis de picos con el programa Origin y se graficaron los resultados para cada uno de los picos de fluorescencia a diferentes temperaturas, los resultados se indican en la Figura 4-2.

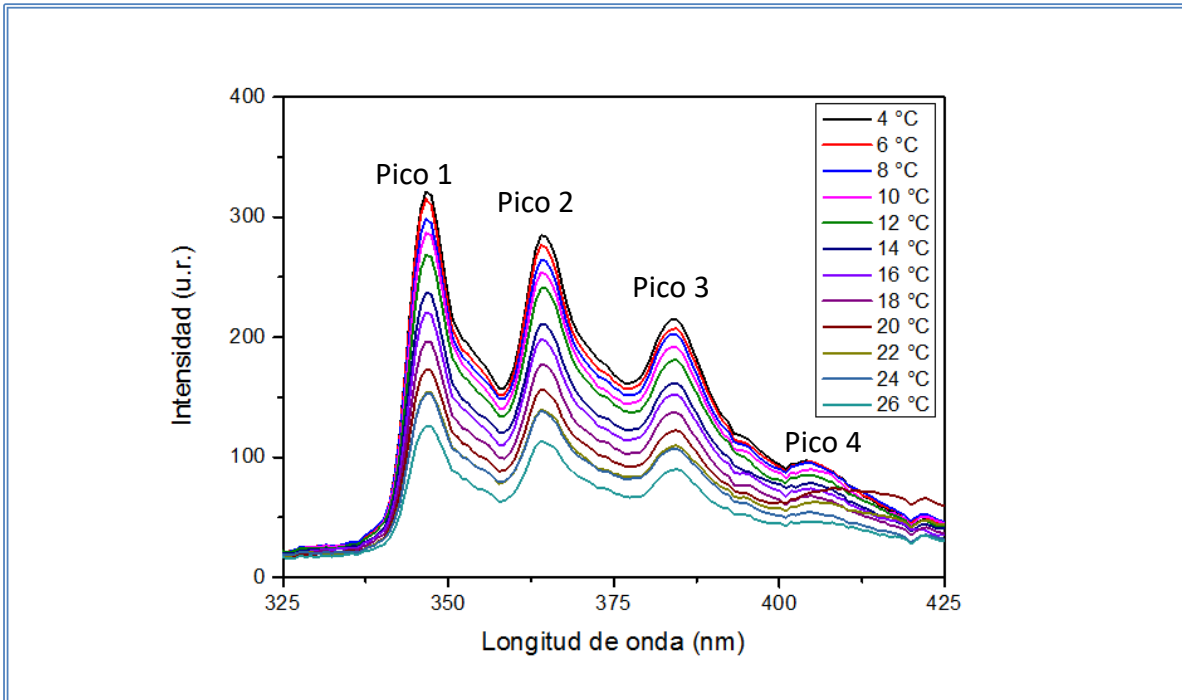


Figura 4-1 Fluorescencia del Fenantreno en función de la temperatura

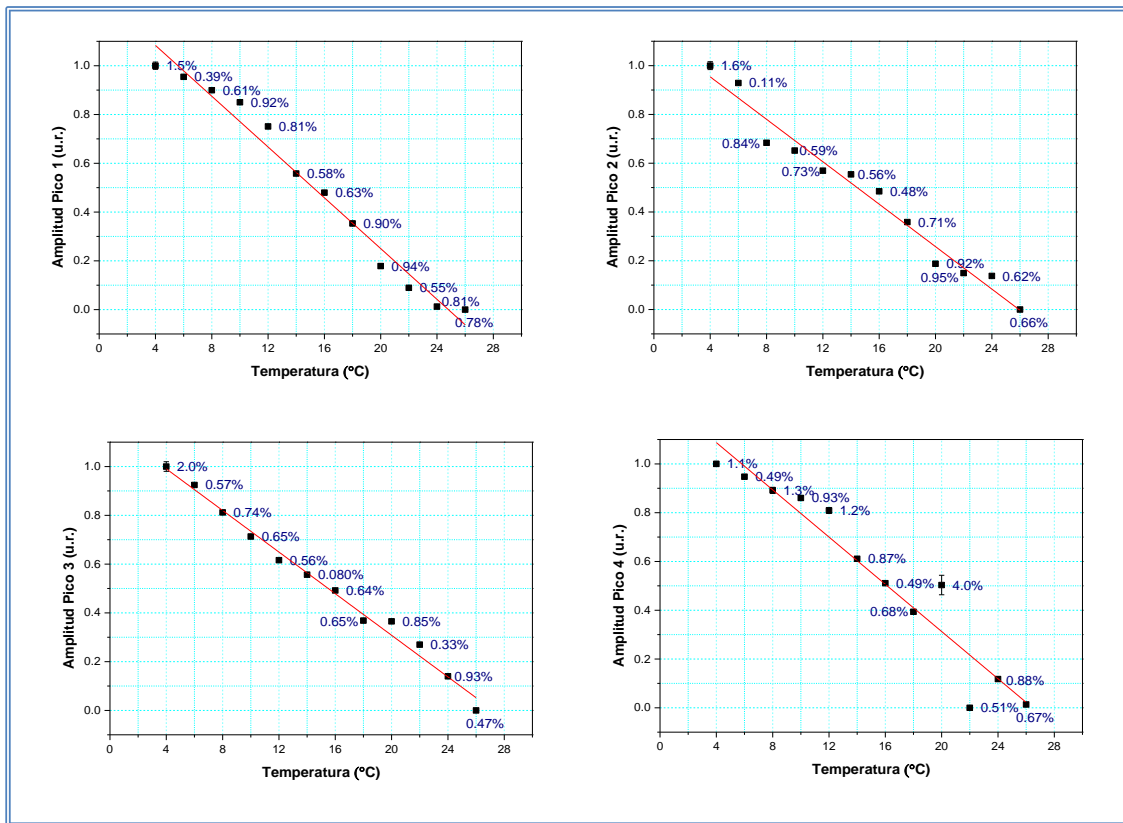


Figura 4-2 Temperatura vs Intensidades Pico 1, 2, 3 y 4 de Fenantreno

Finalmente se obtuvo el área bajo la curva del espectro de fluorescencia del Fenantreno variando la temperatura y se graficaron los resultados en la Figura 4-3.

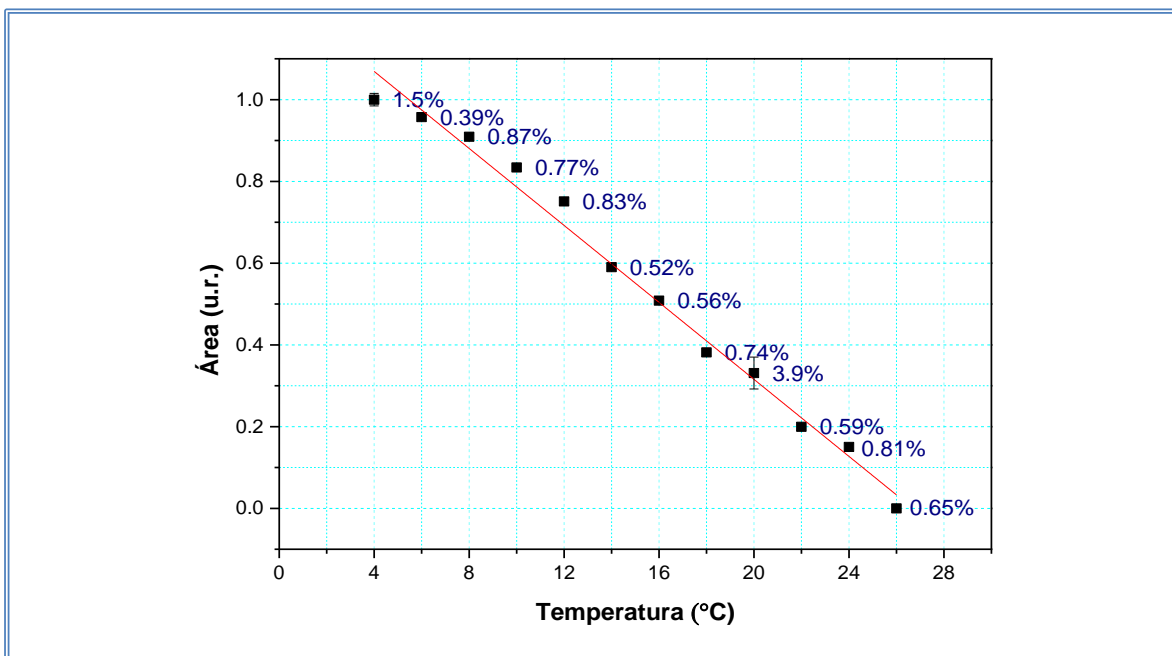


Figura 4-3 Temperatura vs Área bajo la curva de Fenantreno

Las gráficas anteriores muestran el comportamiento de la emisión de fluorescencia con el cambio de temperatura. Se observa que no necesariamente este comportamiento debe ser lineal en este intervalo de temperaturas. Sin embargo, en aras de hacer una comparación sencilla entre el comportamiento de los gráficos para cada máximo de emisión y para el área bajo la curva se realizó el ajuste de los puntos experimentales a una recta para así poder comparar en una primera aproximación las pendientes obtenidas para cada gráfica. También se observa en algunos gráficos mayor dispersión de los valores experimentales, posiblemente ocasionados por errores aleatorios inherentes a los sistemas de regulación y a los cambios de las condiciones climatológicas que no son controladas.

Los coeficientes de correlación de “R² ajustado” del Fenantreno se encuentran resumidos en la siguiente tabla:

Tabla 4-1 Coeficientes del ajuste lineal de Fenantreno en función de la temperatura

| Compuesto Fenantreno | Pico 1 | Pico 2 | Pico 3 | Pico 4 | Área |
|-------------------------|--------|--------|--------|--------|--------|
| R ² ajustado | 0.9756 | 0.9696 | 0.9883 | 0.9175 | 0.9873 |

Estas mediciones se llevaron a cabo con una concentración fija de 10 µg/L, este valor se escogió para determinar el comportamiento del medidor variando la temperatura a bajos niveles de concentración. De los resultados anteriores se observa que a medida que aumenta la temperatura disminuye la intensidad de fluorescencia de la muestra.

Las ecuaciones de los espectros normalizados que corresponden a los Picos 1, 2, 3, 4 y el Área bajo la curva del Fenantreno se encuentran en la Tabla 4-2.

Tabla 4-2 Ecuaciones de Fenantreno en función de la temperatura

| No. | Compuesto | Fenantreno |
|-----|-----------------|--|
| 1 | Ecuación Pico 1 | $y=(-5.2\pm 0.24)x \times 10^{-2} + 1.29 \pm 0.04$ |
| 2 | Ecuación Pico 2 | $y=(-4.3\pm 0.23)x \times 10^{-2} + 1.12 \pm 0.03$ |
| 3 | Ecuación Pico 3 | $y=(-4.2\pm 0.14)x \times 10^{-2} + 1.16 \pm 0.02$ |
| 4 | Ecuación Pico 4 | $y=(-4.2\pm 0.14)x \times 10^{-2} + 1.28 \pm 0.07$ |
| 5 | Ecuación Área | $y=(-4.7\pm 0.16)x \times 10^{-2} + 1.25 \pm 0.02$ |

Graficando todas las ecuaciones de la Tabla 4-2 se obtiene la Figura 4-4, en donde se puede apreciar que para el intervalo de 4° C hasta 24° C las rectas se superponen unas con otras por lo que en la práctica es posible utilizar cualquiera de estos ajustes para la medición de fluorescencia de la muestra en función de la temperatura.

De todas las gráficas y sus correspondientes ajustes presentados en la Tabla 4-2, se observa que la intensidad de la fluorescencia aumenta con la disminución de la temperatura. El comportamiento de los ajustes realizados muestra que en todos los casos esta dependencia es muy similar y no se observa un cambio significativo del espectro de fluorescencia.

Es importante mencionar que este resultado demuestra que no hay cambios en la distribución espectral de la fluorescencia, por lo que cualquiera de los criterios (amplitud de los picos o el área total bajo la curva) podría ser utilizado para la cuantificación de las concentraciones de Fenantreno. Esto puede ser significativo cuando se realicen mediciones con mezclas de varios compuestos aromáticos y se deba realizar un análisis de multicomponentes para cuantificar la fluorescencia total de las muestras diluidas.

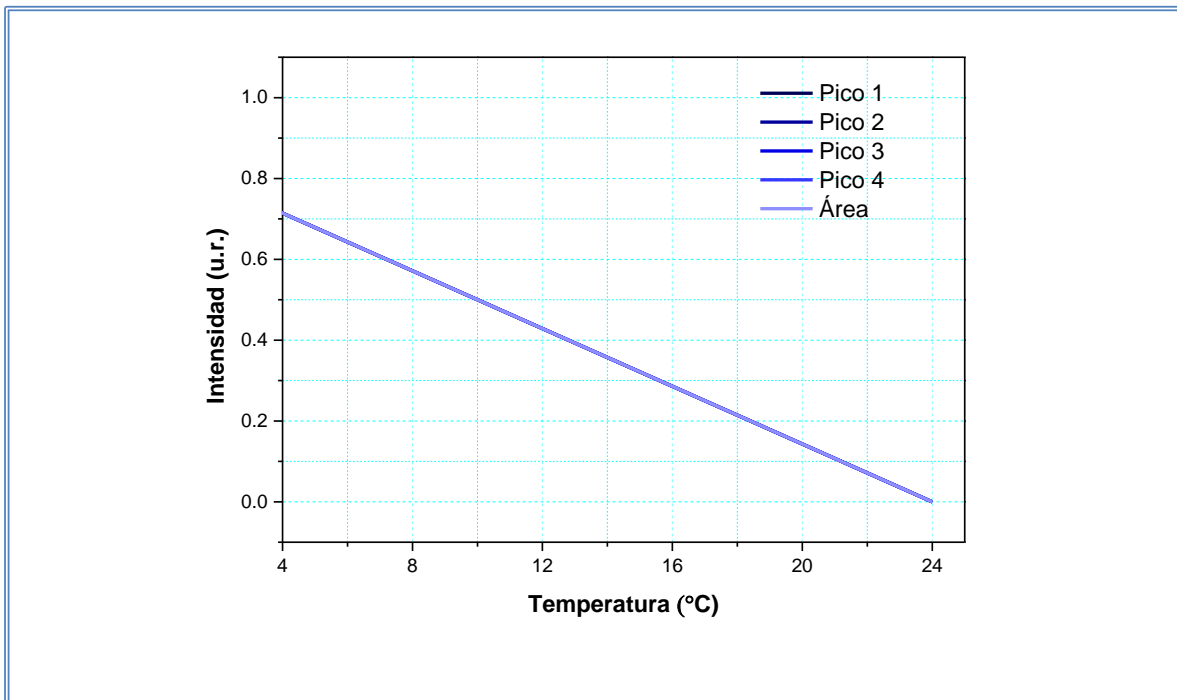


Figura 4-4 Gráfica de las ecuaciones del Fenantreno en función de la temperatura

Se realizaron experimentos similares con las diluciones de Antraceno y se graficaron los resultados. En la Figura 4-5 se muestra la gráfica de fluorescencia del Antraceno para una concentración de 10 µg/L a una presión atmosférica de 585 mmHg.

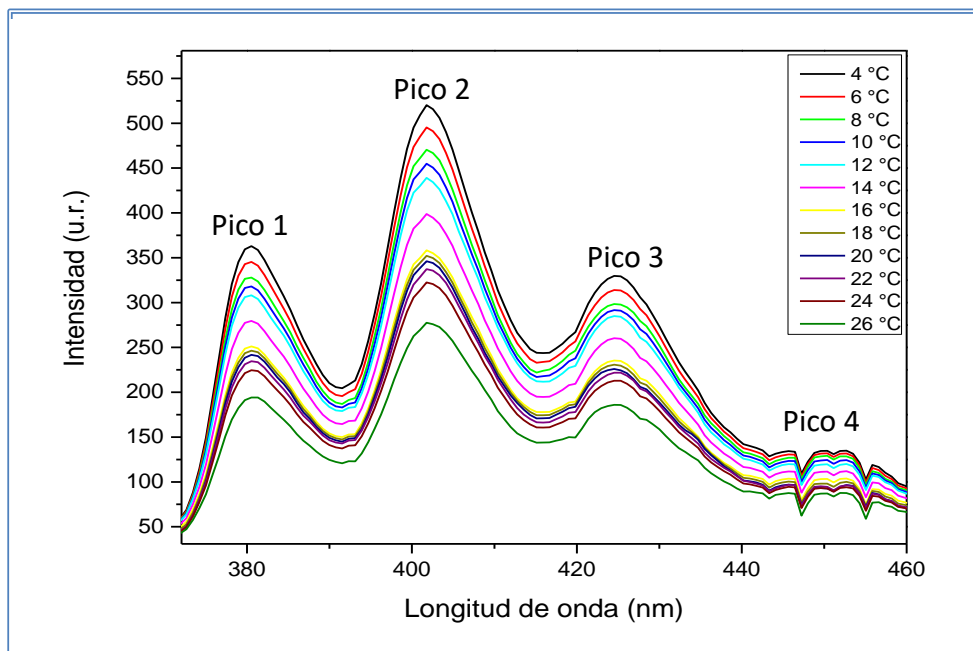


Figura 4-5 Fluorescencia del Antraceno en función de la temperatura

Se grabaron los espectros de fluorescencia y se realizó la cuantificación de fluorescencia del Antraceno para diferentes temperaturas.

En la Figura 4-6 se muestra la gráfica de fluorescencia del Antraceno para las intensidades de los Picos 1, 2, 3 y 4 de fluorescencia con diferentes temperaturas.

En la Figura 4-7 se muestra la gráfica de fluorescencia del Antraceno del área bajo la curva con diferentes temperaturas y se observa que el comportamiento de la fluorescencia es similar al caso del Fenantreno.

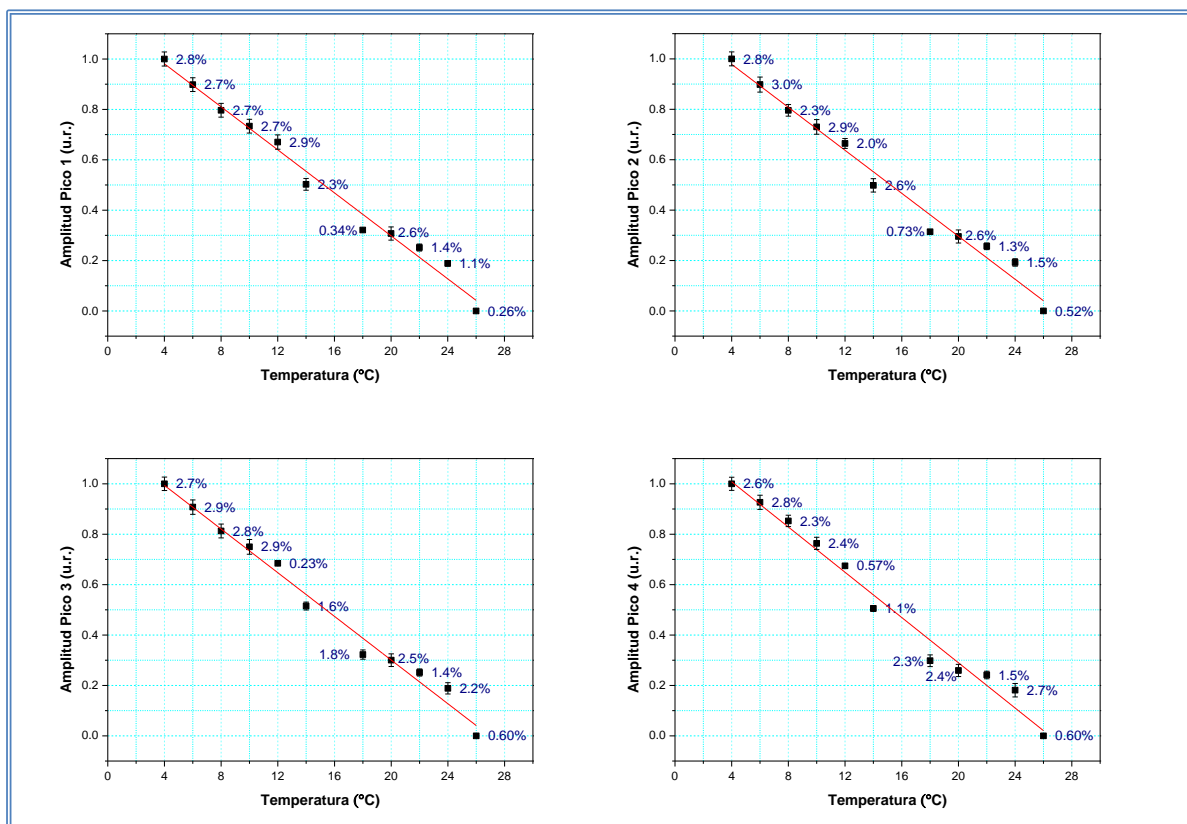


Figura 4-6 Fluorescencia del Antraceno Picos 1, 2, 3 y 4 en función de la temperatura

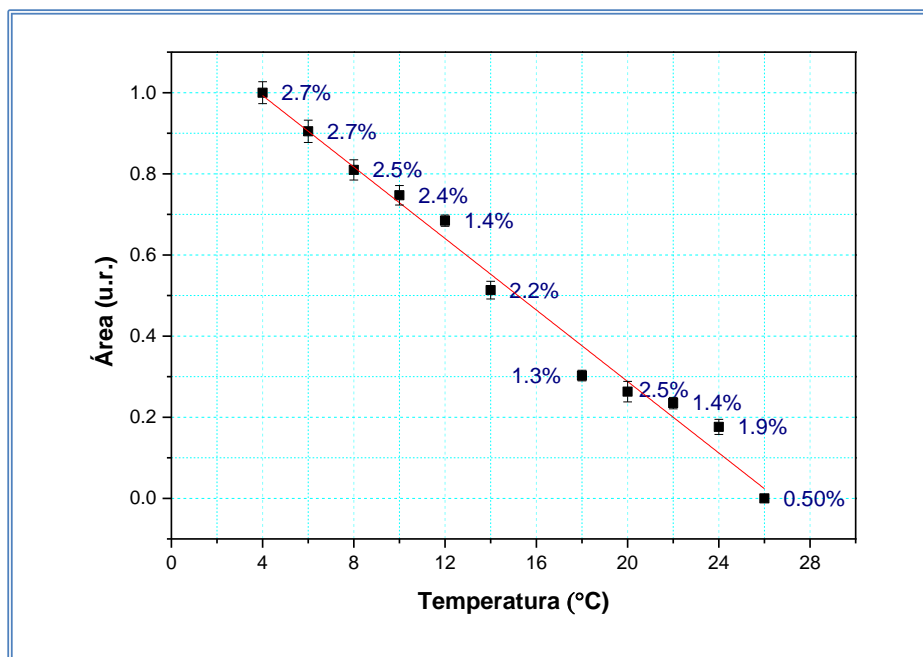


Figura 4-7 Área bajo la curva de Antraceno en función de la temperatura

Los coeficientes de “R² ajustado” del Antraceno se encuentran resumidos en la Tabla 4-3.

Tabla 4-3 Coeficientes del ajuste de Antraceno en función de la temperatura

| Compuesto Antraceno | Pico 1 | Pico 2 | Pico 3 | Pico 4 | Área |
|-------------------------|--------|--------|--------|--------|--------|
| R ² ajustado | 0.9839 | 0.9820 | 0.9848 | 0.9813 | 0.9843 |

De los resultados anteriores se tiene que el comportamiento de la fluorescencia al variar la temperatura, corresponde a una correlación negativa, es decir, a medida que aumenta la temperatura entonces disminuye la intensidad de fluorescencia de la muestra.

Las ecuaciones de los espectros normalizados para los Picos 1, 2, 3, 4 y el Área del Antraceno se encuentran en la Tabla 4-4.

Tabla 4-4 Ecuaciones de Antraceno en función de la temperatura

| No. | Compuesto | Antraceno |
|-----|-----------------|---|
| 1 | Ecuación Pico 1 | $y=(-4.26\pm 0.17)x \times 10^{-2} + 1.15 \pm 0.02$ |
| 2 | Ecuación Pico 2 | $y=(-4.26\pm 0.18)x \times 10^{-2} + 1.14 \pm 0.03$ |
| 3 | Ecuación Pico 3 | $y=(-4.33\pm 0.17)x \times 10^{-2} + 1.16 \pm 0.02$ |
| 4 | Ecuación Pico 4 | $y=(-4.48\pm 0.19)x \times 10^{-2} + 1.18 \pm 0.03$ |
| 5 | Ecuación Área | $y=(-4.40\pm 0.17)x \times 10^{-2} + 1.16 \pm 0.02$ |

Graficando todas las ecuaciones se obtiene la Figura 4-8, donde se puede apreciar que para el intervalo de 4° a 24° C, las rectas se superponen unas con otras por lo que es posible utilizar cualquier resultado para la cuantificación de la fluorescencia de la muestra y también al igual que el Fenantreno se observa que no existe un cambio significativo en la distribución espectral de la emisión de fluorescencia cuando se modifica la temperatura. Por lo anterior también es posible utilizar estos resultados para el análisis de multicomponentes y determinar la fluorescencia total en mezclas de diferentes compuestos aromáticos.

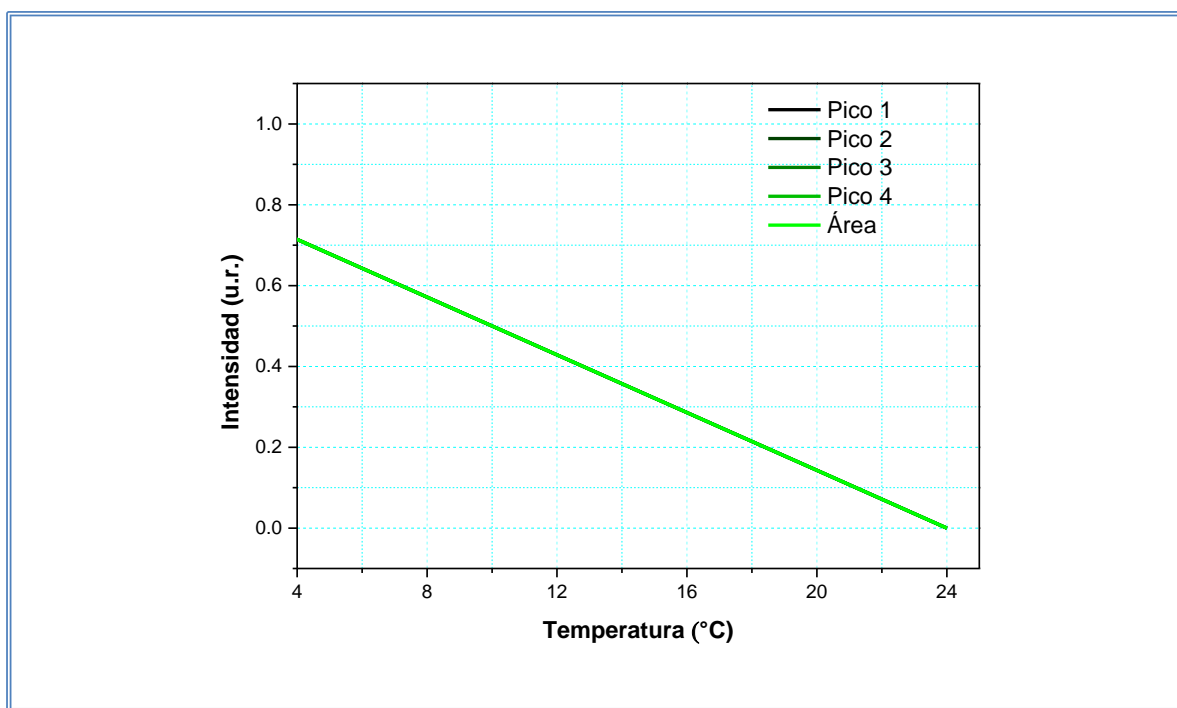


Figura 4-8 Gráfica de las ecuaciones del Antraceno en función de la temperatura

4.3 Conclusiones

Los experimentos de fluorescencia variando la temperatura a presión ambiental y concentración constante muestran que la fluorescencia del Fenantreno y Antraceno, se incrementa con la disminución de la temperatura hasta 4 °C. Este comportamiento favorece la detección con el sistema de estos compuestos a profundidades del orden de 1400 m bajo el nivel del mar donde se alcanzan temperaturas de hasta 4 °C.

Este sistema puede ser utilizado para realizar mediciones *in situ* tomando muestras de agua de mar directamente y realizar mediciones para la detección de Antraceno y Fenantreno, utilizando las curvas de calibración en conjunto con los resultados de temperatura.

El Fenantreno y el Antraceno son compuestos aromáticos que no cambian su distribución espectral de fluorescencia cuando se mantiene fija la concentración de la muestra y se modifica la temperatura en el intervalo de 4 °C a 24 °C.

Capítulo 5 Medición de fluorescencia del Fenantreno y Antraceno en agua de mar artificial con diferentes presiones a temperatura ambiente y concentración constante

5.1 Introducción

En este capítulo se describe las pruebas preliminares de hermeticidad del sistema presurizado con aire para el sellado del contenedor y la medición de fluorescencia del Argón para verificar que no existe interferencia con las muestras, finalmente se realizaron las pruebas variando la presión a temperatura ambiente y concentración constante.

5.2 Pruebas iniciales

Se realizaron dos pruebas de hermeticidad, en el laboratorio de fotónica, durante cinco horas suministrando un valor fijo de aire de 30 psig. En ambas pruebas se mantuvo el valor de presión durante un periodo de cinco horas y después comenzó a presentar una disminución de presión, las mediciones se muestran en la Figura 5-1. Posteriormente, se sellaron las fugas de aire y se determinó realizar las pruebas con Argón en un intervalo de 6 psig hasta 26 psig para evitar fugas y daños al sistema. El valor máximo de presión corresponde a una presión bajo el nivel del mar de aproximadamente 1.8 atm.

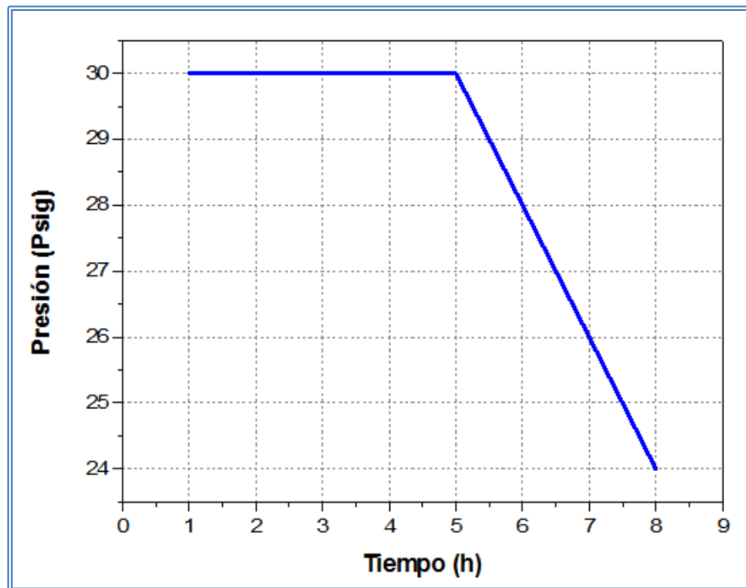


Figura 5-1 Pruebas de hermeticidad del contenedor

Para presurizar el sistema se utilizó Argón, un gas inerte utilizado para calibrar espectroscopios, la ventaja que tiene es que presenta intensidades máximas de absorción a partir de longitudes de onda de 696 nm o mayores [47] y por lo tanto no interfiere ni con la radiación de excitación ni la de emisión de fluorescencia de las muestras.

La Figura 5-2 muestra los espectros superpuestos del Argón, el Fenantreno y Antraceno sometidos a una presión de 22 psig, en donde se aprecia únicamente la fluorescencia de la fibra óptica.

Una vez adquiridos los espectros de fluorescencia de las muestras se procedió a restar la señal de fluorescencia de la muestra y también se realizó la cuantificación de la fluorescencia para cada uno de las intensidades máximas, así como del área bajo la curva.

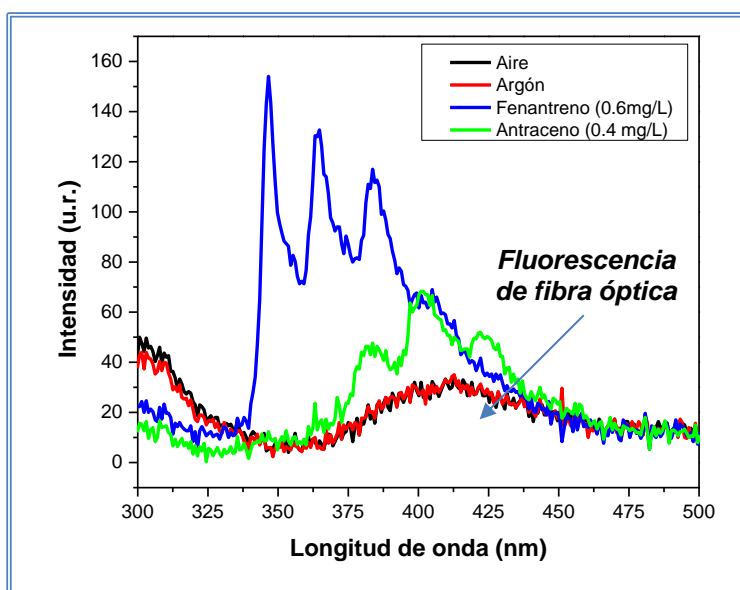


Figura 5-2 Medición de fluorescencia de fibra óptica

5.3 Medición de fluorescencia del Fenantreno y de Antraceno en agua de mar con diferentes presiones a temperatura ambiente y concentración constante

El primer compuesto utilizado fue el Fenantreno diluido con una concentración de 0.6 mg/L, las pruebas se llevaron a cabo a temperatura ambiente de 18 °C, la presión fue modificada, en un intervalo de presión desde 6 psig hasta 22 psig, con incrementos de 2 psig, los resultados se muestran en la Figura 5-3.

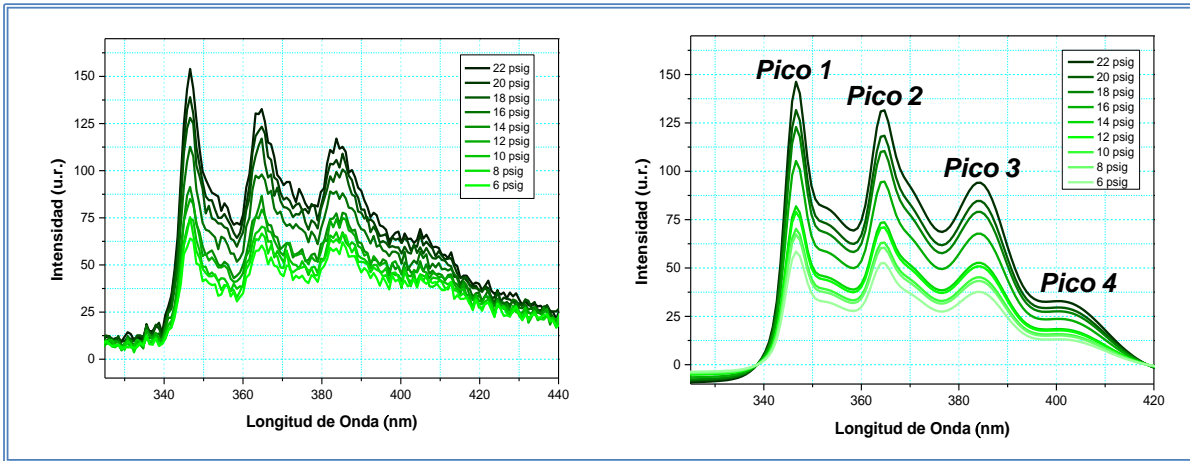


Figura 5-3 Fluorescencia de Fenantreno a diferentes presiones

En la figura anterior del lado izquierdo se muestran los espectros de fluorescencia del Fenantreno y del lado derecho se representan los mismos espectros de fluorescencia con ajuste por funciones gaussianas y además se ha suprimido la fluorescencia de la fibra óptica. Los máximos picos de intensidad de fluorescencia del Fenantreno y el área bajo la curva se muestran a continuación.

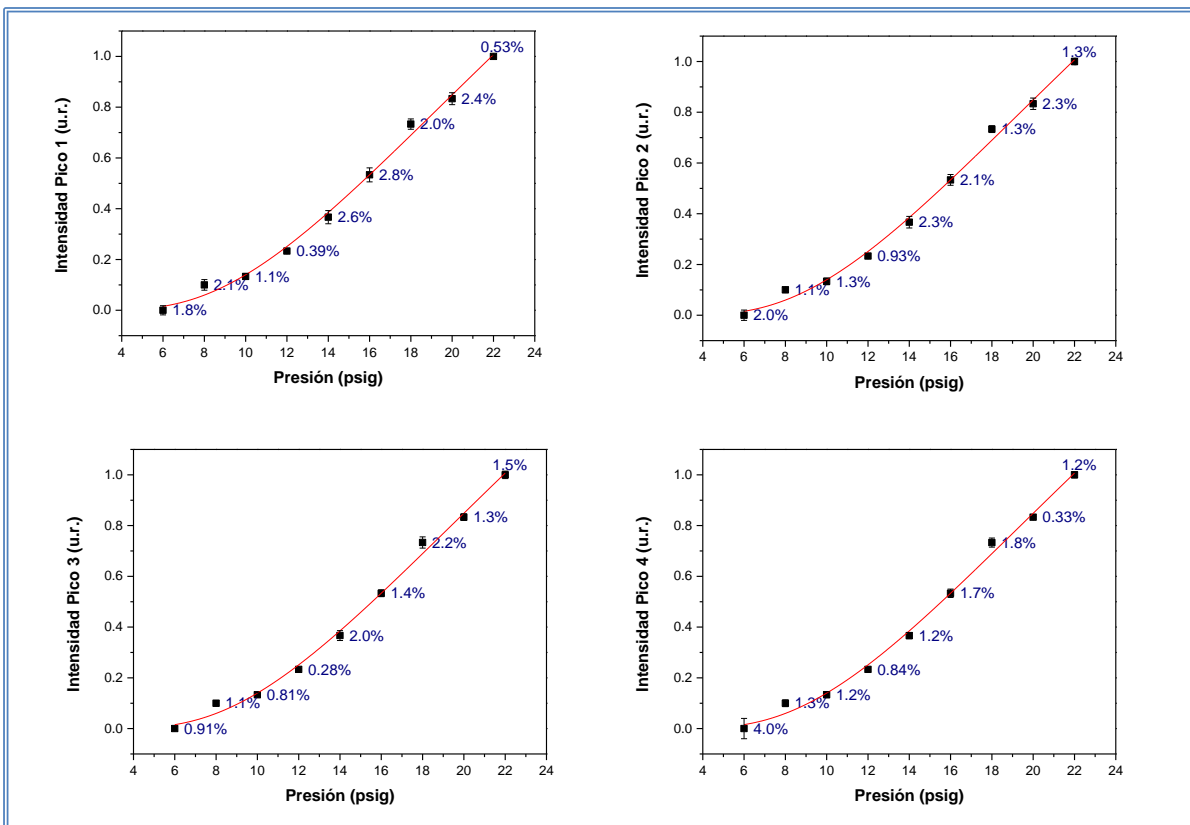


Figura 5-4 Fluorescencia del Fenantreno Picos 1, 2, 3 y 4 en función de la presión

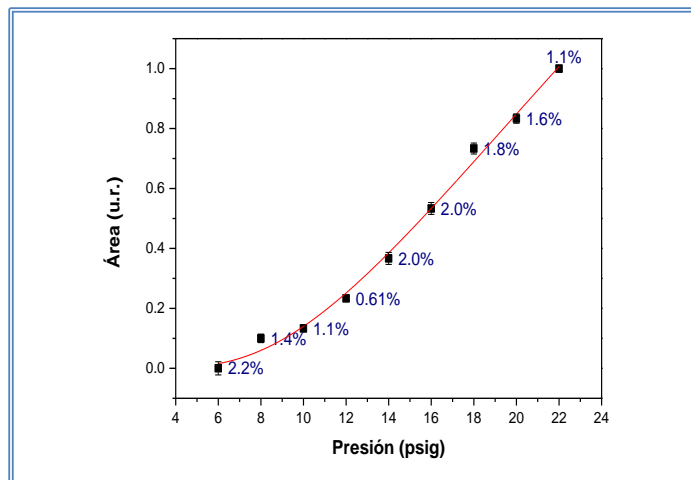


Figura 5-5 Área bajo la curva de Fenantreno en función de la presión

Se realizó el ajuste no lineal para cada uno de los picos y el área bajo la curva, la función de ajuste utilizada es:

$$y = e^{\left(\frac{a+b}{x+c}\right)} \quad (5.1)$$

Los resultados del ajuste se muestran a continuación.

Tabla 5-1 Ajuste de resultados de Fenantreno

| Compuesto Fenantreno | Pico 1 | Pico 2 | Pico 3 | Pico 4 | Área |
|-------------------------|--------|--------|--------|--------|--------|
| R ² ajustado | 0.9937 | 0.9937 | 0.9937 | 0.9937 | 0.9937 |

Los valores de los coeficientes del ajuste se indican en la Tabla 5-2:

Tabla 5-2 Coeficientes del ajuste no lineal de Fenantreno

| Coeficiente | Pico 1 | Pico 2 | Pico 3 | Pico 4 | Área |
|-------------|--------|--------|--------|--------|--------|
| a | 1.78 | 1.78 | 1.78 | 1.79 | 1.78 |
| b | -40.65 | -40.67 | -40.66 | -40.76 | -40.68 |
| c | 0.82 | 0.83 | 0.83 | 0.84 | 0.83 |

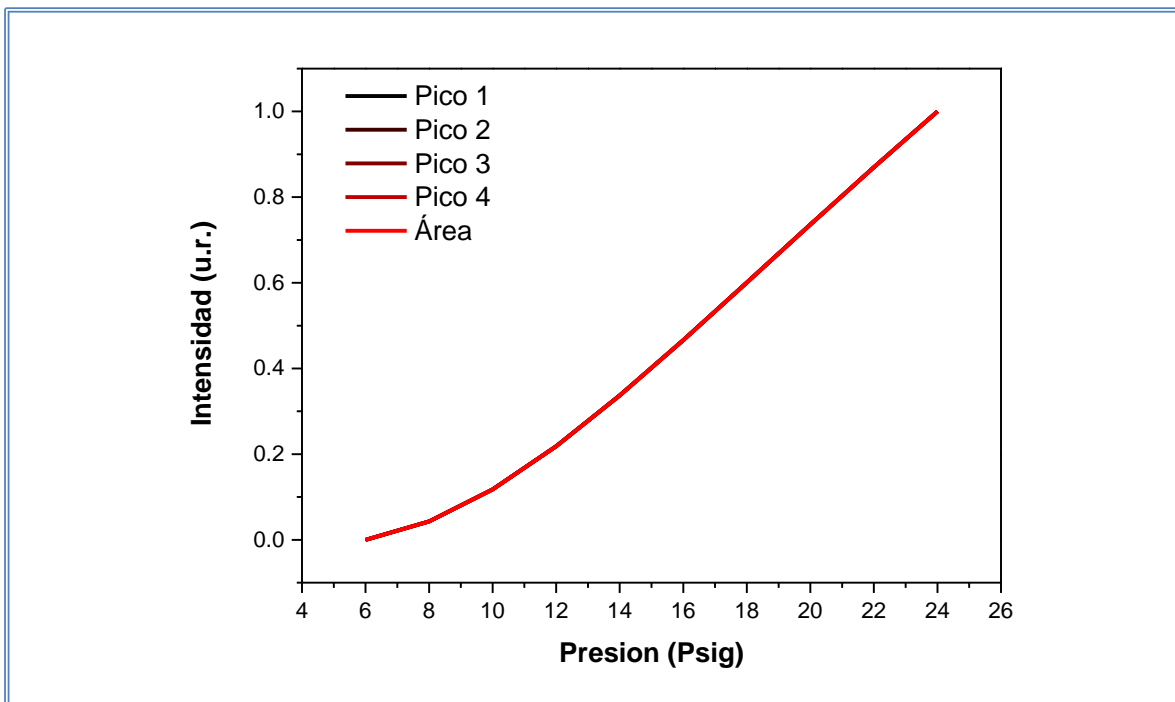


Figura 5-6 Gráfica de las ecuaciones del Fenantreno en función de la presión

En la Figura 5-6 se puede observar que las ecuaciones se superponen unas con otras por lo que al igual que los experimentos de temperatura realizados en el capítulo anterior es posible utilizar cualquier medición para la cuantificación de fluorescencia en el intervalo de presión de 6 a 24 psig. También se concluye que cuando se modifica la presión no existe un cambio significativo en la distribución espectral de fluorescencia.

Este estudio no contempla todo el intervalo de presión que hay en aguas profundas, sin embargo sirve como una primera aproximación para futuras pruebas con equipos más robustos y capaces de soportar altas presiones del orden de 160 atmosferas, lo que equivale a aproximadamente 2350 psig.

Se realizó el mismo procedimiento para el Antraceno en una concentración de 0.4 mg/L, los espectros de fluorescencia obtenidos se indican en la Figura 5-7.

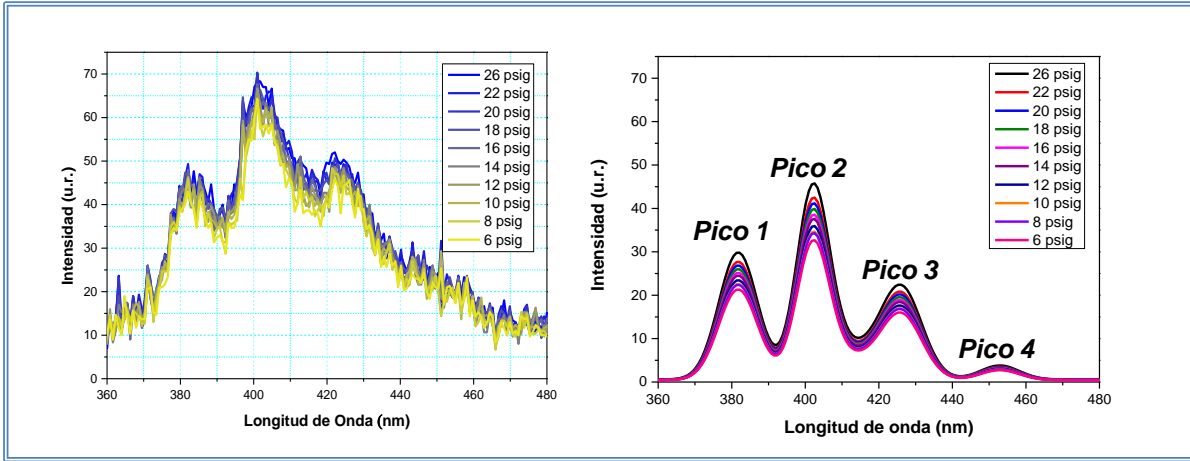


Figura 5-7 Fluorescencia de Antraceno a diferentes presiones

En la figura anterior del lado izquierdo se encuentran los espectros de fluorescencia del Antraceno en un intervalo de presiones desde 6 psig hasta 26 psig y del lado derecho se encuentran los espectros de fluorescencia después de realizar el ajuste del espectro por funciones gaussianas y la resta de fluorescencia de la fibra óptica. La cuantificación de fluorescencia de los picos 1, 2, 3 y 4 y del área bajo la curva se muestra a continuación.

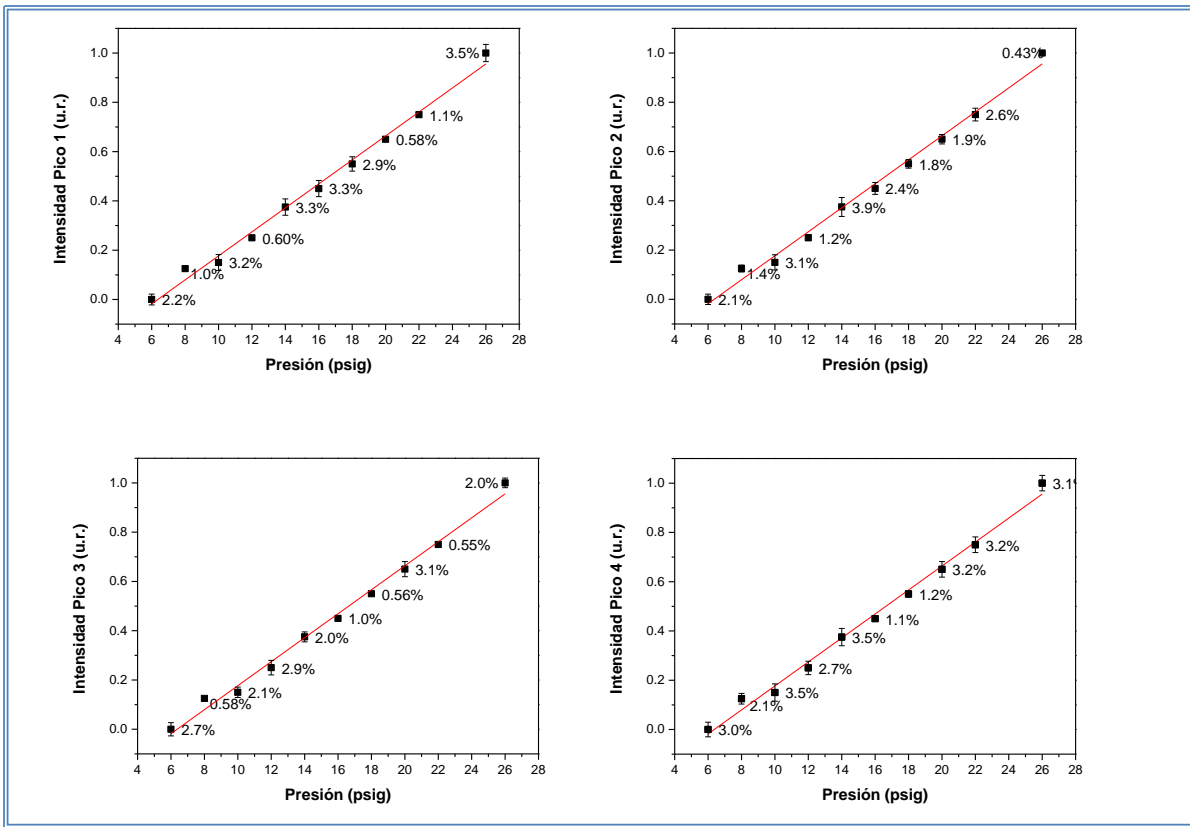


Figura 5-8 Fluorescencia del Antraceno Picos 1,2,3 y 4 en función de la presión

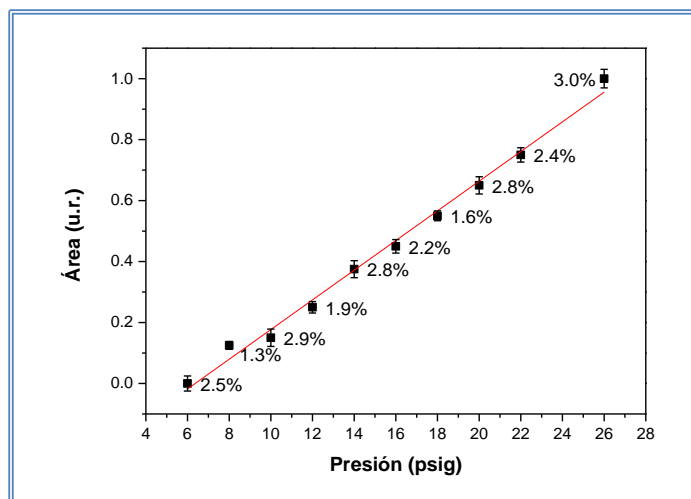


Figura 5-9 Área bajo la curva de Antraceno

El ajuste lineal de los resultados se indica en la Tabla 5-3.

Tabla 5-3 Ajuste de resultados de Antraceno

| Compuesto Fenantreno | Pico 1 | Pico 2 | Pico 3 | Pico 4 | Área |
|-------------------------|--------|--------|--------|--------|--------|
| R ² ajustado | 0.9915 | 0.9915 | 0.9915 | 0.9915 | 0.9915 |

Las ecuaciones resultantes se indican en la Tabla 5-4:

Tabla 5-4 Ecuaciones del ajuste lineal de Antraceno

| Compuesto Antraceno | Ecuación |
|---------------------|---|
| Área | $y=(4.80\pm 0.14)x \times 10^{-2}-(30.98\pm 2.44) \times 10^{-2}$ |
| Pico 1 | $y=(4.81\pm 0.12)x \times 10^{-2}-(31.18\pm 1.34) \times 10^{-2}$ |
| Pico 2 | $y=(4.82\pm 0.11)x \times 10^{-2}-(30.78\pm 2.54) \times 10^{-2}$ |
| Pico 3 | $y=(4.81\pm 0.16)x \times 10^{-2}-(31.98\pm 2.22) \times 10^{-2}$ |
| Pico 4 | $y=(4.82\pm 0.14)x \times 10^{-2}-(30.54\pm 2.34) \times 10^{-2}$ |

De acuerdo a los resultados anteriores se puede ver que los espectros de fluorescencia del Antraceno no presentan desviaciones en cuanto a las intensidades de los picos de fluorescencia y del área bajo la curva, es decir que mantienen una relación idéntica para cada uno de los parámetros seleccionados lo cual se puede apreciar al obtener la misma ecuación para todos los casos.

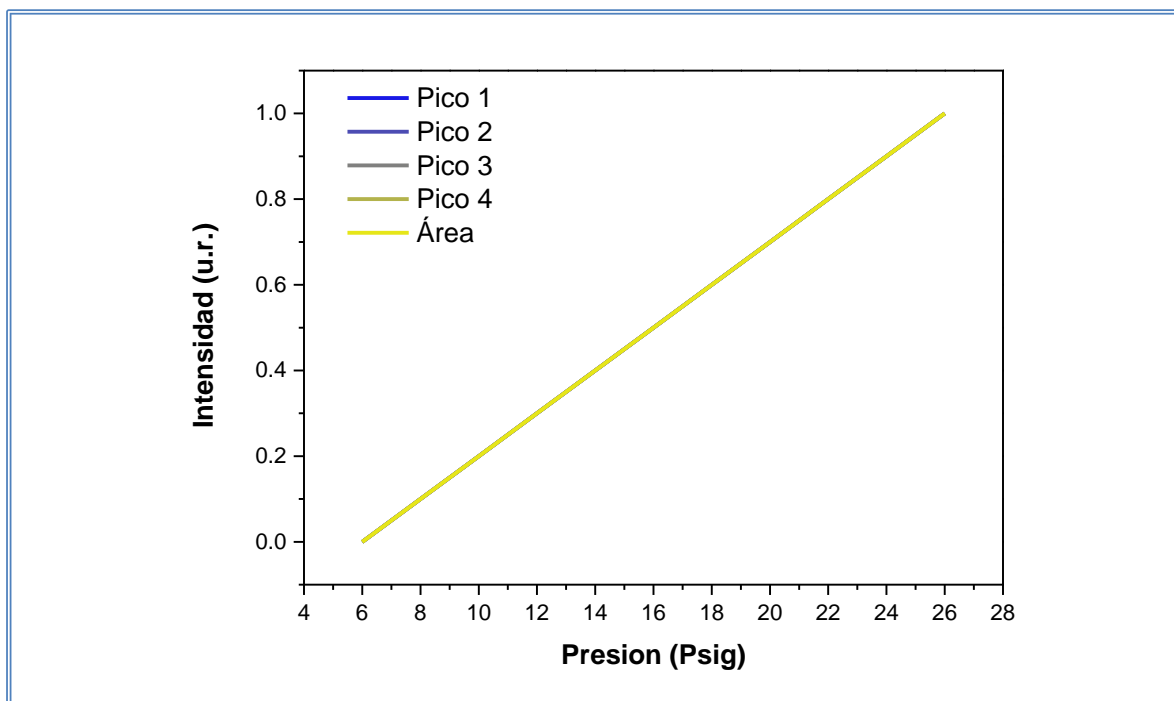


Figura 5-10 Gráfica de las ecuaciones del Antraceno en función de la presión

En la Figura 5-10 se puede observar que las ecuaciones se superponen unas con otras por lo que al igual que los experimentos de temperatura realizados en el capítulo anterior es posible utilizar cualquier medición para la cuantificación de fluorescencia del Antraceno en el intervalo de presión de 6 a 26 psig. También se observa que cuando se modifica la presión no existe un cambio significativo en la distribución espectral de fluorescencia.

5.4 Conclusiones

El comportamiento de la fluorescencia del Fenantreno y Antraceno al variar la presión en el intervalo estudiado hasta 22 psi se puede ajustar a una función exponencial para el caso del Fenantreno y lineal para el Antraceno, a temperatura ambiente y concentración constante de la muestra.

A medida que se incrementa la presión la intensidad de fluorescencia es mayor, en el intervalo de presión de 6 hasta 24 psig, en ambos compuestos.

Las pruebas desarrolladas son aplicables para medir la intensidad de fluorescencia de HAPs a profundidades de alrededor de 17 metros con una presión de 26 psig a temperatura ambiente y concentración constante.

Los espectros de fluorescencia del Fenantreno/Antraceno no presentan alteraciones espectrales cuando se modifica la presión.

Los resultados muestran que es posible utilizar cualquier criterio de intensidad de fluorescencia, ya sea la amplitud de los picos o el área total bajo la curva para cuantificar la fluorescencia de las muestras de Antraceno y de Fenantreno ya que las ecuaciones obtenidas se superponen unas con otras.

Este estudio fue relevante debido a que no se han encontrado referencias de estudios de fluorescencia de HAPs variando la presión.

Este estudio de presión se utilizará como guía para la realización de instalaciones experimentales que permitan trabajar con presiones superiores a 2000 psig, el equivalente a profundidades del orden de 1400 metros bajo el nivel del mar.

Conclusiones Generales

1. Se implementó un sistema óptico en laboratorio para la detección de fluorescencia de dos hidrocarburos aromáticos (Fenantreno y Antraceno) tomando mediciones cada minuto.
2. El Fenantreno y Antraceno son compuestos aromáticos presentes en mezclas de crudo y además se encuentran dentro de los siete HAPs más dañinos para el medio ambiente y el hombre.
3. El sistema implementado utiliza un LED UV que de acuerdo a las hojas de datos del fabricante tiene un periodo de vida de 10 000 h, el cual es cinco veces superior al tiempo reportado para las lámparas de Xenón que normalmente utilizan los sistemas comerciales.
4. Se realizó el diseño y montaje de una fuente de corriente y se logró garantizar la correcta operación del LED UV y mantenerlo dentro de los límites de operación establecidos por el fabricante.
5. El sistema óptico de medición implementado logró la detección de Fenantreno en el intervalo de 1 µg/L a 0.6 mg/L y para el Antraceno en el intervalo de 1 µg/L a 0.4 mg/L. El límite mínimo de detección del sistema óptico de medición implementado para ambos compuestos fue de 1 µg/L, este valor se encuentra diez veces por debajo del límite establecido en la normatividad para costas libres de contaminación por HAPs.
6. Las pruebas de fluorescencia a condiciones fijas de presión y temperatura ambiente demuestran que es posible detectar diferentes concentraciones de Fenantreno y Antraceno, dentro de los límites establecidos en el numeral anterior.
7. El comportamiento de la fluorescencia de la muestra de Fenantreno y Antraceno al variar la temperatura en el intervalo de 4 a 24 °C y manteniendo fijas la presión y la concentración de la muestra, demuestra que a medida que disminuye la temperatura aumenta la fluorescencia de la muestra, aumentando la sensibilidad de respuesta del medidor y la capacidad de detectar bajas concentraciones a menores temperaturas.

8. El comportamiento de la fluorescencia de la muestra de Fenantreno y Antraceno al variar la presión en el intervalo de 6 a 24 psig y manteniendo fijas la temperatura y la concentración de la muestra, demuestra que a medida que aumenta la presión aumenta la fluorescencia de la muestra, aumentando la sensibilidad de respuesta del medidor y la capacidad de detectar bajas concentraciones a mayores profundidades.

Recomendaciones para el trabajo a futuro

Una de las recomendaciones para continuar con el trabajo a futuro sería caracterizar más compuestos HAPs utilizando el sistema desarrollado de esta forma se podría crear una base de datos que pueda ser utilizada para identificar diferentes contaminantes HAPs en agua de mar.

Utilizar un LED emisor de fluorescencia de 255 nm con mayor irradiancia del orden de 15 mW, para irradiar la muestra y poder enviar luz de excitación directamente a la muestra por medio de fibra óptica.

Construir una fuente operada por baterías para tener autonomía eléctrica y realizar mediciones sin detenerse a cargar las baterías y poder tener baterías de reemplazo.

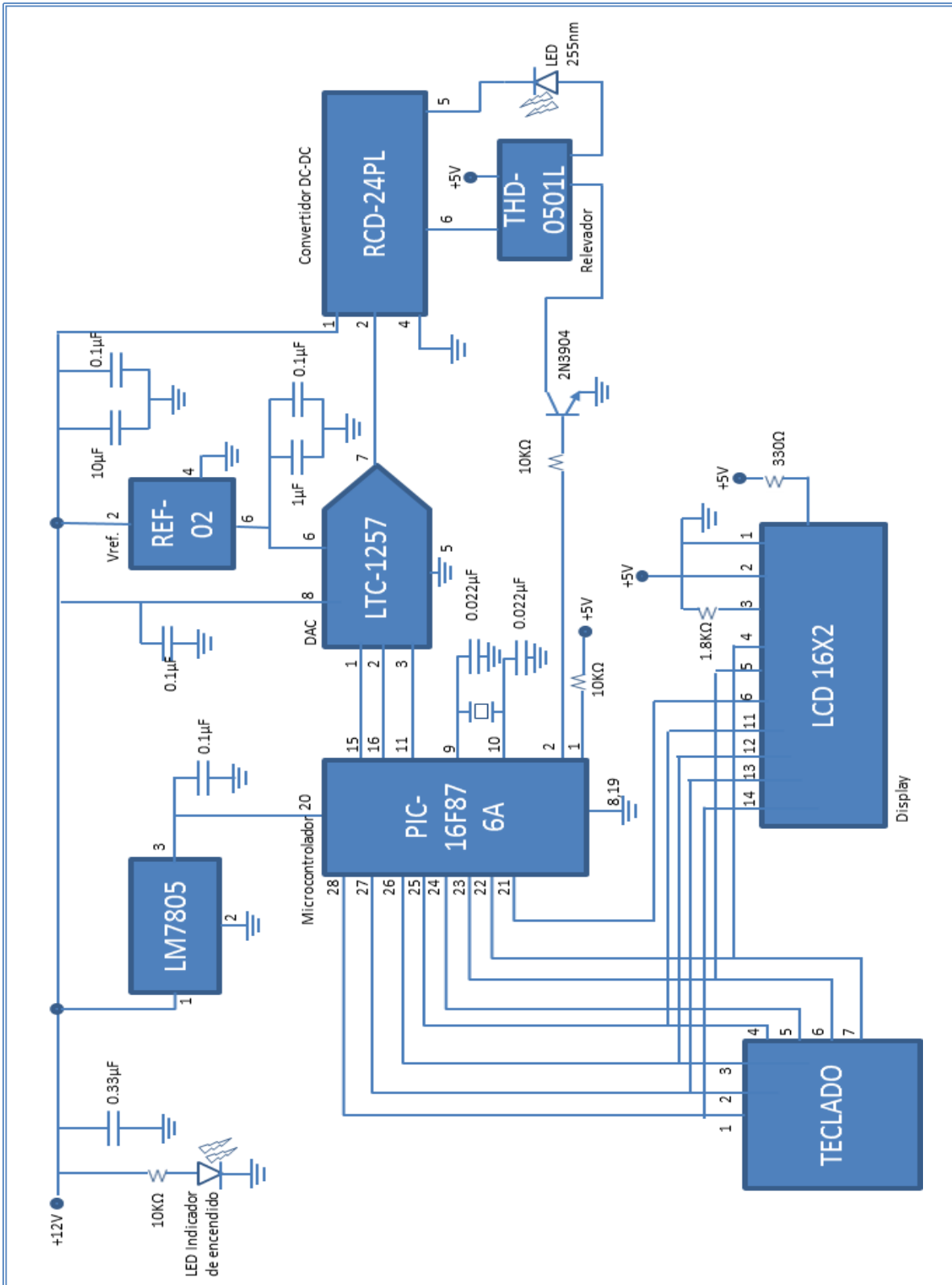
Utilizar fibra óptica que no absorba radiación UV para que no emita fluorescencia que intervenga con los espectros de fluorescencia de las muestras.

Diseñar un sistema presurizado para soportar presiones hasta 140 atmosferas valor que corresponde a la presión de 1400 m considerado como el nivel promedio de profundidad del Golfo de México y poder analizar el comportamiento de la fluorescencia a diferentes presiones.

Realizar pruebas con agua de mar para verificar si existen compuestos químicos que interfieran con la fluorescencia de los hidrocarburos aromáticos.

Apéndices

A. Diagrama de la fuente de corriente con lectura de potencia



B. Programación del PIC 16F876A

```
1  #include <16F876A.h>
2  #fuses XT,NOWDT,NOPROTECT,NOLVP
3  #use delay(clock = 4000000)
4  #include "LTC1257.c"
5  #use fast_io(a)
6  #use fast_io(b)
7  #use fast_io(c)
8
9  //-----|Macros|-----
10
11 #include <stdlib.h>
12 #include "LCD420.c"
13 #include "kbd.c"
14
15 //-----|Prototipo De Funciones|-----
16
17 long int despliega_corriente();
18 void despliega_codigo(long int);
19
20 //-----|Programa Principal|-----
21
22 void main()
23 {
24     long int codigo = 4095;
25     long int corriente;
26
27     lcd_init();           // Inicializo LCD
28     kbd_init();          // Inicializo Teclado
29     port_b_pullups(TRUE); // Activo las resistencias de pull-up del puerto B
30     init_dac();          // Inicializo DAC
31     write_dac(codigo);   // Inicializamos al DAC con la posición más alta
32     set_tris_A(0x00);    // Puerto A como salida
33     corriente = despliega_corriente(); // Empiezo la conversión
34     despliega_codigo(corriente);
35 }
36
37 //-----|Declaración De Funciones|-----
38
39 long int despliega_corriente() // Para que se visualice la corriente ingresada
40 {
41     int i;                // Para la cantidad de dígitos
42     int k;                // Para guardar el dígito presionado
43     int pide_corriente[5]; // Para guardar corriente
44     long int ent16;        // Para guardar la corriente como entero de 16 bits
45
46     i = 0;                // Posición del vector
47     printf(lcd_putc, "\fCORRIENTE(mA)"); // Pide corriente
48     memset(pide_corriente, 0, sizeof(pide_corriente)); // Para limpiar el arreglo
49
50     while(i <= 4)        // Para cuatro dígitos, enter y/o reset
51     {
52         k = kbd_getc(); // Lee el teclado
```

Programación del PIC 16F876A (Continuación)

```
53
54     if(k != 0)           // Si se ha pulsado alguna tecla
55     {
56         pide_corriente[i] = k; // Se guarda en la posición correspondiente
57         i++;                  // del vector
58         printf(lcd_putc, "\fCORRIENTE(mA)");
59         lcd_gotoxy(1,2);
60         printf(lcd_putc, "    %s\n", pide_corriente); // Imprime potencia
61
62         // Para generar un error por si se excede la corriente permitida
63         if(pide_corriente[3] > 0 && pide_corriente[3] != '*' && pide_corriente[3] != '#')
64         {
65             printf(lcd_putc, "\f    ERROR!    \n");
66             lcd_gotoxy(1,2);
67             printf(lcd_putc, " FUERA DE RANGO \n");
68             delay_ms(1300); // Retardo de 1.3 segundos
69             printf(lcd_putc, "\fI MAX = 160 mA\n");
70             lcd_gotoxy(1,2);
71             printf(lcd_putc, "INTENTE DE NUEVO\n");
72             delay_ms(2000); // Retardo de 2 segundos
73             reset_cpu();
74         }
75
76         if(k == '*') // Para crear un enter y guardar la corriente
77         {
78             ent16 = atol(pide_corriente); // Para transformar un string a int16
79
80             // Para generar un error por si se excede la corriente permitida al presionar enter
81             if(ent16 > 160)
82             {
83                 printf(lcd_putc, "\f    ERROR!    \n");
84                 lcd_gotoxy(1,2);
85                 printf(lcd_putc, " FUERA DE RANGO \n");
86                 delay_ms(1300); // Retardo de 1.3 segundos
87                 printf(lcd_putc, "\fI MAX = 160 mA\n");
88                 lcd_gotoxy(1,2);
89                 printf(lcd_putc, "INTENTE DE NUEVO\n");
90                 delay_ms(2000); // Retardo de 2 segundos
91                 reset_cpu();
92             }
93
94             return ent16;
95         }
96
97         if(k == '#') // Para crear un reset
98         {
99             output_low(PIN_A0); // Pone en bajo el pin A0
100             reset_cpu(); // Si presiona '#' resetea al IC
101         }
102     }
103 }
104 }
```


Programación del PIC 16F876A (Continuación)

```
105
106 void despliega_codigo(long int ent16)
107 {
108     float corriente, voltaje;
109     long int codigoinicial; //variable codigo final borrada
110     int k; // Para guardar el digito presionado
111     /// int j; // para el ciclo for
112
113     printf(lcd_putc, "\fLED ULTRAVIOLETA\n"); // LED Ultravioleta Seleccionado
114     lcd_gotoxy(1,2);
115     printf(lcd_putc, "CORRIENTE: %Lu mA\n", ent16);
116
117     // Ciclo for y Ecuaciones calculadas para el LED UV
118     corriente = (float)ent16;
119     corriente = corriente/1000;
120     /// codigoinicial =1; //inicializa codigoinicial
121     /// for (j=1; j<= ent16; ++j)
122     /// {
123     voltaje = (corriente-1.0308) / (-0.2369);
124     codigoinicial = (voltaje * 4096) / 5.1415;
125     write_dac(codigoinicial); // Manda la posicion al DAC
126     output_high(PIN_A0); // Pone en alto el pin A0
127     /// codigofinal = codigoinicial;
128     /// }
129     // Ciclo While para leer en todo el tiempo el teclado
130     while(1)
131     {
132         k = kbd_getc(); // Lee el teclado
133         if(k == '#')
134         {
135             output_low(PIN_A0); // Pone en bajo el pin A0
136             reset_cpu();// Si presiona '#' resetea al PIC
137         }
138     }
139 }
```

C. Hoja de especificaciones del espectrofluorómetro Shimadzu

| | | |
|-----------------------------------|---|---|
| Especificaciones de Hardware | Fuente de luz | 150W Lámpara de Xenón, con alojamiento encapsulado de Ozono |
| | Monocromadores de excitación y emisión | Cóncavo, operado con rejilla holográfica |
| | Escala de longitud de onda | 220-990 nm |
| | Intervalo de medición de longitudes de onda | 220-750 nm |
| | Ancho de banda espectral | 6 pasos seleccionables de 1.5, 3, 5, 10,15 y 20 nm |
| | Exactitud de longitud de onda | ± 1.5 nm |
| | Compensación de fuente de luz | Sistema de retroalimentación dynode con monitorización de luz monocromática |
| | Sensibilidad | La relación de cambio señal/ruido es de 150 o mayor para la línea Raman de agua destilada |
| | Velocidad de muestreo de longitudes de onda | 7 pasos seleccionables de lista: Inspección (aprox. 5500 nm/min), Super (aprox. 3000 nm/min), muy rápido, rápido, medio, lento y muy lento |
| | Velocidad de giro de longitudes de onda | Aproximadamente 20,000 nm/min |
| | Respuesta | 8 pasos seleccionables de 0.02, 0.03, 0.1, 0.25, 0.5, 2, 4 y 8 segundos de 98% del valor de la escala total |
| | Selector de sensibilidad | 2 pasos: alto y bajo |
| | Interface | RS-223C |
| | Dimensiones y peso | 667 mm Ancho x 530 mm Profundidad x 270 mm Largo; 43 kg |
| | Requerimientos de energía eléctrica | 100, 120, 220, 240V; 50/60Hz; 400VA. |
| Intervalo de temperatura opcional | 15-35 °C | |
| Intervalo de humedad operacional | 40-80% (por debajo del 70% con temperaturas mayores que 30 °C). | |
| Especificaciones de Software | Medición | Excitación, emisión y medición sincrónica de espectros, medición de transcurso de tiempo, cuantificación, búsqueda automática de excitación óptima y longitudes de onda de emisión, escaneo emergente. |
| | Procesamiento de datos | Cálculo aritmético entre espectros y constantes, suavizado, derivación de 1º y 4º orden, 1/y, conversión logarítmica, impresión de datos, señalador de picos, cálculo de área, promediado, generador de curvas de calibración de 1º y 3º orden. |
| | Manejo de archivos | Guardado, renombrado, y borrado de datos, conversión en formatos ASCII y DIF. |
| | Datos de salida | Ajuste de escala automático, entrada y salida de puntos especificados por el usuario, impresión de datos de salida, selección de colores y tipos de curvas. |
| | Mantenimiento | Monitoreo automático de relación de señal a ruido, monitoreo de tiempo de operación de lámpara. |
| | Interface de usuario | Menú de acceso rápido. |
| | Otras funciones | Intercambio de datos por vía de la papelera de reciclaje, control de respuesta automática, capturado automático. |
| | Requerimientos de PC | IBM, procesador i486, 8Mb, sistema operativo MS-Windows versión 3.1 o mayor. |

Referencias

- [1] B. K. Lee, "Distribution and Toxicity of Polyaromatic Hydrocarbons (PAHs) in Particulate Matter," *Air Pollution*, Korea, 2010.
- [2] A. V. Botello, J. Rendón von Osten, G. Gold-Bouchot *et al.*, "Marco Conceptual," *Golfo de México, Contaminación e Impacto Ambiental, Diagnóstico y Tendencias*, pp. 9-14, 2005.
- [3] "Cordis," Página electrónica consultada en Noviembre de 2014; http://cordis.europa.eu/project/rcn/57247_en.html.
- [4] "Conacyt," Página electrónica consultada en Noviembre de 2014; <http://www.conacyt.mx/index.php/comunicacion/comunicados-prensa/398-conacyt-evaluara-impacto-de-posibles-derrames-de-hidrocarburos-en-el-golfo-de-mexico>.
- [5] J. Mager Stellman, "Volumen 4; Hidrocarburos Aromáticos," *Enciclopedia de salud y seguridad en el trabajo, Oficina Internacional del Trabajo*: Chantal Dufresne, BA.
- [6] U. EPA, *Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs) Fact Sheet*, 2008.
- [7] T. F. Holth, D. P. Eidsvoll, E. Farmen *et al.*, "Effects of water accommodated fractions of crude oils and diesel on a suite of biomarkers in Atlantic cod (*Gadus morhua*)," *Elsevier, Aquatic Toxicology*, no. 154, pp. 240-252, 2014.
- [8] E. Selli, C. Zaccaria, F. Sena *et al.*, "Application of multi-way models to the time-resolved fluorescence of polycyclic aromatic hydrocarbons mixtures in water," *Elsevier, Water Research*, no. 38, pp. 2269-2276, 2004.
- [9] F. P. Schwarz, and S. P. Wasik, "Fluorescence Measurements of Benzene, Naphthalene, Anthracene, Pyrene, Fluoranthene, and Benzo[e]pyrene in Water," *Analytical Chemistry*, vol. 48, no. 3, 1976.
- [10] H. Schmidt, N. Bich Ha, J. Pfannkuche *et al.*, "Detection of PAHs in seawater using surface-enhanced Raman scattering (SERS)," *Marine Pollution Bulletin*, vol. 49, pp. 229-234, 2004.
- [11] P. Giamarchi, L. Stephan, S. Salomon *et al.*, "Multicomponent Determination of a Polyaromatic Hydrocarbon Mixture by Direct Fluorescence Measurements," *Journal of Fluorescence*, vol. 10, no. 4, 2000.
- [12] M. Tedetti, C. Bachet, P. Joffre *et al.*, "Development of miniaturized submersible fluorometers for the detection of aromatic hydrocarbons in marine waters," *Geophysical Research Abstracts*, vol. 16, pp. 2014-3613, 2014.
- [13] M. Tedetti, C. Guigue, and M. Goutx, "Utilization of a submersible UV fluorometer for monitoring anthropogenic inputs in the Mediterranean coastal waters," *Marine Pollution Bulletin*, no. 60, pp. 350-362, 2010.

- [14] C. A. Parker, and W. T. Rees, "Correction of Fluorescence Spectra and Measurement of Fluorescence Quantum Efficiency," *Analyst*, vol. 85, no. 1013, pp. 587-600, 1960.
- [15] United States, *Proposed 1983 outer continental shelf oil and gas lease sale offshore the South-Atlantic States: OCS sale no. 78: draft environmental impact statement*, [New York]: The Office, 1982.
- [16] G. S. Rivas Maza, "Desarrollo de un sistema portátil para el estudio *in situ* de aguas contaminadas a través de métodos de la espectroscopia óptica," Instrumentación Fotónica, Instituto Politécnico Nacional, México, D.F., 2014
- [17] IMP. Página electrónica consultada en Junio de 2016; <http://www.imp.mx/petroleo/?imp=tipos>.
- [18] A. J. Vázquez Vaamonde, J. J. de Damborenea, and J. J. Damborenea González, *Ciencia e ingeniería de la superficie de los materiales metálicos*: Consejo Superior de Investigaciones Científicas, 2001.
- [19] E. Briones, "La biodiversidad del mar profundo en México," *Biodiversitas*, no. 29 Marzo de 2000, 5.
- [20] "University of Notre Dame," Página electrónica consultada en Abril, 2016; https://www3.nd.edu/~kamatlab/facilities_spectroscopy.html.
- [21] A. C. Smith, and I. Verhappen, "Chapter 23 - Chemical Analysis: Spectroscopy A2 - Boyes, Walt," *Instrumentation Reference Book (Fourth Edition)*, pp. 341-362, Boston: Butterworth-Heinemann, 2010.
- [22] S. E. Technology. "News," Página electrónica consultada en Junio de 2016; <http://www.s-et.com/news/2016-05-31.pdf>.
- [23] S. Gratz, A. Mohrhaus, B. Gamble *et al.*, "Screen for the presence of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in select seafoods using LC-Fluorescence," *FDA/ORA/DFS*, pp. 1-39, 2010.
- [24] IMO, *Manual sobre la contaminación ocasionada por hidrocarburos*: International Maritime Organization, 1991.
- [25] PNUMA, *Evaluación sobre las fuentes terrestres y actividades que afectan al medio marino, costero y de aguas dulces asociadas en la región del Gran Caribe*: Programa de las Naciones Unidas para el Medio Ambiente, 1999.
- [26] D. K. Atwood, and F. J. Burton, *Results of the CARIPOL petroleum pollution monitoring project in the wider Caribbean*, 1987.
- [27] UNEP/CEP/CIMAB, *Programme for monitoring the quality of the marine ecosystems in high-risk areas in the wider caribbean region*, 2010.
- [28] A. V. Botello, F. S. Villanueva, and G. G. Díaz, "Petroleum Pollution in the Gulf of Mexico and Caribbean Sea," *Reviews of Environmental Contamination and*

- Toxicology: Continuation of Residue Reviews*, G. W. Ware, ed., pp. 91-118, New York, NY: Springer New York, 1997.
- [29] UNESCO, "Guide to Operational Procedures for the IGOSS Pilot Project on Marine Pollution Petroleum. Monitoring Manual and Guides No 7," 1976, p. 32.
- [30] A. V. Botello, J. L. Rojas, J. A. Benítez *et al.*, "Contaminación e Impacto Ambiental: Diagnóstico y tendencias. EPOMEX Serie Científica 5," pp. 666, 1996.
- [31] A. Villasol, and J. Beltrán, *Caribbean Islands. Bahamas, Cuba, Dominican Republic, Haití, Jamaica, Puerto Rico. GIWA Regional assessment 4*, UNEP/GEF/KALMAR, 2004.
- [32] PNUMA, *Perspectiva Regional sobre las Fuentes de Contaminación de Origen Terrestre en la Región del Gran Caribe . Informe Técnico del PAC No. 33. Programa Ambiental del Caribe del PNUMA, Kingston, Jamaica*, 1994.
- [33] Reuters. "British Petroleum, culpable por el derrame en el Golfo de México," <http://www.jornada.unam.mx/2012/11/16/economia/027n1eco>.
- [34] M. Caso, "Diagnóstico Ambiental del Golfo de México," *Físico Química del Golfo de México*, pp. 103-132: Secretaria de Medio Ambiente y Recursos Naturales, 2004.
- [35] I. Schifter, C. González Macías, L. Salazar Coria *et al.*, "Long-term effects of discharges of produced water the marine environment from petroleum-related activities at Sonda de Campeche, Gulf of México," *Environ Monit Assess*, vol. 187, no. 723, pp. 24, 2015.
- [36] J. R. Lakowicz, *Principles of Fluorescence Spectroscopy*, New York: Springer, 3rd edition, 2006.
- [37] F. J. Holler, and R. C. Stanley, *Fundamentos de química analítica*: Cengage learning, 2014.
- [38] A. H. Neilson, "Partitioning and physical properties of PAHs," *PAHs and related compounds Chemistry*, pp. 325-346: The Handbook of Environmental Chemistry, 1998.
- [39] J. M. Neff, *Bioaccumulation in marine organism: Effect of Contaminants from Oil Well Produced Water*, Amsterdam: Elsevier, 2002.
- [40] ASTM D1141-98. "Standar Practice for the preparation of substitute ocean water."
- [41] E. R. Angulo Mercado, "Solubilidad de Hidrocarburos Aromáticos en soluciones acuosas de sales de amonio cuaternario," Universidad Nacional de Colombia, 2011
- [42] Instituto Nacional de Seguridad e Higiene en el Trabajo, "Ficha internacional de seguridad química del metanol," 2002.
- [43] "Technical glass products," Página electrónica consultada en Junio de 2016; http://www.technicalglass.com/pressure_calculations.html.

Referencias

- [44] Turner, "Technical note: An introduction to fluorescent measurement."
- [45] A. Guarnizo Franco, *Química General Práctica*: Elizcom S.A.S.
- [46] D. C. LeBlanc, *Statistics : concepts and applications for science*, Boston: Jones and Bartlett, 2004.
- [47] R. C. Weast, and M. J. Astle, *CRC handbook of chemistry and physics : a ready-reference book of chemical and physical data*, Boca Raton, Fla.: CRC Press, 1980.