

---

**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**

**FACULTAD DE QUÍMICA**

---

---



**“EVALUACIÓN DE LA SELECTIVIDAD Y DE LA EFICIENCIA EN LA SEPARACIÓN DE  
COMPUESTOS ORGÁNICOS PRESENTES EN MEZCLAS COMPLEJAS ATMOSFÉRICAS  
POR EXTRACCIÓN EN FASE SÓLIDA”**

**TESIS**

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE  
QUÍMICO**

**PRESENTA**

**JAIRO VÁZQUEZ SANTIAGO**



**MÉXICO, D.F. enero de 2013**



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

---

**JURADO ASIGNADO:**

**PRESIDENTE:** Profesora: Maria Antonia Dosal Gomez

**VOCAL:** Profesora: Irma Cruz Gavilán García

**SECRETARIO:** Profesor: Omar Amador Muñoz

**1er. SUPLENTE:** Profesor: Ricardo Flores Hernández

**2° SUPLENTE:** Profesora: Silvia Citlali Gama Gonzalez

**SITIO DONDE SE DESARROLLÓ EL TEMA:**

**LABORATORIO DE CROMATOGRFÍA DE GASES Y ESPECTROMETRÍA DE MASAS. CENTRO DE CIENCIAS DE LA ATMÓSFERA.**

**ASESOR DEL TEMA:**

Dr. Omar Amador Muñoz

**SUPERVISOR TÉCNICO:**

M. en C. Brenda Líz Valle Hernández

**SUSTENTANTE :**

Jairo Vázquez Santiago

---

## Contenido

### RESUMEN 8

### 1 INTRODUCCIÓN 10

### 2 MARCO TEÓRICO 13

- 2.1 *Material particulado del aire* 13
- 2.2 *Calidad del aire* 14
- 2.3 *Composición química de las partículas* 15
  - 2.3.1 *n-Alcanos* 17
  - 2.3.2 *Ftalatos* 18
  - 2.3.3 *Hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAP)* 19
  - 2.3.4 *Oxi-Hidrocarburos aromáticos policíclicos* 22
  - 2.3.5 *Nitro-Hidrocarburos aromáticos policíclicos* 24
- 2.4 *Extracción en fase sólida (EFS)* 26
  - 2.4.1 *Generalidades* 26
  - 2.4.2 *Principios de la extracción en fase sólida* 27
  - 2.4.3 *Sorbentes empleados en la EFS* 29
- 2.5 *Parámetros para la evaluación analítica* 35
  - 2.5.1 *Selectividad y Especificidad* 35
  - 2.5.2 *Linealidad* 35

### 3 Objetivos 39

- 3.1 *Objetivo general* 39
- 3.2 *Objetivos específicos* 39

### 4 Desarrollo experimental 40

- 4.1 *Preparación de la disolución estándar de trabajo* 40
- 4.2 *Evaluación de la pérdida de los compuestos por el proceso de reducción de disolventes orgánicos* 40
- 4.3 *Separación de las familias orgánicas* 42
- 4.4 *Volúmenes de elución* 43
- 4.5 *Evaluación del método en 5 niveles de concentración* 44
- 4.6 *Fraccionamiento de muestras reales* 47
- 4.7 *Análisis Instrumental* 48
- 4.8 *Estándar de referencia* 49
- 4.9 *Análisis cualitativo* 49
- 4.10 *Evaluación de la eficiencia del método de fraccionamiento* 51
- 4.11 *Evaluación de la selectividad del método* 52
- 4.12 *Evaluación de la linealidad del método* 53

### 5. Resultados y Análisis 54

- 5.1 *Evaluación de la pérdida de los compuestos por el proceso de reducción de disolventes orgánicos* 54

---

5.2	<i>Separación de las familias orgánicas</i>	55
5.2.1	Porcentajes de distribución	60
5.3	<i>Porcentajes de recobro</i>	64
5.3.1	n-Alcanos	64
5.3.2	Ftalatos	65
5.3.3	HAP	66
5.3.4	Oxi-HAP	67
5.3.5	Nitro-HAP	68
5.4	<i>Linealidad del método</i>	69
5.4.1	n-Alcanos	69
5.4.2	Ftalatos	71
5.4.3	HAP	72
5.4.4	Oxi-HAP	73
5.4.5	Nitro-HAP	75
5.5	<i>Análisis de muestras reales</i>	76
5.5.1	Combustión de diesel	76
5.5.2	Combustión de biodiesel	79
<b>6</b>	<b>Conclusiones</b>	<b>81</b>
<b>7</b>	<b>Recomendaciones</b>	<b>82</b>
<b>8</b>	<b>Referencias</b>	<b>83</b>
	<b>Anexo I. Porcentajes de distribución y desviaciones estándar de las familias orgánicas en cada nivel probado</b>	
	<b>Anexo II. Porcentajes de recobro y coeficientes de variación de cada familia orgánica en los 5 niveles probados</b>	

---

## Índice de tablas

- Tabla I. Constituyentes atmosféricos de concentración constante (Spiro 2004) 10*
- Tabla II. Constituyentes atmosféricos de concentración variable (Spiro 2004) 11*
- Tabla III. Algunas propiedades de los 16 HAP establecidos como prioritarios por la EPA (Mackay y Shiu. 1992) 22*
- Tabla IV. ANOVA para evaluar el modelo de regresión lineal 37*
- Tabla V. Concentración de cada una de las familias de compuestos en la disolución estándar de trabajo 40*
- Tabla VI. Volúmenes y disolventes empleados en la elución con 1 g de sorbente 44*
- Tabla VII. Volúmenes y disolventes empleados en la elución con 2 g de sorbente 44*
- Tabla VIII. Masa ( $\mu\text{g}$ ) fraccionada de cada familia en los 5 niveles evaluados 45*
- Tabla IX. Concentración de las disoluciones madre 45*
- Tabla X. Compuestos presentes en las cinco concentraciones estudiadas 47*
- Tabla XI. Tiempos de retención e iones principales empleados para el análisis cualitativo 50*
- Tabla XII. Porcentaje de pérdida por el proceso de reducción de disolventes orgánicos 54*
- Tabla XIII. Resultados del ANOVA para los n-alcanos que presentaron correlación lineal 69*
- Tabla XIV. Resultados del ANOVA para los n-alcanos que no presentaron correlación lineal 70*
- Tabla XV. Valores promedio de recuperación para los alcanos 70*
- Tabla XVI. Resultados del ANOVA para ftalatos, en ningún caso se observa correlación lineal 71*
- Tabla XVII. Valores promedio de recuperación para los ftalatos 71*
- Tabla XVIII. Resultados del ANOVA para los HAP 72*
- Tabla XIX. Valores promedio de recuperación para los HAP 73*
- Tabla XX. Resultados del ANOVA para los oxi-HAP 74*
- Tabla XXI. Valores promedio de recuperación para los oxi-HAP 74*
- Tabla XXII. Resultados del ANOVA para los nitro-HAP que presentaron relación lineal del recobro en función de la concentración 75*
- Tabla XXIII. Resultados del ANOVA para los nitro-HAP que no presentaron relación lineal del recobro en función de la concentración 75*
- Tabla XXIV. Valores promedio de recuperación para los nitro-HAP 76*
- Tabla XXV. Compuestos encontrados en la muestra M7, por familias orgánicas 77*
- Tabla XXVI. Distribución de los compuestos entre las fracciones de la elución 77*
- Tabla XXVII. Compuestos encontrados en la muestra FT, por familias orgánicas 79*
- Tabla XXVIII. Distribución de los compuestos entre las fracciones de la elución 79*

---

## Índice de figuras

- Figura 1. Fracciones del material particulado del aire (Environment Canada 2009) 14
- Figura 2. Estructura de n-alcános 18
- Figura 3. Estructura base de los ftalatos, donde R y R' = C<sub>n</sub>H<sub>2n+1</sub>. 18
- Figura 4. Estructura química de los 16 HAP considerados como prioritarios por la Agencia de Protección al Ambiente de los EUA 21
- Figura 5. Estructura de la 9-fluorenona, como ejemplo de los oxi-HAP 23
- Figura 6. Fórmula estructural de algunos nitro-HAP 25
- Figura 7. Columna para extracción en fase sólida 27
- Figura 8. Guía para la selección del método a usar para el aislamiento de compuestos orgánicos en solución 31
- Figura 9. Comparación de cromatogramas obtenidos del extracto del Material de referencia certificado 1649a. Estándar de referencia purificado únicamente con extracción en fase sólida (A). Extracción en fase sólida seguida de cromatografía de líquidos en fase normal (B) 34
- Figura 10. Sistema para la reducción de disolventes orgánicos por arrastre con nitrógeno 41
- Figura 11. Esquema del sistema empleado para el fraccionamiento de las muestras 42
- Figura 12. Estructura del Cianopropilsilano (fase ciano) 43
- Figura 13. Estructura del Aminopropilsilano (fase amino) 43
- Figura 14. Cromatógrafo de gases acoplado al espectrómetro de masas empleado para el análisis instrumental 49
- Figura 15. Cromatogramas de los 9 procesos de reducción y el estándar de referencia de 16 HAP. SEQ01 es el estándar de referencia sin reducción. SEQ02 a SEQ014 son las señales de cada una de las nueve reducciones con N<sub>2</sub> 55
- Figura 16. Cromatograma correspondiente al estándar de referencia para el tercer nivel de concentración 56
- Figura 17. Cromatograma correspondiente al estándar de referencia para el tercer nivel de concentración en ionización química negativa 56
- Figura 18. Cromatograma correspondiente a la fracción 0 (2 mL, hexano) para el tercer nivel de concentración 57
- Figura 19. Cromatograma correspondiente a la fracción 1 (1 mL de hexano) para el tercer nivel de concentración 57
- Figura 20. Cromatograma correspondiente a la fracción 2 (4 mL, hex:DCM 9:1) para el tercer nivel de concentración 58
- Figura 21. Cromatograma correspondiente a la fracción 2 (4 mL, hex:DCM 9:1) para el tercer nivel de concentración en ionización química negativa 58
- Figura 22. Cromatograma de la fracción 3 (20 mL, DCM) para el tercer nivel de concentración 59
- Figura 23. Cromatograma de la fracción 4 (20 mL, acetona) para el tercer nivel de concentración 59
- Figura 24. Porcentajes de distribución de las familias orgánicas en el nivel de concentración 1. 60
- Figura 25. Porcentajes de distribución de las familias orgánicas en el nivel de concentración 2. 61
- Figura 26. Porcentajes de distribución de las familias orgánicas en el nivel de concentración 3. 61
- Figura 27. Porcentajes de distribución de las familias orgánicas en el nivel de concentración 4. 62
- Figura 28. Porcentajes de distribución de las familias orgánicas en el nivel de concentración 5. 62
- Figura 29. Porcentajes de recobro para n- alcános en los 5 niveles de concentración 64
- Figura 30. Porcentajes de recobro para ftalatos en los 5 niveles de concentración 66
- Figura 31. Porcentajes de recobro para HAP en los 5 niveles de concentración 66
- Figura 32. Porcentajes de recobro para oxi-HAP en los 5 niveles de concentración 67

---

*Figura 33. Porcentajes de recobro para nitro-HAP en los 5 niveles de concentración 68*

*Figura 34. Distribución de los orgánicos entre las fracciones para la muestra M7 de diesel 78*

*Figura 35. Distribución de los orgánicos entre las fracciones para la muestra de biodiesel 80*



---

## RESUMEN

En el presente estudio se evaluó el uso de la extracción en fase sólida como tratamiento previo al análisis instrumental de una mezcla de 5 familias de compuestos orgánicos que se encuentran comúnmente en muestras ambientales atmosféricas: n-alcenos, ftalatos, hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAP), oxi-hidrocarburos aromáticos policíclicos (oxi-HAP) y nitro-hidrocarburos aromáticos policíclicos (nitro-HAP). En trabajos previos del grupo, se determinó que la fase Ciano (CN) ofrece adecuados porcentajes de recobro y selectividad para la separación de los oxi-HAP, sin embargo éstos se desconocen para las demás familias orgánicas. En una primera etapa, se empleó la fase CN para realizar diferentes pruebas variando la cantidad de fase (1 y 2 g) así como los volúmenes de elución. Posteriormente se realizaron pruebas con una fase distinta, fase amino y con una mezcla de 2 g en distintas proporciones de ambas fases (ciano y amino). En esta primera etapa del estudio se emplearon los volúmenes de elución mencionados en investigaciones previas del grupo de trabajo, eluyendo la primera y segunda fracciones con 1 mL de hexano, la tercera con 2 mL de una mezcla 9:1 de hexano-cloruro de metileno, la cuarta con 10 mL de cloruro de metileno y la quinta con 10 mL de acetona, se duplicaron los volúmenes especificados cuando se emplearon 2 g de fase, tanto en la mezcla de fases como en las que se emplearon por separado.

Se encontró que la mejor distribución así como los mejores recobros se obtenían al emplear 2 g de fase CN con los volúmenes de elución para cada fracción al doble de los utilizados con anterioridad, es decir la fracción 0 eluida con 2 mL de hexano, la fracción 1 con 4 mL de una mezcla 9:1 de hexano-diclorometano, la fracción 3 con 20 mL de diclorometano y la fracción 4 con 20 mL de acetona, con ello se decidió probar el método en 5 distintos niveles de concentración, para determinar un intervalo de eficiencia.

---

Los n-alcenos eluyeron entre 82 y 97 % en la fracción 1, los ftalatos del 91 al 98 % en la fracción 3, los HAP del 81 al 98 % en la fracción 2, los oxi-HAP en un 100 % en la fracción 3, y los nitro-HAP en la fracción 3 del 62 al 78 %. Los n-alcenos presentaron recobros entre 73 y 98 % con coeficientes de variación entre 2.4 y 14 %, para los ftalatos entre 68 y 97 % con coeficientes de variación entre 1.4 y 20.6 %. Para los HAP se obtuvieron recobros entre 50 y 98 % con coeficientes de variación entre 2.4 y 16 %, para oxi-HAP entre 54 y 89 % con coeficientes de variación entre 4 y 13 %, finalmente para nitro-HAP entre 15 y 40 % con coeficientes de variación entre 7 y 70 %.

Posteriormente se fraccionaron dos muestras reales de materia orgánica extractable (MOE) correspondientes a una muestra de partículas colectadas de motores de combustión a diesel y biodiesel respectivamente, con concentraciones correspondientes al punto intermedio de las cinco probadas.

El análisis instrumental se realizó con un sistema acoplado de cromatografía de gases (CG) y espectrometría de masas (EM). Para el análisis cuantitativo se emplearon estándares de referencia específicos para cada nivel de la curva, se encontró que el método ofrece reproducibilidad en la distribución de las familias entre las fracciones de elución.

---

## 1 INTRODUCCIÓN

El planeta que habitamos se encuentra inmerso en un mar de gases, sujetos a la superficie terrestre por la fuerza del campo gravitacional. Junto con el vapor de agua conforman lo que se conoce como atmósfera terrestre, única entre todos los planetas de nuestro sistema solar, porque es la que hace posible la existencia de formas de vida. Contiene variedad de sustancias gaseosas en diferentes proporciones, desde niveles traza, hasta los del nitrógeno que comprende 78 % de la masa atmosférica. La composición de la atmósfera puede ser descrita en términos de los constituyentes que permanecen constantes a través del tiempo (**Tabla I**) y aquellos de concentración variable en el tiempo (**Tabla II**).

**Tabla I. Constituyentes atmosféricos de concentración constante (Spiro 2004)**

Compuesto	Fórmula química	Concentración (ppm)
Nitrógeno	N <sub>2</sub>	780,840.00
Oxígeno	O <sub>2</sub>	209,406.00
Argón	Ar	9,340.00
Neón	Ne	18.18
Helio	He	5.24
Kriptón	Kr	1.14
Hidrógeno	H <sub>2</sub>	0.50
Xenón	Xe	0.09

**Tabla II. Constituyentes atmosféricos de concentración variable (Spiro 2004)**

Compuesto	Fórmula química	Concentración (ppm)
Vapor de Agua	H <sub>2</sub> O	0.1-30,000.00
Dióxido de Carbono	CO <sub>2</sub>	350
Metano	CH <sub>4</sub>	1.67
Oxido Nitroso	N <sub>2</sub> O	0.30
Monóxido de Carbono	CO	0.19
Ozono	O <sub>3</sub>	0.04
Amoniac	NH <sub>3</sub>	0.004
Dióxido de Nitrógeno	NO <sub>2</sub>	0.001
Dióxido de azufre	SO <sub>2</sub>	0.001
Óxido Nítrico	NO	0.0005
Sulfuro de Hidrógeno	H <sub>2</sub> S	0.00005

El vapor de agua es el constituyente atmosférico de concentración más variable, de 0.1 a 30,000 ppm. Al igual que el CO<sub>2</sub>, es uno de los gases con mayor efecto invernadero pues absorbe la energía infrarroja que se refleja de la tierra al espacio. La atmósfera contiene gases traza producidos por procesos biológicos y/o geológicos. Entre éstos se encuentra amoniac, metano, hidrógeno, monóxido de carbono y dióxido de azufre. Además de los gases enlistados en las Tablas I y II, se encuentran otras sustancias gaseosas que frecuentemente se liberan por los organismos vivos. Durante períodos de crecimiento activo, las plantas liberan gran cantidad de sustancias volátiles como isoprenos y pinenos, donde su presencia en la atmósfera es transitoria, por lo tanto, no pueden ser descritos como constituyentes normales (Spiro 2004).

El término contaminación atmosférica hace referencia a sustancias que ocasionan daños sobre animales, plantas y personas; ejerciendo un efecto local o regional. La expansión de la población y el desarrollo industrial ha modificado la naturaleza de

---

dicha contaminación. Los efectos nocivos de las emisiones así como la necesidad de su control, se ponen de manifiesto frecuentemente, especialmente impulsada por el desarrollo tecnológico, en particular en lo que respecta a los sectores energéticos y de transporte. Existe gran cantidad de sustancias químicas que pueden contaminar el aire. Las más comunes, sometidas a medidas de control, son: monóxido de carbono, dióxido de azufre, compuestos orgánicos, partículas, óxidos de nitrógeno y compuestos orgánicos volátiles. Las cuatro primeras afectan de forma directa nuestra calidad de vida, mientras que las dos últimas constituyen los ingredientes del “smog” fotoquímico, cuyos efectos dañinos se deben a la formación de ozono y otras moléculas oxidantes.

Las partículas atmosféricas son muy variables en su composición química que depende fundamentalmente de la fuente o del origen y destino de la misma. Debido a que existe un gran número de fuentes de partículas primarias y de reacciones de formación de partículas secundarias estas contienen cientos de especies químicas. Sin embargo, previo a su determinación instrumental es necesario separar los compuestos con el objetivo de simplificar la matriz en la que se encuentran. La extracción con disolventes es uno de los métodos más usados para el aislamiento de los compuestos de interés (Prycek *et al.* 2004), donde las extracciones por Soxhlet y por ultrasonido han sido las más recurrentes. El cloruro de metileno ó una mezcla de éste con acetona, metanol o cualquier otro disolvente polar es el que frecuentemente se emplea en las extracciones de tipo orgánico (Prycek *et al.* 2004). Si la complejidad del extracto es tal que interfiere en la identificación de los analitos, entonces es necesario la purificación o la limpieza de la muestra previo al análisis. Uno de los métodos de limpieza utilizados son el tratamiento ácido-base y la cromatografía de líquidos (Prycek *et al.* 2004), en esta última se aprovechan principalmente las diferencias de polaridad entre los compuestos presentes en la muestra. Existen básicamente dos procedimientos para su desarrollo: la primera es la cromatografía de líquidos en columna o también

---

conocida como cromatografía de líquidos de alta resolución, y la extracción en fase sólida. Las interacciones polares son fundamentales para la elución de los compuestos (Prycek *et al.* 2004) así como la correcta elección de los disolventes a emplear. Este trabajo pretende implementar una técnica para la separación de cinco familias de compuestos orgánicos presentes en matrices atmosféricas por extracción en fase sólida.

## **2 MARCO TEÓRICO**

### **2.1 Material particulado del aire**

El material particulado del aire, también es conocido como partículas suspendidas (WHO 2005), es una compleja mezcla de sustancias orgánicas e inorgánicas, que pueden ser sólidas o líquidas y que se encuentran suspendidas en el aire. Una de sus características más importantes es su tamaño que varía de 0.005 a 30  $\mu\text{m}$ . Las partículas más grandes, mayores a 30  $\mu\text{m}$ , permanecen suspendidas por cortos períodos de tiempo comparadas con las partículas más pequeñas con diámetro de fracción menores a 10 ( $\text{PM}_{10}$ ) y 2.5 ( $\text{PM}_{2.5}$ ) micrómetros respectivamente (Figura 1). Las más pequeñas son agregados moleculares; las más grandes se observan a simple vista. Se dividen en primarias y secundarias dependiendo de su origen, las primarias son producto de procesos físicos y químicos dentro de una fuente y se emiten directamente a la atmósfera, las secundarias se forman en la atmósfera como resultado de reacciones químicas y otros procesos físicos (de Kok *et al.*, 2006).

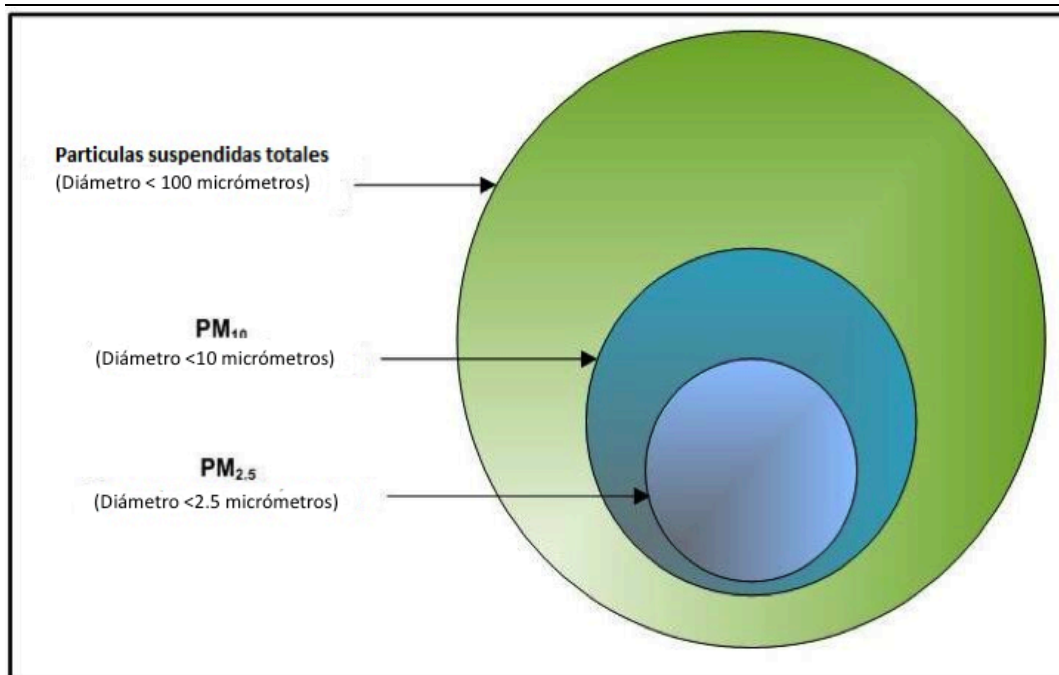


Figura 1. Fracciones del material particulado del aire (Environment Canada 2009)

## 2.2 Calidad del aire

Durante las últimas décadas, la calidad del aire en las principales ciudades de la República Mexicana y sus zonas conurbadas se ha visto deteriorada. El área Metropolitana de la Ciudad de México es un ejemplo ya que frecuentemente se superan los límites permitidos establecidos en la Norma Oficial Mexicana de Salud (NOM-025-SSA-1993) para partículas suspendidas totales (PST) ( $210 \mu\text{g m}^{-3}$  en 24 h), para partículas menores a  $10 \mu\text{m}$  ( $\text{PM}_{10}$ ) ( $120 \mu\text{g m}^{-3}$  en 24 h) y para  $\leq 2.5 \mu\text{m}$  ( $\text{PM}_{2.5}$ ) ( $65 \mu\text{g m}^{-3}$  en 24 h). Las partículas atmosféricas son uno de los mayores contaminantes de las zonas urbanas, formados por una compleja mezcla de diferentes compuestos químicos, donde algunos tienen potencial carcinogénico y mutagénico. Considerando esto, el estudio y control de la contaminación por material particulado atmosférico ha tomado interés en los últimos años debido a su potencial impacto en el ambiente y en la salud humana. Estudios epidemiológicos recientes demuestran que existe clara

---

asociación estadística entre la concentración de partículas atmosféricas y la mortalidad y morbilidad por enfermedades pulmonares y cardíacas (Arey *et al.* 1998).

La mayor parte de los estudios epidemiológicos centran su atención en encontrar la conexión entre la mortalidad total y la exposición al material particulado medido como PM<sub>10</sub> (Dockery y Pope. 1993). En forma general, la mortalidad total diaria aumenta aproximadamente 1 % por cada incremento de 10 µg m<sup>-3</sup> en la concentración de las PM<sub>10</sub>. Sin embargo mayores efectos adversos a la salud son provocados por las PM<sub>2.5</sub>, debido a que alcanzan la región alveolar del sistema respiratorio con mayor facilidad que las partículas más grandes. Schwartz *et al.* (1996) a través de un estudio en seis ciudades de los EUA demostraron que existe mayor relación entre la concentración de las PM<sub>2.5</sub> y la mortalidad humana que con las PM<sub>10</sub> (Harrison y Yin. 2000).

El interés por las partículas atmosféricas se debe principalmente a dos causas: afectan al balance de radiación terrestre y poseen efectos nocivos sobre la salud. Por ejemplo, en los mineros de carbón, promueven edemas pulmonares, en los trabajadores del asbesto, fibrosis pulmonar, y en los barrenderos urbanos, acumulación de partículas en el pulmón (Spiro 2004). El término partícula se refiere tanto a compuestos en fase sólida como en fase líquida, cuando éstas se encuentran suspendidas en un gas, la suspensión resultante se conoce como aerosol. Las partículas penetran en los pulmones ocasionando efectos dañinos. Las partículas con tamaño superior 10 µm se eliminan más fácilmente ya que quedan atrapadas en la nariz y garganta (Lippman 1998)

### **2.3 Composición química de las partículas**

La fracción de partículas finas del aerosol atmosférico contiene cantidades considerables de sulfatos, amonio, nitrato, carbono elemental y compuestos orgánicos condensados. Los hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAP) y los metales pesados como el arsénico, selenio, cadmio y zinc también están concentrados en esta fracción.



---

La composición orgánica del material particulado contiene hidrocarburos emitidos durante la combustión y compuestos orgánicos secundarios formados por reacciones fotoquímicas (Harrison y Yin. 2000). Los componentes orgánicos de las partículas secundarias incluyen nitratos de compuestos alifáticos, ácidos orgánicos y productos de terpenos. Una amplia variedad de compuestos orgánicos pueden adsorberse a la superficie de las partículas primarias, como hidrocarburos aromáticos y alifáticos, hidrocarburos aromáticos policíclicos, aldehídos aromáticos y alifáticos, cetonas, ozarenos, fenoles, quinonas, polioles, ftalatos, sulfuros heterocíclicos, halogenuros de arilo y alquilo, clorofenoles y agentes alquilantes (Harrison y Yin. 2000). Como ya se mencionó el material particulado del aire (MP) no es un contaminante sencillo, sino una compleja mezcla de muchas subclases de contaminantes con diferentes especies químicas (EPA 1996). Es bien conocido que las especies químicas presentes en el MP, tal como los metales o los HAP y sus derivados, determinan en gran medida el potencial tóxico de las mismas. En el presente trabajo, se trataron 5 familias de compuestos orgánicos por ser marcadores de diferentes fuentes de emisión y su probable efecto adverso en la salud (Albinet *et al.* 2006). Actualmente resulta relevante mejorar la eficiencia y sensibilidad, así como la caracterización de las técnicas analíticas encaminadas a la detección y cuantificación de este tipo de compuestos. En consideración a las propiedades físicas y químicas, y a los efectos toxicológicos sobre los animales (incluido el hombre), las plantas, y en general, sobre los restantes elementos bióticos y abióticos de un ecosistema, y atendiendo a la incidencia sobre la calidad del aire en el mundo, y específicamente sobre la ciudad de México, se seleccionaron cinco familias de compuestos orgánicos, n-alcanos, ftalatos, HAP, oxi-HAP y nitro HAP, para el desarrollo de esta investigación. Este argumento se avala si se atiende la necesidad de perfeccionar la robustez de las técnicas analíticas existentes para la caracterización de compuestos orgánicos en matrices atmosféricas.

---

### 2.3.1 n-Alcanos

Los alcanos son una familia química no polar y estable, pueden ser de cadena abierta o cerrada, y presentar o no ramificaciones. Los compuestos de cadena no ramificada son también conocidos como n-alcanos. Tienen la fórmula general  $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_n\text{CH}_3$  y constituyen una serie homóloga de compuestos. Se define como serie homóloga aquella en la que los miembros sucesivos difieren por un grupo metileno (Carey 2006). Los n-alcanos de  $\text{C}_1$  a  $\text{C}_4$  son gases incoloros, de  $\text{C}_5$  a  $\text{C}_{17}$ , líquidos incoloros, y de  $\text{C}_{18}$  en adelante, sólidos. Los puntos de ebullición aumentan con el número de átomos de carbono y son insolubles en agua. De la destilación del petróleo crudo se producen diversas fracciones, las de mayor punto de ebullición, como el queroseno y el gasóleo, tienen un amplio uso como combustibles para motores diesel y hornos, y el residuo no volátil puede procesarse para producir aceite lubricante, grasas, vaselina, parafina y asfalto (Carey 2006) Son la fracción más abundante en las matrices atmosféricas, las fuentes antropogénicas típicas de n-alcanos incluyen la combustión de combustibles fósiles, de madera y de desechos agrícolas (Xinhui *et al.* 2003). El análisis de marcadores moleculares ha sido empleado para la identificación de fuentes, de tal forma que se pueden comparar las fuentes y las mezclas de carbono orgánico atmosférico (Amador-Muñoz . 2011). Los n-alcanos permiten calcular: la determinación del máximo número de carbonos ( $\text{C}_{\text{max}}$ ) para series homólogas, el índice preferente de carbono (IPC) y las relaciones de masa entre compuestos no resueltos vs. resueltos (NR.R). El índice preferente de carbono (IPC), es un parámetro útil para estimar fuentes de emisión. Se puede asignar un origen biogénico a una serie homóloga de n-alcanos con  $\text{C}_{\text{max}} \geq 27$ , origen tanto biogénico como petrógeno con  $23 \leq \text{C}_{\text{max}} < 26$ , y origen petrogénico con  $\text{C}_{\text{max}} < 23$  (Abas y Simoneit. 1997). La figura 2 indica algunas estructuras.

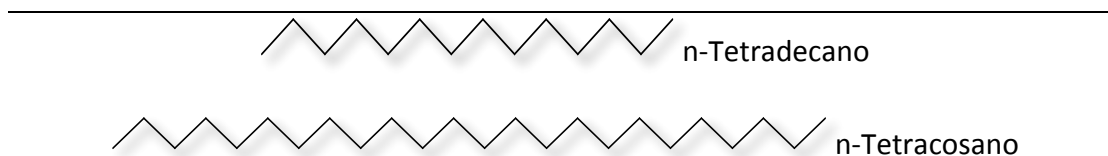


Figura 2. Estructura de *n*-alcanos.

### 2.3.2 Ftalatos

Otra clase de compuestos que conforman el aerosol atmosférico son los ftalatos, derivados del ácido ftálico, sustancias cuya estructura base es el ácido 1,2 bencendicarboxílico (figura 3), que contiene en cada cadena alquílica de uno a trece átomos de carbono, su estado físico es líquido (aceitoso), de color ligeramente amarillento, con altos puntos de ebullición ( $> 250\text{ }^{\circ}\text{C}$ ) y bajas presiones de vapor ( $< 0.01\text{ KPa}$  a  $20\text{ }^{\circ}\text{C}$ ). Son solubles en muchos disolventes orgánicos, miscibles con alcohol, éter y con muchos aceites (Staple *et al.* 1997). Los ftalatos se emplean como aditivos en la elaboración de los plásticos, estos confieren mayor elasticidad y mejoran sus propiedades de adhesividad (Carey 2006). En algunos plásticos llegan a constituir más del 50 % de su peso total (Bustamante-Montes *et al.* 2001). También se encuentran en productos de cuidado personal tal como cosméticos, perfumes y shampoos.

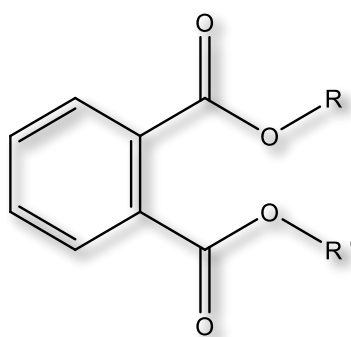


Figura 3. Estructura base de los ftalatos, donde  $R$  y  $R' = C_nH_{2n+1}$

---

Forman parte de los contaminantes orgánicos persistentes (POP por sus siglas en inglés) enlistados en el convenio de Estocolmo (Ad hoc working group, 2009). Algunos de los más persistentes, tóxicos y ampliamente usados tanto en países industrializados como en vías de desarrollo son el dietil-hexilftalato y el dibutilftalato (Jiamo *et al.* 2003).

Los ftalatos ingresan al cuerpo a través de la inhalación, ingestión y el contacto dérmico, se hidrolizan rápidamente al monoéster, se metabolizan y se liberan por medio de la orina y las heces (Wormuth *et al.* 2006). Existe evidencia de que algunos ftalatos tienen actividad antiandrogénica. Investigaciones en animales expuestos a altas dosis de ftalatos muestran que se afectan las funciones reproductivas, en machos se evidencía la reducción en la producción de testosterona y en la producción de espermatozoides (Andrade *et al.* 2006), así como pubertad retardada y adelantada en hembras, en humanos se reportan efectos similares (Lottrup *et al.* 2006).

La gran producción y el uso propagado de estos compuestos originan la contaminación ubicua en el ambiente. La volatilización que sufren durante el uso y posterior disposición de productos que contienen ftalatos maximiza su introducción a los distintos ambientes (Furmann 1994). Debido a esto, algunos de los ftalatos más utilizados se incluyen en las listas de contaminantes prioritarios en diversos países, por ejemplo, la agencia de protección ambiental (EPA por sus siglas en inglés).

### **2.3.3 Hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAP)**

Los hidrocarburos aromáticos policíclicos, comprenden un largo y heterogéneo grupo de contaminantes orgánicos que se forman y emiten como resultado de la combustión incompleta de material orgánico. Fuentes antropogénicas como la combustión de combustibles fósiles son predominantemente las más importantes, aunque también

---

existen fuentes naturales, tales como erupciones volcánicas e incendios forestales, consisten fundamentalmente de anillos aromáticos fusionados y contienen por definición únicamente átomos de carbono e hidrógeno (Lundstedt 2003).

Existe una considerable variedad de éstos, pero desde el punto de vista ambiental, sólo unos cuantos son los más importantes (Marce y Borrul. 2000). Tienen propiedades mutagénicas, estos pueden ser eliminados o transformados a compuestos mucho más tóxicos a través de reacciones químicas tales como la sulfonación, la nitración o la fotoxidación. Por ejemplo, en ciertas condiciones, trazas de ácido nítrico pueden transformar algunos HAP a nitro-HAP (Marce y Borrul 2000). La figura 4 muestra la estructura de los 16 HAP considerados como prioritarios por la Agencia de Protección al Ambiente de los EUA (EPA), éstos han sido ampliamente estudiados debido a su toxicidad, persistencia en el ambiente y su prevalencia.

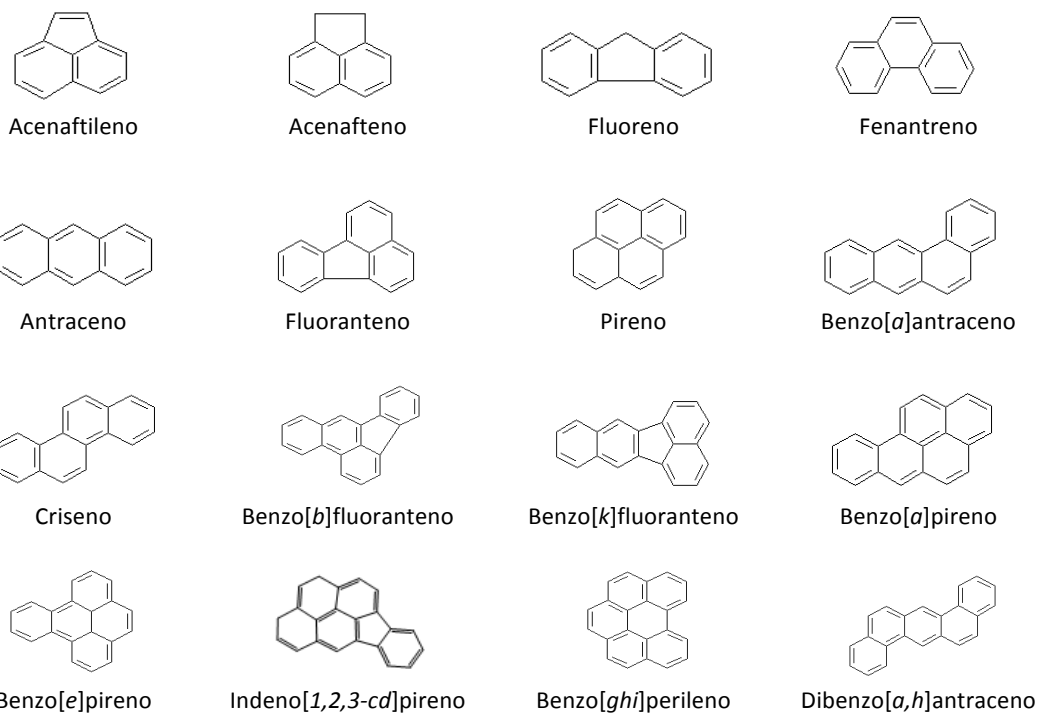


Figura 4. Estructura química de los 16 HAP considerados como prioritarios por la Agencia de Protección al Ambiente de los EUA

Generalmente los HAP son compuestos lipofílicos, que muestran afinidad por la materia orgánica, sin embargo de forma individual difieren sustancialmente en sus propiedades fisicoquímicas (Mackay y Shiu. 1992). Como se muestra en la tabla III, propiedades como la solubilidad en agua y la presión de vapor difieren entre cinco y seis órdenes de magnitud conforme aumenta el número de anillos. Los de bajo peso molecular son más solubles en agua y volátiles que los de alto peso molecular, mientras que los de alto peso molecular son más hidrofóbicos que los de bajo peso molecular (Blumer 2003). Estas propiedades fisicoquímicas determinan de manera importante el comportamiento de estos compuestos en el ambiente. La naturaleza semivolatil de los HAP de bajo peso molecular sugiere que existen principalmente en fase vapor y por lo tanto son altamente susceptibles a reacciones de degradación. Por

otra parte, los de alto peso molecular se encuentran asociados a las partículas atmosféricas y por lo tanto son menos susceptibles a la degradación, además pueden ser transportados largas distancias en la atmósfera y por ello son contaminantes ubicuos en el ambiente (Blumer 2003).

**Tabla III. Algunas propiedades de los 16 HAP establecidos como prioritarios por la EPA (Mackay y Shiu. 1992)**

	Núm. de anillos	Peso Molecular (g mol <sup>-1</sup> )	Solubilidad en agua (mg L <sup>-1</sup> )	Presión de vapor (Pa)
Naftaleno	2	128	31	1x10 <sup>2</sup>
Acenaftileno	3	152	16	9x10 <sup>-1</sup>
Acenafteno	3	154	3.8	3x10 <sup>-1</sup>
Fluoreno	3	166	1.9	9x10 <sup>-2</sup>
Fenantreno	3	178	1.1	2x10 <sup>-2</sup>
Antraceno	3	178	0.045	1x10 <sup>-3</sup>
Pireno	4	202	0.13	6x10 <sup>-4</sup>
Fluoranteno	4	202	0.26	1.2x10 <sup>-3</sup>
Benzo[ <i>a</i> ]antraceno	4	228	0.011	2.8x10 <sup>-5</sup>
Criseno	4	228	0.006	5.7x10 <sup>-7</sup>
Benzo[ <i>b</i> ]fluoranteno	5	252	0.0015	-
Benzo[ <i>k</i> ]fluoranteno	5	252	0.0008	5.2x10 <sup>-8</sup>
Benzo[ <i>a</i> ]pireno	5	252	0.0038	7x10 <sup>-7</sup>
Dibenzo[ <i>a,h</i> ]antraceno	6	278	0.0006	3.7x10 <sup>-10</sup>
Indeno[1,2,3- <i>cd</i> ]pireno	6	276	0.00019	-
Benzo[ <i>ghi</i> ]perileno	6	276	0.00026	1.4x10 <sup>-8</sup>

#### 2.3.4 Oxi-Hidrocarburos aromáticos policíclicos

Los oxi-HAP se emiten a la atmósfera durante los procesos de combustión, o se forman por reacciones fotoquímicas entre HAP y oxidantes atmosféricos oxigenados (Murillo-Tovar *et al.* 2010). Estas reacciones de oxidación frecuentemente involucran radicales

---

hidroxilo ( $\text{OH}^\bullet$ ), generados a partir de peróxido de hidrógeno y ozono, los radicales hidroxilo son oxidantes fuertes, relativamente inespecíficos que reaccionan con los HAP, eliminando hidrógeno o por adición a los dobles enlaces (Legrini *et al.* 1993). Los mecanismos que siguen estas reacciones son muy complejos, y se generan gran cantidad de intermediarios, los productos finales de estas reacciones incluyen una mezcla de cetonas, quinonas, aldehídos, fenoles y ácidos carboxílicos (Kochany y Maguire 1994).

Muchos oxi-HAP son tóxicos y mutagénicos (algunos más tóxicos que los HAP), por ejemplo la 9-fluorenona (Figura 5), 4-oxapiren-5-ona, varias benzofluorenonas, benzo[*a*]pirenoquinonas y pirenoquinonas muestran actividad mutagénica en ensayos biológicos como en la prueba de Ames (Moller *et al.* 1985). En contraste a los HAP, sus derivados oxigenados no requieren activación metabólica para mostrar actividad mutagénica, muchos reaccionan directamente con el ADN, además se identifican como la clase de compuestos predominante en las fracciones con más actividad mutagénica en muestras ambientales (Casellas *et al.* 1995).

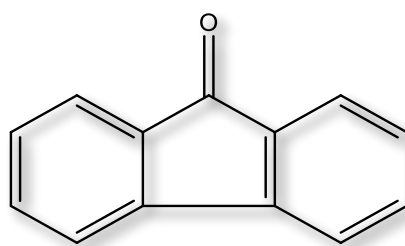


Figura 5. Estructura de la 9-fluorenona, como ejemplo de los oxi-HAP



---

### 2.3.5 Nitro-Hidrocarburos aromáticos policíclicos

Los nitro-hidrocarburos aromáticos policíclicos (nitro-HAP) son compuestos aromáticos con al menos un grupo funcional nitro ( $\text{NO}_2$ ) en alguno de los anillos fusionados (Figura 6). Una vez que se liberan a la atmósfera, muchos nitro-HAP son persistentes en el ambiente y se transportan largas distancias desde su fuente original de emisión (Bamford *et al.* 2003). La creciente atención hacia los nitro-HAP, particularmente en el campo analítico-ambiental, se debe a su persistencia y a su mayor actividad mutagénica ( $2 \times 10^5$ ) y carcinogénica (10 veces más) comparados con los HAP (Bamford *et al.* 2003). Mientras que algunos HAP y otras moléculas orgánicas requieren activación metabólica para ejercer su actividad mutagénica, los nitro-HAP a pesar de encontrarse en concentraciones mucho menores, demuestran alta actividad mutagénica directa en bioensayos de mutagenicidad microbiana y en otros con células humanas. Además, son una fracción significativa de los compuestos con actividad mutagénica directa presentes en extractos de partículas ambientales (Bamford *et al.* 2003). Su persistencia en el material particulado del aire puede resultar en la exposición del ser humano a estas partículas a través de la inhalación de las mismas. Debido a esto, es relevante el estudio de sus fuentes primarias y secundarias, así como su destino y transporte en la atmósfera.

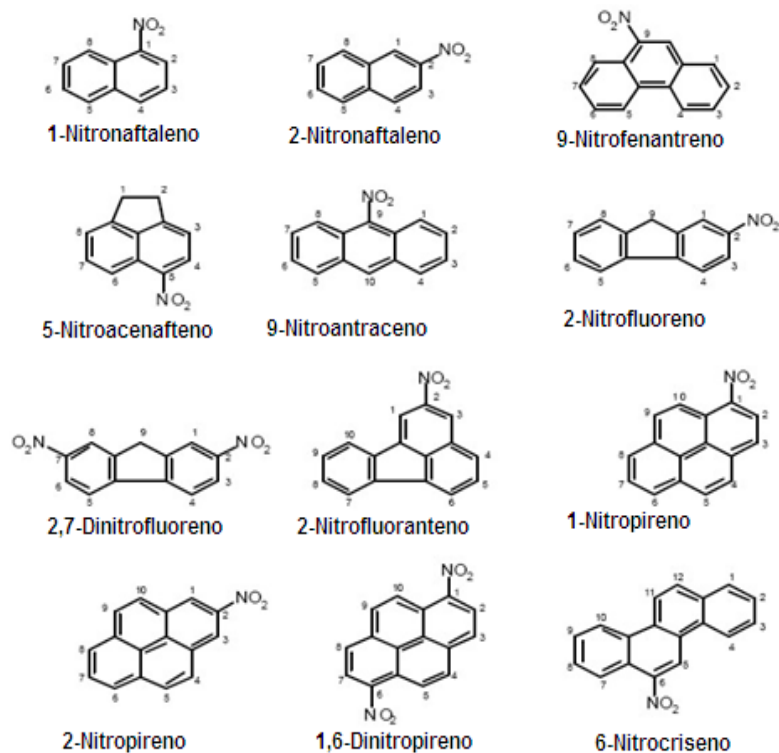


Figura 6. Fórmula estructural de algunos nitro-HAP.

La concentración típica de nitro-HAP en las partículas atmosféricas es sumamente baja, del orden de  $\text{pg m}^{-3}$  (Bamford *et al.* 2003). Su cuantificación en niveles traza representan un verdadero reto analítico. Existen diversas técnicas de análisis para su determinación, principalmente por cromatografía de gases (CG) con detector de captura de electrones e ionización química negativa por espectrometría de masas. Sin embargo, la selectividad de este método, depende críticamente de la capacidad de separación de la columna en cromatografía de gases y la sensibilidad depende de que tan “limpia” se encuentre la muestra (Bamford *et al.* 2003). Debido a la complejidad de las matrices en muestras ambientales, tal como en el material particulado, otros compuestos orgánicos polares presentes en la muestra pueden interferir en la determinación de los nitro-HAP. Por lo tanto es necesario que el tratamiento previo a

---

su análisis ofrezca la selectividad apropiada para su correcta e inequívoca identificación.

## **2.4 Extracción en fase sólida (EFS)**

### **2.4.1 Generalidades**

Debido a la complejidad de las matrices ambientales atmosféricas es necesario un tratamiento previo al análisis instrumental que favorezca la inequívoca identificación y cuantificación de los analitos de interés. La extracción de muestras en fase sólida se convirtió en una técnica de laboratorio ampliamente utilizada desde la década de los 70, en la que aparecieron los “sorbentes” contenidos en cartuchos desechables. Estos contienen partículas finas que permiten el procesado de la muestra de una forma no agresiva para la misma (Figura 7). Un cartucho típico para extracción en fase sólida consiste de una pequeña columna (generalmente un tubo abierto de jeringa) que contiene un sorbente con partículas finas de 50 a 60  $\mu\text{m}$ . Una gran cantidad de “sorbentes” están disponibles actualmente, pueden ser de uso general, para extraer una clase de compuestos o inclusive para extraer un compuesto en específico (Poole *et al.* 2000).

En esta técnica los analitos se transfieren a la fase sólida (el “sorbente”) donde se retienen de acuerdo con su afinidad. Posteriormente el analito se recupera por elución usando ya sea un líquido, un fluido, un gas o por desorción térmica. Los principales objetivos de la extracción en fase sólida son la concentración de la muestra, la simplificación de la matriz y el intercambio del medio que contiene al analito (transferirlo desde la matriz de la muestra hacia otro disolvente o a una fase gaseosa). La extracción en fase sólida fue desarrollada como un complemento o un remplazo a la extracción líquido-líquido. Ahora es ampliamente usada en muchas áreas de la química incluyendo el área ambiental, farmacéutica, clínica y la industria de los alimentos (Poole 2003).

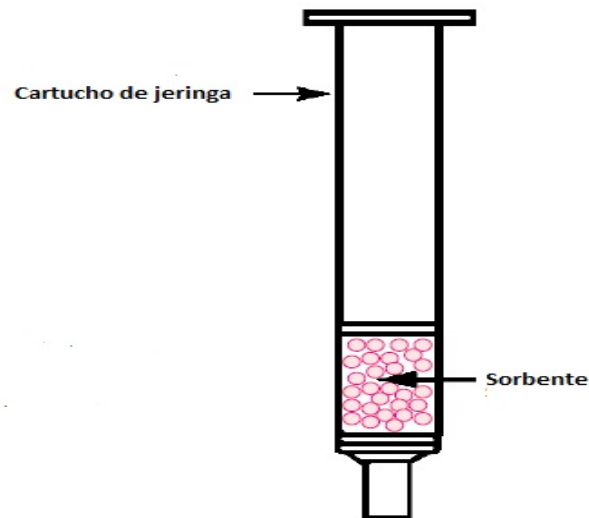


Figura 7. *Columna para extracción en fase sólida*

Con la extracción en fase sólida se minimizan los problemas asociados con la extracción líquido-líquido, tales como la incompleta separación de fases, la baja eficiencia en el recobro y el desperdicio de grandes cantidades de disolventes orgánicos. Esta técnica se usa frecuentemente para preparar muestras líquidas y extraer analitos semivolátiles o no volátiles, pero además puede ser empleada con sólidos que son pre-extraídos en disolventes (Supelco 1998).

#### **2.4.2 Principios de la extracción en fase sólida**

La extracción en fase sólida utiliza los principios de la cromatografía. Es un potente método de separación que tiene aplicación en todas las ramas de la ciencia. La técnica fue inventada y denominada así por el botánico ruso Mikhail Tswett a principios del siglo XX. Agrupa un conjunto importante y diverso de métodos que facilitan la separación, identificación y determinación de componentes estrechamente relacionados en mezclas complejas. En todas las separaciones cromatográficas la

---

muestra se disuelve con una fase móvil, que puede ser un gas, un líquido o un fluido supercrítico, la cual se hace pasar a través de una fase estacionaria inmisible fija en una columna o en una superficie sólida. Las dos fases se eligen de tal forma que los componentes de la muestra se distribuyan en grados distintos entre la fase móvil y la fase estacionaria. Aquellos componentes que se retienen fuertemente por la fase estacionaria se mueven con mucha lentitud con el flujo de la fase móvil. En cambio, los componentes unidos débilmente a la fase estacionaria se mueven con rapidez. Como consecuencia de las distintas velocidades de migración, los componentes se separan en bandas o zonas distintas que se pueden analizar en forma cualitativa y cuantitativa (Skoog 2008).

La eficiencia de una columna cromatográfica para separar dos solutos depende en parte de las velocidades relativas con las que se purifican las especies. Esas velocidades están determinadas por la magnitud de las constantes de equilibrio para las interacciones mediante las cuales los solutos se distribuyen entre las fases estacionaria y móvil. La constante de equilibrio  $K_c$  para la distribución de una especie se denomina constante de distribución y se define como la relación de la actividad del soluto en la fase estacionaria entre su actividad en la fase móvil. El factor de selectividad ( $\alpha$ ) de una columna para dos diferentes solutos está relacionado con las constantes de distribución de ambos, se define como la relación de la constante de distribución del soluto más fuertemente retenido entre la constante de distribución de la especie menos retenida. De acuerdo con esta definición  $\alpha$  siempre es mayor que la unidad (Skoog 2008).

Otros dos términos afines que se utilizan ampliamente como medidas cuantitativas de la eficiencia de una columna cromatográfica son: la altura del plato y el número de platos o cantidad teórica de platos,  $N$ . La eficiencia de una columna aumenta cuanto mayor es el número de platos  $N$  y cuanto menor es la altura  $H$  del plato. El origen de los términos “altura de plato” y “cantidad de platos teóricos” proviene de uno de los

---

primeros estudios teóricos realizado por Martin y Synge donde se trató a una columna cromatográfica como si fuera una columna de destilación constituida por numerosas capas angostas, o platos, distintos pero contiguos, a las que denominaron platos teóricos. Se suponía que en cada plato se establecía el equilibrio de la especie entre las fases móvil y estacionaria. El paso del soluto por la columna se trataba entonces como una transferencia por etapas de fase móvil equilibrada de un plato al siguiente (Skoog 2008). Una forma obvia de mejorar la resolución es aumentando el número de platos teóricos de la columna, este recurso suele requerir más tiempo para complementar la separación, a no ser que el aumento de N se lleve a cabo mediante una reducción de H en vez de alargar la columna. Por ejemplo el disminuir el tamaño de la partícula de relleno.

No hay duda que actualmente la extracción en fase sólida es la técnica preparativa de muestras más popular. Es un área muy activa en el campo de la ciencia de la separación y actualmente más de 50 compañías fabrican productos para la extracción en fase sólida. Los procesos empleados varían dependiendo del campo de aplicación (Hennion 1999).

#### **2.4.3 Sorbentes empleados en la EFS**

El desarrollo de la metodología está relacionado con el analito de interés, la concentración del mismo, la naturaleza de la matriz, el tipo de cromatografía que se empleará en la separación y el modo de detección. Varios modelos han sido propuestos para generar una metodología adecuada a la hora de la separación, desde aquellas que se basan en observaciones empíricas hasta las más elaboradas en las que se realizan cálculos muy sofisticados para definir que método emplear. En general los parámetros a considerar son la selección de la cantidad y el tipo de “sorbente”, la determinación del volumen de muestra a emplear sin que se vea afectada la eficiencia

---

en el recobro, la composición y el volumen del disolvente a emplear para la limpieza de la muestra y finalmente la naturaleza y el volumen del desorberdor del analito.

La selección del “sorbente” está basada en el tipo de disolvente en el que se encuentra la muestra (orgánica o acuosa) y en el tipo de analito (no polar, polar o iónica). La cantidad de la muestra a inyectar generalmente depende del detector y con los instrumentos actuales los volúmenes son cada vez menores. La figura 8 muestra una guía para la selección del método más adecuado dependiendo de la naturaleza del disolvente en el que se encuentra el analito.

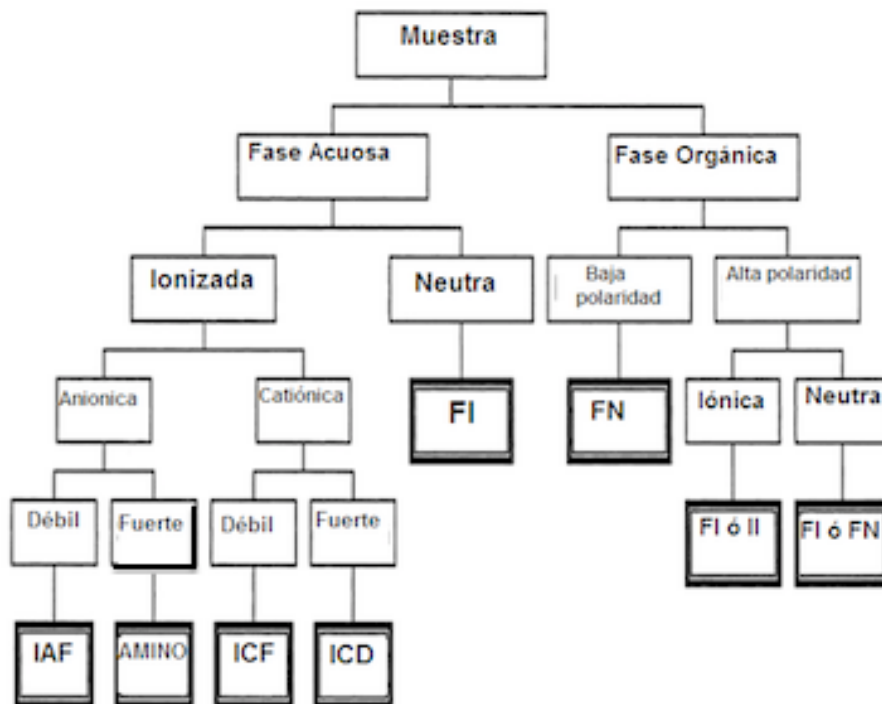


Figura 8. Guía para la selección del método a usar para el aislamiento de compuestos orgánicos en solución. IAF= Intercambiador aniónico fuerte, ICF= Intercambiador catiónico fuerte, ICD= Intercambiador catiónico débil, FI= Fase inversa, FN= Fase normal, II= Intercambio iónico (Poole 2003)

Los “sorbentes” para la extracción en fase sólida se clasifican en tres grupos: óxidos inorgánicos, específicos y de baja especificidad. Entre los más importantes óxidos inorgánicos se encuentran la sílica gel, la alúmina, el florisil (Silicato de magnesio sintético) y las tierras diatomáceas. La mayoría de los “sorbentes” específicos se basan en el intercambio iónico, la bioafinidad y el reconocimiento molecular. Generalmente se emplean como complementos de los “sorbentes” de baja especificidad. Estos últimos incluyen las sílices químicamente modificadas, los polímeros porosos y el carbón poroso, usados frecuentemente para el aislamiento de contaminantes en soluciones acuosas. Los “sorbentes” en los que los grupos siloxano se unen a otros



---

grupos funcionales se preparan en una gran variedad de tamaño de poro, de densidad y con diferentes grupos funcionales.

Los “sorbentes” con grupos funcionales polares (por ejemplo 3-Cianopropil, 3-aminopropil) unidos al grupo siloxano, se utilizan principalmente para aislar analitos de disolventes orgánicos con base en las interacciones selectivas de los grupos funcionales del “sorbente” con el grupo funcional polar del analito. El carbón y el grafito poroso son otra opción para la extracción en fase sólida, debido a sus ventajas (alta capacidad de sorción, buena estabilidad térmica, un intervalo de pH más amplio), se emplean para la preconcentración y purificación de gran variedad de analitos, tal como residuos de pesticidas, compuestos orgánicos volátiles, HAP y bifenilos polihalogenados.

Se han realizado algunos estudios que utilizan extracción en fase sólida para la separación de nitro-HAP de matrices atmosféricas. Albinet *et al.* (2006) propusieron una técnica de purificación para 17 nitro-HAP y para 9 oxi-HAP presentes en el estándar de referencia SRM 1649a, empleando cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas con ionización química negativa como método de cuantificación e identificación. El análisis también se aplicó a muestras ambientales en fase particulada y gaseosa. Este método incluye purificación por extracción en fase sólida, en la cual los extractos orgánicos de las muestras fueron eluidos en un cartucho de alúmina, con 9 mL de diclorometano a fin de remover los grupos más polares que pudieran interferir en el análisis. Posteriormente se realizó una segunda purificación en un cartucho de sílica, esta fue para separar alcanos de compuestos aromáticos presentes en las muestras, los alcanos eluyeron con 1 mL de n-pentano, y los aromáticos con 9 mL de una mezcla 65:35 V:V de n-pentano:diclorometano. Finalmente, las muestras se llevaron a sequedad con argón, para después ser diluidas en 60 µL de diclorometano. Los analitos fueron identificados por comparación de los

---

tiempos de retención con estándares. Los límites de detección para los nitro-HAP fueron de 0.03 - 0.07  $\mu\text{g } \mu\text{L}^{-1}$  y los de cuantificación de 0.12 y 0.24  $\mu\text{g } \mu\text{L}^{-1}$ , cuyos porcentajes de recobro oscilaron entre 14 y 84 %.

Bamford *et al.* (2003) desarrollaron un método para aislar nitro-HAP de extractos de diesel usando extracción en fase sólida y cromatografía de líquidos en fase normal, seguido del análisis por cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas con ionización química negativa. Separaron un número limitado de nitro-HAP de un material de referencia certificado de partículas de diesel, y de material de referencia certificado de partículas, proporcionado por el Instituto Nacional de Estándares y Tecnología de los Estados Unidos. La mezcla se extrajo con fluidos presurizados, y se eluyó en un cartucho para extracción en fase sólida con aminopropil, usando 40 mL de una disolución al 20 % de diclorometano en hexano para minimizar la interferencia de los compuestos polares. Cada uno de los cartuchos, se acondicionó con 20 mL de la misma disolución. Los extractos se redujeron a 0.5 mL en hexano y se volvieron a separar por cromatografía de líquidos en fase normal usando una columna semipreparativa amino/ciano de 9.6 mm X 25 cm con tamaño de partícula de 5  $\mu\text{m}$  para aislar la fracción que contenía a los nitro-HAP. Para la fase móvil se empleó una disolución al 20 % de diclorometano en hexano a un flujo constante de 5  $\text{mL min}^{-1}$ . Un total de 28 nitro-HAP fueron identificados por comparación de los tiempos de retención con estándares de todos los analitos. Debido a la complejidad de la matriz de ambos estándares, la cromatografía de líquidos en fase normal para los nitro-HAP probó ser un importante paso en la remoción de otros constituyentes orgánicos polares que pudieran interferir en la determinación de los mismos. Este paso fue crítico para la apropiada determinación de la concentración de los nitro-HAP en las muestras ambientales, cuyas concentraciones se encontraron en  $\text{ng g}^{-1}$ . La figura 9 compara los cromatogramas del material de referencia particulado del aire (1649a) después de hacer la purificación únicamente con extracción en fase sólida contra la

purificación en la que se usó cromatografía de líquidos en fase normal después de la extracción en fase sólida. Se observa la limpieza de la muestra lograda con la cromatografía de líquidos, lo que aumenta la sensibilidad del método al eliminar las posibles interferencias de los compuestos que no son nitro-HAP, permitiendo su detección a niveles de ng.

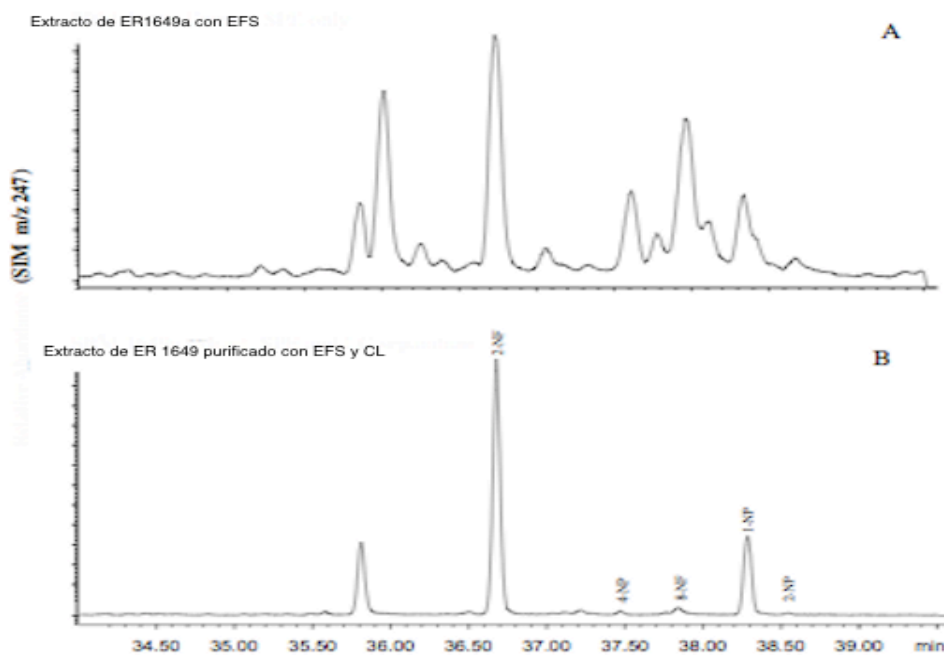


Figura 9. Comparación de cromatogramas obtenidos del extracto del Material de referencia certificado 1649a. Estándar de referencia purificado únicamente con extracción en fase sólida (A). Extracción en fase sólida seguida de cromatografía de líquidos en fase normal (B)

---

## 2.5 Parámetros para la evaluación analítica

### 2.5.1 Selectividad y Especificidad

Por definición, la selectividad se refiere a la capacidad con la que un método puede identificar a un analito en particular de una mezcla compleja sin la interferencia de otros componentes de la matriz. Esta definición se usa erróneamente como sinónimo de la especificidad, que es considerada como el 100 % de la selectividad, es decir que no exista ninguna interferencia en la identificación (Araujo. 2009).

### 2.5.2 Linealidad

Evalúa la capacidad de un método analítico para obtener resultados –directa o a través de transformaciones matemáticas- que sean proporcionales a la concentración del analito en la muestra.

Es común verificar la linealidad de una curva de calibración por inspección del coeficiente de correlación  $r$ . Un coeficiente de correlación cercano a la unidad ( $r=1$ ) se considera suficiente evidencia para afirmar que el experimento tiene una perfecta calibración lineal. Sin embargo, la Administración de Drogas y Alimentos de Estados Unidos de América (FDA por sus siglas en inglés, Food and Drug Administration) y la Conferencia Internacional para la Harmonización (ICH por sus siglas en inglés) recomiendan que dicho coeficiente de correlación  $r$  no sólo debe ser usado para evaluar una relación lineal sino que debe evaluarse con un método estadístico apropiado (ICH 1996). Es muy importante aclarar que no existe la prueba “ $r$ -test” y que el valor de  $r$  no puede ser usado como el grado de desviación de linealidad (Araujo. 2009).

Para evitar estas apreciaciones subjetivas, el coeficiente de correlación  $r$ , debe evaluarse estadísticamente mediante el estadístico  $t$  (**ecuación 1**) utilizando las siguientes hipótesis (Miller 2002):

---

Estadístico  $t$ :

Ecuación 1

$$t = \frac{|r|\sqrt{n-2}}{\sqrt{1-r^2}}$$

Donde:

$r$ : coeficiente de correlación

$n$ : número de niveles de calibración

Hipótesis

$H_0$ : No existe correlación lineal

$H_a$ : Existe correlación lineal

El valor  $t$  calculado se compara con el valor tabulado al nivel de significancia deseado con  $n-2$  grados de libertad (g.l.), utilizando una distribución de dos colas. Si  $t_{calculado} > t_{tablas}$  se rechaza la hipótesis nula y por tanto se concluye que la correlación es lineal.

Otra manera de evaluar linealidad es a través del análisis de varianza (ANOVA) donde se sugieren dos fuentes de variación (Tabla IV). La primera es la debida a la regresión, entre la señal del instrumento " $y$ ", y la concentración del analito, " $x$ ". La segunda es el error experimental aleatorio en los valores de " $y$ ", que se denomina variación sobre la regresión. ANOVA separa las dos fuentes de variación utilizando la relación en que la suma de cuadrados total (SC) sobre el promedio de los valores de  $y$  de los puntos de calibración,  $\bar{y}$ , es igual a la SC debida a la variación explicada más la SC de la variación observada (**ecuación 2**) (Miller y Miller 2002)

---

Suma de cuadrados aditiva:

*Ecuación 2*

$$\sum_i (y_i - \bar{y})^2 = \sum_i (\hat{y}_i - \bar{y})^2 + \sum_i (y_i - \hat{y})^2$$

$$SC_{\text{totales}} (SC_t) = SC_{\text{explicada}} (SC_e) + SC_{\text{residuales}} (SC_r)$$

Donde:

$\hat{y}_i$ : Respuesta ajustada por la regresión

$\bar{y}$ : Media de los valores de  $y$

Con esta ecuación se puede generar la siguiente tabla de ANOVA:

**Tabla IV. ANOVA para evaluar el modelo de regresión lineal**

Fuente de variación	Suma de Cuadrados	Grados de libertad	Varianzas
Por la regresión	$SC_e = \sum_i (\hat{y}_i - \bar{y})^2$	1	$S_e^2 = \frac{SC_e}{1}$
Residual	$SC_r = \sum_i (y_i - \hat{y})^2$	n-2	$S_r^2 = \frac{SC_r}{n-2}$
Global	$SC_t = \sum_i (y_i - \bar{y})^2$	n-1	$S_t^2 = \frac{SC_t}{n-1}$

Con estos datos se calcula la "F de Fisher" conforme a la **ecuación 3** para evaluar si el modelo propuesto es adecuado para explicar la variabilidad de los datos a través de la regresión. Las hipótesis a probar son:

H<sub>0</sub>: El modelo no es lineal

H<sub>a</sub>: El modelo es lineal

---

*Ecuación 3*

$$F_{cal} = \frac{S_e^2}{S_r^2}$$

Si  $F_{cal} \geq F_{tab}$  a un nivel de confianza determinado, se rechaza  $H_0$  y por consecuencia el modelo lineal es adecuado para explicar la dispersión de los puntos experimentales.

---

### **3 Objetivos**

#### **3.1 Objetivo general**

- Evaluar el uso de la extracción en fase sólida como técnica preparativa para el análisis instrumental de una mezcla de cinco familias de compuestos orgánicos presentes en muestras atmosféricas.

#### **3.2 Objetivos específicos**

- Determinar el sorbente y los volúmenes de elución adecuados para matrices atmosféricas.
- Evaluar la eficiencia del método para cada familia de compuestos en cinco diferentes niveles de concentración.
- Evaluar la selectividad del método con los porcentajes de distribución de las familias entre cada fracción de la elución, en cinco distintos niveles de concentración.
- Establecer si existe relación entre la concentración y los porcentajes de recobro.



---

## 4 Desarrollo experimental

### 4.1 Preparación de la disolución estándar de trabajo

Se preparó una disolución estándar con cinco familias orgánicas: n-alcanos, ftalatos, HAP, oxi-HAP y nitro HAP (Tabla V). Considerando estudios previos del grupo de investigación donde se establecieron las concentraciones de estos compuestos en muestras atmosféricas de la ciudad de México, se definió la concentración de la disolución (Murillo-Tovar *et al.* 2010, Valle-Hernández *et al.* 2010). Con la que se realizaron las primeras pruebas para determinar el “sorbente” adecuado para el fraccionamiento, se midieron alícuotas de 1 mL que previo al fraccionamiento fueron reducidas a un volumen de 200  $\mu\text{L}$ .

**Tabla V. Concentración de cada una de las familias de compuestos en la disolución estándar de trabajo**

Familia de Compuestos	$\mu\text{g mL}^{-1}$
n-Alcanos	10
Ftalatos	10
HAP	1
oxi-HAP	1
Nitro-HAP	0.1

### 4.2 Evaluación de la pérdida de los compuestos por el proceso de reducción de disolventes orgánicos

Para reducir el volumen empleado en los fraccionamientos se ideó un sistema de reducción (Expediente de registro de patente MX/a/2012/000791) con nitrógeno gaseoso grado cromatográfico (99.998 % Infra). El sistema (Figura 10) consistió en una vial con dos horadaciones en la tapa, una como vía de entrada para el nitrógeno y otra

para posibilitar su salida junto al disolvente evaporado. En la perforación de salida se colocó un tubo de vidrio con varias deflexiones.

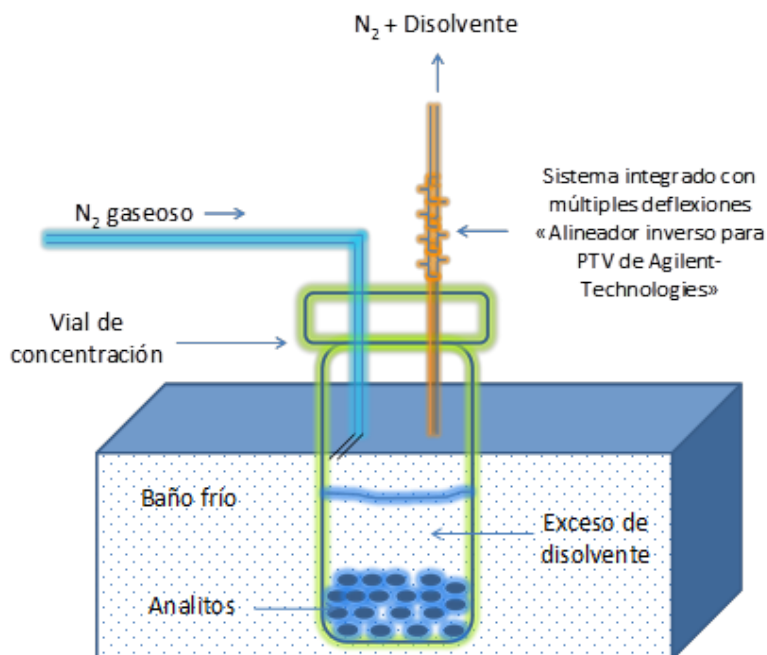


Figura 10. Sistema para la reducción de disolventes orgánicos por arrastre con nitrógeno

Se evaluó la eficiencia del sistema en la recuperación de los analitos después de la evaporación del disolvente. Se emplearon 10 mL de disolución de nitro-HAP a  $1 \mu\text{g mL}^{-1}$ , que se redujeron a 1 mL, de la que se inyectó  $1 \mu\text{L}$  al CG-EM. La disolución se aforó nuevamente a 10 mL, se redujo a 1 mL y se inyectó al CG-EM. Este procedimiento se repitió 9 veces. La pérdida por este proceso se evaluó comparando las áreas de las disoluciones reducidas con las de la disolución de referencia (disolución original).

---

### 4.3 Separación de las familias orgánicas

El procedimiento para el fraccionamiento de las muestras consistió en reducir el volumen de la alícuota de la disolución estándar hasta aproximadamente 200  $\mu\text{L}$ , que se transfirieron a una columna de vidrio previamente empacada con el “sorbente” (Figura 11).

A diferencia de los trabajos previos desarrollados en el laboratorio, se adicionaron ftalatos y nitro-HAP para evaluar la técnica de separación.

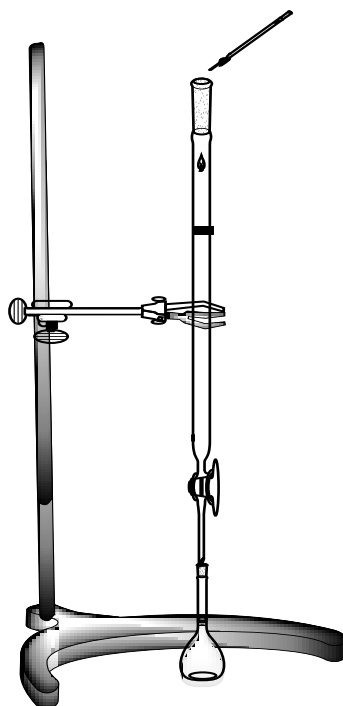


Figura 11. Esquema del sistema empleado para el fraccionamiento de las muestras

Para la separación se realizaron pruebas con dos “sorbentes”. Apartir de lo establecido por el grupo de trabajo (Murillo-Tovar *et al.* 2010) se emplearon las fases ciano (Figura 12) y amino (Figura 13) con 1 y 2 g de fase respectivamente y 2 g de una mezcla de las fases en proporción 1:1.

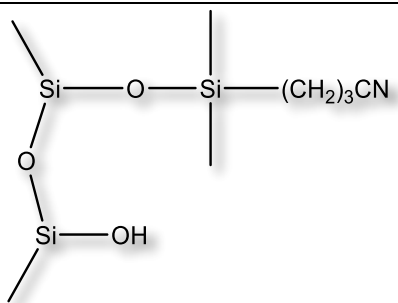


Figura 12. Estructura del Cianopropilsilano (fase ciano)

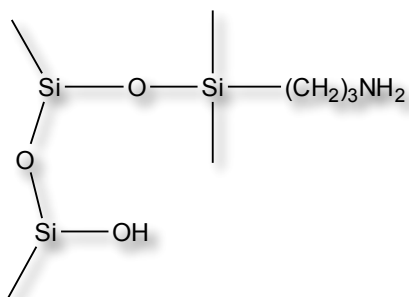


Figura 13. Estructura del Aminopropilsilano (fase amino)

#### 4.4 Volúmenes de elución

Para las pruebas en las que se empleó un gramo de “sorbente”, se siguió el esquema de elución indicado en el trabajo de Murillo-Tovar *et al.* La elución consistió en 5 diferentes fracciones, con los disolventes y los volúmenes indicados en la Tabla VI.

**Tabla VI. Volúmenes y disolventes empleados en la elución con 1 g de sorbente**

Fracción	Disolvente	Volumen (mL)
F0	Hexano	1
F1	Hexano	0.5
F2	Hexano:Diclorometano (9:1)	2
F3	Diclorometano	10
F4	Acetona	10

Para las pruebas en las que se empleó 2 g de “sorbente”, el volumen de elución en las fracciones se aumentó al doble del empleado en las pruebas con 1 g de “sorbente” (Tabla VII).

**Tabla VII. Volúmenes y disolventes empleados en la elución con 2 g de sorbente**

Fracción	Disolvente	Volumen (mL)
F0	Hexano	2
F1	Hexano	1
F2	Hexano:Diclorometano (9:1)	4
F3	Diclorometano	20
F4	Acetona	20

#### **4.5 Evaluación del método en 5 niveles de concentración**

Se realizaron pruebas para evaluar la eficiencia y la selectividad del método en diferentes concentraciones. Se eligieron 5 niveles, cuyas concentraciones para cada una de las familias se muestran en la tabla VIII.

**Tabla VIII. Masa ( $\mu\text{g}$ ) fraccionada de cada familia en los 5 niveles evaluados**

Compuestos	P1	P2	P3	P4	P5
Alcanos	40	20	10	5	2
Ftalatos	40	20	10	5	2
HAP	4	2	1	0.5	0.2
Oxi-HAP	4	2	1	0.5	0.2
Nitro-HAP	0.4	0.2	0.1	0.05	0.01

Las concentraciones se obtuvieron mezclando 5 distintas disoluciones madre (Tabla IX). Los compuestos contenidos en la curva se enlistan en la tabla X, agrupados en las 5 familias que se analizaron.

**Tabla IX. Concentración de las disoluciones madre**

Compuestos	$\mu\text{g mL}^{-1}$
n-Alcanos	1000
Ftalatos	10000
HAP	40
Oxi-HAP	200
Nitro-HAP	20

Por ejemplo, para preparar el nivel 1 de la curva, se midieron 500, 100, 20, 100 y 100  $\mu\text{L}$  de las disoluciones madre de HAP, oxi-HAP, ftalatos, n-alcanos, y nitro-HAP respectivamente. Se mezclaron y se llevaron al aforo de 1 mL. Se calcularon las concentraciones finales de cada una de las familias orgánicas en la disolución tomando en consideración el efecto de dilución (Ecuación 4). Por ejemplo, para los HAP, la concentración final (Ecuación 5) en este nivel fue  $20 \mu\text{g mL}^{-1}$ . Posteriormente se midió

---

una alícuota de 200  $\mu\text{L}$  de esta disolución, que fue vertida a la columna de fraccionamiento, obteniendo 4  $\mu\text{g}$  de masa de HAP a fraccionar.

*Ecuación 4*

$$C_2 = \frac{C_1 V_1}{V_2}$$

Donde:

$C_1$ = Concentración inicial

$V_1$ = Volumen inicial

$C_2$ = Concentración final

$V_2$ = Volumen final

*Ecuación 5*

$$C_2 = \frac{(40 \mu\text{g mL}^{-1})(500 \mu\text{L})}{1000 \mu\text{L}} = 20 \mu\text{g mL}^{-1}$$

Se siguió el mismo procedimiento para preparar las disoluciones de los siguientes niveles de concentración. Para todos los fraccionamientos se eligió 2 g de fase ciano (figura 12) como “sorbente”, ya que se observaron mejores resultados en la distribución y en los porcentajes de recobro en comparación con los obtenidos en las pruebas con fase amino o la mezcla de ambas fases.

**Tabla X. Compuestos presentes en las cinco concentraciones estudiadas**

Alcanos	Ftalatos	HAP	Oxi-HAP	Nitro-HAP
Tridecano	Dimetil	Acenaftileno	1,4- Naftoquinona	1-Nitronaftaleno
Tetradecano	Dietil	Acenafteno	9-Fluorenona	2-Nitronaftaleno
Pentadecano	Di-isobutil	Benzo[ <i>a</i> ]antraceno	Antraquinona	1,5-Dinitronaftaleno
Hexadecano	Di-n-butil	Trifenileno	Fenantrenoquinona	1,3-Dinitronaftaleno
Heptadecano	Diamil	Criseno		2-Nitrofluoreno
Octadecano	Di-n-hexil	Benzo[ <i>b</i> ]fluoranteno		9-Nitroantraceno
Nonadecano	Diciclohexil	Benzo[ <i>k</i> ]fluoranteno		1,8-Dinitronaftaleno
Eicosano	Di-n-octil	Benzo[ <i>e</i> ]pireno		9-Nitrofenantreno
Eneicosano	Dinonil	Benzo[ <i>a</i> ]pireno		1-Nitropireno
Docosano		Perileno		1,6-Dinitropireno
Tricosano		Dibenzo[ <i>a,c</i> ]antraceno		1-Nitronaftaleno
Tetracosano		Indeno[ <i>1,2,3-cd</i> ]pireno		2-Nitronaftaleno
Pentacosano		Benzo[ <i>ghi</i> ]perileno		1,5-Dinitronaftaleno
		Acenaftileno		1,3-Dinitronaftaleno
		Acenafteno		2-Nitrofluoreno
		Benzo[ <i>a</i> ]antraceno		9-Nitroantraceno
		Trifenileno		1,8-Dinitronaftaleno
		Criseno		9-Nitrofenantreno

#### 4.6 Fraccionamiento de muestras reales

Se fraccionaron dos muestras reales de materia orgánica extraíble, una correspondiente a partículas emitidas por un motor de combustión a diesel y la segunda de partículas emitidas por un motor de combustión a biodiesel. Se siguió el mismo esquema de elución que para el resto de las muestras y, al igual que en los niveles de concentración probados se empleó 2 g de fase ciano como “sorbente”.

Ambas muestras contenían una masa aproximada de 3.5 µg de HAP contenida en 1 mL, masa medida como parte de un proyecto del grupo de trabajo (Valle-Hernández *et al.* 2013). Éste volumen se dividió en 2 partes para hacer dos fraccionamientos de la misma muestra y comparar los resultados. Por lo tanto se fraccionó una masa aproximada de 1.25 µg de HAP en 500 µL, que previo al fraccionamiento se redujeron hasta 200 µL. Esta concentración correspondió al nivel 3 de los probados, en donde la masa de HAP fraccionada es igual a 1 µg.



---

#### 4.7 Análisis Instrumental

El análisis instrumental de las fracciones se realizó con un sistema de cromatografía de gases acoplado a espectrometría de masas (Figura 14) (Agilent Technologies 6890/5973N), empleando impacto electrónico “scan” (de 35 a 600 uma) para todas las familias excepto para los nitro-HAP que se determinaron mediante ionización química negativa monitoreando el ión seleccionado.

Las condiciones de operación del cromatógrafo de gases y del espectrómetro de masas (EM) en impacto electrónico fueron: temperatura inicial a 40 °C-1 min, 1<sup>er</sup> incremento a 50 °C min<sup>-1</sup> hasta 110 °C-0 min, 2<sup>o</sup> incremento a 5 °C min<sup>-1</sup> hasta 303 °C-0 min, 3<sup>er</sup> incremento a 20 °C min<sup>-1</sup> hasta 335 °C-10 min. El tiempo de la corrida fue de 52.6 minutos. Se empleó una columna J&W Scientific, DB-35MS, fase estacionaria de 35 % fenil polidimetilsiloxano, longitud 29.5 m, diámetro interno 0.25 mm y espesor de la fase estacionaria 0.25 µm. Se inyectó 1 µL en splitless. La temperatura de la fuente de iones de EM fue 230 °C y la del cuadrupolo de 150 °C. La ionización fue a 70 eV.

En cuanto a las condiciones del CG-EM en ionización química negativa fueron: temperatura inicial a 40 °C-1 min, 1<sup>er</sup> incremento a 50 °C min<sup>-1</sup> hasta 180 °C-0 min, 2<sup>o</sup> incremento a 5 °C min<sup>-1</sup> hasta 220 °C-0 min, 3<sup>er</sup> incremento a 10 °C min<sup>-1</sup> hasta 290 °C-32 min. El tiempo de la corrida fue 50.8 min usando una columna HP + de 29.38 m de longitud, de 0.25 mm de grosor y 0.25 µm de diametro interno. Se inyectó 2 µL de cada muestra en modo “splitless”. La temperatura de la fuente de iones se mantuvo a 150 °C, mientras que la del cuadrupolo a 106 °C, se empleó metano como gas de reacción a 40 mL min<sup>-1</sup>. La energía de ionización fue 10 eV.

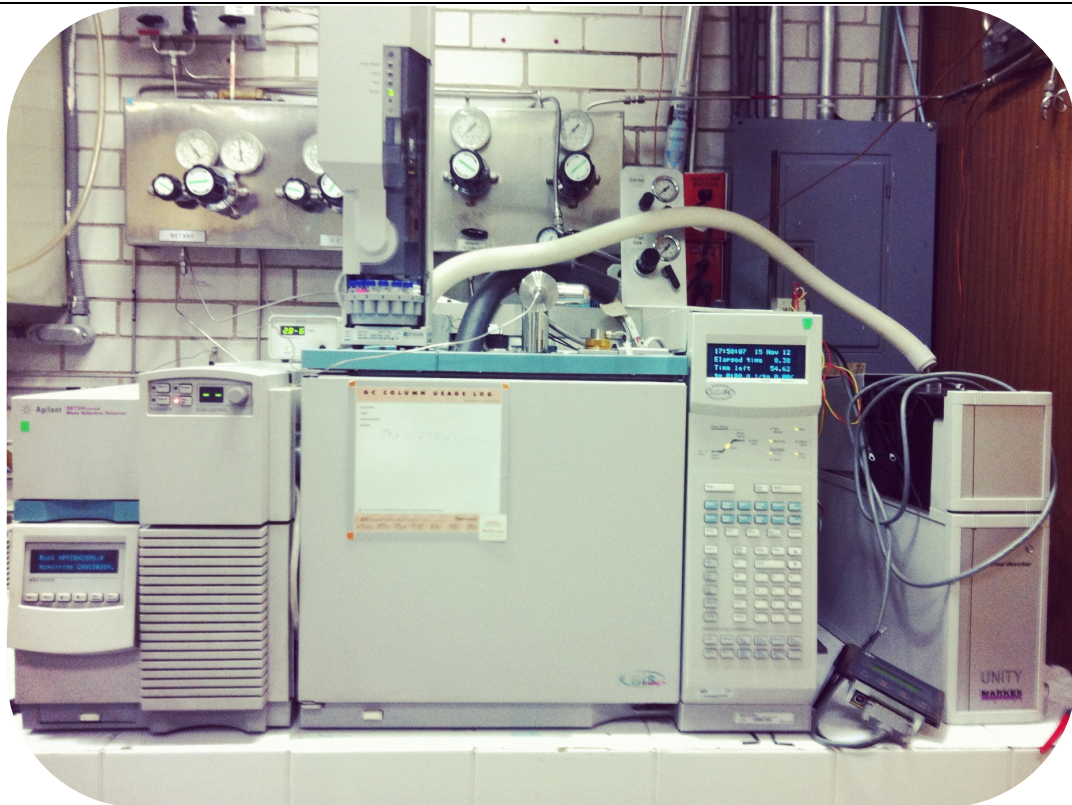


Figura 14. Cromatógrafo de gases acoplado al espectrómetro de masas empleado para el análisis instrumental

#### 4.8 Estándar de referencia

Los estándares de referencia para evaluar la eficiencia del fraccionamiento se tomaron de las disoluciones de trabajo preparadas para las cinco concentraciones evaluadas y se inyectaron por triplicado, mientras que las fracciones de las muestras (F0-F4) fueron analizadas por duplicado.

#### 4.9 Análisis cualitativo

La identificación de los compuestos se realizó a través de la comparación de los tiempos de retención y el espectro de masas de los estándares preparados. La tabla XI

muestra los tiempos de retención empleados para cada compuesto, así como el ion principal y los secundarios (calificadores) en el espectro de masas.

**Tabla XI. Tiempos de retención e iones principales empleados para el análisis cualitativo**

#	Compuestos	Tiempo de retención (min)	ión principal $m z^{-1}$	ión secundarios $m z^{-1}$
<b>Alcanos</b>				
1	Tridecano	6.18	43/57	184
2	Tetradecano	7.72	43/57	198
3	Pentadecano	9.58	43/57	212
4	Hexadecano	11.59	43/57	226
5	Heptadecano	13.74	43/57	240
6	Octadecano	15.70	43/57	254
7	Nonadecano	17.85	43/57	268
8	Eicosano	19.84	43/57	282
9	Eneicosano	21.73	43/57	296
10	Docosano	23.58	43/57	310
11	Tricosano	25.32	43/57	324
12	Tetracosano	27.03	43/57	338
13	Pentacosano	28.68	43/57	352
<b>Ftalatos</b>				
14	Dimetil	13.12	163	164
15	Dietil	15.91	149	
16	Di-isobutil	23.02	149	
17	Di-n-butil	26.38	149	
18	Diamil	29.53	149	
19	Di-n-hexil	31.15	149	251
20	Diciclohexil	33.66	149	167
21	Di-n-octil	35.27	149	279
22	Dinonil ftalato	37.94	149	293
<b>HAP</b>				
23	Acenaftileno	12.85	152	153/76
24	Acenafteno	13.49	154	155/77
25	Benzo[a]antraceno	33.85	228	229/114
26	Trifenileno	33.93	228	229/114
27	Criseno	34.21	228	229/114
28	Benzo[b]fluoranteno	34.21	252	253/126
29	Benzo[k]fluoranteno	39.05	252	253/126
30	Benzo[e]pireno	39.12	252	253/126
31	Benzo[σ]pireno	39.23	252	253/126
32	Perileno	40.57	252	253/126

33	Dibenzo[ <i>a,c</i> ]antraceno	40.81	278	279/139
34	Indeno[1,2,3- <i>cd</i> ]pireno	41.26	276	277/138
35	Benzo[ <i>ghi</i> ]perileno	44.85	276	277/138
<b>Oxi-HAP</b>				
36	1,4- Naftoquinona	13.05	158	102/130
37	9-Fluorenona	20.57	180	152/76
38	Antraquinona	20.08	208	180/152
39	Fenantrenoquinona	25.54	208	180
<b>Nitro-HAP</b>				
40	1-Nitronaftaleno	8.34	173	174
41	2-Nitronaftaleno	8.66	173	174
42	1,5-Dinitronaftaleno	13.49	218	218
43	1,3-Dinitronaftaleno	13.81	218	218
44	2-Nitrofluoreno	15.19	211	211
45	9-Nitroantraceno	15.74	223	223
46	1,8-Dinitronaftaleno	16.48	218	218
47	9-Nitrofenantreno	17.11	223	223
48	1-Nitropireno	20.86	247	247
49	1,6-Dinitropireno	29.69	292	292

#### 4.10 Evaluación de la eficiencia del método de fraccionamiento

Se calculó la eficiencia del procedimiento de fraccionamiento a través de los porcentajes de recobro. Para ello se comparó el área de cada compuesto en las fracciones con respecto a su área en el estándar de referencia (Ecuación 6). Para todos los casos el fraccionamiento se realizó con 2g de fase ciano.

*Ecuación 6*

$$\% \text{ Recobro} = \frac{Ax}{Aer} \times 100$$

Donde:

*Aer*= Área bajo la curva del compuesto en el estándar de referencia en cada nivel de concentración

*Ax*= Área del compuesto en el nivel estudiado

---

La precisión de la eficiencia se evaluó a través del coeficiente de variación (CV) de las áreas en las inyecciones por duplicado o triplicado (Ecuación 7) en cada nivel de concentración.

*Ecuación 7*

$$\%CV = \frac{DEA}{Prom A_x} \times 100$$

Donde:

*DEA*= Desviación estándar de las áreas en cada nivel de concentración

*Prom A<sub>x</sub>*= Promedio de las áreas del compuesto en cada nivel de concentración

#### **4.11 Evaluación de la selectividad del método**

La selectividad se calculó en función de la distribución de las familias orgánicas en cada fracción. El porcentaje de distribución se calculó relacionando el área del compuesto en la fracción con la suma de las áreas en todas las fracciones (Ecuación 8).

*Ecuación 8*

$$\% \text{ de Distribución} = \frac{AFx}{AT} \times 100$$

Donde:

*AFx*= Área del compuesto en la fracción correspondiente

*AT*= Suma de las áreas del compuesto en todas las fracciones

---

Si el método es selectivo, las familias se distribuirán en las fracciones de acuerdo a la polaridad de las mismas, facilitando con esto su identificación.

La precisión de la selectividad se evaluó mediante el coeficiente de variación (Ecuación 9), relacionando la desviación estándar con el promedio de los porcentajes de distribución en los 5 niveles de la curva.

*Ecuación 9*

$$\%CV = \frac{DEPD}{Prom PD} \times 100$$

Donde:

*DEPD* = Desviación estándar los porcentajes de distribución

*Prom PD* = Promedio de los porcentajes de distribución

#### **4.12 Evaluación de la linealidad del método**

La linealidad se evaluó mediante la determinación de los coeficientes de correlación de Pearson (Ecuación 10) y los de regresión evaluados con el análisis de varianza (ANOVA). Para la linealidad del método en todas las familias orgánicas, se tomaron únicamente 4 niveles de concentración por duplicado (N=8), dejando fuera el nivel 1 de concentración debido a que se observaron resultados anómalos en todos los casos.

*Ecuación 10*

$$\rho_{X,Y} = \frac{\sigma_{XY}}{\sigma_X \sigma_Y} = \frac{E[(X - \mu_X)(Y - \mu_Y)]}{\sigma_X \sigma_Y},$$

Donde:

$\sigma_{XY}$  es la covarianza de (X, Y)

$\sigma_X$  es la desviación típica de la variable X

$\sigma_Y$  es la desviación típica de la variable Y

---

## 5. Resultados y Análisis

### 5.1 Evaluación de la pérdida de los compuestos por el proceso de reducción de disolventes orgánicos

Después de reducir y por comparación de los cromatogramas de cada reducción con el estándar de referencia (Figura 15), la pérdida de los nitro-HAP por evaporación del disolvente osciló entre 1.1 % para el 9-nitrofenantreno y 22.8 % para el 2-nitronaftaleno. La tabla XII muestra la pérdida porcentual. Las mayores pérdidas se observaron para los nitro-HAP más volátiles y las menores para los de menor presión de vapor.

**Tabla XII. Porcentaje de pérdida por el proceso de reducción de disolventes orgánicos**

Reducción	2-Nitronaftaleno	9-Nitrofenantreno	3-Nitrofenantreno	1-Nitropireno
Área E.R	<b>28305</b>	<b>8171</b>	<b>8512</b>	<b>4028</b>
Área 1ª. Red.	24452	8080	8254	3896
% pérdida	13.6	1.1	3.0	3.3
Área 3ª. Red.	23096	7711	7454	3797
% Pérdida	18.4	5.6	12.4	5.7
Área 6ª. Red.	21847	8857	8113	3629
% Pérdida	22.8	108.4	4.7	9.9
Área 9ª. Red	22222	9874	9112	3910
% Pérdida	21.5	120.8	107.0	2.9

E.R= Estándar de referencia

Por lo novedoso de la técnica y por su efectividad, se realizó la solicitud de patente ante el Instituto Mexicano de la Propiedad Industrial con número de expediente MX/a/2012/000791.

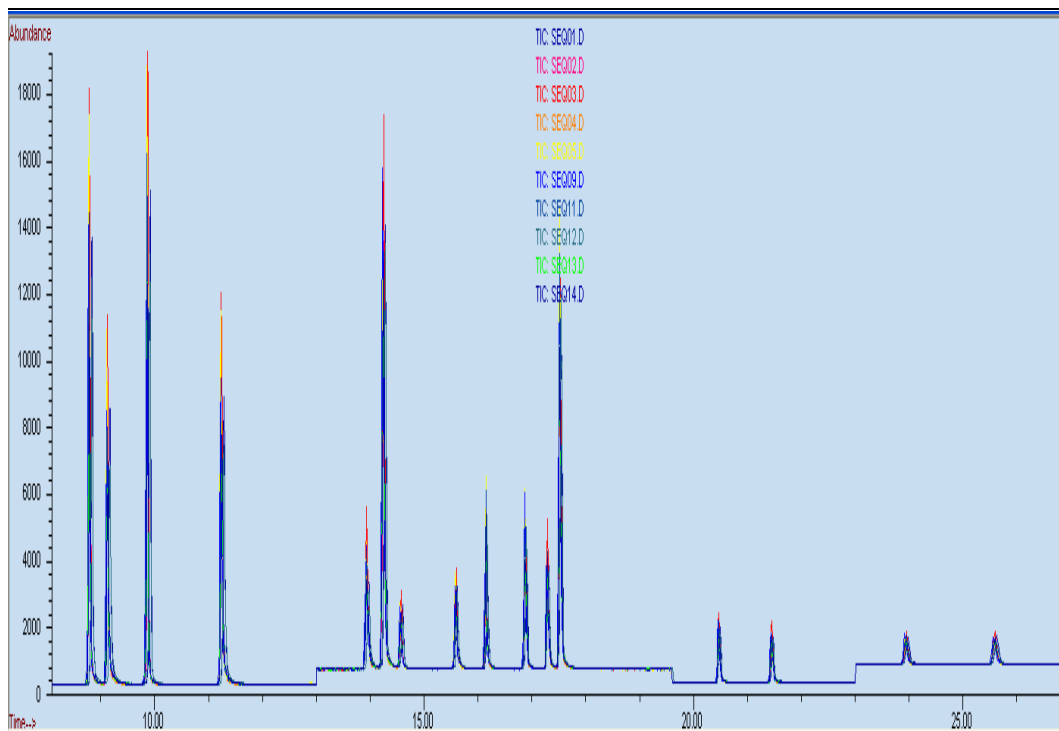


Figura 15. Cromatogramas de los 9 procesos de reducción y el estándar de referencia de 16 HAP. SEQ01 es el estándar de referencia sin reducción. SEQ02 a SEQ014 son las señales de cada una de las nueve reducciones con  $N_2$

## 5.2 Separación de las familias orgánicas

Las fracciones inyectadas al cromatógrafo muestran el proceso de separación que se logra conforme avanza la elución de las fracciones. Las siguientes figuras muestran los cromatogramas del proceso de separación para el tercer nivel de concentración. Primero se inyectó para cada nivel el estándar de referencia (Figura 16 y 17) seguido de las fracciones F0 (Figura 18), F1 (Figura 19), F2 (Figura 20 y 21), F3 (Figura 22) y F4 (Figura 23). Los números en las señales de las figuras corresponden a los asignados para cada compuesto en la tabla XI.



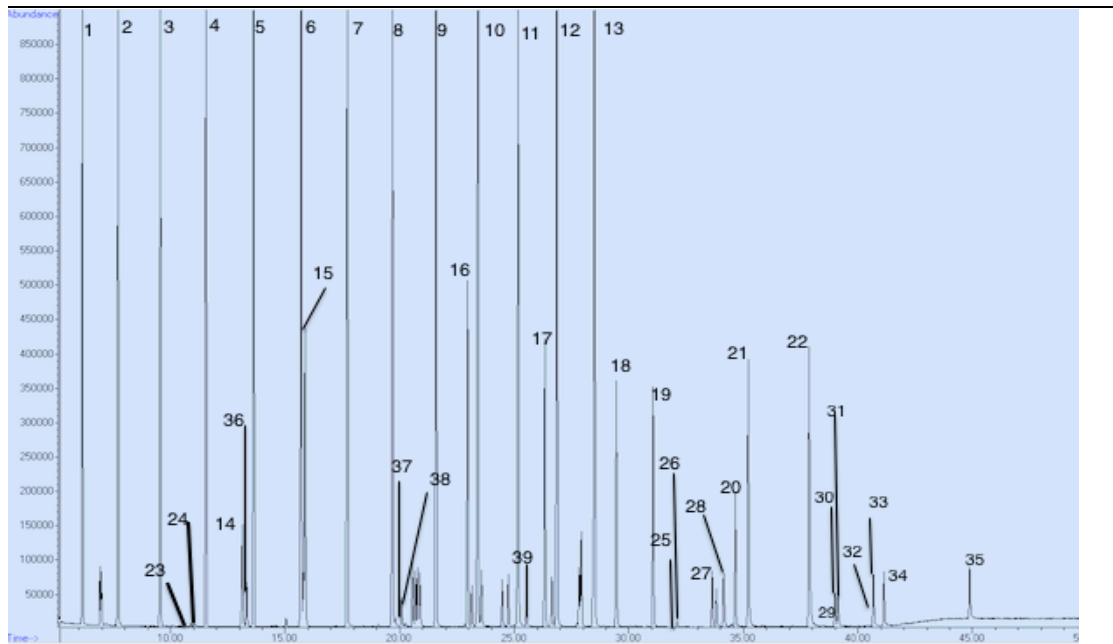


Figura 16. Cromatograma correspondiente al estándar de referencia para el tercer nivel de concentración

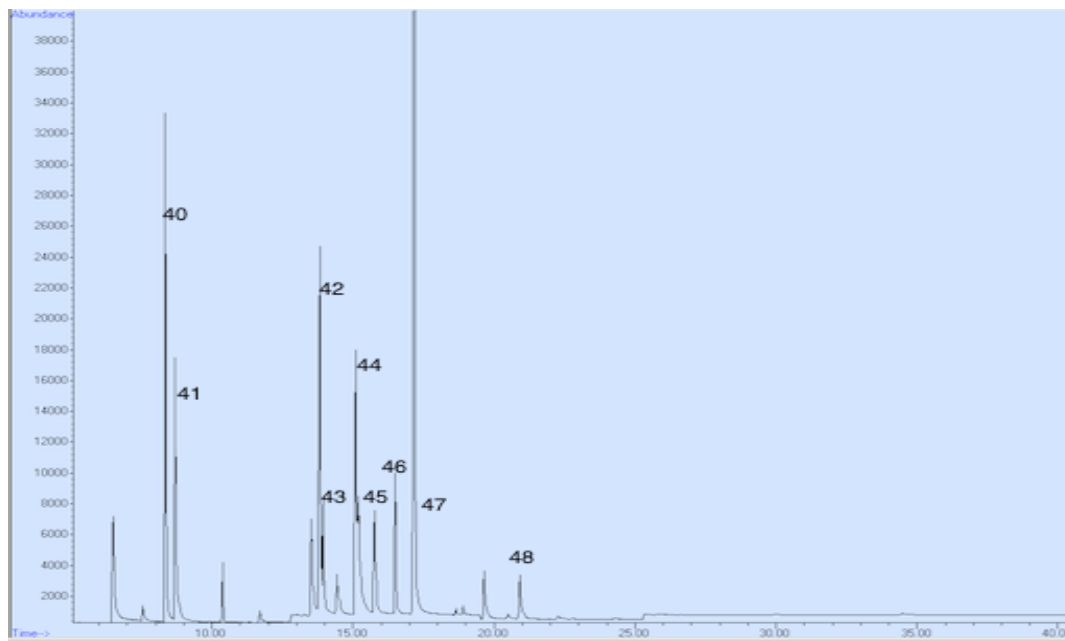


Figura 17. Cromatograma correspondiente al estándar de referencia para el tercer nivel de concentración en ionización química negativa

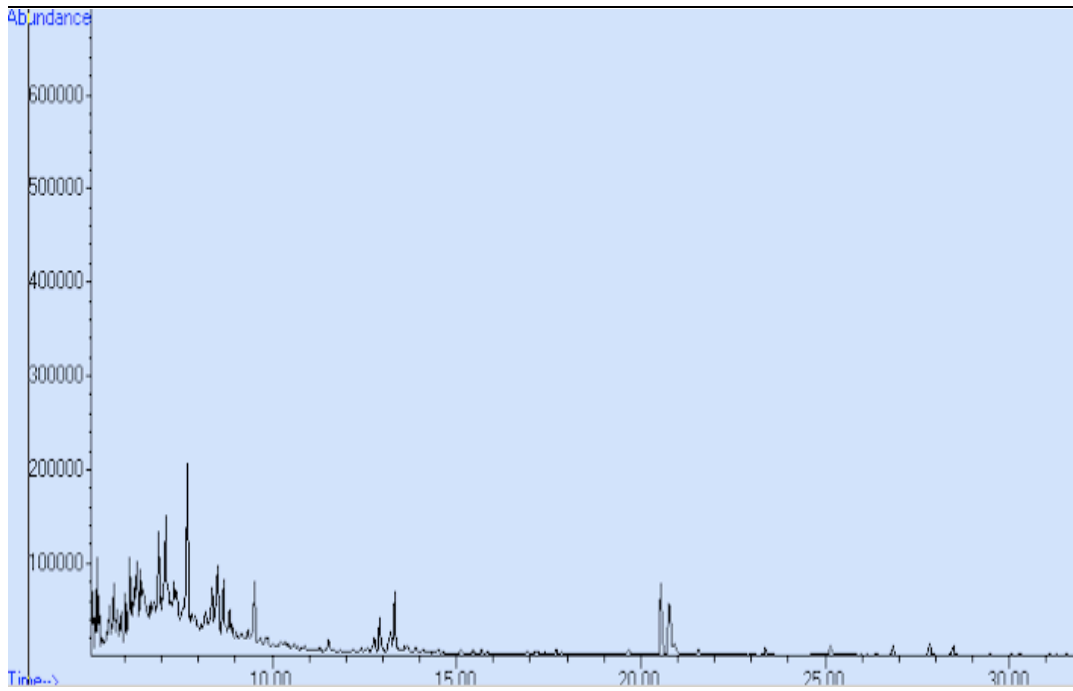


Figura 18. Cromatograma correspondiente a la fracción 0 (2 mL, hexano) para el tercer nivel de concentración

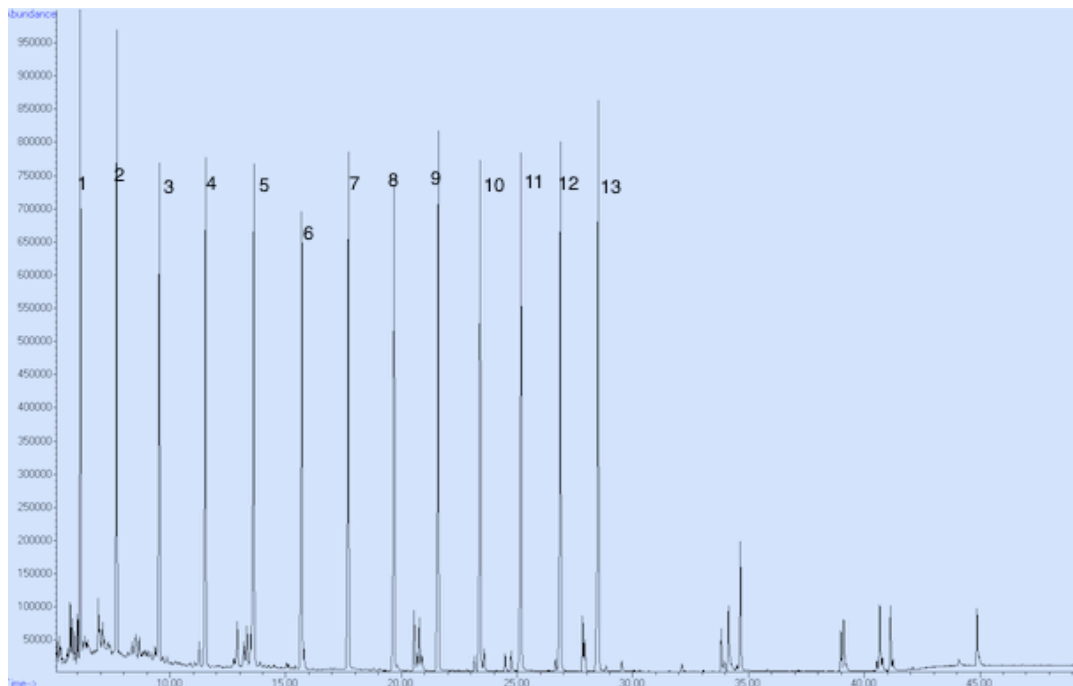


Figura 19. Cromatograma correspondiente a la fracción 1 (1 mL de hexano) para el tercer nivel de concentración

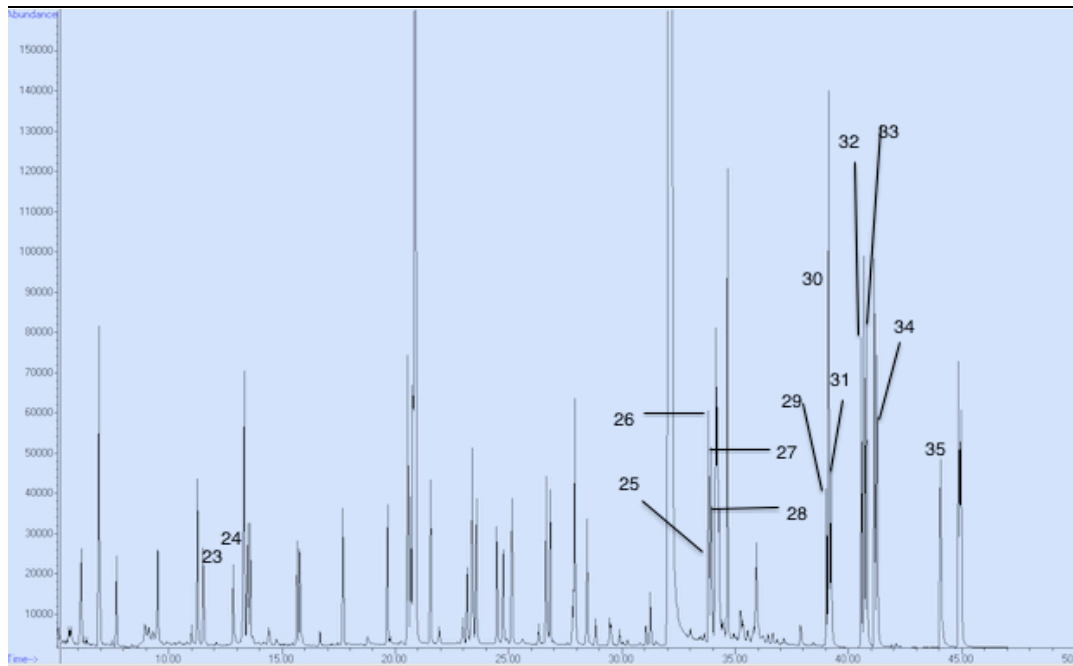


Figura 20. Cromatograma correspondiente a la fracción 2 (4 mL, hex:DCM 9:1) para el tercer nivel de concentración

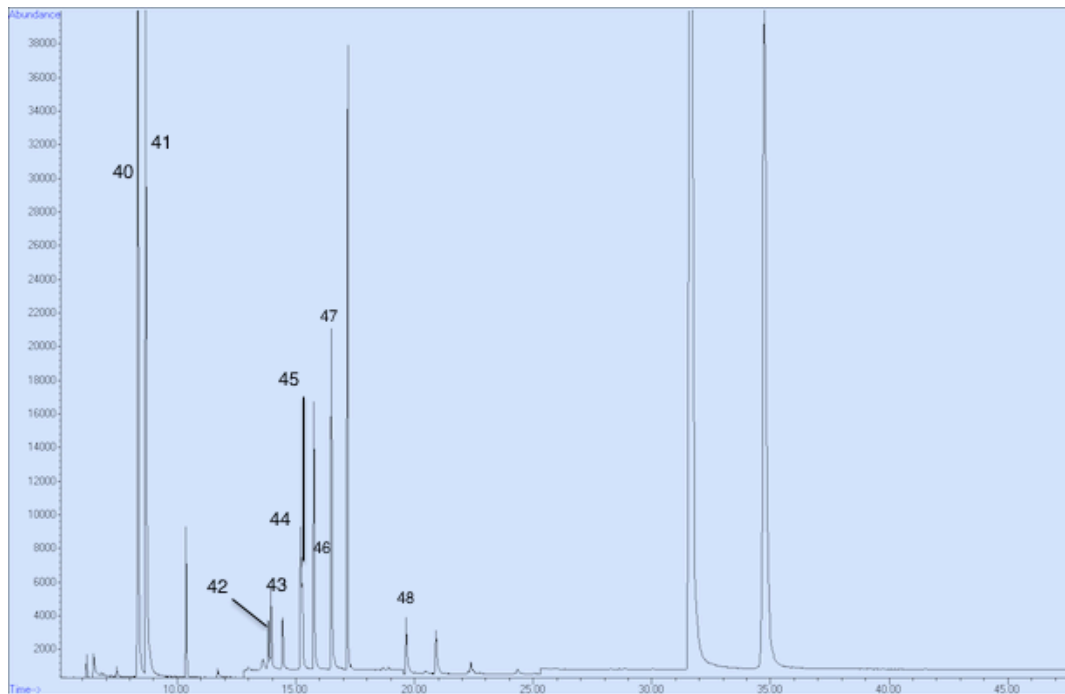


Figura 21. Cromatograma correspondiente a la fracción 2 (4 mL, hex:DCM 9:1) para el tercer nivel de concentración en ionización química negativa

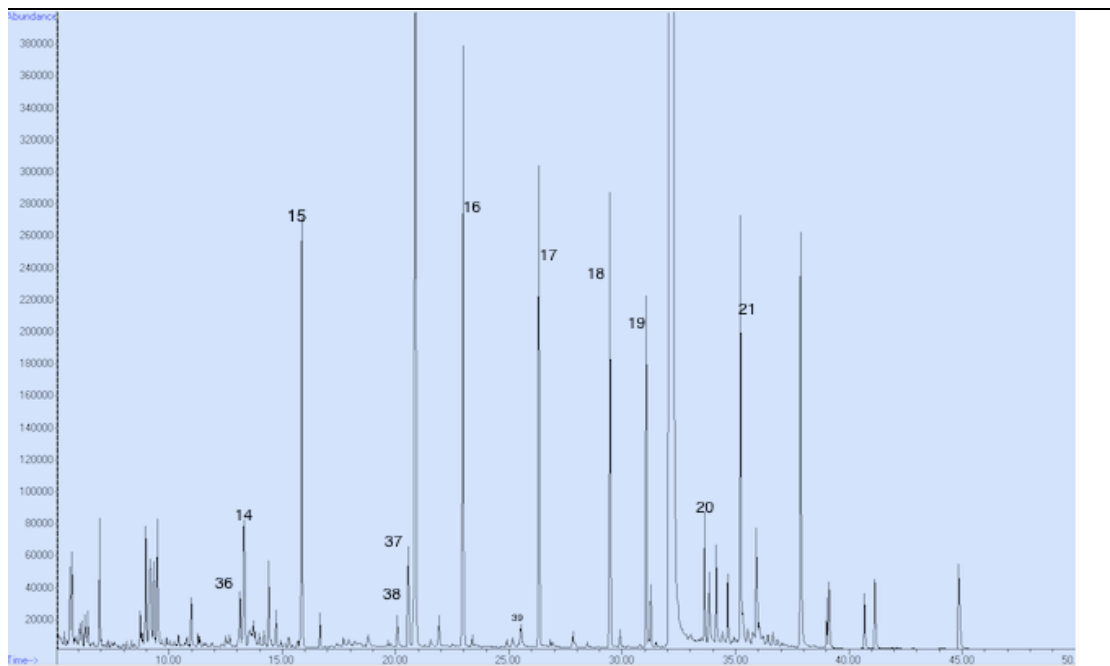


Figura 22. Cromatograma de la fracción 3 (20 mL, DCM) para el tercer nivel de concentración

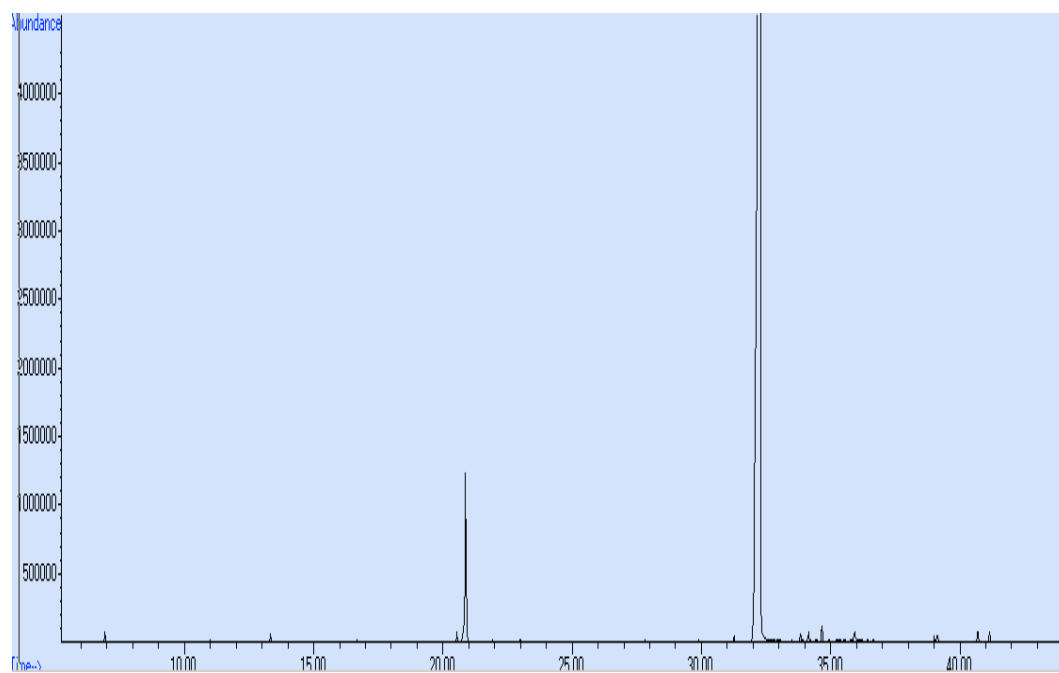


Figura 23. Cromatograma de la fracción 4 (20 mL, acetona) para el tercer nivel de concentración

Para definir la fracción y la cantidad en que eluye cada familia de compuestos se calculó el porcentaje de distribución.

### 5.2.1 Porcentajes de distribución

La distribución de las familias entre cada una de las fracciones fue función de la polaridad del eluyente. Las figuras 24 a 28 ilustran los porcentajes de distribución de las diferentes familias orgánicas en las cinco fracciones en cada uno de los niveles de concentración.

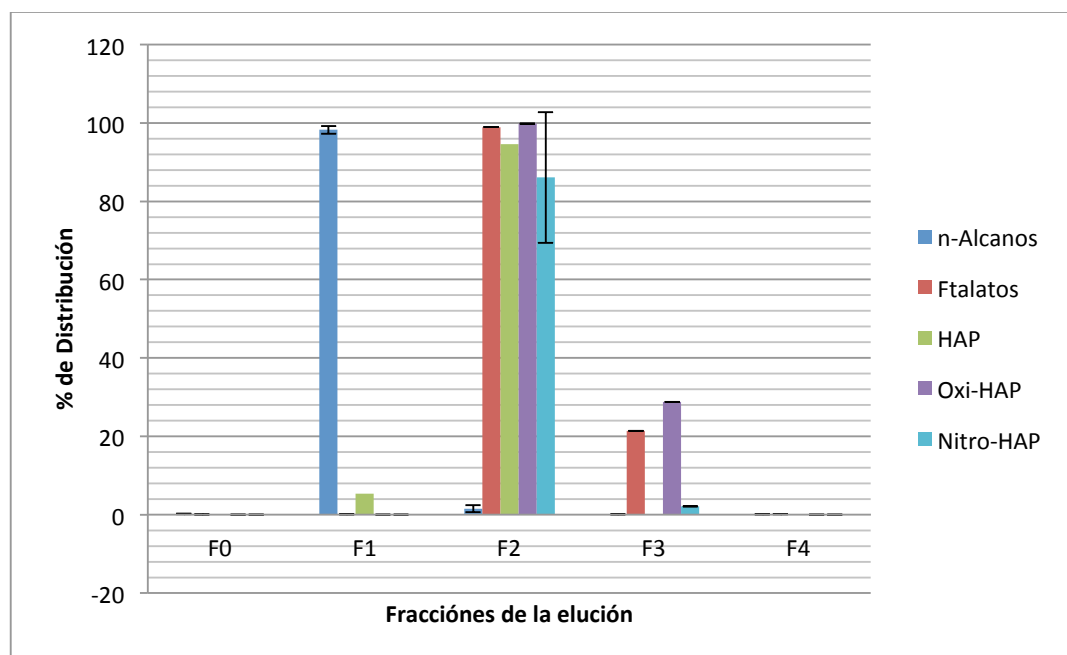


Figura 24. Porcentajes de distribución de las familias orgánicas en el nivel de concentración 1

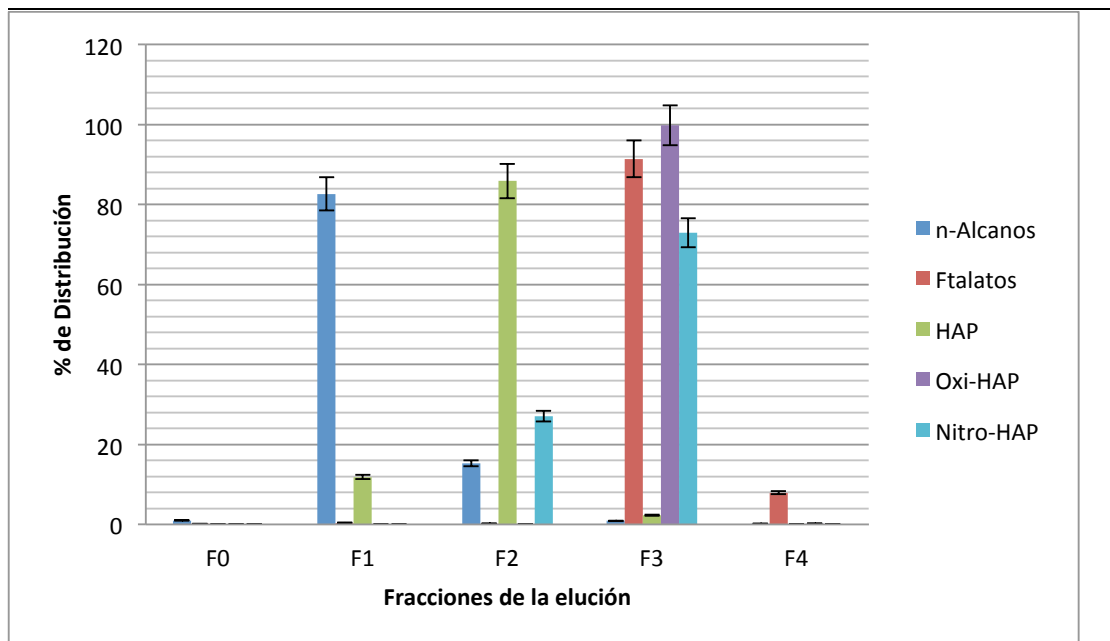


Figura 25. Porcentajes de distribución de las familias orgánicas en el nivel de concentración 2

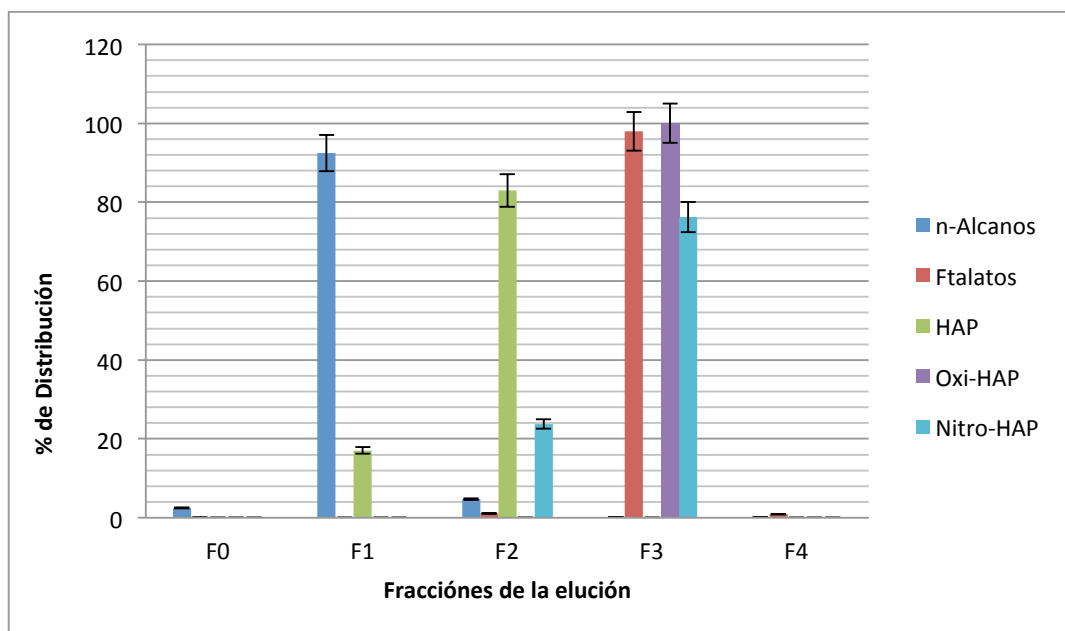


Figura 26. Porcentajes de distribución de las familias orgánicas en el nivel de concentración 3

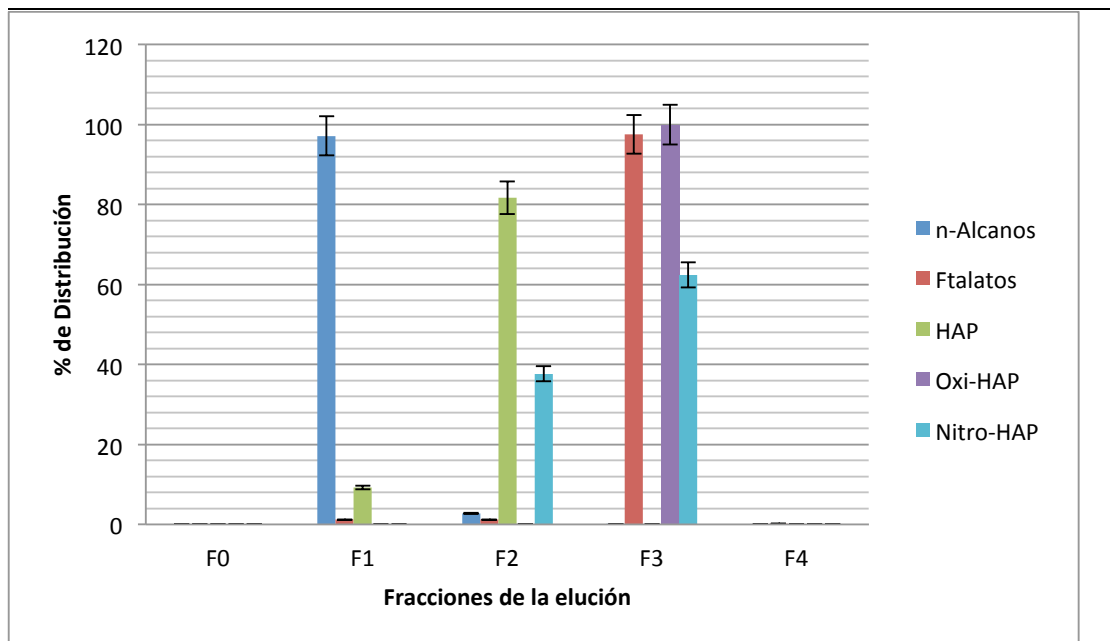


Figura 27. Porcentajes de distribución de las familias orgánicas en el nivel de concentración 4

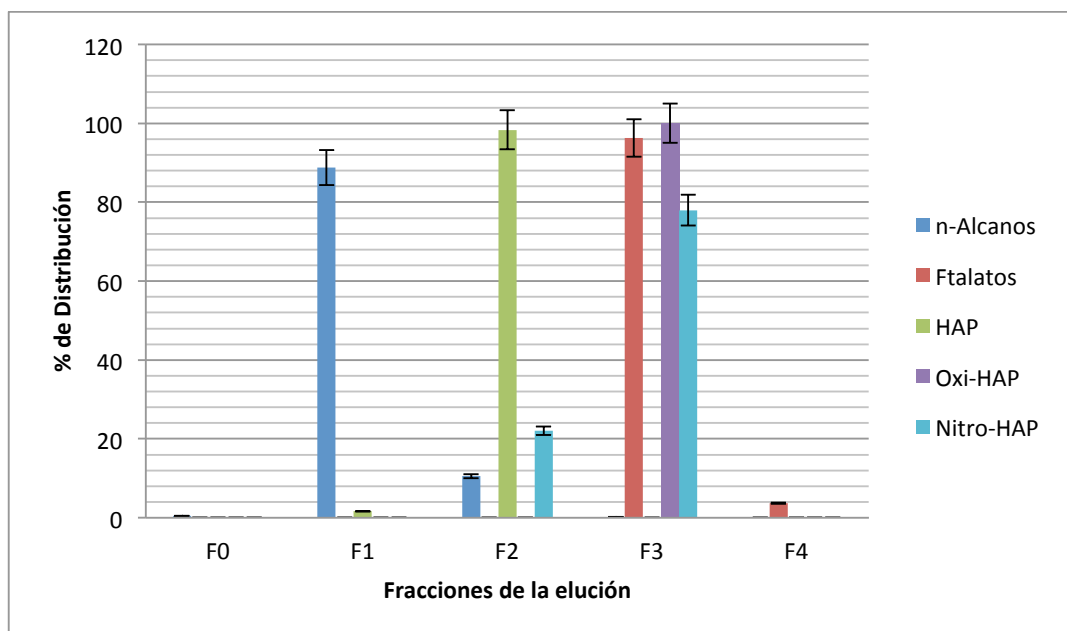


Figura 28. Porcentajes de distribución de las familias orgánicas en el nivel de concentración 5

---

El nivel de concentración más alto (nivel 1) presentó resultados anómalos, en los que se observa que la mayoría de las familias orgánicas coeluyen en la F2. Por otro lado en los niveles de concentración 2 a 5, la distribución fue reproducible. Los n-alcános eluyeron entre 82 y 97 % en la fracción 1. Los ftalatos eluyeron del 91 al 98 % en la fracción 3, mientras que los HAP del 81 al 98 % en la fracción 2, los oxi-HAP se encontraron totalmente en la fracción 3 de la elución y los nitro-HAP se distribuyeron en la fracción 3 del 62 al 78 %.

Los n-alcános que son los interferentes más importantes para la identificación y cuantificación del resto de los compuestos se encontraron aislados en la F1. Similarmente los HAP eluidos en la fracción 2 separados del resto favoreció la selectividad en su identificación y cuantificación. La fracción 3 eluyó a las 3 familias restantes: Ftalatos, oxi-HAP y nitro-HAP. El método de detección para estos últimos fue diferente al del resto, por lo cual no existió interferencia en su identificación y cuantificación. Los iones entre ftalatos y oxi-HAP fueron diferentes por lo que no se encontraron dificultades para identificar y cuantificar a ambas familias.

La distribución fue reproducible a lo largo de los niveles de concentración (excepto el nivel 1) lo que sugiere que es un método preciso para las familias analizadas. Sin embargo, la elución de aproximadamente el 13 % de n-alcános en la fracción 2 y aproximadamente el 10 % de HAP en la fracción 1, sugiere optimizar aun más el método de separación aumentando al menos 20 % la cantidad de fase estacionaria. En el Anexo I se presentan los detalles de los porcentajes de distribución en cada nivel para cada familia, así como los coeficientes de variación para los mismos. Para algunas de las familias, no se reportan coeficientes de variación debido a que se observó gran variabilidad entre las réplicas.



### 5.3 Porcentajes de recobro

El recobro es un parámetro que permite conocer la eficiencia de algún proceso. Una vez conocido, se toma en cuenta para corregir el valor determinado y conocer con mayor exactitud el real. Los recobros obtenidos con el presente método se muestran para cada compuesto en las familias orgánicas estudiadas. Por otra parte, en algunos casos se omitieron aquellas observaciones cuyas desviaciones estándar fueron muy grandes lo que provocó coeficientes de variación altos. En el anexo II se muestran los compuestos de cada familia con sus coeficientes de variación.

#### 5.3.1 n-Alcanos

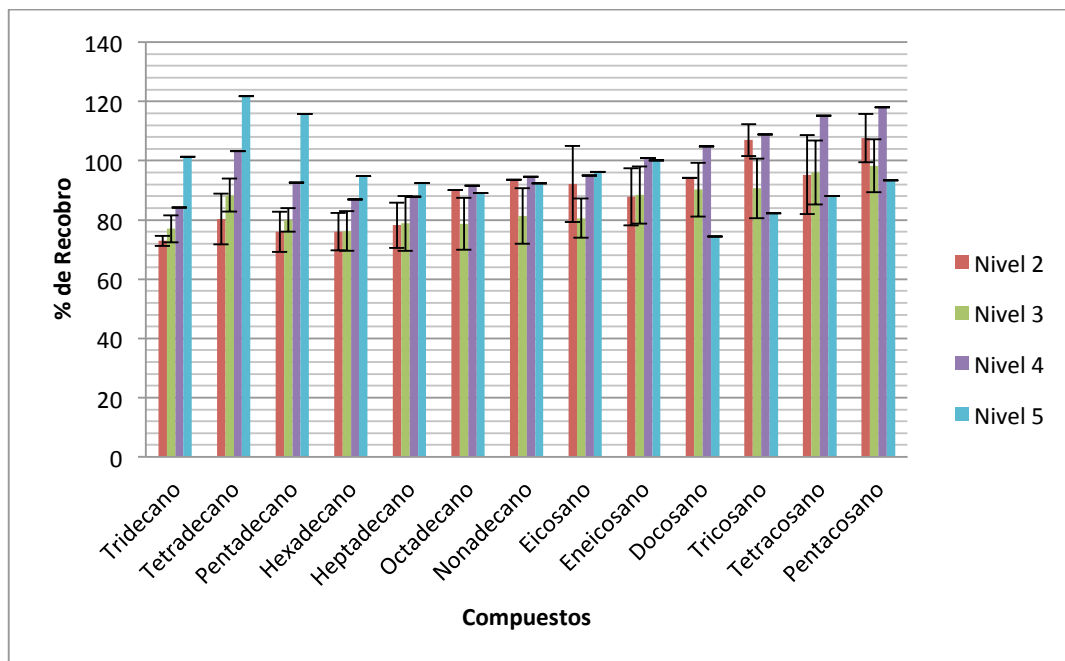


Figura 29. Porcentajes de recobro para n- alcanos en los 5 niveles de concentración

Para n-alcenos los niveles 2 a 5 presentaron recobros entre 73 y 98 % para todos los compuestos (Figura 29). El nivel de concentración más bajo (nivel 5) fue en el que se obtuvieron los más altos, se observa que existe reproducibilidad entre los niveles, con coeficientes de variación entre 2.4 y 14 % para el tridecano y el eicosano respectivamente. En el anexo II se muestra a detalle el porcentaje de recuperación para los compuesto que se calculó con su respectivo coeficiente de variación

### 5.3.2 Ftalatos

Para el caso de los ftalatos, el nivel 5 presentó los menores porcentajes de recobro entre 31 y 59 %. En los niveles 2, 3 y 4 los recobros oscilan entre 68 y 97 %. La variabilidad se encontró entre 1.4 para diciclohexil y 20.6 % para di-n-octil ftalato (Anexo II) (Figura 30).

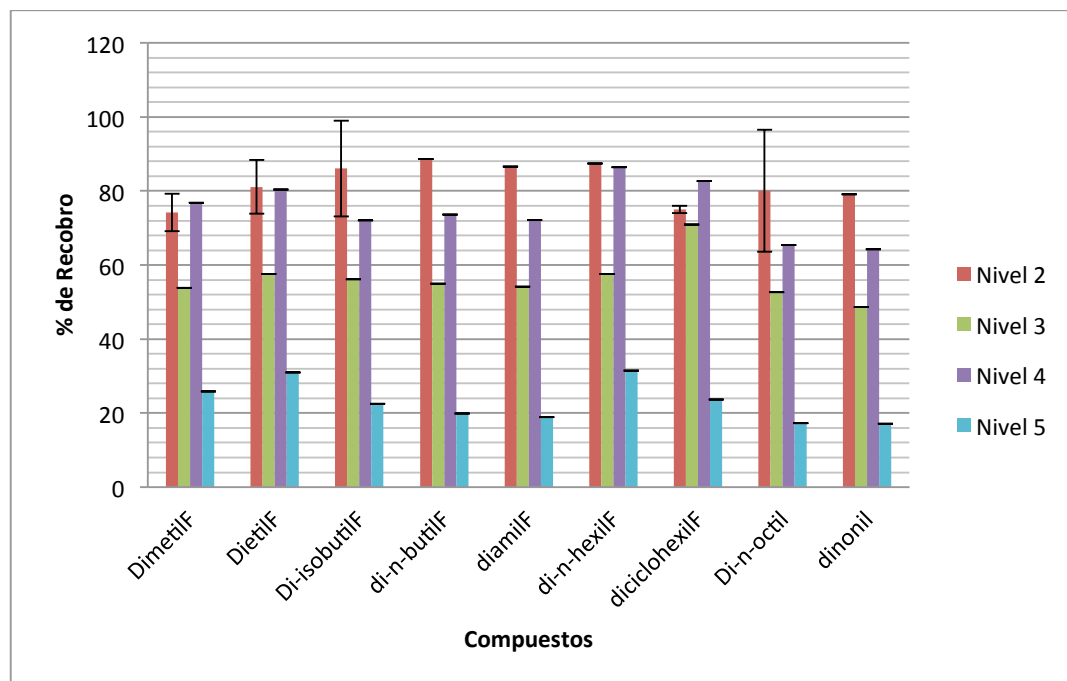


Figura 30. Porcentajes de recobro para ftalatos en los 5 niveles de concentración

### 5.3.3 HAP

A diferencia del resto de las familias orgánicas, los porcentajes de recobro en el nivel 1 para los HAP fueron los más altos, mientras que en el de menor concentración se obtuvieron los porcentajes de recobro más bajos (Figura 31). Los porcentajes de recobro oscilaron entre 50 y 98 % con coeficientes de variación entre 2.4 y 16 % para indeno[1,2,3-cd]-pireno y trifenileno respectivamente . Los mayores recobros se observaron para los HAP de peso molecular mayor a 228 g mol<sup>-1</sup>. Los coeficientes de variación y los recobros para cada compuesto que se calculó se muestran en el Anexo

II

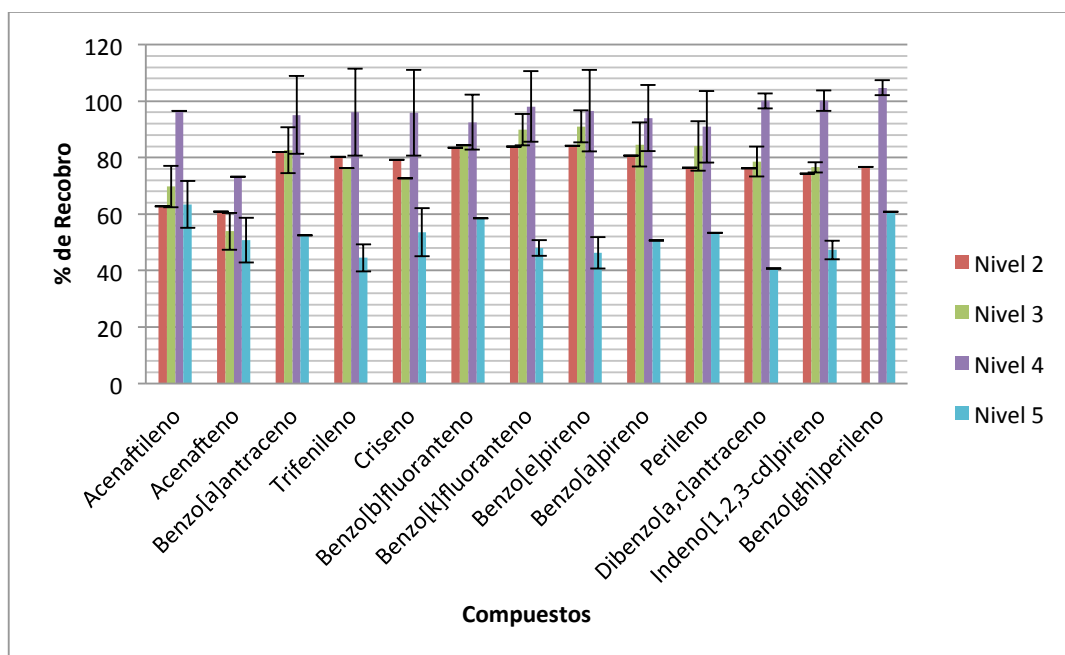


Figura 31. Porcentajes de recobro para HAP en los 5 niveles de concentración

### 5.3.4 Oxi-HAP

Para los oxi-HAP se obtuvieron porcentajes de recobro entre 54 y 89 % (Figura 32) con coeficientes de variación entre 4 y 13 % para fenantrenoquinona y antraquinona respectivamente (Anexo II). Para el caso específico de la fenantrenoquinona en los niveles 3 y 5 no se logró su identificación y por lo tanto su cuantificación. El método de separación fue ineficiente para estos compuestos, la recuperación fue la menor comparada con las demás familias orgánicas analizadas. Al usar la mezcla de "sorbentes" aumentamos la polaridad de la fase, lo que significó mayor interacción entre el "sorbente" y los oxi-HAP, una de las familias analizadas con mayor polaridad (junto con los nitro-HAP), provocando mayor retención de los compuestos en la columna con la consecuente disminución de los porcentajes de recobro.

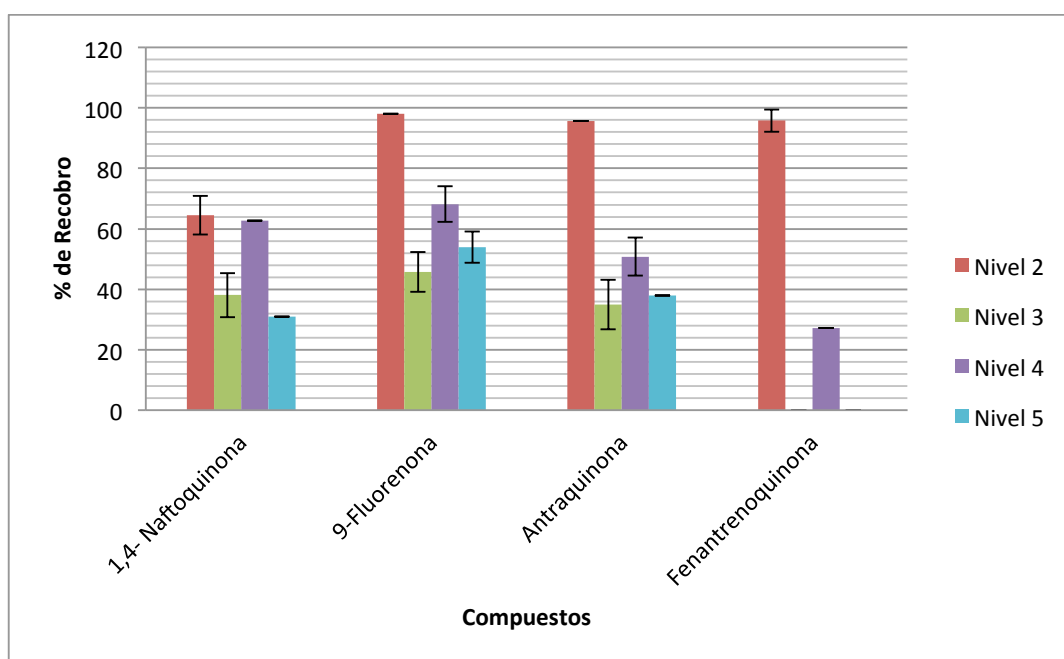


Figura 32. Porcentajes de recobro para oxi-HAP en los 5 niveles de concentración

De la misma forma que en el caso de los ftalatos, la variabilidad en el nivel 5 para oxi-HAP fue alta (coeficientes de variación de más del 100 %) por lo que se omitieron estos resultados en el gráfico 30.

### 5.3.5 Nitro-HAP

Los niveles 2, 3, y 4 para los nitro-HAP de menor peso molecular presentaron recobros superiores al 40 %. Conforme aumenta el peso molecular de los compuestos analizados, los porcentajes de recuperación disminuyeron; los niveles 1 y 5 muestran recobros menores al 15 % (Figura 33). Los coeficientes de variación y porcentajes de recobro para cada compuesto se muestran a detalle en el Anexo II. Al igual que para los oxi-HAP el presente método no fue adecuado para los nitro-HAP, al ser de las familias más polares, la retención en la columna es mayor, provocando disminución en los porcentajes de recobro.

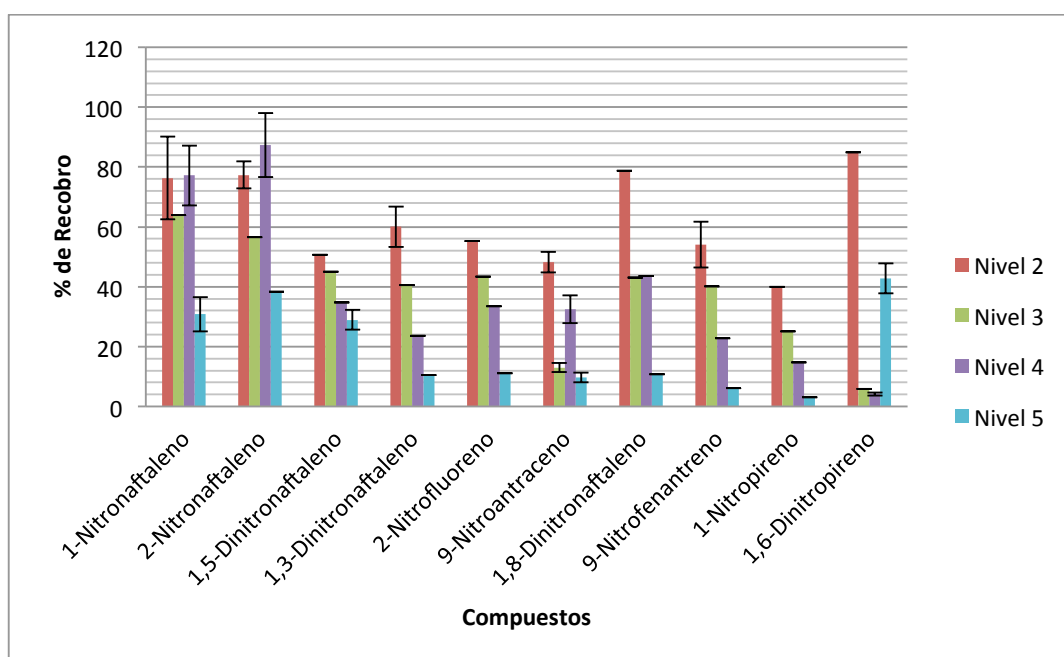


Figura 33. Porcentajes de recobro para nitro-HAP en los 5 niveles de concentración

---

#### 5.4 Linealidad del método

Se evaluó la linealidad del método con los coeficientes de correlación de Pearson y los de regresión, obtenidos con el análisis de varianza. A continuación se muestran los resultados para cada familia de compuestos.

##### 5.4.1 n-Alcanos

Para los alcanos, el análisis de los modelos de regresión lineal simple mostró que no existe dependencia lineal entre el porcentaje de recobro y la concentración del analito, excepto para el tridecano (Tabla XIII). Este compuesto, tuvo un comportamiento anómalo al resto de los n-alcanos, probablemente por la coelución con algún interferente.

**Tabla XIII. Resultados del ANOVA para los n-alcanos que presentaron correlación lineal**

Compuesto	r	r <sup>2</sup>	m	p-value	b	p-value	Ec. de la recta *	F
Tridecano	-0.721	0.525	-0.471	0.042	113.25	<0.001	Y=-0.471X+113.25	0.042

m= pendiente, b=intercepto, F= F de fisher

Para el resto de los n-alcanos (Tabla XIV) no se encontró dependencia de la recuperación con la concentración. Por lo tanto los porcentajes de recobro en el intervalo estudiado, fueron iguales al promedio de cada compuesto (Tabla XV).

**Tabla XIV. Resultados del ANOVA para los n-alcános que no presentaron correlaci3n lineal**

Compuesto	Pendiente	p-value	Intercepto	p-value
Tetradecano	-0.685	0.340	94.35	0.001
Pentadecano	-1.694	0.055	105.66	<0.001
Hexadecano	-0.854	0.113	90.59	<0.001
Heptadecano	-0.681	0.185	89.99	<0.001
Octadecano	-0.071	0.919	86.27	<0.001
Nonadecano	-0.054	0.941	89.09	<0.001
Eicosano	-0.097	0.885	90.50	<0.001
Eneicosano	-0.693	0.219	99.95	<0.001
Docosano	0.510	0.630	85.96	0.004
Tricosano	0.900	0.262	87.64	<0.001
Tetracosano	-0.209	0.803	100	<0.001
Pentacosano	0.320	0.662	100.23	<0.001

**Tabla XV. Valores promedio de recuperaci3n para los alcános**

Compuestos	Promedio (%)	DE( %)	CV (%)
Tetradecano	98.4	18.2	18.5
Pentadecano	91.1	17.9	19.7
Hexadecano	83.5	9.1	10.9
Heptadecano	84.3	7.0	8.3
Octadecano	87.3	5.9	6.7
Nonadecano	90.4	6.1	6.8
Eicosano	91.0	7.1	7.8
Eneicosano	94.3	7.2	7.6
Docosano	90.9	12.6	13.9
Tricosano	97.2	12.9	13.2
Tetracosano	98.7	11.6	11.8
Pentacosano	104.3	10.9	10.4

DE= Desviaci3n estandar, CV= Coeficiente de variaci3n

#### 5.4.2 Ftalatos

En ningún caso se encontró relación lineal entre la concentración y el porcentaje de recobro. En todos los casos los coeficientes de correlación fueron estadísticamente no significativos (Tabla XVI). Como consecuencia los promedios de recuperación para los ftalatos se encontraron entre el  $62.5 \pm 21.7$  para di-n-octil y  $73.5 \pm 13.1$  % para di-n-hexil (Tabla XVII).

**Tabla XVI. Resultados del ANOVA para ftalatos, en ningún caso se observa correlación lineal**

Compuesto	Pendiente	p-value	Intercepto	p-value
Dimetil	0.517	0.451	64.94	0.001
Dietil	0.617	0.366	69.79	<0.001
Di-isobutil	1.684	0.094	54.46	0.004
Di-n-butil	1.354	0.356	55.41	0.024
Diamil	1.491	0.451	52.34	0.105
Di-n-hexil	0.216	0.852	74.26	0.007
Diciclohexil	0.603	0.626	69.08	0.008
Di-n-octil	1.809	0.107	47.19	0.012
Dinonil	2.615	0.063	41.51	0.022

**Tabla XVII. Valores promedio de recuperación para los ftalatos**

Compuestos	Promedio (%)	DE( %)	CV (%)
Dimetil	67.7	11.3	16.6
Dietil	73.9	10.3	13.9
Di-isobutil	68.3	19.1	27.9
Di-n-butil	65.1	19.3	29.7
Diamil	66.1	21.4	32.4
Di-n-Hexil	73.5	13.1	17.8
Diciclohexil	73.5	22.7	30.9
Di-n-octil	62.5	21.7	34.7
Dinonil	63.3	24.6	38.8

DE= Desviación estándar, CV= Coeficiente de variación



### 5.4.3 HAP

El análisis de regresión para esta familia también mostró que no existe relación lineal entre la concentración y el porcentaje de recobro (Tabla XVIII). Por lo que al utilizar éste método de purificación los porcentajes de recuperación para HAP estarán en el intervalo de  $70.9 \pm 6.45$  para acenaftileno a  $90.7 \pm 16.84$  % para benzo[ghi]perileno (Tabla XIX).

**Tabla XVIII. Resultados del ANOVA para los HAP**

Compuesto	Pendient e	p-value	Intercepto	p-value
Acenaftileno	15.432	0.236	73.37	0.003
Acenafteno	27.220	0.153	59.19	0.016
Benzo[a]antraceno	23.101	0.151	65.14	0.006
Trifenileno	18.101	0.104	75.77	0.002
Criseno	28.443	0.078	61.25	0.004
Benzo[b]fluoranteno	30.045	0.069	59.47	0.005
Benzo[k]fluoranteno	18.129	0.174	70.82	0.003
Benzo[e]pireno	15.488	0.183	71.81	0.002
Benzo[a]pireno	18.107	0.275	70.16	0.009
Perileno	22.256	0.171	61.65	0.006
Dibenzo[a,c]antraceno	8.446	0.478	85.15	0.001
Indeno [1,2,3- cd]pireno	4.686	0.751	70.28	0.004
Benzo[ghi]perileno	0.220	0.986	82.16	0.001

**Tabla XIX. Valores promedio de recuperación para los HAP**

Compuestos	Promedio (%)	DE (%)	CV (%)
Acenaftileno	70.9	6.5	9.1
Acenafteno	65.0	16.5	25.4
Benzo[a]antraceno	85.7	19.4	22.7
Trifenileno	83.6	26.8	32.1
Criseno	85.7	22.4	26.1
Benzo[b]fluoranteno	90.6	17.6	19.4
Benzo[k]fluoranteno	86.6	27.1	31.3
Benzo[e]pireno	86.2	27.9	32.4
Benzo[a]pireno	85.2	21.5	25.2
Perileno	84.1	18.0	21.4
Dibenzo[a,c]antraceno	84.1	26.1	31.0
Indeno[1,2,3-cd]pireno	81.9	26.0	31.7
Benzo[ghi]perileno	90.7	16.8	18.6

DE= Desviación estándar, CV= Coeficiente de variación

#### 5.4.4 Oxi-HAP

Para ésta familia, se consideraron únicamente 3 compuestos para el análisis de regresión, ya que en algunos niveles de concentración no se logró la cuantificación de la fenantrenoquinona. Se observó que no existe dependencia lineal entre la concentración y los porcentajes de recobro (Tabla XX). Por lo que al aplicar el método, los porcentajes de recuperación fueron considerados como el promedio de cada compuesto, mismo que se encontró por arriba del 60 % (Tabla XXI).

---

**Tabla XX. Resultados del ANOVA para los oxi-HAP**

Compuesto	Pendiente	p-value	Intercepto	p-value
1,4-Naftoquinona	-0.136	0.975	63.75	0.001
9-Fluorenona	0.948	0.844	64.39	<0.001
Antraquinona	13.323	0.168	57.53	0.015

**Tabla XXI. Valores promedio de recuperación para los oxi-HAP**

Compuestos	Promedio (%)	DE( %)	CV (%)
1,4 Naftoquinona	63.4	5.9	9.3
9-Fluorenona	69.9	14.6	20.9
Antraquinona	68.7	14.5	21.1

DE= Desviación estándar, CV= Coeficiente de variación

#### 5.4.5 Nitro-HAP

Para el 1-nitropireno se evidenció una relación lineal entre la concentración y el porcentaje de recobro, derivado de la significancia estadística calculado a partir de la prueba ANOVA correspondiente (Tabla XXII). Para el resto de nitro-HAP no se encontró dependencia en el intervalo de concentración probado (Tabla XXIII), los porcentajes de recobro se encontraron entre 25 y 77 % para 9 - nitroantraceno y 2-nitronaftaleno respectivamente (Tabla XXIV).

**Tabla XXII. Resultados del ANOVA para los nitro-HAP que presentaron relación lineal del recobro en función de la concentración**

Compuesto	r	r <sup>2</sup>	m	p-value	b	p-value	Ec. de la recta	F
1-Nitropireno	0.979	0.953	243.97	0.023	6.46	0.276	Y=243.97x+6.46	41.103

m= pendiente, b=intercepto, F= F de fisher

**Tabla XXIII. Resultados del ANOVA para los nitro-HAP que no presentaron relación lineal del recobro en función de la concentración**

Compuesto	Pendiente	p-value	Intercepto	p-value
1-Nitronaftaleno	176.76	0.148	48.34	0.102
2-Nitronaftaleno	-3.066	0.959	79.34	<0.001
1,5-Dinitronaftaleno	150.62	0.153	35.30	0.022
1,3-Dinitronaftaleno	239.10	0.055	16.05	0.229
2-Nitrofluoreno	248.98	0.131	22.16	0.193
9-Nitroantraceno	155.23	0.080	12.57	0.208
1,8-Dinitronaftaleno	207.43	0.163	28.41	0.123
9-Nitrofenantreno	204.29	0.080	17.68	0.197
1,6-Dinitropireno	238.97	0.323	7.54	0.746

---

**Tabla XXIV. Valores promedio de recuperación para los nitro-HAP**

Compuestos	Promedio (%)	DE( %)	CV (%)
1-Nitronaftaleno	65.9	23.4	35.6
2-Nitronaftaleno	77.4	8.3	10.7
1,5-Dinitronaftaleno	50.8	14.8	29.2
1,3-Dinitronaftaleno	38.5	24.8	64.4
2-Nitrofluoreno	44.6	23.5	52.7
9-Nitroantraceno	25.8	18.0	69.6
1,8-Dinitronaftaleno	47.1	20.4	43.2
9-Nitrofenantreno	37.2	22.5	60.5
1,6-Dinitropireno	32.0	32.3	100.9

DE= Desviación estándar, CV= Coeficiente de variación

### 5.5. Análisis de muestras reales.

Para el análisis de éstas muestras se siguió el mismo procedimiento en el fraccionamiento que en los ensayos hechos con disoluciones estándar, debido a que no se contaba con un estándar de referencia se realizó únicamente un análisis cualitativo, por lo que se reportan únicamente los porcentajes de distribución de las familias orgánicas encontradas.

#### 5.5.1 Combustión de diesel.

Para la MOE del motor a diesel, a la cual se le llamó M7, se encontraron alcanos, HAP, oxi-HAP y nitro-HAP. En la Tabla XXV se muestran cuales fueron los compuestos orgánicos encontrados de cada familia.

**Tabla XXV. Compuestos encontrados en la muestra M7, por familias orgánicas**

<b>Alcanos</b>	<b>HAP</b>	<b>Oxi-HAP</b>	<b>Nitro-HAP</b>
Heptadecano	Acenaftileno	Antraquinona	1-Nitronaftaleno
Octadecano	Acenafteno		2-Nitronaftaleno
Nonadecano	Benzo[a]antraceno		2-Nitrofluoreno
Eicosano	Perileno		9-Nitroantraceno
Eneicosano	Indeno[1,2,3-cd]pireno		1,8-Dinitronaftaleno
Docosano			
Tricosano			
Tetracosano			
Pentacosano			

La distribución observada para esta muestra (Tabla XXVI), excepto para los nitro-HAP que eluyen en este caso en la F2, fue la misma que la observada en los fraccionamientos con estándares. Este hecho confirma la repetibilidad del método aún en una matriz diferente a la simulada en el presente estudio. La Figura 34 muestra la distribución de los orgánicos encontrados en ésta muestra.

**Tabla XXVI. Distribución de los compuestos entre las fracciones de la elución**

	<b>% de Distribución muestra M7</b>				
	<b>F0</b>	<b>F1</b>	<b>F2</b>	<b>F3</b>	<b>F4</b>
<b>Alcanos</b>	0.0	99.4	0.6	0.0	0.0
<b>HAP</b>	0.0	4.9	95.0	0.0	0.0
<b>Oxi-HAP</b>	0.0	0.0	0.0	100	0.0
<b>Nitro-HAP</b>	0.0	0.0	100	0.0	0.0

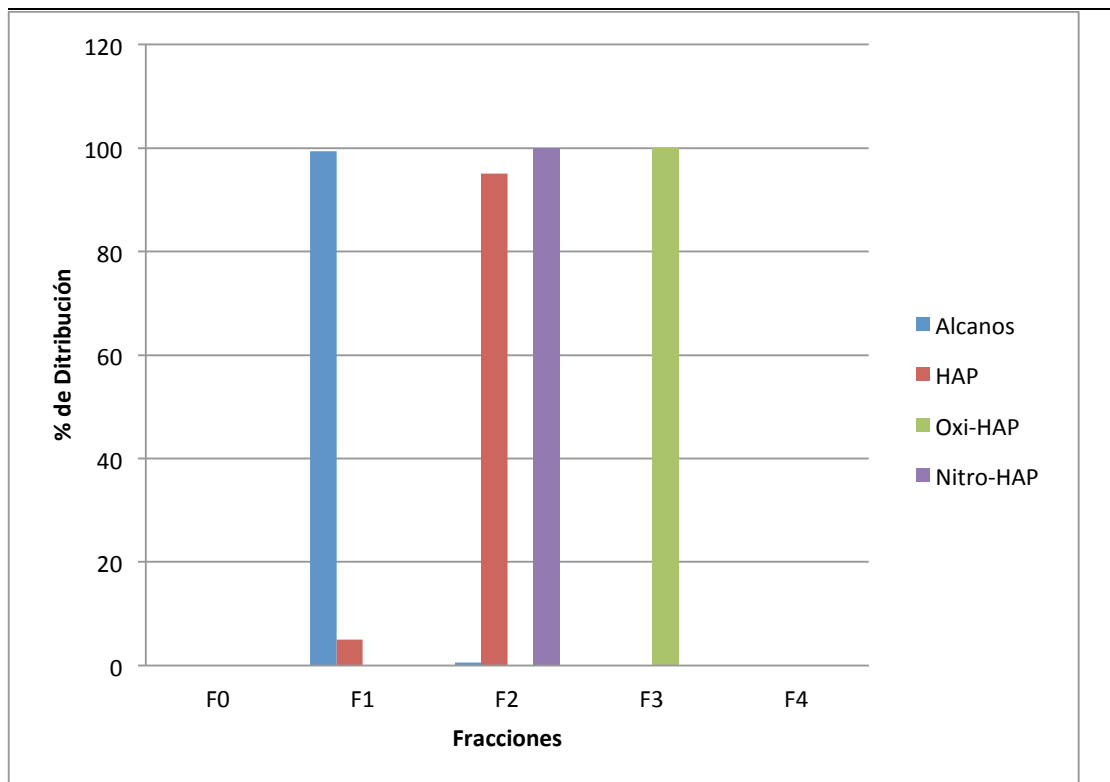


Figura 34. Distribución de los orgánicos entre las fracciones para la muestra M7 de diesel.

---

### 5.5.2 Combustión de biodiesel

Para ésta muestra, a la cual se le denominó FT, se encontraron alcanos y HAP. En la Tabla XXVII se detallan cuáles compuestos fueron los encontrados.

**Tabla XXVII. Compuestos encontrados en la muestra FT, por familias orgánicas**

<b>Alcanos</b>	<b>HAP</b>
Pentadecano	Acenafteno
Hexadecano	Perileno
Heptadecano	
Eicosano	
Eneicosano	
Docosano	
Tricosano	
Tetracosano	
Pentacosano	

---

La distribución de las familias entre las fracciones (Tabla XXVIII) es la misma que en el caso de los estándares fraccionados, asegurando la efectividad del método para separar familias orgánicas. La figura 35 muestra la distribución de los orgánicos en ésta muestra.

<b>% de Distribución muestra FT</b>					
	<b>F0</b>	<b>F1</b>	<b>F2</b>	<b>F3</b>	<b>F4</b>
<b>Alcanos</b>	0.00	98.9	1.0	0.0	0.0
<b>HAP</b>	0.00	35.9	64.0	0.0	0.0

---

**Tabla XXVIII. Distribución de los compuestos entre las fracciones de la elución**



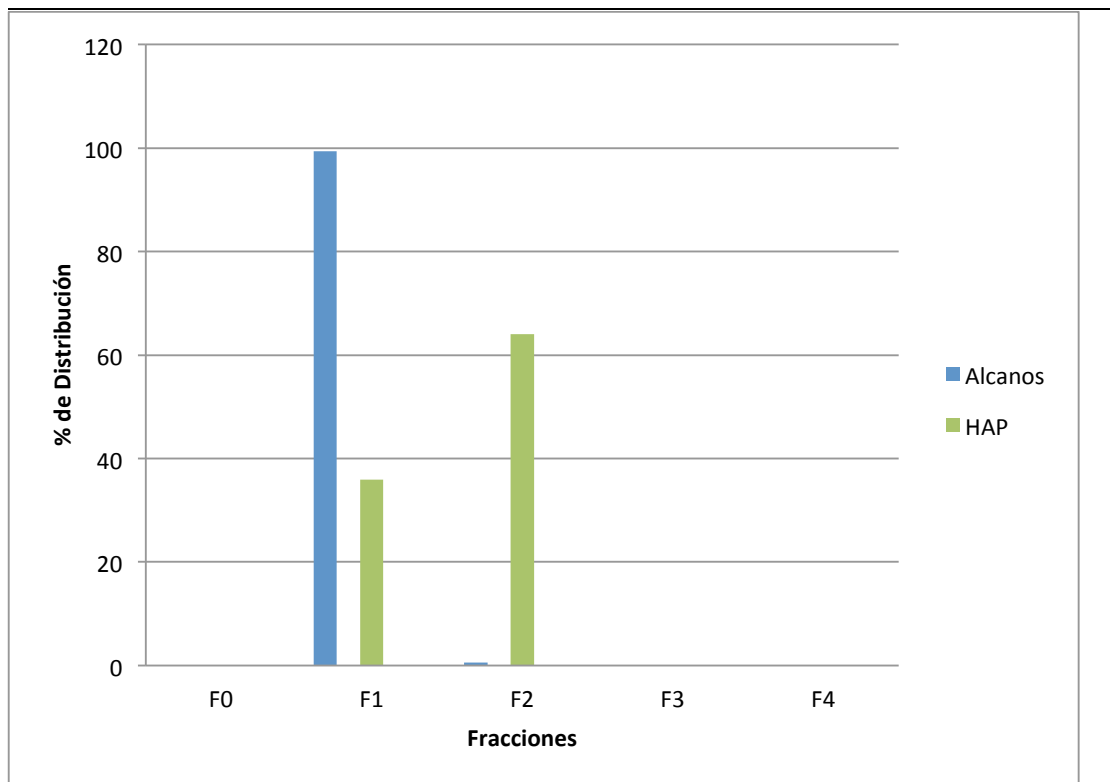


Figura 35. Distribución de los orgánicos entre las fracciones para la muestra de biodiesel.

---

## 6 Conclusiones

La extracción en fase sólida es una buena alternativa para la simplificación de una matriz compleja, previo al análisis instrumental.

Se logró la separación de 5 familias orgánicas entre las fracciones de la elución, facilitando así su identificación y cuantificación.

Se estableció que al emplear 2 g del “sorbente” ciano se logran mejores resultados para el fraccionamiento, tanto en los porcentajes de distribución como en los de recobro.

Se establecieron los volúmenes de elución en: FO= 2 mL de hexano, F1= 1 mL de hexano, F2= 4 mL de una mezcla 9:1 hexano:cloruro de metileno, F3 = 20 mL de cloruro de metileno, F4= 20 mL de acetona.

La distribución de las familias mostró ser reproducible en 4 de los 5 niveles de concentración probados.

Los porcentajes de recuperación, varían entre las familias de compuestos, siendo los alcanos los que presentan los valores más altos (arriba del 70 %) y los nitro-HAP y oxi-HAP los valores más bajos (entre el 25 y 70 %).

La variabilidad alta entre los porcentajes de recobro sugiere que es necesaria la automatización del método para mejorar la precisión.

Se encontró que 2 de los 48 compuestos estudiados (tridecano y 1-nitropireno) mostraron dependencia de los porcentajes de recobro con la concentración.

El método se aplicó a 2 muestras reales (Diesel y Biodiesel) en las que se identificaron 9 alcanos, 5 HAP, 1 oxi-HAP y 5 nitro-HAP. Bien resueltos en la muestra de diesel y menos resueltos en la de biodiesel, por lo que se deben realizar más experimentos para optimizar la separación de los analitos de ésta matriz.

Con el uso del método para la limpieza de muestras previa a su análisis se facilita la identificación y cuantificación, ofreciendo la posibilidad de analizar únicamente la fracción que contiene a los analitos de interés.

---

## **7 Recomendaciones**

El fraccionamiento de muestras por EFS es un método lento (alrededor de 2 h por fraccionamiento) por lo que la automatización del mismo minimizaría ésta desventaja, al permitir realizar fraccionamientos simultáneos.

Es necesario el control de algunas variables, el fraccionamiento se realizó por gravedad, lo que implica variación entre los ensayos. Se sugiere la implementación de algún dispositivo que permita un flujo constante para el fraccionamiento, minimizando la variación del mismo entre los ensayos.

Se sugiere realizar pruebas con concentraciones superiores e inferiores a las empleadas en el presente estudio, así como revisar su aplicación en partículas atmosféricas.

---

## 8 Referencias

Abas M.R.B. y Simoneit. Gas chromatographic and gas chromatographic-mass spectrometric characterization of biogenic and petrogenic organic matter in the atmosphere. *Malaysian J. Anal. Sci.*, 1997: 3, 9-23.

Ad hoc working group. General guidance on considerations related to alternatives and substitutes for listed persistent organic pollutants and candidate chemicals. *Stockholm Convention on Persistent Organic Pollutants*, 2009: 7-12.

Albinet A., Leoz G., Budzinski H., Villenave E. Simultaneous analysis of oxygenated and nitrated polycyclic aromatic hydrocarbons on standard reference material 1649a (urban dust) and on natural ambient air samples by gas chromatography–mass spectrometry with negative ion chemical ionization. *Journal of Chromatography*, 2006: 106-113.

Amador-Muñoz O. Especiación química de compuestos orgánicos en las pm2.5 del valle de México: Variación espacial y temporal, comportamiento y fuentes. 2011: 42-43.

Andrade A., Grande S., Talsness C., Gericke C., Grote K., Golombiewski A., Sterner-Kock A., Chahoud I. A dose response study following in utero and lactational exposure to di-(2-ethylhexyl) phthalate (DEHP): reproductive effects on adult male offspring rats. *Toxicology*, 2006: 85-97.

Araujo P. Key aspects of analytical method validation and linearity evaluation. *Journal of Chromatography*, 2009: 224-234.

Arey J., Zielinska B., Harger W.P., Atkinson R., Winer A.M. The contribution of nitrofluoranthenes and nitropyrenes to the mutagenic activity of ambient particulate matter collected in southern California. *Mutation Research*, 1998.

Blumer M. Polycyclic aromatic compounds in nature. *Scientific American*, 2003: 35-45.

Bamford H., Bezabeh D., Schantz M., Wise S., Baker J. Determination and comparison of nitrated-polycyclic aromatic hydrocarbons measured in air and diesel particulate reference materials. *Chemosphere*, 2003: 575-587.

---

Bustamante-Montes L.P., Lizama-Soberanis B., Olaiz-Fernández G, Vázquez-Moreno F. Ftalatos y efectos en la salud. *Revista internacional de contaminación ambiental*, 2001: 205-215.

Carey, Francis A. *Química Orgánica*. Mc Graw Hill, 2006.

Casellas M., Fernandez P., Bayona J.M., Solanas A.M. Bioassay-directed chemical-analysis of genotoxic components in urban airborne particulate matter from Barcelona (Spain). *Chemosphere* , 1995: 725-740.

de Kok T., Driee H., Hogervorst J., Briedé J. Toxicological assessment of ambient and traffic-related particulate matter: A review of recent studies. *Mutation Research*, 2006: 103–122.

Dockery D.W., Pope C. An association between air pollution and mortality in six US cities. *N Engl J Med* 1759, no. 329 (1993): 1753.

*Environment Canada*. 2009. <http://www.ec.gc.ca> (accessed 16 de Marzo de 2012).

EPA. Air Quality Criteria for Particulate Matter, Volume I of III, Office of Research and Development. 1996.

EPA. Validation and peer review of U.S. Environmental Protection Agency. Chemical Methods of Analysis. (EPA) 2005.

Expediente de registro de patente MX/a/2012/000791. Instituto Mexicano de la Propiedad Industrial. México, 2012.

Furmann K. Phtalates in surface water- a method for routine trace level analysis. *Journal of analytical chemistry*, 1994: 291-296.

Harrison M., Yin J. Particulate matter in the atmosphere: which particle properties are important for its effects on health?. *The science of the Total Environment*, 2000: 85-101.

Hennion M.C. Review: Solid-phase extraction: method development, sorbents, and coupling with liquid chromatography. *Journal of Chromatography A*, 1999: 3-54.

Jiamo F., Bixian M., Guoying S., Gan Zhang. Persistent organic pollutants in environment of the Pearl River Delta, China: an overview. *Chemosphere*, 2003: 1411–1422.

---

Kochany J, Maguire RJ. Abiotic transformations of polynuclear aromatic hydrocarbons and polynuclear aromatic nitrogen heterocycles in aquatic environments. *Science of total environment*, 1994: 17-31.

Legrini O., Oliveros E., Braun A.M. Photochemical processes for watertreatment. *Chemical Reviews*, 1993 : 671-698.

Lippmann M. Background on health effects of acid aerosols. *Environ Health Perspect* 79 (1998): 3-6.

Lottrup G., Andersson A..M, Leffers H, Mortensen GK, Toppari J, Skakkebaek NE, Main KM. Possible impact of phthalates on infant reproductive health. *International journal of andrology*, 2006: 172-180 .

Lundstedt S. *Analysis of PAHs and their transformation products in contaminated soil and remedial processes*. Umeå, Sweden: Solfjädern Offset AB, 2003 .

Mackay D., Shiu W. *Illustrated handbook of physical-chemical properties and environmental fate for organic chemicals: Polynuclear aromatic hydrocarbons, polychlorinated dioxins and dibenzofurans*. Chelsea, Michigan, USA: Lewis Publishers, 1992.

Marce R.M., Borrull F. Solid-phase extraction of polycyclic aromatic compounds. *Journal of Chromatography A*, 2000: 273-290.

Miller J.N., Miller J.C. *Estadística y quimiometría para química analítica*. España : Pearson, 2002.

Moller M., Hagen I., Ramdahl T. Mutagenicity of polycyclic aromatic compounds (PAC) identified in source emissions and ambient air. *Mutation Research*, 1985: 149-156.

Murillo-Tovar M., Amador-Muñoz O., Villalobos-Pietrini R., Marriott P. Selective Separation of Oxy-PAH from n-Alkanes and PAH in Complex Organic Mixtures Extracted from Airborne PM2.5. *Chromatographia*, 2010: 913-921.

Poole F., Gunatilleka D., Sethuraman R. Contributions of theory to method development in solid-phase extraction. *J. of Chromatography A*, 2000: 17-39.

Poole F. New trends on solid-phase extraction. *Trends in analytical chemistry*, 2003: 362-373.

---

Prycek J., Ciganek M., Šimek Z. Development of an analytical method for polycyclic aromatic hydrocarbons and their derivatives. *Journal of Chromatography A*, 2004: 103-107.

Schwartz J., Dockery D.W., Neas L.M. Is daily mortality associated specifically with fine particles?. *Air Waste Manage Assoc*, 1996: 927-939.

Skoog D. *Principios de análisis instrumental*. Cengage Learning, 2008.

Spiro T.G. *Química medioambiental*. Princeton University: Pearson, 2004.

Staple C.A, Peterson D. R., Parkerton T.F., Adams W.J. The environmental fate of phthalates esters: A literature review. *Chemosphere* 35, 1997: 667-749.

Supelco. *Bulletin 910, Guide to Solid Phase Extraction*. Sigma Aldrich co., 1998.

Valle-Hernández B.L., Mugica-Álvarez, Salinas-Talavera E., Amador-Muñoz O, Murillo-Tovar M.A., Villalobos-Pietrini R., De Vizcaya-Ruíz A. Temporal variation of nitro-polycyclic aromatic hydrocarbons in PM10 and PM2.5 collected in Northern Mexico City . *Science of the Total Environment*, 2010: 5429–5438.

Valle-Hernandez B.L., Amador-Muñoz O., Jazcilevich-Diamant A., Hernández-López E., Villalobos-Pietrini R., González-Oropeza R. Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Particulate Matter Emitted by the Combustion of Diesel and Biodiesel. *Combustion Science and Technology*, 2013.

WHO, World Health Organization. *WHO Air quality guidelines for particulate matter, ozone, nitrogen dioxide and sulfur dioxide*. World Health Organization, 2005.

Wormuth M., Scheringer M., Vollenweider M., Hungerbühler K. What are the sources of exposure to eight frequently used phthalic acid esters in Europeans?. *Risk analysis*, 2006: 803-824.

Xinhui B., Guoying S., Ping'an P., Yingjun C., Zhiqiang Z., Jiamo F. Distribution of particulate- and vapor-phase n-alkanes and polycyclic aromatic hydrocarbons in urban atmosphere of Guangzhou, China. *Atmospheric Environment*, 2003: 289-298.

**Anexo I. Porcentajes de distribución y desviaciones estándar de las familias orgánicas en cada nivel probado**

Nivel I

<b>% de Distribución nivel 1</b>					
<b>Compuestos</b>	<b>F0</b>	<b>F1</b>	<b>F2</b>	<b>F3</b>	<b>F4</b>
Alcanos 200 µg	0.1	98.2	1.5	0.0	0.1
Ftalatos 200 µg	0.1	0.1	88.8	11.1	0.0
HAP 20 µg	0.0	5.3	94.6	0.0	0.0
Oxy-HAP 20 µg	0.0	0.0	85.5	14.5	0.0
Nitro-HAP 2 µg	0.0	0.0	86.1	13.9	0.0

<b>Desviación estándar</b>					
<b>Compuestos</b>	<b>F0</b>	<b>F1</b>	<b>F2</b>	<b>F3</b>	<b>F4</b>
Alcanos 200 µg	0.1	1.0	0.9	0.0	0.0
Ftalatos 200 µg	0.1	0.0	0	0	0.0
HAP 20 µg	0.0	7.5	7.5	0.0	0.0
Oxy-HAP 20 µg	0.0	0.0	0	0	0.0
Nitro-HAP 2 µg	0.0	0.0	16.7	0	0.0

Nivel II

<b>% de Distribución nivel 2</b>					
<b>Compuestos</b>	<b>F0</b>	<b>F1</b>	<b>F2</b>	<b>F3</b>	<b>F4</b>
Alcanos 200 µg	1.0	82.6	15.3	0.9	0.2
Ftalatos 200 µg	0.1	0.4	0.2	91.4	7.9
HAP 20 µg	0.0	11.9	85.9	2.3	0.0
Oxy-HAP 20 µg	0.0	0.0	0.0	99.8	0.2
Nitro-HAP 2 µg	0.0	0.0	36.8	63.2	0.0



---

<b>Desviación estándar</b>					
<b>Compuestos</b>	<b>F0</b>	<b>F1</b>	<b>F2</b>	<b>F3</b>	<b>F4</b>
<b>Alcanos 200 µg</b>	0.8	13.3	13.2	0.8	0.2
<b>Ftalatos 200 µg</b>	0.0	0.5	0.3	10.3	11.0
<b>HAP 20 µg</b>	0.0	16.8	15.5	1.3	0.0
<b>Oxy-HAP 20 µg</b>	0.0	0.0	0.0	0.3	0.3
<b>Nitro-HAP 2 µg</b>	0.0	0.0	0	0	0.0

Nivel III

<b>% de Distribución nivel 3</b>					
<b>Compuestos</b>	<b>F0</b>	<b>F1</b>	<b>F2</b>	<b>F3</b>	<b>F4</b>
<b>Alcanos 200 µg</b>	2.5	92.5	4.7	0.1	0.1
<b>Ftalatos 200 µg</b>	0.1	0.0	1.1	98.0	0.9
<b>HAP 20 µg</b>	0.0	17.0	83.0	0.0	0.0
<b>Oxy-HAP 20 µg</b>	0.0	0.0	0.0	100.0	0.0
<b>Nitro-HAP 2 µg</b>	0.0	0.0	36.0	64.0	0.0

<b>Desviación estándar</b>					
<b>Compuestos</b>	<b>F0</b>	<b>F1</b>	<b>F2</b>	<b>F3</b>	<b>F4</b>
<b>Alcanos 200 µg</b>	1.9	2.8	0.6	0.1	0.2
<b>Ftalatos 200 µg</b>	0.1	0.0	1.5	1.9	0.2
<b>HAP 20 µg</b>	0.0	1.3	1.3	0.0	0.0
<b>Oxy-HAP 20 µg</b>	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
<b>Nitro-HAP 2 µg</b>	0.0	0.0	0	0	0.0

Nivel IV

<b>% de Distribución nivel 4</b>					
<b>Compuestos</b>	<b>F0</b>	<b>F1</b>	<b>F2</b>	<b>F3</b>	<b>F4</b>
Alcanos 200 µg	0.0	86.1	13.9	0.1	0.0
Ftalatos 200 µg	0.0	1.2	1.2	97.5	0.1
HAP 20 µg	0.0	9.2	90.8	0.0	0.0
Oxy-HAP 20 µg	0.0	0.0	0.0	100.0	0.0
Nitro-HAP 2 µg	0.0	0.0	37.6	62.4	0.0

<b>Desviación estándar</b>					
<b>Compuestos</b>	<b>F0</b>	<b>F1</b>	<b>F2</b>	<b>F3</b>	<b>F4</b>
Alcanos 200 µg	0.0	0	0	0.1	0.0
Ftalatos 200 µg	0.0	1.7	1.7	0.2	0.2
HAP 20 µg	0.0	13.0	0	0.0	0.0
Oxy-HAP 20 µg	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
Nitro-HAP 2 µg	0.0	0.0	4.3	4.3	0.0

Nivel V

<b>% de Distribución nivel 5</b>					
<b>Compuestos</b>	<b>F0</b>	<b>F1</b>	<b>F2</b>	<b>F3</b>	<b>F4</b>
Alcanos 200 µg	0.5	88.7	10.6	0.2	0.0
Ftalatos 200 µg	0.0	0.0	0.0	96.3	3.7
HAP 20 µg	0.0	1.6	98.4	0.0	0.0
Oxy-HAP 20 µg	0.0	0.0	0.0	100.0	0.0
Nitro-HAP 2 µg	0.0	0.0	22.0	78.0	0.0

<b>Desviación estándar</b>					
<b>Compuestos</b>	<b>F0</b>	<b>F1</b>	<b>F2</b>	<b>F3</b>	<b>F4</b>
<b>Alcanos 200 µg</b>	0.4	4.8	5.3	0.1	0.0
<b>Ftalatos 200 µg</b>	0.0	0.0	0.0	1.3	1.3
<b>HAP 20 µg</b>	0.0	1.4	1.4	0.0	0.0
<b>Oxy-HAP 20 µg</b>	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
<b>Nitro-HAP 2 µg</b>	0.0	0.0	3.8	3.8	0.0

**Anexo II. Porcentajes de recobro y coeficientes de variación de cada familia orgánica en los 5 niveles probados**  
Alcanos

	Nivel 1		Nivel 2		Nivel 3		Nivel 4		Nivel 5	
	% Rec.	CV	% Rec.	CV	% Rec.	CV	% Rec.	CV	% Rec.	CV
<b>Tridecano</b>	14.5	5.4	73.0	2.4	77.0	5.9	84.2	0.0	101.3	0.0
<b>Tetradecano</b>	14.9	3.2	80.3	10.7	88.4	6.3	103.2	0.0	121.8	0.0
<b>Pentadecano</b>	15.9	0.4	76.0	8.9	80.0	5.0	92.6	0.0	115.8	0.0
<b>Hexadecano</b>	16.6	1.7	76.0	8.3	76.3	8.8	86.9	0.0	94.8	0.0
<b>Heptadecano</b>	16.4	5.3	78.2	9.8	78.8	11.7	87.8	0.0	92.4	0.0
<b>Octadecano</b>	28.0	5.5	90.0	0.0	78.7	11.1	91.6	0.0	89.1	0.0
<b>Nonadecano</b>	17.9	3.8	93.5	0.0	81.3	11.5	94.5	0.0	92.3	0.0
<b>Eicosano</b>	17.2	2.8	92.1	14.0	80.6	8.2	95.0	0.0	96.1	0.0
<b>Eneicosano</b>	17.6	11.2	87.8	10.9	88.4	10.9	100.9	0.0	100.1	0.0
<b>Docosano</b>	16.8	11.5	94.2	0.0	90.2	10.1	104.8	0.0	74.3	0.0
<b>Tricosano</b>	18.4	10.2	106.9	5.0	90.6	11.1	108.8	0.0	82.2	0.0
<b>Tetracosano</b>	18.0	6.0	95.3	13.9	96.1	11.3	115.2	0.0	88.1	0.0
<b>Pentacosano</b>	17.7	10.1	107.6	7.6	98.3	9.1	117.9	0.0	93.3	0.0

Ftalatos

	Nivel 1		Nivel 2		Nivel 3		Nivel 4		Nivel 5	
	% Rec.	CV	% Rec.	CV	% Rec.	CV	% Rec.	CV	% Rec.	CV
Dimetil ftalato	3.6	77.0	74.2	6.9	68.2	0.0	76.7	11.4	51.7	0.0
Dietil ftalato	9.9	1.8	81.1	9.0	75.0	0.0	80.4	15.1	59.1	0.0
Di-isobutil ftalato	14.5	15.3	86.1	15.0	73.7	0.0	72.1	15.1	41.2	0.0
Di-n-butil ftalato	16.5	17.0	76.4	0.0	74.2	0.0	73.6	15.2	36.1	0.0
Diamil ftalato	16.9	18.0	75.7	0.0	73.9	0.0	80.6	0.0	34.3	0.0
Di-n-Hexil ftalato	13.4	14.6	74.2	0.0	78.1	0.0	86.4	8.0	55.4	0.0
Diciclohexil ftalato	13.2	12.9	75.0	1.4	94.8	0.0	82.7	14.2	41.7	0.0
Di-n-octil ftalato	16.1	21.3	80.1	20.6	73.3	0.0	65.4	10.7	31.2	0.0
Dinonil ftalato	16.6	22.7	91.0	0.0	66.8	0.0	64.2	11.9	31.1	0.0

## HAP

	Nivel 1		Nivel 2		Nivel 3		Nivel 4		Nivel 5	
	% Rec.	CV	% Rec.	CV	% Rec.	CV	% Rec.	CV	% Rec.	CV
Acenafileno	53.1	40.3	71.3	0.0	69.7	10.5	79.1	0.0	63.4	13.0
Acenafeno	48.9	67.8	68.6	0.0	53.9	12.2	86.9	0.0	50.8	15.6
Benzol[a]antraceno	92.3	10.6	105.1	0.0	82.6	9.9	95.1	14.5	60.0	0.0
Trifenileno	89.0	6.9	104.7	0.0	88.9	0.0	96.1	16.1	44.5	10.8
Criseno	88.3	6.0	104.7	0.0	88.8	0.0	95.9	15.9	53.6	15.9
Benzol[b]fluoranteno	101.5	5.3	110.0	0.0	92.6	0.0	92.6	10.6	67.2	0.0
Benzol[k]fluoranteno	99.8	5.8	110.4	0.0	89.9	6.2	98.1	12.8	47.9	5.8
Benzol[e]pireno	99.7	4.3	110.9	0.0	91.0	6.2	96.5	14.9	46.3	12.2
Benzol[a]pireno	98.7	5.6	106.3	0.0	84.6	9.2	94.0	12.4	55.8	0.0
Perileno	101.2	3.3	101.8	0.0	84.1	10.5	90.9	14.0	59.5	0.0
Dibenzo[a,c]antraceno	125.7	2.0	108.0	0.0	78.6	6.7	100.1	2.6	49.8	0.0
Indeno[1,2,3-cd]pireno	112.1	2.2	103.5	0.0	76.6	2.4	100.2	3.7	47.3	7.0
Benzol[ghi]perileno	101.1	2.6	102.6	0.0	87.2	8.2	104.7	2.5	68.3	0.0

Oxi-HAP

	Nivel 1		Nivel 2		Nivel 3		Nivel 4		Nivel 5	
	% Rec.	CV	% Rec.	CV	% Rec.	CV	% Rec.	CV	% Rec.	CV
<b>1,4- Naftoquinona</b>	13.5	4.9	64.5	9.8	56.6	0.0	70.7	0.0	61.8	0.0
<b>9-Fluorenona</b>	18.7	7.1	89.3	0.0	68.1	0.0	68.2	8.7	53.9	9.5
<b>Antraquinona</b>	22.7	9.3	86.2	0.0	69.7	0.0	50.8	12.5	68.2	0.0
<b>Fenantrenoquinona</b>	0.1	141.4	95.8	3.8	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0

Nitro-HAP

	Nivel 1		Nivel 2		Nivel 3		Nivel 4		Nivel 5	
	% Rec.	CV	% Rec.	CV	% Rec.	CV	% Rec.	CV	% Rec.	CV
<b>1-Nitronaftaleno</b>	24.9	63.2	76.3	18.2	79.3	0.0	77.2	13.0	30.8	18.6
<b>2-Nitronaftaleno</b>	24.3	76.1	77.3	5.8	77.6	0.0	87.4	12.3	67.2	0.0
<b>1,5-Dinitronaftaleno</b>	7.1	98.5	57.6	0.0	61.4	0.0	55.4	0.0	28.9	11.3
<b>1,3-Dinitronaftaleno</b>	10.3	94.6	60.0	11.2	59.8	0.0	19.7	0.0	14.5	0.0
<b>2-Nitrofluoreno</b>	16.5	91.2	65.0	0.0	64.4	0.0	28.7	0.0	20.2	0.0
<b>9-Nitroantraceno</b>	7.3	25.9	48.2	7.2	13.0	11.7	32.4	14.1	9.7	17.0
<b>1,8-Dinitronaftaleno</b>	17.2	80.7	63.7	0.0	57.6	0.0	49.1	0.0	17.9	0.0
<b>9-Nitrofenantreno</b>	1.3	41.6	54.1	14.2	57.4	0.0	26.7	0.0	10.5	0.0
<b>1-Nitropireno</b>	14.5	106.9	52.3	0.0	37.3	0.0	18.2	0.0	5.9	0.0
<b>1,6-Dinitropireno</b>	0.0	54.4	72.8	0.0	8.1	0.0	4.2	12.9	42.9	11.8



