

NMR UNA NUEVA TECNOLOGÍA PARA EL SEGUIMIENTO DE PETRÓLEOS EN SUELOS DE LA PATAGONIA CENTRAL

Stella Maris Ríos y Norma Nudelman*

* Facultad de Cs. Exact. y Naturales de la UBA, Buenos Aires y Facultad de Ciencias
Naturales U.N.P.S.J.B., Comodoro Rivadavia

Sinopsis

En este trabajo se ha utilizado la espectroscopia de resonancia magnética protónica (^1H NMR) para la evaluación de los cambios composicionales de residuos de petróleo en suelos, con distintos tiempos de exposición ambiental. Se realizaron, además, determinaciones con otras técnicas de uso habitual como: cromatografía en columna (CC) y cromatografía gaseosa (GC). Con el objeto de comparar la potencialidad de la resonancia magnética nuclear en este campo, se realizó un análisis por componentes principales (PCA). Los resultados mostraron que la 1^{era} PC explica el 47% de la varianza total, y a ella contribuyen principalmente cuatro índices de NMR y un índice de CG, en este orden; mientras que a la segunda PC, que explica el 19% de la varianza total, contribuyen índices de CC y GC, respectivamente. Esto implica que los parámetros relevados en base a NMR resultarían ser mejores descriptores globales de los cambios en la composición, cuando se los compara con los demás índices. Se muestra, además, que la espectroscopia NMR brinda la posibilidad de realizar un análisis cualitativo de los espectros que permite obtener información estructural de valor, como la presencia de una diversa gama de compuestos polares durante los primeros tiempos de exposición.

Introducción

La espectroscopia de resonancia magnética nuclear (NMR = Nuclear Magnetic Resonance) es otra forma de espectrometría de absorción, como la infrarroja (IR = infrared) y la ultravioleta visible (UV-visible = ultravioleta -visible). La misma, se fundamenta en el hecho de que, bajo la acción de un campo magnético apropiado, una muestra puede absorber radiación electromagnética en el rango de radiofrecuencias, siendo las frecuencias absorbidas en cada caso, características de los distintos componentes de la muestra en estudio.

El giro de las cargas eléctricas ("spin") en los núcleos atómicos originan dipolos magnéticos. El momento angular puede describirse en términos de los número cuánticos de spin I, en la **Tabla 1** se muestran los valores de I para diversos nucleídos.

Tabla 1. Números cuánticos de spin nucleares (I) de algunos nucleídos comunes

I	Núcleo
0	^{12}C ^{16}O
1/2	^1H ^{13}C ^{15}N ^{19}F ^{29}Si ^{31}P
1	^2H ^{14}N
3/2	^{11}B ^{23}Na ^{35}Cl ^{37}Cl
5/2	^{17}O ^{27}Al
3	^{10}B

El valor de I determina el número de orientaciones posibles de un núcleo en presencia de un campo magnético externo ($\mathbf{B}_0$), según la ecuación $2I + 1$. Para el caso de ^1H el número es de 2 y

ambos estados diferirán en su estado energético, siendo más grande la diferencias cuanto mayor sea B_0 . En estas condiciones la frecuencia de la radiación electromagnética (ν) necesaria para pasar de un estado al otro será:

$$\nu = \gamma B_0 / 2\pi$$

donde γ se conoce como la **relación giromagnética** y es función de I y del momento magnético μ . Si ν y B_0 se expresan en MHz y T (Tesla = 10^4 Gauss) respectivamente, entonces γ tiene unidades de $T^{-1} s^{-1}$.

Un campo magnético típico usado para NMR es de 9,4 T que es aproximadamente 10^5 veces más fuerte que el campo magnético de la Tierra. La frecuencia de resonancia para un protón será de 400 MHz bajo este campo magnético, que corresponde a la región de radiofrecuencia del espectro electromagnético. Debido a esto, la radiación requerida para inducir transiciones de NMR se denomina **campo de radiofrecuencia**.

En consecuencia, para realizar un espectro de NMR se necesita: un campo magnético estático fuerte, una fuente de radiación de radiofrecuencia para excitar a los núcleos de la muestra y un método para detectar la señal de NMR. En el presente estudio se utilizó un Espectrómetro de 200 MHz, Bruker AC-200 con consola Tecmag y un Espectrómetro de 500 MHz multinuclear, Bruker AM-500 pertenecientes a UMYMFOR (Unidad de Microanálisis y Métodos Físicoquímicos aplicados a la Química **Orgánica**) organismo dependiente del CONICET y la FCEN UBA.

Si todos los núcleos de un mismo tipo, por ej. 1H , resonaran a igual frecuencia no se podría utilizar este método para investigar estructuras en química orgánica. Afortunadamente, la frecuencia de resonancia depende (ligeramente) de la posición del núcleo en la molécula, o para ser mas preciso, de la distribución electrónica local. Este efecto se conoce como **desplazamiento químico** y su existencia hace posible la aplicación a la identificación de estructuras.

El campo B experimentado por cada núcleo en un átomo que a su vez se encuentra en una molécula difiere ligeramente del campo externo B_0 que es el que experimentaría un núcleo aislado de sus electrones. B es siempre menor que B_0 debido a que el campo externo produce un movimiento extra de los electrones generando un pequeño campo B' en la dirección opuesta a B_0 , por lo tanto:

$$B = B_0 - B' = B_0(1-\sigma)$$

donde σ es la constante de proporcionalidad entre B_0 y B' , llamada **constante de apantallamiento**, y la frecuencia de resonancia será, ahora:

$$\nu = \gamma B / 2\pi = \gamma B_0(1-\sigma) / 2\pi$$

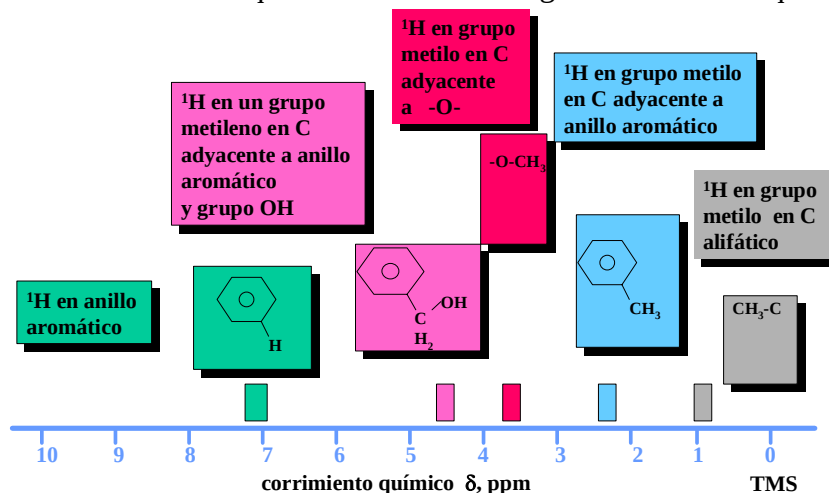
Debido a que los desplazamiento absolutos son muy difíciles de medir, en la práctica es habitual definir el desplazamiento químico en términos de la diferencia entre las frecuencias de resonancia de los núcleos de interés (ν) y la de un núcleo de referencia (ν_{ref}), utilizando un parámetro adimensional:

$$\delta = 10^6 ((\nu - \nu_{ref}) / \nu_{ref})$$

en estas condiciones δ es un parámetro molecular, independiente del campo magnético usado para medirla. Los δ se expresan en partes por millón o ppm y el factor 10^6 solo sirve a los fines de acomodar el valor de δ a uno mas conveniente.

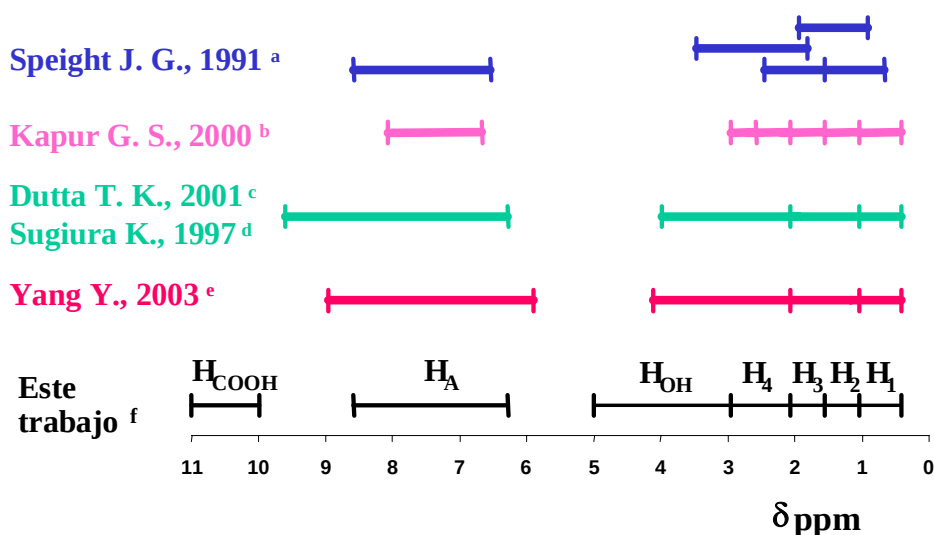
Para obtener la señal de referencia, para los espectros de ^1H y ^{13}C , se agrega a la muestra una pequeña cantidad del compuesto tetrametilsilano ($(\text{CH}_3)_4\text{Si}$ (TMS)). Se utiliza debido a su inercia química en la mayoría de los solventes orgánicos y porque su señal en NMR es única y muy intensa, debido a la presencia de doce protones iguales con idéntico corrimiento químico. Por convención, los espectros de NMR se presentan con δ aumentando de izquierda a derecha. En la **Tabla 2**, se muestran los corrimientos químicos correspondientes a algunas estructuras, puede verse como los átomos adyacentes al estudiado (entorno químico) modifica el valor de δ .

Tabla 2. Corrimientos químicos de ^1H en algunas estructuras químicas



La espectroscopía de NMR es uno de los métodos más importantes para la caracterización de mezclas complejas, sin embargo, su aplicación al análisis de muestras de petróleo es muy reciente. A fin de brindar una imagen ponderada de los recientes avances en esta metodología, se ha tratado de volcar en un esquema, trabajos científicos previos de la literatura internacional. El **Esquema 1** muestra los corrimientos químicos de NMR asignados a uno o más grupos estructurales para petróleos crudos y fracciones de petróleos crudos, desde 1991 hasta la fecha.

Esquema 1. Asignación de grupos estructurales en petróleos por ^1H NMR



^a Fracción de petróleo, ^b Corte de petróleo, ^c Fracción soluble de petróleo en n-hexano, ^d Fracción aromática de un petróleo liviano, ^e Petróleos pesados, ^f Petróleos y residuos de petróleo en la Cuenca del Golfo San Jorge, H_{COOH} y H_{OH} solo en fracciones polares.

Speight J. G. dividió el espectro de ^1H NMR de una fracción de petróleo en cinco regiones, cada una identificable de un tipo de átomo de hidrógeno: aromático, bencílico, nafténico, metileno parafínico y metilo parafínico. Kapur G. S. mostró que el espectro de ^1H NMR de un corte de petróleo podría dividirse en regiones, cuya asignación correspondería a uno o más grupos estructurales: aromático, CH/CH_2 en sustituyentes en posición alfa respecto a un núcleo aromático, CH_3 en sustituyentes en posición alfa respecto a un núcleo aromático, cicloalcanos (naftenos), y alcanos de cadena lineal y ramificadas (parafinas normales e isoparafinas). Además de CH_3/CH_2 y CH_2/CH en compuestos nafténicos e isoparafinas.

Por otro lado, el espectro de ^1H NMR de la fracción aromática de un petróleo crudo (Arabian crude oil) se dividió en cinco regiones: hidrógenos aromáticos, alfa alquílicos, alquílicos excepto alfa alquílicos y metilos terminales y metilos terminales. Esta misma asignación fue utilizada por Dutta y Harayama, más recientemente, en el análisis de compuestos aromáticos con sustituyentes alquílicos de cadenas largas, presentes en la fracción alifática de petróleos crudos.

Yan y col., subdividen la distribución de hidrógenos en petróleos pesados, de la siguiente forma: aromáticos, alifáticos en C_α respecto a un anillo aromático, alifáticos en C_β , CH_2 y CH más allá de C_β respecto a un anillo aromático, y alifáticos en C_γ y CH_3 más allá de C_β respecto a un anillo aromático. Esta asignación se aplicó en el estudio de la relación entre las concentraciones de grupos de hidrocarburos, en petróleos pesados, y parámetros estructurales obtenidos sobre la base de ^1H NMR. Muy recientemente, se utilizó NMR para la medición de concentraciones de fracciones aromáticas, olefinicas y alifáticas en muestras de gasolina y la determinación simultánea de algunos compuestos individuales como el benceno, metil-terbutil eter y dienos. En el **Esquema 1** se muestra, también una asignación, mas completa, de hidrógenos realizada en este trabajo, más adelante se explica la misma con mayor detalle.

Desarrollo

En la **Figura 1** se muestra el espectro de resonancia magnética nuclear protónica, correspondiente a un petróleo crudo (zona alquílica ampliada) de la Cuenca del Golfo San Jorge.

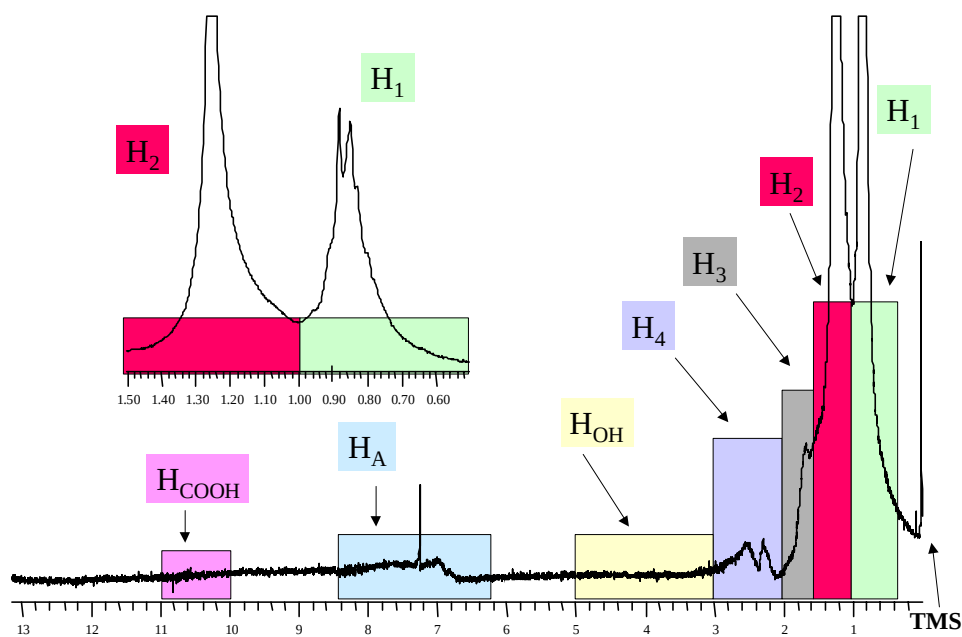


Figura 1. Espectro de ^1H NMR correspondiente a un petróleo crudo

El espectro puede dividirse en regiones, cada una de las cuales identifican a algún tipo de hidrógeno. La asignación se basó, en principio, en estudios previos (**Esquema 1**), y luego se hizo un análisis más detallado, teniendo en cuenta las características particulares de los petróleos

estudiados. Esta asignación se realizó de acuerdo a los grupos mayoritarios y ellos dependen, fundamentalmente, de la naturaleza de las muestras.

A modo de comparación en la **Figura 2** se muestra el cromatograma, en base a GC, correspondiente al mismo petróleo crudo, cuyo espectro por NMR se muestra en la **Figura 1**.

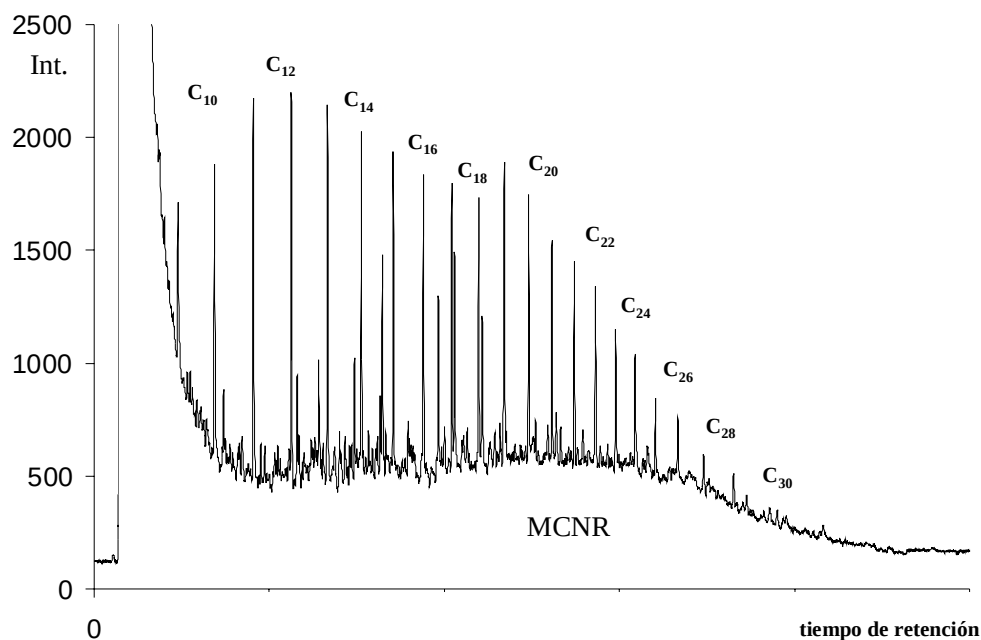


Figura 2. Cromatografía Gaseosa correspondiente a un petróleo crudo

Claramente puede observarse como ambas metodologías (NMR y GC) al estar basadas en diferentes propiedades, una en la clasificación de átomos de hidrógeno y la otra en las diferencias en la volatilidad de los componentes de la mezcla, permitiría poder realizar un mejor análisis de las transformaciones que se producen por exposición ambiental ya que muestran a la composición de la misma muestra desde distintos puntos de vista.

Los espectros NMR correspondientes a los residuos de petróleo con distintos tiempos de exposición ambiental, son similares al presentado en la **Figura 1**. Un análisis más riguroso obtenido de los espectros brinda la posibilidad de definir índices, similares a los obtenidos por CG, para evaluar el grado de transformación de los residuos. Por ejemplo, puede obtenerse índices que midan el grado de ramificación de los compuestos saturados, la aromaticidad del residuo y la forma de las estructuras aromáticas, entre otros.

A los fines de mostrar la utilidad de la información obtenida por NMR, se estudiaron residuos de distinto origen. Las áreas de donde se extrajeron las muestras, en su mayor parte, pertenecen a los alrededores de Comodoro Rivadavia, aunque algunas corresponden a cercanías de la ciudad de Cañadón Seco y Caleta Olivia en la provincia de Santa Cruz. Las muestras pertenecen a suelos contaminados por derrames de petróleo de distinta antigüedad que han estado expuestos a los diversos procesos de degradación ambiental. Teniendo en cuenta lo anterior, el término residuo de petróleo se usará para indicar, en este caso, al petróleo crudo alterado por exposición ambiental. Los derrames se han producido por rotura de oleoductos, tareas relacionadas con el abandono de pozos y zonas donde históricamente se han arrojado desechos de la actividad petrolera. En algunos casos, sobre las zonas afectadas se realizaron tareas de fertilización asistida y/o saneamiento con el objeto de mejorar las condiciones generales del terreno, acelerar los procesos de biodegradación y favorecer la repoblación vegetal de especies adaptadas a la zona. Esto ha permitido, poder evaluar los cambios de composición ocurridos en muestras con degradación asistida de aquellas que sufrieron solo atenuación natural.

En la **Tabla 3** se presentan la información relevada experimentalmente, por nuestro grupo de trabajo sobre las muestras de los derrames mencionados anteriormente. Algunos detalles experimentales están en el **Apéndice 1**.

Tabla 3. Características de las muestras

Tipo de dato	parámetro	Residuos con menos de 10 años						Residuos con 10 o más años					
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
NMR	% H ₁	34	17	16	14	30	13	27	25	29	28	28	27
	% H ₂	57	48	48	47	54	43	59	60	59	58	57	59
	% H ₃	4	18	19	21	8	24	10	11	8	10	12	10
	% H ₄	1	12	12	15	4	18	2	2	2	3	3	2
	% H ₅	3	5	5	3	4	2	2	2	2	1	0	2
	C _s	45	54	54	57	47	59	50	51	48	50	51	50
	C _{sa}	0,7	5,8	6	7,5	2,0	8,9	1	1,0	1,2	1,5	1,3	1
	C _p	3,3	11	11	11	5,6	11	3	2,7	2,8	3	1,8	3
	SAI	0,20	0,55	0,55	0,71	0,35	0,84	0,33	0,37	0,43	0,60	0,75	0,33
	DBI	2,93	8,69	9,19	11,1	3,72	12,7	4,50	5,05	4,02	4,34	4,42	4,50
	AI	0,06	0,08	0,08	0,05	0,07	0,03	0,04	0,03	0,03	0,02	0,01	0,04
UV-v	λ _{max} (nm)	253	267	269	270	275	273	277	278	286	293	297	288
GC	nC ₁₇ /Pris	1,20	0,31	0,45	0,15	0,80	0,67	0,08	0,56	0,64	0,52	0,15	0,97
	nC ₁₈ /Fit	1,50	0,55	0,79	0,30	1,30	1,00	0,17	0,93	0,95	0,67	0,48	2,29
	TRHC/TEH	1,10	0,60	0,49	0,52	1,00	0,90	0,49	0,85	0,80	0,70	0,50	0,42
	ART	21,1	24,0	25,0	25,3	23,0	25,3	25,5	25,3	24,8	26,0	27,4	25,6
CC	%alifáticos	44	21	27	35	28	47	33	49	40	40	35	32
	%aromáticos	38	20	30	35	28	24	39	31	32	33	32	31
	%polares	18	59	42	29	43	29	28	20	28	27	33	37
Caracte	Conduct. ^a	nc	387	618	646	426	1500	1633	530	700	230	610	9364
rísticas	pH	nc	7,6	7,4	8	6,8	7,2	7,4	7,4	7,4	6,8	6,9	7,6
del	% arcillas	nc	12	8	9	16	24	22	11	8	6	13	33
suelo	% petróleo	nc	9,3	8,6	8,7	16,1	10	16,6	8,6	6,5	9	11,4	25,8

Muestra 1: petróleo crudo

nc: no corresponde

Muestras 2-4 y 7: residuos de petróleo en suelos con degradación asistida

^a μmhos/cm

Muestras 5,6 y 8-11: residuos de petróleo en suelos con atenuación natural

Muestra 12: residuos de petróleo en suelos, muestra no superficial

Parámetros: % H₁, % H₂, % H₃, % H₄ y % H₅ porcentaje de hidrógenos alifáticos y aromáticos; C_s carbono saturado; C_{sa} carbono saturado unido a estructuras aromáticas; C_p carbono periférico; SAI índice de forma de estructuras aromáticas; BDI grado de ramificación de los compuestos saturados; AI carbono aromático respecto al total; λ_{max}(nm) promedio ponderado de absorción en el UV-visible; nC₁₇/Pris relación heptadecano/pristano; nC₁₈/Fit relación octadecano/fitano; TRHC/TEH Hc identificables/ Hc hidrocarburos extractables; ART tiempo de retención promedio ponderado; %alifáticos porcentaje de componentes alifáticos; %aromáticos porcentaje de componentes aromáticos; %polares porcentaje de componentes polares; Conduct conductividad eléctrica del extracto de suelo; pH grado de acidez del extracto de suelo; %arcillas porcentaje de arcillas en suelo; %petróleo porcentaje de petróleo en suelo

Teniendo como base la caracterización obtenida de los datos experimentales, se realizó un análisis por componentes principales (PCA). Este método PCA se basa en la transformación de un conjunto de variables en otro conjunto nuevo de variables no correlacionadas entre sí. Esta

transformación implica muchas veces que un gran número de variables se puedan transformar en un número reducido capaces de describir las más importantes tendencias de los datos originales. El método se basa en la conversión de los datos originales (matriz de datos) en un nuevo conjunto de variables ortogonales entre sí o sea no relacionadas. Estas nuevas variables, llamadas autovalores o componentes principales (PC) frecuentemente pueden describir la variabilidad total del conjunto, de la siguiente manera: la primera PC describe la mejor combinación lineal de variables originales que es capaz de dar cuenta del mayor grado de la variabilidad total (varianza) de la matriz de datos, la segunda PC describe la segunda combinación lineal que es capaz de dar cuenta de la varianza residual, luego de descartar la influencia de la primera, etc.

Se calcularon tres componentes principales (1^{era}, 2^{da} y 3^{era} PC), con la matriz de datos normalizada, que dan cuenta del 84% de la variabilidad total del conjunto de los índices. No se ha realizado una preclasificación de los residuos (en la matriz no se incluyó a la antigüedad como dato), de tal forma que aquéllos que presentan parámetros similares deberían estar cerca unos de otros en las figuras correspondientes. De acuerdo a la distancia Euclídeana entre los puntos, representativa de las diferencias en los índices, se pueden definir en la **Figura 3** distintas zonas o regiones, cuando se grafican las dos primeras componentes (1^{era} y 2^{da} PC), las cuales explican el 47% y el 19%, respectivamente de la variabilidad total de los índices. Para simplificar la Figura no se muestran todos los puntos individuales. La zona en negro corresponde a petróleos crudos de la cuenca, la zona blanca a residuos jóvenes (menos de 10 años de exposición ambiental) y la zona gris a residuos viejos (con más de 10 años de exposición). El sentido de las flechas indica la evolución temporal de las respectivas composiciones para atenuación natural únicamente. La clasificación de residuos en jóvenes o viejos se basa en estudios previos realizados por nuestro grupo que demuestran en base a información composicional y de características de hidrosolubilidad, que luego de los 10 años, los procesos de transformación sufrirían una importante reducción lo cual implicaría una estabilización de los cambios en la composición.

A la definición de la 1^{era} PC contribuyen principalmente H₃, H₁, H₄, H₂, y nC₁₈/Fit, en este orden, mientras que a la segunda PC: Aliph %, Pol %, nC₁₇/Pris, y TRHC/TEH, respectivamente. Esto implica que los índices relevados en base a NMR resultarían ser mejores para dar cuenta de los cambios en la composición, cuando se los compara con otros índices de la **Tabla 3**. La 3^{era} PC está compuesta principalmente por ART y H_A en este orden y no se muestra en este trabajo, ya que los resultados son similares.

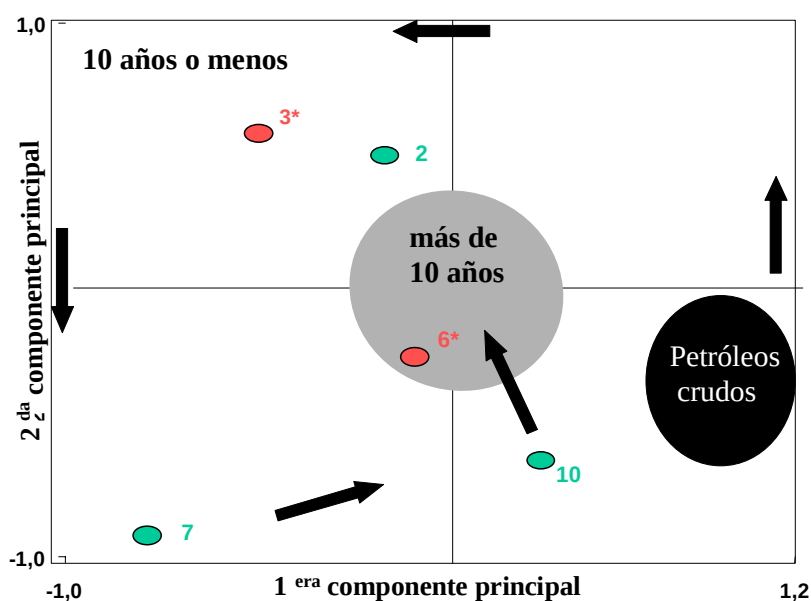


Figura 3. 1^{era} PC versus 2^{da} PC. Los números indican el tiempo de exposición ambiental con atenuación natural y el * con degradación asistida

A modo de ejemplo, los puntos en verde representan residuos con atenuación natural (el número muestra la antigüedad en el campo). Por lo tanto un residuo que solo sufriera atenuación natural debería permanecer más de diez años expuesto para entrar dentro de la zona gris o zona de estabilización. La pregunta ahora sería: ¿dónde se ubicará en este contexto un residuo con degradación asistida?. En la **Figura 3** se muestra un residuo con degradación asistida en rojo con 6 años de exposición que se encuentra ya dentro de la zona de estabilización, lo cual es indicativo de la mejora lograda subsecuentemente y un residuo con 3 años de exposición y degradación asistida que todavía no estaría suficientemente estabilizado.

Volviendo al análisis cualitativo de los espectros, las mayores diferencias se han encontrado cuando se comparan los espectros de las fracciones polares. En la **Figura 4** se muestran el espectro parcial correspondiente a la fracción polar de un residuo de petróleo con dos años de atenuación natural. En cada caso, en la Figura, se muestra la asignación de los distintos tipos de hidrógenos presentes en la muestra.

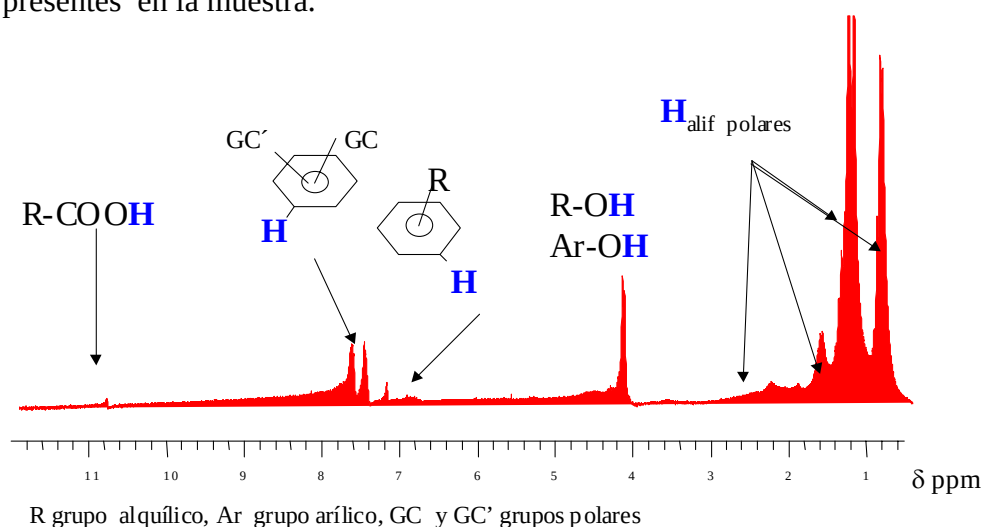


Figura 4. Espectro de ^1H NMR de la fracción polar de un residuo con dos años de atenuación natural

Las intensidades en la región de 0,5 a 2,5 ppm indican una mayor diversidad de hidrógenos en entornos químicos de ambientes polares, respecto al petróleo crudo. Esta interpretación está de acuerdo con la presencia de hidrógenos del tipo OH entre 4,0 y 4,5 ppm que corresponden a alcoholes, fenoles y polioles. También se muestran las señales correspondientes a los corrimientos químicos de hidrógenos aromáticos. Se observa la aparición de nuevas señales en comparación con las del petróleo crudo, lo cual indica la oxidación de los compuestos aromáticos. Además se ha detectado, en el petróleo crudo y en el residuo con 2 años de exposición, la presencia de hidrógenos pertenecientes a grupos carboxílicos, los cuales no aparecen en muestras con mayor antigüedad. Los ácidos grasos saturados e insaturados en el rango de C_{14} a C_{26} son compuestos frecuentes en el petróleo y sus residuos, además de especies con dos o más átomos de oxígeno, fenoles, pirroles, indoles y tioles, como se ha informado en estudios recientes.

En la evolución ambiental de las fracciones polares se encontrarían presentes dos tendencias opuestas, la primera es la formación de especies oxidadas por biodegradación y fotodegradación de los componentes del petróleo y a la formación de biomasa bacteriana; y la segunda es la continua remoción de las especies formadas por lavado superficial, sorción en las superficies minerales y degradación por procesos de mineralización microbológica y fotodegradativa.

Conclusiones

Los derrames de petróleo en suelos se evalúan desde hace mucho tiempo mediante el empleo de cromatografía gaseosa (GC) preponderantemente, a pesar del hecho de que este método según las técnicas usualmente utilizadas, sólo detectan los componentes volátiles y semivolátiles del petróleo y sus residuos. Los componentes individuales más detectables por GC (identificables por un patrón) son generalmente más susceptibles a la biodegradación (ej. alcanos normales, etc.), con lo cual las alteraciones globales de los otros componentes y los productos de transformación, no volátiles no estarían igualmente caracterizados. Cabe recordar que los productos de las transformaciones son especies oxidadas por lo tanto tienden a ser más solubles en agua y menos volátiles. Ellas, junto a los componentes recalcitrantes o biorrefractarios formarían parte de la mezcla compleja no resuelta por GC.

En este sentido el empleo de NMR, además de GC, permite hacer una evaluación más realista de las transformaciones en su conjunto, ya que brinda información estructural que resulta ser independiente de la volatilidad de los componentes. Recordar que la posición y las intensidades de las señales solo depende de las estructuras presentes en la mezcla. Debido a esto, la NMR es una técnica que se puede aplicar a fracciones de alto peso molecular y/o muestras de hidrocarburos no fraccionados que permite realizar un análisis estructural de petróleos, sus subproductos y residuos, basados únicamente en la clasificación de algún tipo de átomo según sus entornos químicos. Desde el punto de vista analítico, no requiere mayores procedimientos de calibración y el tiempo que demanda la realización de un espectro es relativamente corto para ^1H NMR y más largo para ^{13}C NMR. Por lo tanto esta técnica podría ser adecuada para el procesamiento de un gran número de muestras, como habitualmente se requiere en el seguimiento de remediaciones in situ.

Por último cabe destacar que, especialmente en el caso de la remediación de suelos empetrolados, el uso de información por NMR permitiría que las conclusiones en relación al efecto de la degradación asistida o la atenuación natural, se encuentren sustentadas sobre la base de la observación de los cambios en la composición del conjunto, o sea de las especies originales y las producidas durante los procesos de transformación; y no solamente, como en el caso de GC, por la sola disminución de algunos componentes de la mezcla original. Esta ventaja de la NMR podría servir, como ejemplo, en la evaluación del destino final de las especies oxidadas que se formarían durante los primeros años de exposición en relación a su toxicidad y posibilidades de migración en el subsuelo.

Bibliografía

Blomberg J., Schoenmakers P. J., Brinkman U. A. Th., Review: Gas Chromatographic Methods for Oil Analysis, *J. Chrom. A*, 972, 137 (2002).

Burri J., Crockett R., Hany R., Rentsch D., Gasoline Composition Determined by ^1H NMR Spectroscopy, *Fuel*, 83, 187 (2004).

Commendatore M. G., Estevez J. L., Colombos, J. C., Hydrocarbons in coastal sediments of Patagonia, Argentina: levels and probable sources, *Mar. Pollut. Bull.*, 40, 11, 989 (2000).

Galimberti R., Ghiselli C., Chiaramonte M. A., Acid polar compounds in petroleum: a new analytical methodology and applications as molecular migration indices, *Org. Geochem.*, 31, 1375 (2000).

Hairber S., Buddrus J., Isolated methyl groups as new structural parameters for petroleum crudes, *Fuel*, 81, 981 (2002).

Hore, P. J., *Resonancia Magnética Nuclear*, Ed. Eudeba, Buenos Aires, Argentina (2000).

Nudelman N., Ríos S.M., Interaction of Oil Residues in Patagonian Soil, *Interfacial Applications in Environmental Engineering*, Ch. 10, Marcel Dekker Publication, U.S.A. (2002).

Ríos S. M., Nudelman N., Katusich O., Effects of Solution and Soil Chemistry on the Distribution of Oil Residual in Patagonian Soil, *Latin Am. App. Res. J.*, 34, 149 (2004).

Ríos S.M. Nudelman N., Estudios sobre la evolución de derrames de petróleo en suelos en la Patagonia Central, *Petrotecnia IAPG*, 118, 02 (2005).

Ríos S.M. Nudelman N., Natural attenuation of oil spills in Patagonian soils. Characterization by ^1H NMR spectroscopy. *Environ. Sci. Technol.*, aceptado (2005).

Wade M. J., Age-dating fuel spills: using the European empirical time-based model in the U.S.A., *Environ. Forensics*, 2, 347 (2001).

Watson J.S., Jones D.M., Swannell R.P.J., van Guin A.C.T., Formation of carboxylic acids during aerobic biodegradation of crude oil and evidence of microbial oxidation of hopanes, *Org. Geochem.*, 33, 1153 (2002).

Yang Y., Liu B., Xi H., Sun X., Zhang T., Study on Relationship between the Concentration of Hydrocarbon Groups in Heavy Oils and their Structural Parameter from ^1H NMR Spectra, *Fuel*, 82, 721 (2003).

Apéndice 1

Técnicas espectroscópicas y cromatográficas utilizadas en el trabajo experimental

Espectroscopia de Resonancia Magnética Nuclear

Las mediciones de ^1H RMN se realizaron en un equipo Bruker AC – 200 MHz y un Espectrómetro de 500 MHz multinuclear, Bruker AM-500. Cada corrimiento químico se determinó respecto al tetrametilsilano en CDCl_3 (Aldrich, 99,8%). Cuando las señales de la muestra se superponían con las del CHCl_3 presentes en el solvente se corrigió el área del mismo, considerando la proporcionalidad entre el área y alto de la señal para el patrón interno, tetrametilsilano. Las muestras de petróleo crudo y residuos de petróleo fueron previamente desafaltenizadas con n-pentano. Las fracciones alifática, aromática y polar del petróleo crudo y los residuos de petróleo se ensayaron directamente, sin tratamiento previo. En las mediciones se utilizaron de 10 a 30 mg de muestra y aproximadamente 0,5 mL de CDCl_3 .

Cromatografía gaseosa

Las determinaciones por cromatografía gaseosa se realizaron en un cromatógrafo Konic 3000 de alta resolución equipado con una columna de silica J & W DB1 (30 m x 0,25 mm d.i.) y un detector de llama (FID, flame ionization detector). El gas portador utilizado fue N_2 (velocidad 1

ml/min) y el inyector y el detector se mantuvieron a una temperatura de 250 °C y 320 °C respectivamente.

El programa de temperaturas para la columna fue: 60°C (2 min), 135°C (2min), 185°C (2min) hasta una temperatura final de 290°C, a una velocidad de 5°C/min. Para la integración de las señales se utilizó un integrador Spectra Physics. La identificación de los hidrocarburos alifáticos resueltos se realizó por comparación de los tiempos de retención con el correspondiente estándar de referencia (Chem Service). Conjuntamente con las muestras se corrieron el solvente (n-pentano) y el estándar de referencia. Se utilizó una muestra de pristano para determinar el porcentaje de recuperación, el cual fue superior al 95 %. En cada muestra se determinaron las concentraciones de los n-alcanos de n-C₉ a n-C₃₀ y de los isoprenoides pristano y fitano. Todas las muestras fueron previamente desafaltenizadas con n-pentano.

Cromatografía en columna

Se utilizó silica gel activada como adsorbente. Las dimensiones de la columna fueron: largo: 22 cm y diámetro 1 cm; la masa aproximada de silica gel: 8 g (secado 12 hs a 120 °C), marca Fluka silicagel 40, tamaño de partícula 70 a 230 mesh ASTM; cantidad de muestra sembrada: 0,02 a 0,04 g y los solventes utilizados fueron 25 mL de hexano, benceno y una mezcla de metanol y cloroformo (1:1). En estas condiciones, se aislaron tres fracciones: alifática, aromática y polar respectivamente. Los componentes remanentes en la columna cromatográfica correspondieron a la fracción asfáltica. Para verificar esta condición se realizaron, además, determinaciones del contenido de asfaltenos en el petróleo crudo por precipitación con n-pentano. Las diferencias entre la determinación de asfaltenos por ambos métodos fue inferior al 10%.

Espectroscopía UV-Visible

Los espectros UV-Visible se realizaron en un equipo HP-845 1A con barrido automático de 190-800 nm, como solvente se utilizó n-hexano, celda de cuarzo de 10 mm y la concentración fue de aproximadamente 20 mg L⁻¹.