



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE
MÉXICO

**PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO EN CIENCIAS
QUÍMICAS**

**OPTIMIZACIÓN DE LAS CONDICIONES ANALÍTICAS PARA LA DETERMINACIÓN
SIMULTÁNEA DE *n*-ALCANOS, HIDROCARBUROS AROMÁTICOS POLICICLICOS Y SUS
DERIVADOS OXIGENADOS EN LAS AEROPARTÍCULAS $\leq 2.5 \mu\text{m}$**

TESIS
PARA OPTAR POR EL GRADO DE

DOCTOR EN CIENCIAS

PRESENTA

M en C. MARIO ALFONSO MURILLO TOVAR



TUTOR: Dr. Rafael de Jesús Villalobos y Pietrini AÑO: 2012



Universidad Nacional
Autónoma de México



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.

AGRADECIMIENTOS

Académicos

Al Dr. Rafael de Jesús Villalobos y Pietrini por la oportunidad para continuar mis estudios de posgrado y sus valiosas enseñanzas.

Al Dr. Omar Amador Muñoz por la asesoría técnica en el tratamiento de las muestras y en los análisis instrumental y estadístico de los resultados.

Al Dr. Hugo Albeiro Saldarriaga Noreña por sus prácticas y acertadas recomendaciones.

Al Dr. Alberto López López por sus consejos sobre la estructuración y uso del conocimiento.

Al Dr. Jesús Efrén Ospina por sus conocimientos sobre tratamiento estadístico de datos.

Técnicos

Al M en C. Leonel Hernández Mena por la instrucción para el tratamiento de muestras.

A la M en C. Brenda Luz Valle Hernández, a la QFB. María de la Luz Valtierra y a la Q. Griselda Maya Miranda por el apoyo en el tratamiento de muestras.

A la M en C. Martha Elena Díaz Murillo por su apoyo para la determinación de la MOE.

Institucionales

Al CIATEJ (Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco) por la oportunidad laboral y las facilidades para concluir mis estudios de doctorado.

Al Centro de Ciencias de la Atmosfera de la UNAM por las facilidades administrativas y académicas durante el desarrollo del trabajo de grado.

A la Coordinación de Estudios de Posgrado de la UNAM por otorgar la beca para estudios de doctorado.

Al proyecto: “Asociación entre la mutagenicidad producida por la materia orgánica extraída de las aeropartículas menores o iguales a 2.5 μm y su composición orgánica” financiado por el Programa de Apoyo a Proyectos de Investigación e Innovación Tecnológica, PAPIIT IN116810-3 de la UNAM.

Personales

A mi esposa, Martha Elena Díaz Murillo, por su invaluable apoyo y amorosa compañía en esta etapa de nuestras vidas.

Al Dr. Abraham Ortinez y al Q. Ronaldo Cardona por su desinteresada amistad.

DEDICATORIA

*A mi madre Ma. Esperanza Tovar
por sus sabios y valiosos consejos.*

INDICE DE CONTENIDO

RESUMEN/ABSTRACT

1. INTRODUCCION	1
1.1. Antecedentes y origen del estudio	1
1.2. Justificación	4
1.3. Hipótesis de investigación	5
1.4. Objetivos	5
1.4.1. General	5
1.4.2. Específicos	5
2. MARCO TEORICO	6
2.1. La Contaminación del Aire en el AMCM	6
2.2. Las PM _{2.5} : origen, composición y sus efectos a la salud	8
2.3. Compuestos orgánicos en las PM _{2.5} : propiedades fisicoquímicas, origen y efectos a la salud	11
2.3.1. Los <i>n</i> -alcanos	12
2.3.2. Hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAP)	14
2.3.3. Hidrocarburos aromáticos policíclicos oxigenados (oxi-HAP)	16
2.4. Análisis de componentes orgánicos en partículas suspendidas	17
2.4.1. Técnicas de extracción	18
2.4.2. Purificación de los extractos orgánicos	20
2.4.3. Análisis químico: identificación y cuantificación	21
3. ASPECTOS EXPERIMENTALES	23
3.1. Muestreo de PM _{2.5}	23
3.1.1. Ubicación geográfica, selección y descripción de los sitios de estudio	23
3.1.2. Equipo, técnica de muestreo y acondicionamiento de filtros	25
3.1.3. Diseño del muestreo	26
3.2. Desarrollo y estandarización de técnicas analíticas	27

3.2.1. Preparación de material y condiciones del laboratorio	28
3.2.2. Estándares y preparación de disoluciones de trabajo	29
3.2.3. Optimización del procedimiento de extracción con disolventes orgánicos mediante ultrasonido modificado	30
3.2.3.1. Efecto de la polaridad de la mezcla de disolventes	31
3.2.3.2. Efecto de la temperatura del baño en el evaporador rotatorio	32
3.2.3.3. Efecto de la temperatura del baño ultrasónico	32
3.2.3.4. Efecto del volumen y ciclos de extracción	33
3.2.4. Determinación de la masa del material orgánico extraído	34
3.2.5. Optimización del procedimiento de fraccionamiento	34
3.2.5.1. Fraccionamiento de las disoluciones multiestándar (sin efecto matriz)	38
3.2.5.2. Fraccionamiento del material orgánico fortificado con disoluciones multiestándar (con efecto matriz)	42
3.2.6. Evaluación de la eficiencia de la separación y del recobro del fraccionamiento optimizado	42
3.3. Procedimiento para la evaluación de los parámetros analíticos del método	43
3.4. Evaluación de la eficiencia de extracción de la MOE asociada al polvo de referencia SRM 1649a	45
3.5. Análisis instrumental	45
3.5.1. Instrumentación y software	45
3.5.2. Condiciones cromatograficas	45
3.5.3. Condiciones espectrométricas	46
3.5.4. Identificación y cuantificación de los compuestos	46
3.5.5. Calibración instrumental	47
3.5.6. Limites de detección y cuantificación instrumental	47
3.6. Aplicación del método	48
3.7. Análisis estadístico de los resultados de las determinaciones	48

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	49
4.1. Evaluación de las condiciones de extracción por ultrasonido modificado	49
4.1.1. Eficiencia de la extracción con distintas mezclas de disolventes	49
4.1.2. Eficiencia de la reducción y concentración de los extractos orgánicos	51
4.1.3. Eficiencia de la extracción en el baño ultrasonido-modificado	53
4.1.4. Cantidad de disolvente orgánico y periodos de extracción	55
4.2. Separación cromatografica de oxi-HAP, <i>n</i> -alcanos y HAP en extractos orgánicos complejos de las PM _{2.5}	56
4.2.1. Evaluación de la separación con una disolución multiestándar (sin efecto matriz)	56
4.2.1.1. Selección de la fase estacionaria	56
4.2.1.2. Evaluación de las cantidades de fase estacionaria	58
4.2.1.3. Efecto de la variación del flujo, de la polaridad de la mezcla de elución y del volumen de los disolventes	58
4.2.2. Evaluación de la separación por extracción en fase sólida con extractos orgánicos adicionados con disolución multiestándar (con efecto matriz)	59
4.2.2.1. Comparación entre tres tipos de fase sólida cianopropilo	59
4.2.2.2. Esquema de elución optimizado	62
4.2.3. Evaluación de la eficiencia del procedimiento de separación	64
4.2.4. Evaluación de la eficiencia de recuperación	65
4.2.5. Capacidad de carga de la fase cianopropilo-EA	68
4.3. Evaluación del método analítico	69
4.3.1. Linealidad del método	69
4.3.2. Recobro	74
4.3.3. Precisión	78
4.3.4. Eficiencia de la separación	80
4.3.5. Selectividad	82
4.3.6. Límites de detección y cuantificación	85

4.4. Eficiencia de la extracción de la MOE	88
4.5. Determinación de las concentraciones de PM _{2.5} y sus componentes	89
4.5.1. Las PM _{2.5} y la MOE	89
4.5.2. <i>n</i> -alcanos en las PM _{2.5}	93
4.5.2.1. Concentraciones atmosféricas	93
4.5.2.2. Distribución por sitios	95
4.5.2.3. Distribución por temporada	99
4.5.3. HAP en las PM _{2.5}	102
4.5.3.1. Concentraciones atmosféricas	103
4.5.3.2. Variación por sitio	105
4.5.3.3. Variación por temporada	110
4.5.3.4. Evaluación de posibles fuentes	114
4.5.4. Oxi-HAP en las PM _{2.5}	115
4.5.4.1. Concentraciones atmosféricas	115
4.5.4.2. Variación por sitio	118
4.5.4.3. Variación por temporada	122
4.5.4.4. Posibles fuentes	126
5. CONCLUSIONES	129
6. COMENTARIOS Y SUGERENCIAS	132
7. BIBLIOGRAFIA	133
ANEXOS	149
ANEXO I. Estructuras de los hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAP)	149
ANEXO II. Propiedades fisicoquímicas de los HAP	150
ANEXO III. Estructuras de los oxi-HAP	151
ANEXO IV. Propiedades fisicoquímicas de los oxi-HAP	152
ANEXO V. Curvas de calibración instrumental de los <i>n</i> -alcanos	153
ANEXO VI: Curvas de Calibración de los HAP	155
ANEXO VII. Curvas de Calibración de los oxi-HAP	157
ANEXO VII. Productos académicos	158

LISTA DE FIGURAS

Figura	Página
2.1. Clasificación y procesos de formación y remoción de partículas	8
3.1. Ubicación de los sitios de muestreo en el AMCM	23
3.2. Equipo de muestreo “High-Vol” y filtro con PM _{2.5}	26
3.3. Esquemas de extracción en baño ultrasónico	30
3.4. Baño de ultrasonido modificado para extracción con disolventes orgánicos	31
3.5. Preparación del extracto orgánico para el análisis por CGEM.	33
3.6. Uso convencional de la técnica de extracción en fase sólida (EFS).	36
3.7. Elución selectiva con extracción en fase sólida (EFS).	36
3.8. Formatos para la extracción en fase sólida.	37
3.9. Procedimiento para evaluar los parámetros analíticos del método.	44
4.1. Eficiencia de la extracción con cloruro de metileno y acetona.	50
4.2. Eficiencia de extracción de los oxi-HAP con tres temperaturas distintas.	54
4.3. Eficiencia de la extracción de los HAP con tres temperaturas distintas.	54
4.4. Distribución del porcentaje de masa por fracción de las tres clases de compuestos orgánicos separados a través de a. Silica (0.5 g) (Esquema 1), b. Cianopropilo-EA (0.5 g) (Esquema 1), c. Fenilo (0.5 g) (Esquema 2), d. C ₁₈ (1 g) (Esquema 3).	57
4.5. Distribución porcentual de la masa de las tres familias de compuestos orgánicos sobre tres tipos de fases cianopropilo a. Cianopropilo-EA, b. Cianopropilo-UG y c. Cianoproipilo-UV (1g) eluidos con el esquema 8.	61
4.6. Distribución del porcentaje de masa por fracción de las tres clases de compuestos orgánicos separadas a través de cianopropilo-EA (1g) mediante a. Esquema 9 y b. Esquema 10.	63
4.7. Distribución de la masa de compuestos a través de las distintas fracciones mediante la aplicación del fraccionamiento optimizado (1 g de cianopropilo-EA, esquema 10) a tres cantidades diferentes de MOE fortificada a. 2.6 mg, b. 5.6 mg y c. 8.5 mg.	65

- 4.8.** Linealidad de la extracción, ejemplificada mediante **a.** C₃₈ (*n*-octatriacontano), **b.** Pireno y **c.** 1-Pirenocarboxialdehído. 70
- 4.9.** Linealidad del fraccionamiento, ejemplificado mediante **a.** C₃₈ (*n*-octatriacontano), **b.** Pireno y **c.** 1-Pirenocarboxialdehído. 71
- 4.10.** Porcentaje de recuperación (%) del método de extracción versus la masa adicionada (µg) ejemplificado con **a.** Perinaftenona ($p > 0.05$) y **b.** Benzo[*b*]fluoranteno ($p < 0.05$). 75
- 4.11.** Porcentaje de recuperación (%) de la extracción + el fraccionamiento versus la masa adicionada (µg) ejemplificado con **a.** Perinaftenona ($p > 0.05$) y **b.** Benzo[*b*]fluoranteno ($p < 0.05$). 76
- 4.12.** Separación de las tres clases de compuestos cuando se fraccionaron: **a.** 6.6 mg, **b.** 7.8 mg, **c.** 8.5 mg, **d.** 6.2 mg y **e.** 7.2 mg de MOE adicionadas con distintas cantidades de cada uno de los 14 *n*-alcanos (**a.** 11.7, **b.** 9.4, **c.** 7.2, **d.** 5.0 y **e.** 2.7 µg), 16 HAP (**a.** 2.3, **b.** 1.9, **c.** 1.4, **d.** 1.0 y **e.** 0.5 ng) y 15 oxi-HAP (**a.** 1.9, **b.** 1.4, **c.** 1.0, **d.** 0.5 y **e.** 0.1 ng), en condiciones optimizadas. 82
- 4.13.** Iones representativos extraídos en los cromatogramas de las fracciones para algunos de los compuestos orgánicos más importantes: *n*-alcanes (57 *m/z*-picos C₁₄-C₄₀ en las fracciones 1 y 2), HAP (252 *m/z*- picos I, II y III; y 276 *m/z*- picos IV y V) y oxi-HAP (208 *m/z*-pico VI; 230 *m/z*-picos VII y VIII; y 258 *m/z*-picos IX y X) y algunas estructuras obtenidas en las distintas fracciones mediante el esquema 10. 83
- 4.14.** Cromatogramas obtenidos en modo SIM de: **a.** Extracto complejo que muestra los picos de los iones más abundante (230) y secundarios (202 y 101) extraídos para identificar 7(H)-Benzo(*de*)antracen-7-ona y **b.** Fracciones sobrepuestas de la respuesta del ion 230 obtenidas por EFS del mismo extracto complejo. 84
- 4.15.** Recobro de la MOE mediante el método de extracción optimizado a través de distintas masas de SRM 1649a. 88
- 4.16.** Medianas de las concentraciones de **a.** PM_{2.5} y **b.** MOE en cinco sitios del AMCM (2008). 91

4.17.	Medianas de las concentraciones de a. PM _{2.5} y b. MOE en las temporadas de SF: secas frías (febrero), SC: secas calientes (abril) y LL: lluvias (agosto) en el AMCM (2008).	92
4.18.	Medianas de MOE/PM _{2.5} (%) en a. Los cinco sitios de muestreo y b. Tres temporadas en el AMCM (2008).	93
4.19.	Cromatogramas de <i>n</i> -alcanos en a. estándar de referencia (11.7 ng mL ⁻¹) y b. muestra de PM _{2.5} (SAG 06/02/2008).	94
4.20.	Medianas de los <i>n</i> -alcanos en los cinco sitios de muestreo.	96
4.21.	Medianas de la Σ C ₂₃ -C ₂₆ en los cinco sitios de muestreo.	97
4.22.	Medianas de la Σ <i>n</i> -alcanos < C ₂₃ en los cinco sitios de muestreo.	97
4.23.	Medianas de las concentraciones individuales <i>n</i> -alcanos (C ₁₆ a C ₃₆) en los cinco sitios de muestreo de la AMCM (2008).	99
4.24.	Medianas de la Σ <i>n</i> -alcanos > C ₂₇ en tres temporadas del AMCM (2008).	100
4.25.	Medianas de la Σ <i>n</i> -alcanos en tres temporadas de la AMCM (2008).	100
4.26.	Medianas de los <i>n</i> -alcanos individuales en las tres temporadas del AMCM (2008).	101
4.27.	Cromatogramas (ion extraído) de la mezcla estándar de a. HAP ≤ 202 g mol ⁻¹ y b. HAP ≥ 228 g mol ⁻¹ .	103
4.28.	Orden de elución de los estándares internos (6 HAP-deuterados) y de los HAP ≤ 202 g mol ⁻¹ (a. fluoranteno y pireno) y de los HAP ≥ 228 g mol ⁻¹ (a. B[<i>b</i>]F, B(<i>k</i>)F, B[<i>a</i>]P y b. B[<i>a</i>]A, criseno, I[1,2,3- <i>cd</i>]P, DB[<i>ah</i>]A y B[<i>ghi</i>]P) en una muestra de PM _{2.5} (MER 06/02/2008).	104
4.29.	Medianas de la Σ HAP ≤ 202 g mol ⁻¹ y de la HAP ≥ 228 g mol ⁻¹ en los cinco sitios de muestreo del AMCM (2008).	105
4.30.	Medianas de las concentraciones individuales de HAP ≤ 202 en los cinco sitios de muestreo del AMCM (2008).	107
4.31.	Medianas de las concentraciones individuales de HAP ≥ 228 en los cinco sitios de muestreo del AMCM (2008).	108
4.32.	Medianas de la suma de HAP ≤ 202 g mol ⁻¹ y la suma HAP ≥ 228 g mol ⁻¹ en las tres temporadas de 2008 en el AMCM	111

4.33. Medianas de las concentraciones individuales de HAP \leq 202 en las tres temporadas de 2008 en el AMCM.	112
4.34. Medianas de las concentraciones individuales de HAP \leq 228 en las tres temporadas de 2008 en el AMCM.	113
4.35. Cromatogramas de oxi-HAP en un estándar de referencia (a) y en una muestra de PM _{2.5} (b) .	116
4.36. Medianas de la suma de las concentraciones de oxi-HAP en los cinco sitios de muestreo en la AMCM (2008).	118
4.37. Medianas de las concentraciones individuales de oxi-HAP en los cinco sitios de muestreo de la AMCM (2008).	120
4.38. Medianas de la suma de las concentraciones de oxi-HAP en el AMCM (2008) para tres temporadas.	122
4.39. Medianas de las concentraciones individuales de oxi-HAP en el AMCM (2008) para tres temporadas.	123

LISTA DE TABLAS

Tabla	Página
3.1. Clasificación y descripción de los sitios de muestreo.	24
3.2. Polaridad de las mezclas de disolventes.	32
3.3. Propiedades de disolventes orgánicos.	35
3.4. Especificaciones de las fases estacionarias y etiquetas para su identificación.	38
3.5. Esquemas de elución con disoluciones multiestándar para fases normales y reversas.	40
3.6. Esquemas de elución con disoluciones multiestándar para cianopropilo.	41
3.7. Niveles de fortificación.	44
3.8. Concentraciones de las tres familias de compuestos para la calibración y análisis por CG-EM.	47
4.1. Porcentaje de recuperación de los analitos por la reducción en evaporador rotatorio.	52
4.2. Eficiencia de la extracción con ultrasonido modificado.	55
4.3. Esquemas de elución aplicados para el fraccionamiento de MOE.	62
4.4. Recobros de los oxi-HAP en la fracción 3.	63
4.5. Iones para el análisis por CG-EM y porcentajes de recobro sobre MOE.	67
4.6. Masa estimada total de analitos en MOE acumulada y fraccionada mediante esquema 10.	68
4.7. Parámetros de la extracción.	72
4.8. Parámetros del fraccionamiento.	73
4.9. Eficiencia del recobro y reproducibilidad del método.	79
4.10. Límites de detección y cuantificación instrumental.	86
4.11. Límites de detección y cuantificación del método analítico.	87
4.12. Parámetros meteorológicos: promedios (máximo-mínimo) y comparación entre temporadas.	89
4.13. Concentraciones individuales de PM _{2.5} (µg m ⁻³) en el AMCM (2008)	90
4.14. Medianas (Percentiles 10-90) de las concentraciones atmosféricas (µg m ⁻³) en cada sitio	90

4.15. Medianas (Percentiles 10-90) de las concentraciones atmosféricas ($\mu\text{g m}^{-3}$) por temporada y en total.	90
4.16. Medianas anuales de las concentraciones atmosféricas (ng m^{-3}) de <i>n</i> -alcanos durante 2008 en el AMCM	95
4.17. Concentraciones atmosféricas promedio de HAP (ng m^{-3}) en el AMCM (2008) y otras ciudades	102
4.18. Medianas de las concentraciones de HAP (ng m^{-3}) por sitio en las $\text{PM}_{2.5}$ del AMCM	106
4.19. Medianas de las concentraciones (ng m^{-3}) individuales de HAP por temporadas en las $\text{PM}_{2.5}$ del AMCM	110
4.20. Proporciones promedio por sitio de las concentraciones de HAP para evaluar la contribución por fuentes	115
4.21. Concentraciones atmosféricas totales (ng m^{-3}) de los oxi-HAP	117
4.22. Concentraciones atmosféricas (ng m^{-3}) de los oxi-HAP por sitio	121
4.23. Concentraciones atmosféricas (ng m^{-3}) de los oxi-HAP por temporadas	125
4.24. Medianas de la tasa de oxi-HAP/HAP	138

RESUMEN

Este estudio se fundamenta en la necesidad de caracterizar la composición química de las partículas suspendidas menores a 2.5 micrómetros ($PM_{2.5}$) y en la falta de métodos analíticos de referencia para cuantificar los componentes orgánicos responsables de sus efectos tóxicos. Se optimizaron las condiciones analíticas para la determinación de 14 *n*-alcanos, 16 HAP y reportar por primera vez la presencia de 15 HAP oxigenados (oxi-HAP) en partículas colectadas en cinco sitios y tres temporadas en el Área Metropolitana de Ciudad de México. La metodología se basó en la técnica de la adición de patrones, considero dos unidades experimentales (disoluciones estándares de analitos y muestras fortificadas), dos tratamientos (extracción con disolventes orgánicos y fraccionamiento con fase sólida) a cinco distintas concentraciones de analitos y dos variables de respuesta (recobro y eficiencia de separación). Los resultados mostraron que el método es válido para extraer la materia orgánica certificada en el material de referencia SRM1649a, es eficiente para extraer la mayoría de los analitos independientemente de la masa probada y disminuye la probabilidad de interferencias. Sin embargo, la variabilidad del análisis incrementa cuando los extractos se fraccionan. Por otro lado, el análisis de las concentraciones atmosféricas indicó que las tasas de emisión de los contaminantes estudiados son similares entre los distintos sitios. En cambio, el análisis por temporadas mostró que las concentraciones de partículas finas como sus componentes (MOE y analitos) incrementan significativamente en las estaciones secas (frías y calientes) y disminuyen en la de lluvias. Además, la presencia de los HAP comprobó la importante contribución por procesos de combustión incompleta a partículas finas y sugirió como fuentes más importantes el uso de gasolina y diesel en vehículos equipados con catalizadores. Mientras que, la estimación de los oxi-HAP sugiere que las esas partículas se pueden formar también por transformaciones atmosféricas, ya que se ha comprobado que esos compuestos son emitidos por combustión incompleta o se forman a partir de los HAP a través de reacciones con especies oxigenadas o en procesos fotoquímicos.

ABSTRACT

The reason for the research study herein lays on the need to characterize the chemical composition of fine particles of breathable range (PM_{2.5}) and to the lack of analytical methods of reference to quantify the organic components responsible for their toxicological effects. Particularly, the optimization of the analytical conditions is intended to be achieved in order to determine simultaneously the 14 *n*-alkanes, 16 PAH and to report for the first time the presence of 15 oxygenated PAH (oxy-PAH) in the suspended particles collected in five places and at three seasons in Mexico's Metropolitan Area. The methodology was based on the technique of addition of standards, two experimental units were considered (analyte standard solutions and spiked samples), two treatments (extraction with organic solvents and solid phase fractioning) at five different analyte concentrations and two variables of response (recovery and separation efficiency) to assess its performance before the application of the optimized method upon the research samples. The results showed that the method is valid to extract the organic matter certified in the reference material SRM1649a, is efficient to remove most of the analytes regardless of tested mass and contributed to the diminishing of possible interferences. Nonetheless, the variability of the analysis increased when extracts were purified. On the other hand, the analysis of the atmospheric concentrations indicated that the rates of emission of the studied pollutants are similar among the different places. On the contrary, the analysis per season showed that the fine particle concentration as well as its components (EOM and analytes) increase significantly during dry seasons (Cold and Warm ones) and diminish during rainy. Besides, the presence of PAH confirmed the important contribution due to incomplete combustion processes to fine particles and it particularly suggested as main sources the use of gasoline and diesel in vehicles equipped with AMCM catalysts. While the estimation of the oxy-PAH suggests that those particles can be formed too because of atmospheric transformations, since it is confirmed that oxy-PAH are emitted due to incomplete combustion or they are formed from the PAH through reactions with oxygenated species or in photochemical processes.

1. INTRODUCCIÓN

1.1. Antecedentes y origen del estudio

El material particulado suspendido en el aire se origina naturalmente de procesos como polvo resuspendido, volcanes y aerosol marino (Seinfeld y Pandis 2006). Sin embargo, sus propiedades físicas y químicas en ambientes locales, regionales e incluso globales (Hori 2003) han experimentado un cambio significativo como producto del incremento progresivo de las emisiones antrópicas (originadas de las actividades humanas). En tal grado, que sus repercusiones han alcanzado y alterado el comportamiento de diversos aspectos del clima y de la vida sobre la tierra, entre otros, se ha sugerido que podrían contribuir con el cambio del clima global (Forster *et al.* 2007), variar los procesos que dominan la formación de las lluvias (Rosenfeld 2000, Rosenfeld *et al.* 2008), modificar las reacciones atmosféricas (Saxena *et al.* 1995), perturbar el balance radiativo (Jacobson 2002), reducir la visibilidad en las zonas urbanas (Husain *et al.* 2007) y producir efectos nocivos en la salud (Pope *et al.* 2002).

En la escala local y en particular en ambientes urbanos, la fracción respirable del material particulado, específicamente aquella con tamaño menor a 2.5 micrómetros (PM_{2.5}), es uno de los contaminantes de mayor preocupación. A pesar de que tiene una tasa de emisión (ton métricas/día) menor que la de otros contaminantes (Salcedo *et al.* 2006) es uno de los factores que degrada la calidad del aire de zonas urbanas e implica riesgo para la salud de la población, esto se debe a la correlación positiva que se ha encontrado entre el incremento de sus concentraciones y diversas afectaciones, fundamentalmente se ha reportado que quienes se encuentran expuestos a concentraciones altas (agudas o en periodos prolongados) podrían desarrollar, padecer o incluso morir a causa de enfermedades cardiovasculares y respiratorias y otros padecimientos (Pope *et al.* 2002).

En la actualidad, y a pesar del peligro potencial que representan (Kampa y Castanas 2008), el umbral de exposición a las PM_{2.5} es todavía desconocido (De Kok *et al.* 2006) y desafortunadamente las normas que existen sólo regulan su concentración en masa, por lo que es indispensable tener evidencia sobre los componentes particulados que podrían ser los causantes de estos riesgos para establecer estrategias más eficientes que ayuden a

mitigar su impacto en la salud, sobre todo que hay un importante interés científico por la fracción orgánica ya que puede representar entre 40 a 70 % de la masa seca total (Turpin *et al.* 2000) y en la que actualmente sólo se tiene identificado entre el 10 al 20 % (Alves *et al.* 2001, 2008). Además, se ha señalado que, entre los cientos de distintas sustancias que puede contener (Welthagen *et al.* 2003), porta especies químicas que producen importantes y diferentes efectos toxicológicos (Finlayson-Pitts y Pitts 2000), particularmente la materia orgánica policíclica ha sido sugerida como la responsable de varios de ellos (Kawanaka *et al.* 2004, De Kok *et al.* 2006, Billet *et al.* 2007, Claxton y Woodall 2007, Gilli *et al.* 2007) con una parte atribuida a la presencia de los hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAP), ya que se han catalogado por la EPA (1986a) y la IARC (1987) como probables cancerígenos y mutágenos (Finlayson-Pitts y Pitts 2000), y a sus derivados nitrogenados (nitro-HAP) y oxigenados (oxi-HAP) que se les ha responsabilizado por la inducción de mutagenicidad directa (Durant *et al.* 1996). Sin embargo, hay un creciente interés por los oxi-HAP, en particular por el grupo de las quinonas, debido a que pueden experimentar ciclación redox enzimática y no-enzimática con la correspondiente formación de especies reactivas oxigenadas (por sus siglas en inglés ROS) como radicales aniónicos superóxidos ($O_2^{\cdot-}$), radical hidroxilo (OH^{\cdot}) y sus derivados como peróxido de hidrogeno, los cuales pueden causar estrés oxidante a través de la formación de macromoléculas celulares oxidadas que incluye lípidos, proteínas y ADN y que explica la inducción de respuestas biológicas como inflamación y apoptosis (Walgraeve *et al.* 2010). La ocurrencia de estos efectos puede ser acrecentada debido a que los oxi-HAP se caracterizan por poseer más altos pesos moleculares y más bajas presiones de vapor que sus precursores (los HAP), confiriéndoles una mayor probabilidad de encontrarse en la fase particulada fina ($PM_{2.5}$) de los aerosoles atmosféricos, donde su acumulación es significativamente mayor que en otros tamaños (Allen *et al.* 1997, Schnelle-Kreis *et al.* 2001). Incrementado la posibilidad de que lleguen a la región alveolar y el riesgo potencial por exposición.

En el Área Metropolitana del Ciudad de México (AMCM), a pesar de los problemas de calidad del aire, todavía es necesaria mayor información sobre la composición química orgánica de partículas finas, ya que la mayoría de las publicaciones tratan de las concentraciones, la composición y la mutagenicidad de partículas mayores a $10 \mu m$ (PM_{10})

ó las partículas suspendidas totales (PST) (Riveros-Rosas *et al.* 1997, Villalobos-Pietrini *et al.* 1995, 1999, 2000, 2006, Mugica *et al.* 2002, 2010, Saldarriaga *et al.* 2008) y los reportes acerca de las PM_{2.5} describen principalmente su composición por metales (Miranda *et al.* 1994, Vega *et al.* 2001), iones inorgánicos (Moya *et al.* 2004), carbón orgánico total (Chow *et al.* 2002, Mugica *et al.* 2009) y menor cantidad de estudios muestran los resultados de la especiación química de la composición orgánica, en que se reporta la presencia de *n*-alcanos y componentes tóxicos como HAP y nitro-HAP (Valle-Hernández *et al.* 2010, Amador-Muñoz *et al.* 2011). Sin embargo, son inexistentes los reportes sobre oxihap. Siendo la falta de metodologías analíticas estandarizadas uno de los mayores obstáculos para contribuir a la resolución de este problema.

Una problemática mayor para evaluar los efectos a la salud y establecer normas que regulen la presencia de los contaminantes tóxicos en partículas, surge de la validez de las determinaciones analíticas ya que estos componentes se encuentran en concentraciones de orden traza en aire (desde pg m⁻³ hasta µg m⁻³) en una mezcla constituida por distintas sustancias con diferentes propiedades fisicoquímicas (Schnelle-Kreis *et al.* 2005b) y distintos niveles ambientales que podrían causar interferencias y dificultar su identificación y cuantificación (Kallio *et al.* 2003, Welthagen *et al.* 2003). Hasta ahora, aunque se han propuesto diferentes opciones para resolver estas complicaciones, no hay todavía métodos de referencia o protocolos estandarizados que ayuden a solucionar con mayor precisión este problema. La técnica convencional, que es la más utilizada debido a su simplicidad y disponibilidad, involucra inicialmente la colección de las PM_{2.5} sobre filtros de cuarzo que son más resistentes al tratamiento térmico (600 °C) para disminuir posibles interferencias y poseen más alta capacidad de adsorción que los de teflón y vidrio (Turpin *et al.* 2000). Luego los componentes son extraídos con disolventes orgánicos en sistemas Soxhlet y más recientemente en baños ultrasónicos con eficiencias de extracción equivalentes a las de Soxhlet pero en tiempos significativamente más cortos (15 min a 1.5 h, en vez de 24 h) (Marvin y Allan 1992). Posteriormente los extractos son purificados, para disminuir la complejidad química, bien por cromatografía de líquidos de alta resolución (Arey *et al.* 1992), cromatografía en columna (Sienra *et al.* 2002) o últimamente por extracción en fase sólida (EFS) que ha ganado terreno debido a que usa cantidades de disolvente mucho

menores (Poole *et al.* 2000) y facilita el tratamiento de muestras individuales sin la necesidad de acumular los extractos (Piñeiro-Iglesias *et al.* 2002). Finalmente se analizan por cromatografía de gases masas (CGEM) (Sierra *et al.* 2006). Sin embargo, en la mayoría de estudios solamente se brinda información cualitativa y se ignora con bastante frecuencia la evaluación de parámetros analíticos comúnmente utilizados y otros menos frecuentemente considerados, como el efecto matriz, que son necesarios para incrementar la confiabilidad de las determinaciones, así mismo se ofrecen mínimos detalles que faciliten la selección correcta y la sucesiva aplicación de un método. También se ha propuesto el uso de métodos automáticos, semi-automáticos y de más alta resolución de separación e identificación que minimizan el tratamiento de la muestra como la técnica de termodesorción (Pankow *et al.* 1998) que transfiere los componentes directamente al sistema analítico, la cromatografía de gases bidimensional o CGXCG que brinda mayor separación entre los componentes de la muestra (Schnelle-Kreis *et al.* 2005a) o la cromatografía de líquidos acoplada a espectrómetros de masa en tándem (CL-EM/EM) que provee información estructural más detallada con el fin de identificar inequívocamente los compuestos (Lintelmann *et al.* 2006).

1.2. Justificación

Por lo anteriormente señalado, para disponer de un correcto procedimiento analítico para partículas es necesario tener condiciones analíticas de extracción y purificación que aislen eficientemente las moléculas de los compuestos de interés desde la matriz de la muestra y favorezcan su identificación inequívoca entre otros cientos de componentes químicas con distintas propiedades y que brinden los límites de detección y cuantificación de acuerdo con las concentraciones ambientales en las que se encuentran en muestras que se colectan en periodos útiles para el diseño de regulaciones. Además, se debe garantizar la preservación química de la muestra, sobre todo, cuando se pretende evaluar también sus propiedades biológicas.

1.3. Hipótesis de investigación

La extracción eficiente de los componentes orgánicos tóxicos y su posterior separación selectiva en fracciones con menor complejidad química disminuirían la dificultad para su determinación analítica y facilitará su posterior uso para la estimación en partículas finas colectadas en el Area Metropolitana de la Ciudad de México y para describir su variación por sitio y temporada.

1.4. Objetivos

1.4.1. General

Optimizar las condiciones analíticas para la determinación simultánea de 14 *n*-alcanos, 16 HAP y reportar por primera vez la presencia de 15 HAP oxigenados (oxi-HAP) en las partículas suspendidas menores a 2.5 micrómetros (PM_{2.5}).

1.4.2. Específicos

Colectar muestras de PM_{2.5} en cinco sitios y tres épocas del año en la AMCM

Optimizar las condiciones de extracción, fraccionamiento de los extractos orgánicos y análisis por CG-EM

Identificar y cuantificar los compuestos seleccionados en los extractos orgánicos de las PM_{2.5} y estimar sus concentraciones en la atmósfera del AMCM.

Explicar la distribución por sitio y temporada de los *n*-alcanos, HAP y oxi-HAP, en las PM_{2.5} del AMCM.

3. MARCO TEORICO

3.1. Contaminación del aire en el AMCM

El Area Metropolitana de la Ciudad México (AMCM) es el área urbanizada más grande en la República Mexicana (SMA 2004) y una de las más pobladas del mundo con cerca de 20.1 millones de habitantes que representan el 17 % de la población total nacional (INEGI 2010). Este fenómeno poblacional es el resultado de la dinámica social, las oportunidades laborales y el crecimiento económico que ha experimentado la capital del país y los municipios conurbados en las últimas décadas, del cual se han desprendido valiosos beneficios para la sociedad capitalina y el país, sin embargo la demanda de energía, bienes y servicios para sostener este desarrollo han generado una problemática ambiental, social y económica que han deteriorado progresivamente el bienestar de los habitantes y la calidad del suelo, el agua y el aire por el uso descontrolado de recursos naturales y el incremento significativo de la emisión de contaminantes debido a los procesos de transformación de materiales y combustibles.

La disminución de la calidad del aire en la AMCM es una de las consecuencias más importantes del crecimiento económico y poblacional. En este sentido existe fuerte interés de la comunidad científica nacional y mundial por conocer la naturaleza de su comportamiento, demostrándose la necesidad de controlar las emisiones principalmente por los altos niveles de ozono y partículas que caracterizan a la ciudad (Molina y Molina 2002). Sin embargo, se debe considerar que las peculiares características fisiográficas y meteorológicas tienen también una importante influencia en la contaminación atmosférica (SMA 2004), ya que son factores determinantes en el transporte, la transformación, la dispersión y la depositación de los contaminantes (Mendoza y García 2009). En el caso particular del AMCM, la altitud promedio en la que se encuentra (2240 msnm) ocasiona que los procesos de combustión sean regularmente deficientes y se emitan una mayor cantidad de contaminantes a la atmósfera debido a que el contenido de oxígeno en el aire es 23 % menor que a nivel del mar (Molina y Molina 2002). Otro aspecto, es que la latitud en la que se encuentra provoca que reciba una radiación solar muy intensa, lo que acelera y favorece la formación fotoquímica de contaminantes como el ozono y las partículas

secundarias. Adicionalmente, la cadena montañosa que la rodea es uno de los factores que propicia el estancamiento de contaminantes, mientras que su ubicación en el centro del país provoca que a través del año, la zona sea afectada por sistemas anticiclónicos, que mantienen el cielo despejado e incrementan la capacidad fotoquímica de la atmósfera (SMA 2006); además estos sistemas también inducen la disminución de la velocidad cerca de la superficie del suelo, lo que inhibe el movimiento vertical y horizontal del aire y dificulta la dispersión de los contaminantes (SMA 2008a).

Los informes de tendencias y estado de contaminantes en el AMCM (SMA 2008a), muestran que en las últimas décadas (1990-2005) se han logrado abatir las concentraciones de contaminantes como plomo y se ha observado tendencia decreciente de las emisiones de dióxido de azufre, monóxido de carbono, PM_{10} y una estabilización y posible disminución de compuestos orgánicos volátiles (COV) (Arriaga *et al.* 2004), muy probablemente por la implementación de estrategias que buscan controlar las emisiones (PROAIRE 2010). A pesar de estos resultados, todavía se desconoce la presencia, la concentración y los efectos en el ambiente y en la salud por las distintas sustancias en el aire que podrían representar un riesgo potencial para los millones de habitantes que pueblan la ciudad, y aunque en años recientes (2005) se han implementado nuevas normativas que regulan partículas más pequeñas (NOM-025-SSA1-1993), todavía se presentan episodios graves de contaminación y se desconoce con precisión si la reducción de contaminantes y las nuevas regulaciones ambientales han tenido un impacto significativo en la disminución de los problemas de salud originados por la contaminación del aire.

Entre los contaminantes que diariamente se monitorean en el AMCM, existe un particular interés en las $PM_{2.5}$. Aunque las emisiones anuales (SMA 2008a) e incluso diarias de esas partículas son menores que las de otros contaminantes en fase gas (Salcedo *et al.* 2006), son sus propiedades físicas y químicas las que resultan más importantes porque se asocian con el incremento de enfermedades respiratorias y cardiacas (Pope *et al.* 2002), debido posiblemente a su tamaño y composición. En el AMCM, se emiten aproximadamente 5,499 toneladas anuales de partículas con este tamaño, donde se estima que los vehículos pesados y los autobuses, debido al uso de diesel, contribuyen con 36 %, seguido por automóviles

particulares (9 %), las vialidades sin pavimentar (21 %) y finalmente las fuentes puntuales (16 %) (SMA 2008a), esto indica que la contribución de la actividad vehicular y el uso de combustibles fósiles podrían ser uno de los factores que mejor podría ayudar a explicar la presencia, la concentración y la composición de las partículas finas en el AMCM.

3.2. Las PM_{2.5}: origen, composición y sus efectos a la salud humana

Las PM_{2.5} son parte de una mezcla compleja de sustancias suspendidas en la atmósfera en estado sólido o líquido con diferentes propiedades y origen (Jacobson 2002), en este rango de tamaño las partículas se emiten directamente o se forman en la atmósfera por procesos de conversión de fase gas a partícula (Seinfeld y Pandis 2006). Una vez que se encuentran suspendidas en el aire, pueden cambiar su tamaño y composición a través de procesos físicos (**Figura 2.1**) como la *condensación* de vapores y la *coagulación* o colisión con otras partículas más pequeñas o de igual tamaño que son emitidas directamente por la combustión incompleta de diversos materiales o pueden provenir de reacciones de transformación química en fase gas o partícula (Finlayson-Pitts y Pitts 1997).

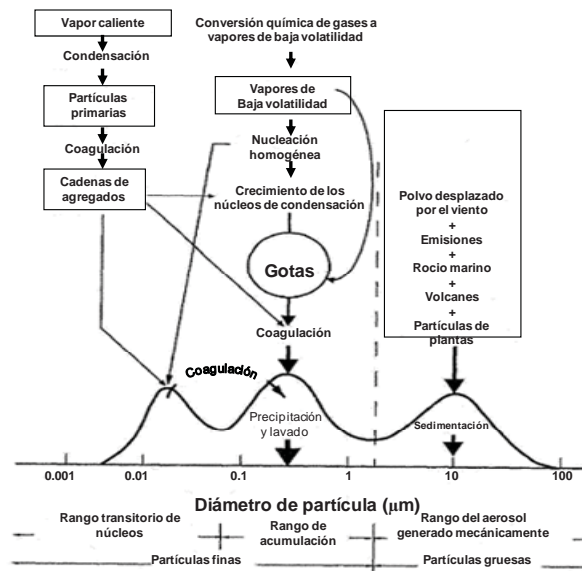


Figura 2.1. Clasificación y procesos de formación y remoción de partículas (Modificado de Seinfeld y Pandis 2006)

En zonas urbanas, que es el modelo de sitio de estudio que se aborda en este trabajo, las partículas finas se emiten principalmente por la actividad industrial (Han *et al.* 2008, Karnae y Jhon 2011), el transporte de carga y pasajeros (Fondelli *et al.* 2008, Hochstetler *et al.* 2011), la generación de energía eléctrica (Watson *et al.* 2001), fuentes naturales (Braga *et al.* 2005), material secundario que se forma por reacciones en fase gas (Cheung *et al.* 2005, Kim *et al.* 2007) y por el transporte de contaminantes desde otras localidades (Bae *et al.* 2011), por lo que su composición resulta compleja y variable (Finlayson-Pitts y Pitts 1997). Generalmente, incluye componentes como metales (hierro, manganeso, zinc, vanadio, cobre, níquel, titanio) (Bem *et al.* 2003, Cyrus *et al.* 2003, Mouli *et al.* 2006), iones inorgánicos (sulfatos, nitratos, cloruros, sodio, potasio, calcio y magnesio) (Walker *et al.* 2004, Reiss *et al.* 2007) y distintas clases de compuestos orgánicos con diferentes propiedades fisicoquímicas (Welthagen *et al.* 2003).

Estudios epidemiológicos demuestran y coinciden en que existe asociación positiva entre exposición a partículas y la ocurrencia de infecciones respiratorias, cáncer de pulmón y enfermedades respiratorias crónicas y cardiovasculares agudas, convirtiéndolas en un importante factor ambiental de riesgo para la salud (Englert 2004, Kappos *et al.* 2004). Concretamente, a la fracción particulada fina, se le atribuye la más alta toxicidad respecto a otros tamaños de partículas (De Kok *et al.* 2006), ya que se ha demostrado que el incremento de sus concentraciones eleva significativamente el riesgo de mortalidad y morbilidad humana debido a complicaciones cardiopulmonares y cáncer de pulmón (Pope *et al.* 2002) o por padecimientos cardiacos (Peters 2005) con mayor efecto en ancianos (Lee *et al.* 2007) y niños (Janssen *et al.* 2003) que son las poblaciones más susceptibles y con serias implicaciones en la mortalidad prematura y disminución en la expectativa de vida (Kampa y Castanas 2008). Diversos estudios toxicológicos, sugieren que estas partículas inducen probablemente mayores efectos citotóxicos, que las de mayor diámetro, así, en ensayos con células humanas, hay evidencia sobre estrés oxidante, inflamación en células epiteliales y pulmonares (Dagher *et al.* 2006), carcinogenicidad (De Kok *et al.* 2006), mutagenicidad (Hannigan *et al.* 1998, Pedersen *et al.* 2004, Claxton y Woodall 2007, Gilli *et al.* 2007) y daños al ADN (Abou *et al.* 2007, Meng y Zhang 2007). Además, mediante modelos biológicos de prueba se ha demostrado que las partículas podrían tener efectos

mutagénicos (Kawanaka *et al.* 2004) e incremento de macrófagos alveolares en células de mamíferos (Guo *et al.* 2006).

La asociación con problemas de salud y las propiedades toxicológicas de las partículas se atribuyen generalmente a una diversidad de factores, es así como se ha comprobado que estas partículas por su tamaño pueden alcanzar más fácilmente la región alveolar que es donde se produce el intercambio de gases (Levy y Spengler 2000), la cual es más susceptible a los efectos de las partículas que allí se depositan, ya que posee los mecanismos de expulsión más lentos de todo el tracto respiratorio y carece de una capa protectora de mucosa que cubra estos tejidos pulmonares (Finlayson-Pitts y Pitts 2000). También, se ha sugerido que estas partículas, respecto a partículas más grandes, adsorben y transportan una masa más alta de componentes (Kawanaka *et al.* 2004) y tienen una mezcla bastante compleja de distintas especies químicas con diferentes propiedades fisicoquímicas y toxicológicas (Finlayson-Pitts y Pitts 2000) debido a la naturaleza de su formación y a su mayor área superficial. Sin embargo, una de las hipótesis más aceptadas recientemente es que las características toxicológicas se originan probablemente por especies químicas asociadas a la fase particulada que poseen la capacidad de inducir estos efectos (De Kok *et al.* 2006), es así como se ha encontrado que la actividad carcinogénica se atribuye principalmente a la presencia de hidrocarburos aromáticos policíclicos, nitroarenos y otros compuestos aromáticos (Claxton y Woodall 2007), mientras que la fracción orgánica, constituida por COVs (compuestos orgánicos volátiles) o HAP, incrementa significativamente la activación metabólica de células humanas pulmonares expuestas a partículas (Billet *et al.* 2007). Por otro lado, se ha sugerido que una porción significativa de la potencia mutagénica de extractos orgánicos complejos, evaluada con células humanas, se debe a la presencia de compuestos aromáticos policíclicos (Pohjola *et al.* 2003), mientras que la capacidad oxidante de las partículas se ha atribuido principalmente a los metales de transición (Prahalad *et al.* 1999).

3.3. Compuestos orgánicos en las PM_{2.5}: propiedades fisicoquímicas, origen y efectos a la salud

El material particulado carbonoso se encuentra constituido principalmente por dos grandes componentes, carbono negro y carbono orgánico (Seinfeld y Pandis 2006). El carbono negro que se denomina también carbono elemental (CE) tiene una estructura similar al grafito, se produce solamente en los procesos de combustión y, por tanto, es únicamente de origen primario (Safai *et al.* 2007, Mahmoud *et al.* 2008). Por el contrario, el carbono orgánico (CO), es una mezcla compleja de diversas clases de compuestos, que abarca un amplio rango de propiedades químicas y termodinámicas, puede ser emitido directamente desde la fuente o producido a través de reacciones atmosféricas que involucran precursores orgánicos en fase gas (formación de aerosol orgánico secundario). Así, los compuestos de baja volatilidad producidos por la oxidación de gases orgánicos reactivos, se condensan o se adsorben/absorben a las partículas, transformándose en material que se adiciona a las partículas (Kim *et al.* 2006). Tanto las fuentes biogénicas como las antrópicas pueden contribuir a la formación del CO (Lonati *et al.* 2008, Reyes-Rodríguez *et al.* 2009). Sin embargo, la presencia, las concentraciones atmosféricas en la fase partícula y los mecanismos de formación de los componentes individuales originados por las diferentes fuentes pueden depender de diversos procesos que son regulados por el comportamiento de las variables ambientales (Hien *et al.* 2007), de las condiciones para la formación de los precursores (Yasaa *et al.* 2001) o de las propiedades fisicoquímicas del compuesto (Albinet *et al.* 2006). En el componente orgánico de las partículas finas, que puede representar entre 10 y 70 % de la masa seca total (Turpin *et al.* 2000), se han podido identificar cientos de distintos compuestos. Sin embargo, son de mayor interés aquéllos que son indicadores de fuentes, portadores de propiedades fisicoquímicas que alteran las condiciones ambientales o que poseen propiedades toxicológicas que representan riesgo para la salud como los *n*-alcanos, los HAP y los oxi-HAP. A continuación se hace una breve descripción de sus propiedades fisicoquímicas, el origen, sus fuentes y los posibles efectos a la salud con el fin de contextualizar el estudio.

2.3.1. Los *n*-Alcanos

Los *n*-alcanos son hidrocarburos de cadena lineal con fórmula general C_nH_{2n+2} , sin grupos funcionales, que tienen una velocidad de reacción con radicales OH más baja en la atmósfera que sus homólogos ramificados y los insaturados (*n*-alquenos) (Seinfeld y Pandis 2006), debido a que el esqueleto carbonado que los compone solamente se encuentra unido mediante enlaces tipo sigma (-C-C-) que son más fuertes que los enlaces tipo π en los *n*-alquenos. Además, sólo poseen carbonos primarios (-CH₃) y secundarios (-CH₂-) que son menos reactivos que los terciarios (Seinfeld y Pandis 2006).

El interés en su determinación surge principalmente de la información que brindan como marcadores orgánicos de fuentes antrópicas o biogénicas (Simoneit 1986, Amador-Muñoz *et al.* 2011) y de la posibilidad, derivada de su origen, para ayudar a identificar fuentes. Aunque son insuficientes para la asignación categórica de una fuente específica, ya que se requiere de otras especies químicas para ese propósito. En la materia particulada suspendida, la presencia de los *n*-alcanos con número de carbonos impar se atribuye principalmente a emisiones biogénicas, mientras que los de número par indican contribución de fuentes antrópicas, por lo que la proporción entre la abundancia de estos dos grupos de compuestos (impar/par), que se utiliza para definir el índice preferente de carbono (IPC), mide la contribución aproximada por productos petroquímicos. Un ICP > 3 indica predominio de fuentes biogénicas, mientras que un ICP \approx 1, indica fuentes antrópicas. Sin embargo se ha sugerido que los *n*-alcanos de cadenas cortas (C₁₇ a C₂₆) son mayoritariamente de origen antrópico (Simoneit y Mazurek 1982), principalmente, por la quema incompleta o emisiones evaporativas de combustibles (Guo *et al.* 2009), aceites lubricantes (Young y Wang 2002) y la quema de biomasa (Cheng *et al.* 2006), mientras que los de cadenas largas (C₂₇ a C₃₅) se atribuyen a fuentes biogénicas como partículas cerosas de hojas en plantas superiores (Guo *et al.* 2009)-considerada como una de las más importantes-, la suspensión directa de polen, los residuos vegetales y la degradación microbiana (Feng *et al.* 2006).

También, la más alta concentración de *n*-alcanos individuales o número de carbono máximo (C_{max}) puede ser utilizado como un indicador de la contribución relativa por

diversas fuentes. Por, ejemplo, la máxima abundancia de C_{17} (dentro de la serie C_{13} a C_{20}) se podría atribuir a restos de combustible sin quemar. Un máximo en la distribución de n -alcanos entre C_{19} a C_{26} indica quema de diesel y es similar al perfil de las emisiones de motores que muestran un máximo entre C_{22} y C_{23} (Simoneit 1984). Por otro lado, los máximos en C_{19} , C_{24} y C_{25} sugieren el empleo de combustibles fósiles (Young *et al.* 2002), mientras que C_{29} , C_{30} y C_{31} son importantes biomarcadores emitidos por la cera de hojas en plantas superiores (Rogge *et al.* 1993, Andreou y Rapsomanikis 2009).

La abundancia de los n -alcanos en las partículas depende también de los cambios de las condiciones meteorológicas que se experimentan entre temporadas, esto se debe principalmente a que estos compuestos son semivolátiles y así sus coeficientes de partición entre ambas fases (gas/partícula) dependen de la temperatura (Li *et al.* 2010). Tong *et al.* (1995) mostraron que cerca del 80 % de los n -alcanos totales se encontraron en fase gas en verano, mientras que en invierno la distribución se invirtió y la mayoría se asoció a la fase partícula. Las mayores concentraciones en la temporada de verano las explicaron con base en los incrementos de las emisiones locales por el uso de combustibles, mientras que las menores se las atribuyeron a la ausencia de fuentes de temporada (calentamiento residencial) y condiciones favorables para la dispersión. Los valores de IPC, con frecuencia, se incrementan en temporadas más cálidas, es decir que la contribución por fuentes biogénicas se hace más importante, debido a que es la época en la que naturalmente las plantas florecen (Duan *et al.* 2010, Amador-Muñoz *et al.* 2011), además los n -alcanos más pesados son menos afectados por el incremento de las temperaturas.

La distribución de los n -alcanos a través de los diferentes rangos de tamaños de partículas es gobernado principalmente por el tipo de fuente, compuestos menores que C_{24} se distribuyen mayoritariamente en partículas finas, mientras que los emitidos por fuentes biogénicas se desplazan hacia tamaños mayores, esto se debe a la naturaleza de los procesos que los originan, partículas más pequeñas de n -alcanos son emitidas por procesos de combustión que son emisiones frescas, mientras que partículas de n -alcanos más grandes ingresan por mecanismos que implican el desprendimiento de la cera de las hojas de plantas superiores (Tremblay *et al.* 2007).

2.3.2. Hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAP)

Los HAP son un grupo de cientos de compuestos que tienen una estructura molecular (**Anexo I**) constituida por dos o más anillos de benceno y ciclopentadieno fusionados con solamente átomos de carbono e hidrógeno (Tran *et al.* 2007). Los HAP son los más estudiados en la materia orgánica policíclica (MOP), que incluye compuestos orgánicos con más de un anillo aromático y puntos de ebullición mayor a 100 °C (**Anexo II**). En el aire, los HAP constituidos por dos anillos bencénicos son volátiles y se encuentran predominantemente en fase gas. Aquéllos conformados por 3 y 4 anillos son semivolátiles y se encuentran distribuidos entre las fase gas y partícula. Mientras que los que están constituidos por cinco anillos o más se adsorben/absorben a las partículas finas respirables. Esto puede variar con las condiciones ambientales y depende de los coeficientes de partición (K_p) entre las fases (gas/partícula) y de la temperatura (Finlayson-Pitts y Pitts 2000).

Estos compuestos se forman, casi exclusivamente, a través de procesos de combustión incompleta y entran en el aire ambiente como una mezcla compleja de contaminantes que se absorben o adsorben a la superficie de partículas emitidas directamente de la fuente que los convierte en marcadores para su identificación. En zonas urbanas se emiten principalmente por fuentes móviles que utilizan diesel o gasolina (Kavouras *et al.* 1999, Guo *et al.* 2003, Kristensson *et al.* 2004, Mantis *et al.* 2005, Sierra *et al.* 2005), sin embargo pueden ser también incorporados en la atmósfera citadina por la quema de biomasa en cultivos o incendios forestales, quema de madera, humo de cigarrillo, por el uso de carbón o madera para la cocción de alimentos y la calefacción, también los procesos industriales y las termoeléctricas pueden aportar cantidades significativas (Hays *et al.* 2003, Manoli *et al.* 2004).

Las mediciones realizadas para determinar la distribución del tamaño de las partículas que caracteriza a los HAP muestra que en emisiones directas por procesos de combustión, se ha encontrado que los HAP se acumulan en tamaños de partículas ultrafinas (0.01 a 0.5 μm) con una distribución unimodal, mientras que mediciones en aire ambiente muestran una distribución bimodal con acumulación hacia partículas de mayor tamaño (0.5 a 1 μm)

(Allen *et al.* 1996, 1998, Leotz-Gartziandia *et al.* 2000). Este doble modo de acumulación indica que los HAP experimentan probablemente una transferencia de masa desde partículas finas hacia las más gruesas (1 μm a 2.5 μm) por medio del crecimiento de las partículas emitidas recientemente (colisiones) o por la volatilización desde las partículas más pequeñas seguida por la condensación sobre partículas gruesas (Schnelle-Kreis *et al.* 2001). Estos fenómenos, aunque no son objeto de estudio en este trabajo ayudan a comprender el origen, el destino y el efecto de los HAP, ya que en parte estos dependen de la distribución que tengan los HAP en los diferentes tamaños de las partículas. Por ejemplo, la tasa con la que los HAP son removidos por deposición seca o húmeda dependerá del tamaño de la partícula con la que se encuentren asociados (Allen *et al.* 1996), o bien y como se ha mencionado, las partículas más pequeñas tienen mayor probabilidad de depositarse en la región alveolar que las más grandes.

Las propiedades toxicológicas que poseen los HAP son uno de los mayores factores de riesgo derivados de la exposición aguda o prolongada a partículas finas respirables que los contienen y una de las mayores razones para su determinación. Desde finales del siglo XVIII se tiene evidencia del desarrollo de cáncer por exposición a benzo[*a*]pireno y de su identificación en extractos de partículas de aire ambiente con actividad carcinogénica (Finlayson-Pitts y Pitts 2000), mientras que la Agencia de Protección Ambiental (p.s.i EPA), cataloga a 16 de éstos como sustancias de alto riesgo para la salud, incluso para la mayoría de ellos hay suficiente evidencia de ser cancerígenos en animales o posibles y probables cancerígenos en humanos (IARC 1987). También se ha demostrado que podrían ser los responsables de una parte significativa de la actividad mutagénica detectada en mezclas complejas obtenidas de muestras de aire ambiente en PM₁₀ (De Martinis *et al.* 2002, Du Four *et al.* 2005, Villalobos-Pietrini *et al.* 2007) y en partículas finas y ultrafinas (Kawanaka *et al.* 2004), de hecho se ha observado que las PM_{2.5} contienen niveles más altos de HAP, con propiedades carcinogénicas, que PM₁₀ y PST (partículas suspendidas totales) (De Kok *et al.* 2005) y podrían actuar sinérgicamente con metales de transición y quinonas para la formación de especies reactivas de oxígeno (p.s.i ROS), las cuales atacan moléculas de lípidos, proteínas y el ADN provocando muerte celular en tejidos expuestos directamente como los pulmones (Valavanidis *et al.* 2005).

2.3.3. Hidrocarburos aromáticos policíclicos oxigenados (oxi-HAP)

Esta es una de las diversas clases de compuestos que ha sido también detectada en las partículas finas suspendidas en el aire. Los oxi-HAP (**Anexo III**) contienen uno o más grupos carboxílicos unidos a la estructura conformada por anillos bencénicos fusionados (Lundstedt *et al.* 2007) que se caracterizan por poseer pesos moleculares más altos y presiones de vapor (**Anexo IV**) más bajas (entre 10^{-4} y 10^{-11} atm) que sus precursores HAP (Sienra *et al.* 2006). Por tanto son compuestos orgánicos semivolátiles que después de formarse tienen una tendencia mayor, que los HAP, a ser adsorbidos a la fase particulada (Vione *et al.* 2004).

Estos compuestos se emiten directamente o se forman en la atmósfera mediante la reacción de los HAP con especies químicas oxigenadas como ozono y radicales hidroxilo (OH^\bullet) durante el día y nitrato (NO_3^\bullet) en la noche y por fotorreacciones inducidas por luz UV (Vione *et al.* 2004, 2006), todas favorecidas principalmente en fase gas. Los oxi-HAP en fase particulada y gas, que se incorporan directamente a la atmósfera, se generan principalmente por procesos de combustión incompleta de diesel (Jakober *et al.* 2006, Wang *et al.* 2007) y gasolina (Oda *et al.* 2001, Jakober *et al.* 2007), quema (Simoneit *et al.* 2007, Bi *et al.* 2008) y producción de carbón (Ré-Poppi y Santiago-Silva 2002), distintos materiales como desechos domésticos (Sidhu *et al.* 2005), quema de biomasa (Gullett *et al.* 2003) y partículas de humo de madera (Fine *et al.* 2001).

La distribución entre los diferentes tamaños de partículas suspendidas indican que los oxi-HAP después de que se emiten por procesos de combustión o foto-oxidación en fase gas y su posterior condensación, se asocian inicialmente con partículas ultrafinas ($< 1.5 \mu\text{m}$) (Schnelle-Kreis *et al.* 2001) como sucede con los HAP, sin embargo podrían experimentar posteriormente transferencia hacia partículas finas ($< 2.5 \mu\text{m}$) a través de procesos de vaporización y absorción regulados probablemente por el peso molecular y la presión de vapor de los compuestos (Allen *et al.* 1997). Este fenómeno de partición entre partículas de distintos tamaños, es de utilidad para contribuir a revelar el origen y los mecanismos fisicoquímicos que alteran el ambiente por partículas y en especial por los riesgos que los oxi-HAP representan para la salud de las personas, ya que sería posible, con base en el

tamaño de partícula y el grado de la relación con otras propiedades físicas (área superficial, volumen de partículas, morfología), predecir la disposición en el ambiente y su posible responsabilidad en los problemas de salud (Boezen *et al.* 1999, Tiittanen *et al.* 1999).

Los oxi-HAP, por lo tanto, constituyen también un factor de riesgo ambiental de salud. Estos compuestos son más tóxicos que sus precursores HAP, debido principalmente a que son mutágenos directos, es decir que prescinden de una oxidación enzimática para provocar la reversión de células mutantes a su estado natural y favorecer su crecimiento (Finlayson-Pitts y Pitts 2000), esto se ha demostrado a través de ensayos con bacterias (McDonald *et al.* 2004) y células humanas (Durant *et al.* 1996, Pedersen *et al.* 2004). En partículas diesel, una parte significativa de la toxicidad se atribuye a la presencia de oxi-HAP (Wang *et al.* 2007), particularmente a las quinonas y a sus productos de reducción, las hidroquinonas y semiquinonas, debido a que se ha mostrado que forman especies reactivas de oxígeno (p.s.i ROS) y enlaces covalentes con las macromoléculas de los tejidos (Henry y Wallace 1996), que son la posible causa del estrés oxidante (Bolton *et al.* 2000), produciendo daño celular e induciendo respuestas biológicas como inflamación y apoptosis. También, Walgraeve *et al.* (2010) reportaron que los oxi-HAP son posibles disruptores endocrinos. Recientemente, se encontró que 1,2-naftoquinona (1,2-NQ) identificada en partículas diesel y PM_{2.5} produce contracción de la tráquea en conejillos (Kikuno *et al.* 2005). Además, fracciones acuosas medianamente polares de extractos de humo de madera mostraron citotoxicidad más alta relacionada con la presencia de oxi-HAP y otras especies químicas (Kubatova *et al.* 2002).

3.4. Análisis de componentes orgánicos en partículas suspendidas

La complejidad química y la variabilidad de las propiedades y concentraciones de las sustancias que componen a las partículas suspendidas en el aire, producto de las diversas fuentes y los procesos que las originan, han implicado el empleo y desarrollo de métodos de análisis que contribuyen a disminuir la posibilidad de interferencias y en consecuencia a incrementar la confiabilidad de las determinaciones. Estas dificultades se minimizan a través de procedimientos analíticos que constituyen convencionalmente una etapa de tratamiento o preparación en la que los componentes se extraen desde la muestra (Marvin *et*

al. 1992) y en una segunda etapa donde se transfieren directamente (Pankow *et al.* 1998) o posteriormente a un sistema de análisis químico que los separa, identifica y cuantifica. Sin embargo, por la naturaleza de la formación y la complejidad química de las partículas atmosféricas se debe incorporar un paso adicional que purifique o pre-separe los componentes con el fin de remover interferentes que causen errores en la identificación y la cuantificación, que contaminen los inyectores, los detectores y la columna cromatográfica y deteriore la resolución entre los compuestos de interés (Mitra 2003).

2.4.1. Técnicas de extracción

Los componentes que constituyen la muestra, convencionalmente se extraen mediante distintos sistemas que transfieren la masa del analito desde la muestra a un disolvente orgánico; con este propósito se ha utilizado la extracción por Soxhlet, que se cataloga como la técnica estándar para recuperar los compuestos orgánicos semivolátiles de matrices sólidas (EPA 1996b, AOAC 1973), en el que un disolvente orgánico fresco (aproximadamente 300 mL) recircula a través de repetidos ciclos de evaporación, condensación, extracción de los analitos, que se acumulan porque tienen mayor punto de ebullición que el disolvente. Otro sistema de extracción comúnmente empleado es mediante el uso de sondas de baños ultrasónicos (EPA 2007a) que mediante vibraciones generan burbujas microscópicas que se contraen y expanden hasta alcanzar un tamaño crítico (cavitación) produciendo la agitación de la muestra y la ruptura de las partículas sólidas (Sogorb y Vilanova 2004). Recientemente se ha aplicado la técnica de fluidos supercríticos (EPA 1996c, 1996d, 2007b) en la que el agente extractante es un gas en condiciones supercríticas, donde la baja viscosidad y la tensión superficial cercana a cero que lo caracteriza, favorece que su ingreso a los intersticios de la muestra sólida sea mucho más rápido que para la mayoría de los líquidos, y cuando la extracción es completa, el gas se remueve del extracto simplemente bajando la presión.

Disolventes orgánicos como benceno y tolueno prácticamente se han dejado de emplear para extraer compuestos orgánicos de partículas (Marvin y Hewitt 2007) debido a su toxicidad, además se ha demostrado que el tolueno incorpora diversas interferencias que podrían sesgar la identificación y la cuantificación cuando se trata de determinar HAP

(Borrás *et al.* 2007). Hexano, cloruro de metileno, acetona y metanol son todavía muy utilizados, sin embargo se ha observado que disolventes polares como acetona y metanol, aunque son excelentes extractantes, resultan poco selectivos para la extracción de la componente orgánica, ya que pueden disolver con facilidad especies inorgánicas (metanol > acetona) proporcionando extractos muy complejos que podrían dificultar el análisis químico o biológico (Gundel *et al.* 1993). Por otro lado, el hexano es excelente para extraer eficientemente componentes orgánicos pero de naturaleza no polar, mientras que el cloruro de metileno funciona bien para la extracción de un amplio rango de clases de compuestos orgánicos de naturaleza polar y no polar (Marvin y Hewitt 2007) y ha resultado ser el más extensamente utilizado debido a su volatilidad y alta eficiencia.

Una alternativa a la extracción con disolventes, es la termodesorción (TDA) que transfiere los componentes, volátiles y semivolátiles, desde las partículas directamente al cromatógrafo de gases (CG) con una rampa de temperatura. Este método ha sido usado para analizar compuestos orgánicos semi-volátiles en matrices como suelos y para determinar compuestos orgánicos volátiles en aire usando tubos con multiadsorbentes (Pankow *et al.* 1998). Sin embargo, los costos que representa y la complejidad instrumental todavía son desventajas para su empleo como técnica de rutina.

A pesar de las diversas opciones de los sistemas de extracción, el empleo de disolventes orgánicos y ultrasonido es una combinación que ha resultado muy confiable para la obtención de extractos orgánicos de distintas matrices sólidas (Mitra 2003) y aeropartículas (Marvin y Hewitt 2007, Valle-Hernández *et al.* 2010). Su uso ha sido ampliamente aceptado debido a que proporciona eficiencias tan altas y reproducibles como el Soxhlet, considerada la técnica de referencia (Marvin *et al.* 1992), y aunque se ha visto razonablemente amenazada por el desarrollo y ventajoso desempeño de nuevas técnicas como fluidos supercríticos (Castells *et al.* 2003) y microondas (Bélanger y Paré 2006) todavía su simplicidad operacional, rapidez, costos y reducidas cantidades de disolventes y consumibles la hacen una técnica bastante atractiva (Christensen *et al.* 2005). La aplicación de esta técnica para la obtención de la materia orgánica de PM_{2.5} se ha demostrado extensamente (Amador-Muñoz *et al.* 2011) para la determinación de sus distintas clases de

compuestos orgánicos como los que se pretenden analizar en este estudio, *n*-alcanos (Wang *et al.* 2006, Karanasiou *et al.* 2007, Duan *et al.* 2010), HAP (Piñeiro-Iglesias *et al.* 2004, McKenzie *et al.* 2005) y oxi-HAP (Lintelman *et al.* 2006, Delhomme *et al.* 2008).

2.4.2. Purificación de los extractos orgánicos complejos

Debido a la complejidad química de los extractos orgánicos obtenidos de las aeropartículas es necesaria su posterior purificación o fraccionamiento, donde sus componentes separados por familias de grupos funcionales se analizan por distintas técnicas cromatográficas. Entre los procedimientos de purificación más frecuentemente empleados, se encuentra la técnica de extracción en fase sólida (EFS), que utiliza una fase estacionaria sólida empacada, bien sea en columna abierta de vidrio o tubos de polipropileno (Thurman y Mills 1998), que facilita la separación de los componentes del extracto por familias y su obtención en fracciones de menor complejidad química para minimizar la probabilidad de interferencias. Así, el extracto se pasa a través de la columna empacada y sus componentes se eluyen selectivamente mediante cambios en la polaridad de la fase móvil constituida por disolventes orgánicos individuales (o mezclas) de polaridad creciente o decreciente que favorecen desorción selectiva mediante la ruptura de los mecanismos de retención entre los componentes y los sitios activos de la fase estacionaria, interacciones de van de Waals, puentes de hidrógeno y fuerzas dipolo-dipolo (Thurman y Mills 1998). Además, La EFS tiene la ventaja de ser más simple y económica, consumir menos volumen de disolvente y es más fácilmente automatizable (Mitra 2003) que la cromatografía de líquidos de alta resolución (CLAR), cuando se ha utilizado también con este propósito (Arey *et al.* 1992).

La separación o purificación de los extractos orgánicos de las partículas convencionalmente se realiza a través de columnas empacadas con fases estacionarias polares como alúmina y sílica (Moyano y Galceran 1997), sin embargo se ha reportado que el empleo de estos materiales podría disminuir los recobros del contenido de materia orgánica (Saldarriaga *et al.* 2008) o retener irreversiblemente a las especies químicas más polares y dificultar su determinación o sesgar los resultados de ensayos biológicos que tratan de evaluar los efectos a la salud (De Marini *et al.* 1992). Como una alternativa a ello, se ha propuesto el empleo de materiales con base sílica pero modificados con sustituyentes menos polares

como cianopropilo o aminopropilo que disminuyen la capacidad de retención y contribuyen a preservar la integridad química de la muestra y las especies responsables de los efectos toxicológicos de este tipo de muestras, ya que minimizan la interacción de las terminaciones de los silanoles en la sílica con los componentes más polares del extracto orgánico (Thurman y Mills 1998).

2.4.3. Análisis químico: identificación y cuantificación

El análisis químico de los compuestos orgánicos en partículas, se realiza comúnmente mediante cromatografía de gases (CG) con espectrometría de masas (EM) que posibilita obtener información cualitativa y cuantitativa de cada uno de los componentes de una mezcla, ya que se combina la capacidad de separación (CG) con la detección y confirmación de cada especie química (McNair y Miller 1998), convirtiéndola en una herramienta con mayores ventajas para minimizar “fallos” positivos como CG-FID (p.s.i detector de ionización de flama) para la cuantificación de *n*-alcanos (Cheng y Li 2004), CG-ECD (p.s.i detector de captura electrónica) o CG-NPD (p.s.i detector de nitrógeno y fósforo) para el análisis de oxi-HAP (Schlemitz *et al.* 1996, Moyano y Galceran 1997, Jinhui y Lee 2001, Castells *et al.* 2003) o sistemas de cromatografía de líquidos (CL) con detectores de fluorescencia y ultravioleta (UV) para HAP (EPA 1986a) que brindan mayor sensibilidad que los análisis por CG-EM, ya que responden a una propiedad específica de los compuestos. Sin embargo la identificación se basa solamente en el tiempo de retención. A pesar de esto, la CG-EM ha emergido como una de las técnicas de mayor empleo para el análisis de contaminantes orgánicos volátiles y semivolátiles en aeropartículas, ya que los costos derivados de su complejidad técnica y mantenimiento especializado son compensados por la información que pueden proporcionar. Otras técnicas basadas en la CG-EM, que se han desarrollado con el fin de revelar la naturaleza química de muestras muy complejas y que pretenden minimizar su tratamiento, han surgido como una alternativa confiable para la caracterización química orgánica de partículas. Una de estas es la cromatografía de gases bidimensional (CGXCG) que ofrece mayor poder de resolución que la cromatografía unidimensional (CG) (Marriot y Shellie 2002) ya que utiliza arreglos que separan los componentes orgánicos de la muestra de acuerdo con su polaridad y presión de vapor. De esta forma, se pueden utilizar más criterios para identificar las especies

químicas, donde además del tiempo de retención, es posible obtener separaciones por grupos de compuestos con propiedades similares e información estructural cuando se encuentran acoplados con analizadores de masas. Su aplicación a $PM_{2.5}$ se ha demostrado mediante la identificación y la cuantificación de cientos de compuestos en una muestra y en una sola corrida (Welthagen *et al.* 2003) y para la determinación de HAP y oxi-HAP (Kallio *et al.* 2003). Técnicas más recientes aprovechan el acople de la cromatografía de líquidos (CL) con espectrómetros de masas (CL-EM) o en tándem (CL-EM/EM). En estos sistemas, la limitación por la volatilidad de la muestra deja de ser una dificultad y mayor detalle en la información estructural se obtiene para facilitar la identificación de especies conocidas, así como la elucidación de isómeros o la sugerencia de nuevas especies (Willoughby *et al.* 1998). La CL-EM/EM ha brindado menores límites de detección que los que se han encontrado con CG-EM cuando se ha aplicado para la determinación de oxi-HAP en partículas (Lintelmann *et al.* 2006). Finalmente, se han intentado arreglos muy novedosos que buscan aprovechar las ventajas que ofrecen las diversas técnicas descritas. Por ejemplo, Goldstein *et al.* (2008) probaron el acople de TDA-CGxCG-EM para la determinación *en línea* de los componentes orgánicos de partículas. Sin embargo, son acoples que no ofrecen todavía buena relación costo-beneficio y es necesario trabajar aún más en la estandarización para incrementar la confiabilidad de sus mediciones.

3. ASPECTOS EXPERIMENTALES

3.1. Muestreo de PM_{2.5}

3.1.1. Ubicación geográfica, selección y descripción de los sitios de estudio

Las PM_{2.5} se colectaron en cinco sitios del AMCM: Tlalnepantla (TLA), San Agustín (SAG), La Merced (MER), Coyoacán (COY) y UAM-Iztapalapa (UIZ) situados al Noroeste (NO), Noreste (NE), Centro (CE), Suroeste (SO) y Sureste (SE), respectivamente (Figura 3.1).

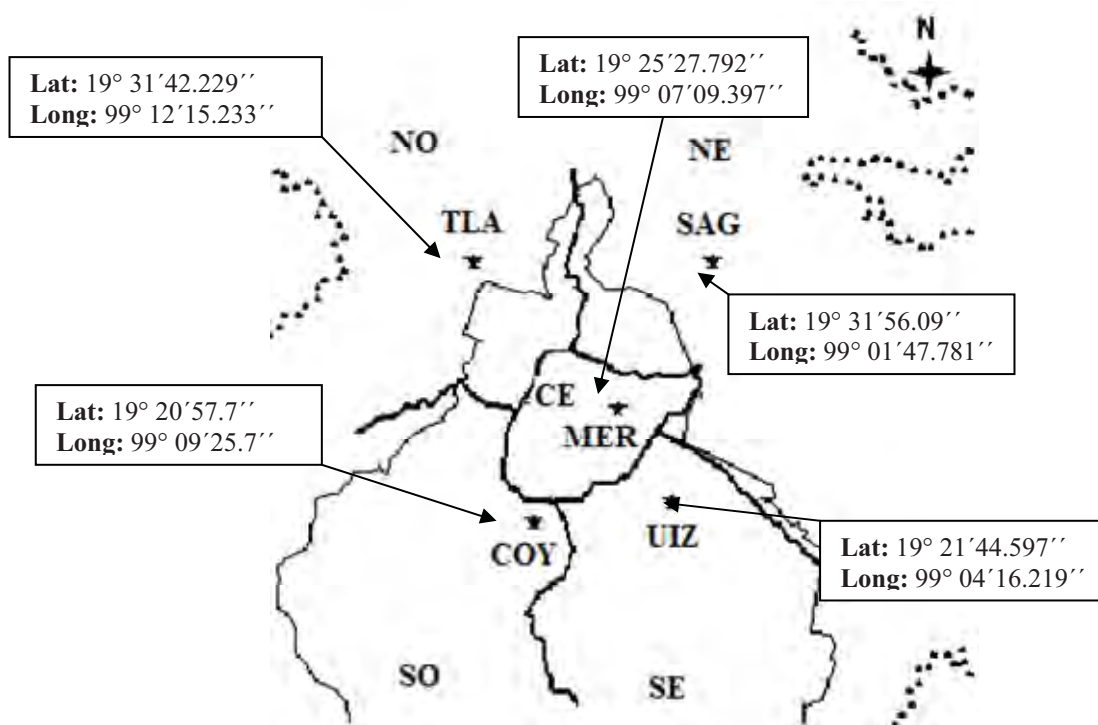


Figura 3.1. Ubicación de los sitios de muestreo en el AMCM

La ubicación de los sitios corresponde con estaciones del sistema de monitoreo y muestreo atmosférico de la Ciudad de México. En ellos existen mediciones históricas de la meteorología (temperatura, humedad relativa, velocidad y dirección del viento y radiación) y de los contaminantes criterio en fase gas (O₃, CO, SO₂, NO_x) y particulada (PM_{2.5} y PM₁₀). Estos sitios han sido estudiados previamente (Chow *et al.* 2002, Amador-Muñoz *et al.* 2011) debido al tipo de giro de cada zona y a la densidad de población que representan (Tabla 3.1).

Tabla 3.1. Clasificación y descripción de los sitios de muestreo

Estación	Descripción
San Agustín	Tipo: Urbano Se ubica en el Centro de Salud Comunitario "San Agustín" en un área urbana, principalmente habitacional. Se ubica en la esquina de las calles "Sur 88" y "Sur 90", ambas presentan circulación en ambos sentidos y flujo vehicular bajo de autos particulares. Los parques que se encuentran en las calles circundantes cuentan con vegetación de temporal. A 325 m al este de la estación de monitoreo y muestreo se localiza la Avenida Hank González que presenta circulación en ambos sentidos (con 7 carriles cada uno) y flujo vehicular alto de autos particulares, taxis, microbuses, autobuses locales y foráneos, camiones de carga, pick-up y motocicletas.
Tlalnepantla	Tipo: Industrial urbano La Glorieta de Atlacomulco se encuentra en un área urbana principalmente habitacional con algunos comercios y servicios. Se ubica sobre la Avenida Toluca que presenta flujo vehicular moderado de autos particulares, taxis, colectivos (combi), microbuses, camiones de carga y pick-up. A 110 m al suroeste de la EM se encuentran 2 tanques de almacenamiento de combustible. A 100 m al oeste de la EM, dentro de la glorieta, se ubica una pequeña zona arbolada. A 80 m al sur de la EM se localiza un parque con juegos infantiles. A un km de la EM, en dirección de noroeste a este, se encuentra una zona industrial y de bodegas.
La Merced	Tipo: Centro urbano Se encuentra en El Centro de Salud "Luis E. Ruiz" en un área urbana, principalmente habitacional y comercial con escuelas de educación básica, canchas deportivas y parques con vegetación de temporal. Se ubica sobre la Avenida Congreso de la Unión que presenta circulación en ambos sentidos y flujo vehicular alto de autos particulares, microbuses, autobuses, pick-up, camiones de carga, trailers y motocicletas. A 200 m al sureste de la EM se encuentran los campos de tiro de la policía.
UAM-Iztapalapa	Tipo: Urbano La UAM-Iztapalapa, se encuentra en un área urbana principalmente habitacional y comercial. Se ubica sobre la calle Sur 21 que presenta flujo vehicular alto de microbuses y taxis y flujo moderado de autos particulares y camiones de carga. A 3.81 m al suroeste de la EM se encuentra un estacionamiento con capacidad para 200 vehículos. A 10 m al norte y sur de la EM se observan áreas verdes (gramíneas y plantas de ornato) con cubierta

	vegetal todo el año y a 20 m al noroeste de la EM se encuentran las canchas deportivas (basquetbol, voleibol, fútbol).
Coyoacán	<p>Tipo: Urbano</p> <p>Se ubica en una Escuela Secundaria en un área urbana principalmente habitacional. Se localiza sobre la Avenida Miguel Hidalgo (uno de los principales accesos al centro de Coyoacán) y la Calle Fernández Leal, ambas presentan flujo vehicular medio de autos particulares, taxis y microbuses. A 30 m al noreste de la EM se encuentra la Calle Morelos, la cual cuenta con dos carriles y un sentido de circulación y muestra flujo vehicular medio, conformado principalmente de autos particulares, taxis y microbuses. Aproximadamente a 60 m en dirección sur de la EM se encuentra un edificio y los patios de recreo de tres Escuelas.</p>

Tomado de la Red de Monitoreo Atmosférico del Área Metropolitana de la Ciudad de México (SMA 2008a)

3.1.2. Equipo, técnica de muestreo y acondicionamiento de filtros

Las PM_{2.5} se colectaron sobre filtros (20.3 cm x 25.4 cm) de fibra de borosilicato de vidrio recubiertos con politetrafluoroetileno (PTFE) (Pall Life Sciences) (Phousongphouang y Arey 2003) mediante sistemas de muestreo de alto volumen (High-Vol) a flujo de 1.13 m³ min⁻¹ ±10% (**Figura 3.2**) (EPA 1999a). El volumen de muestreo (V_m) en 24 h se corrigió a condiciones de presión (760 mmHg) y temperatura (298 K) estándares (V_{std}) para el reporte de la concentración de partículas (µg m⁻³) y compuestos orgánicos (ng m⁻³ ó pg m⁻³) como lo muestra la ecuación 3.1 (EPA 1999b).

$$V_{std} = V_m \left(\frac{P_{atm}}{P_{std}} \right) \left(\frac{T_{std}}{T_{atm}} \right) \quad (3.1)$$

Donde:

V_{std} (m³) = volumen de gas muestreado, corregido a presión (760 mmHg) y temperatura (298 K) estándares EPA

V_m (m³) = volumen de gas muestreado a presión (P_{atm}) y temperatura (T_{atm}) atmosféricas

T_{std} (K) = temperatura estándar EPA (298 K)

P_{std} (mmHg) = presión estándar EPA (760 mmHg)

T_{atm} (K) = temperatura atmosférica promedio durante el muestreo

P_{atm} (mmHg) = presión atmosférica promedio durante el muestreo

En este muestreador de partículas con diámetro aerodinámico menor a 2.5 µm, el aire ambiente se succiona a través de un grupo de boquillas a un flujo controlado y se direcciona

hacia los impactadores diseñados para que pasen solamente las partículas con tamaño menor que el punto de corte $\leq 2.5 \mu\text{m}$. Aquellas partículas de mayor tamaño o velocidad de asentamiento, se impactarán, mientras que las de menor velocidad de asentamiento seguirán con la corriente de aire hacia un segundo grupo de orificios que las dirige hacia el filtro donde finalmente se impactan (**Figura 3.2**). Los filtros, antes de la colecta, se hornearon en una mufla a $290 \text{ }^\circ\text{C}$ (Pallflex[®] Filters) por 24 h para remover contaminantes orgánicos (Lintelmann *et al.* 2006), se envolvieron en papel aluminio (horneado a $200 \text{ }^\circ\text{C}$) y se sellaron herméticamente dentro de bolsas Ziploc. Posterior al muestreo, se envolvieron de nuevo en el mismo papel aluminio, se transportaron en una hielera a $4 \text{ }^\circ\text{C}$ y se llevaron al laboratorio para almacenarlos a $-80 \text{ }^\circ\text{C}$ hasta su tratamiento y análisis.



Figura 3.2. Equipo de muestreo “High-Vol” y filtro con $\text{PM}_{2.5}$

3.1.3. Diseño del muestreo

En acuerdo con las condiciones meteorológicas y climáticas del Valle de México se han identificado a través de la historia tres temporadas bien definidas: Seca-Caliente (marzo a mayo), Lluvias (junio a octubre) y Seca-Fría (noviembre a febrero) (Jáuregui 2000, SMA 2006). En este estudio se seleccionó un mes representativo de las condiciones de cada temporada. De esta manera, se colectaron muestras en febrero (secas frías) debido a que es el mes más seco de la temporada y tiene la mayor frecuencia de inversiones térmicas

anuales (SMA 2004, 2006, 2008b), abril (secas calientes) porque exhibe la temperatura promedio mensual mayor y uno de los niveles más elevados de radiación solar y agosto (lluvias) debido a que es el más lluvioso y uno de los más húmedos y con la menor frecuencia de inversiones térmicas en el año. El diseño experimental contempló la colección de dos conjuntos de muestras. Los primeros 18 muestreos en noviembre de 2006 (secas frías) con colectas de 72 h cada uno en COY, UIZ y TLA, seis muestras por sitio, se utilizaron para las pruebas preliminares de optimización y el ajuste y estandarización de las condiciones del método analítico sobre matriz. Posteriormente, en febrero (secas frías), abril (secas calientes) y agosto (lluvias) de 2008 se hicieron colectas de 24 h en los cinco sitios. Se obtuvieron un total de 35 muestras, pero solo 30 de ellas resultaron válidas para este estudio y son las que se reportan y se utilizaron para la determinación analítica de las tres clases de compuestos orgánicos (14 *n*-alcanos, 16 HAP y 15 oxi-HAP) en las PM_{2.5}.

3.2. Desarrollo y estandarización de técnicas analíticas

En esta etapa cada unidad experimental (disoluciones multiestándar y muestras reales fortificadas) se trataron de dos formas distintas:

- *Extracción con disolventes orgánicos*

En este tratamiento se optimizaron cuatro condiciones (tipo y cantidad de disolvente orgánico, reducción del exceso de disolvente, temperatura y ciclos de extracción) y como variables de respuesta se midieron los recobros de 14 *n*-alcanos, 16 HAP y 15 oxi-HAP.

- *Fraccionamiento con extracción en fase sólida (EFS)*

En este procedimiento se optimizaron cinco parámetros (tipo y cantidad de fase, densidad del empaque, proporción y cantidad de disolventes y flujo de disolventes) y como variables de respuesta se midieron la eficiencia de separación y los recobros también de 14 *n*-alcanos, 16 HAP y 15 oxi-HAP.

3.2.1. Preparación de material y condiciones del laboratorio

La limpieza del material y las condiciones del laboratorio se cuidaron rigurosamente con el fin de minimizar la contaminación de las muestras. El material de vidrio se sumergió en el baño ultrasónico a temperatura ambiente por 30 minutos, se lavó exhaustivamente con jabón neutro y abundante agua corriente y ultrapura, una vez seco, se limpió con acetona y se horneó por 24 horas (180 °C), se envolvió en papel aluminio y se almacenó en un gabinete. Antes de cada ensayo o lote de extracción, el material con grietas visibles se desechó y aquel con rastros desconocidos se sometió nuevamente al protocolo de lavado. El material volumétrico y el metálico tuvieron el mismo procedimiento con excepción del horneado y el baño ultrasónico. El tratamiento de las muestras se realizó dentro de campanas y extractores que desalojaron continuamente el aire contaminado y lo reemplazaron por aire fresco y limpio. El empleo de batas, guantes de neopreno y tapabocas se mantuvo obligatorio a través del desarrollo del trabajo. Se cuidó la exposición de las muestras y reactivos a luz directa para evitar su descomposición y degradación, se empleó para ello una luz amarilla tenue y recipientes ámbar para su almacenamiento y transporte.

3.2.2. Estándares y preparación de disoluciones de trabajo

Las disoluciones estándares de trabajo de 14 *n*-alcanos (500 µg mL⁻¹) con número par de carbonos (C₁₄ a C₄₀) en *n*-hexano y del Escualeno como estándar interno de los *n*-alcanos se adquirieron del mismo proveedor (Chem Service). Las disoluciones de 16 HAP (naftaleno, acenaftileno, acenafteno, fluoreno, fenantreno, antraceno, fluoranteno, pireno, benzo[*a*]antraceno, criseno, benzo[*b*]fluoranteno, benzo[*k*]fluoranteno, benzo[*a*]pireno, indeno[1,2,3-*cd*]pireno, dibenzo[*a,h*]antraceno y benzo[*ghi*]perileno) a 100 µg mL⁻¹ en cloruro de metileno como los estándares internos, 7 HAP-deuterados (naftaleno-d₈, bifenilo-d₁₀, fenantreno-d₁₀, pireno-d₁₀, benzo[*a*]antraceno-d₁₂, benzo[*a*]pireno-d₁₀, benzo[*ghi*]perileno-d₁₂) a 200 µg mL⁻¹ en tolueno, se compraron a Chiron.

Las disoluciones de los 15 oxi-HAP se prepararon a partir de los estándares individuales en polvo obtenidas de distintos proveedores a saber: perinaftenona, 7*H*-benzo[*de*]antracen-7-ona, benzo[*a*]antracen-7,12-quinona, y 9,10-dihidrobenzo[*a*]piren-7(8*H*)-ona (Chiron); 1,8-anhidrido naftalico, 1,4-naftoquinona y 9,10-antracenoquinona (Fluka); y benzofenona, 1,2-

benzopirona, 9*H*-fluorenona, 9(10*H*)antracena, xantona, 2-metilantraquinona, 1-pirenocarboxialdehído y 5,12-naftacenoquinona (Sigma-Aldrich). Así, de cada estándar de oxi-HAP se pesó aproximadamente 1 mg en un vial ámbar sobre una microbalanza con 1 µg de resolución (Sartorius MC5), se disolvió con el volumen apropiado de tolueno y se obtuvieron las disoluciones individuales corregidas por pureza (desde 2027.30 µg mL⁻¹ hasta 2250.00 µg mL⁻¹) Finalmente, de cada una se tomaron 100 µL, se colocaron en un matraz aforado, se ajustó a 2 mL y se obtuvo la disolución multiestándar de trabajo con los 15 oxi-HAP mencionados previamente (101.360 µg mL⁻¹ – 112.500 µg mL⁻¹). Trifeniletileno y 1,2,3,4,5,6,7,8-octahidroantraceno que actuaron como estándares internos de los oxi-HAP se obtuvieron en polvo (Supelco) y se prepararon de forma similar -que los oxi-HAP- pero en cloruro de metileno.

De las disoluciones de los estándares de trabajo se tomaron las alícuotas y se hicieron las diluciones apropiadas para preparar los patrones de referencia multiestándar que contenían una o simultáneamente las tres clases de compuestos en el disolvente más adecuado de acuerdo con el ensayo o aplicación a realizar y como se especifica en cada una de las siguientes secciones. Las concentraciones de los compuestos fueron consistentes con el orden de magnitud de los niveles ambientales encontrados previamente por otros estudios (Castells *et al.* 2003, Albinet *et al.* 2006, Sienna *et al.* 2006, Amador-Muñoz *et al.* 2011). Todos los estándares y disoluciones de trabajo se prepararon a temperatura ambiente en frascos ámbar de vidrio dentro de una campana de extracción con las medidas de seguridad requeridas para sustancias tóxicas y se almacenaron en la oscuridad a -20 °C para disminuir la degradación y el cambio de la composición. En la preparación de las disoluciones, procedimientos de extracción, fraccionamiento y lavado de materiales se emplearon los disolventes orgánicos *n*-hexano, cloruro de metileno, acetona y metanol con grado HPLC (Marca Burdick y Jackson).

3.2.3. Optimización del procedimiento de extracción con disolventes orgánicos mediante ultrasonido modificado

La extracción con baño ultrasónico se realiza convencionalmente en un recipiente de vidrio abierto y usualmente a temperatura ambiente para evitar la volatilización de los componentes de la solución de extracción (**Figura 3.3a**). Como una alternativa, en este estudio, se propuso la modificación de estas condiciones para incrementar la eficiencia de la extracción. De esta manera, a cada recipiente de extracción se le adaptó un condensador con espiral interno de vidrio (**Figura 3.3b**), por el que continuamente circuló un refrigerante (etilenglicol) que ayudó a condensar el disolvente y los componentes orgánicos de la muestra para que los regrese al recipiente de extracción (reflujo) (**Figura 3.4**) y facilite el empleo de temperaturas superiores que la ambiental. Para evaluar la utilización de la modificación implementada se ensayó la extracción en distintas condiciones como se describe en las siguientes cuatro secciones:

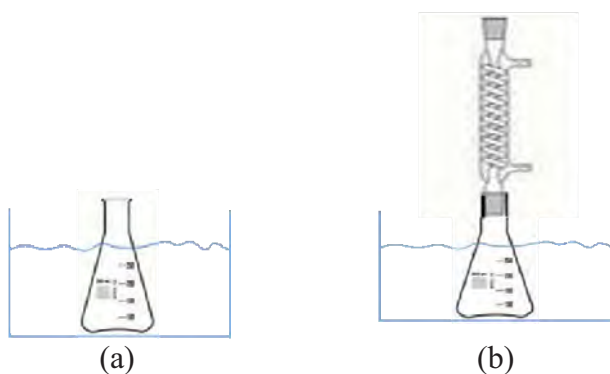


Figura 3.3. Esquemas de extracción en baño ultrasónico **a.** convencional y **b.** modificado.



Figura 3.4. Baño de ultrasonido modificado para extracción con disolventes orgánicos

3.2.3.1. Efecto de la polaridad de la mezcla de disolventes

La eficiencia de la extracción mediante el sistema de ultrasonido modificado se probó con cinco proporciones distintas (1:0, 3:1, 1:1, 1:3 y 0:1 v/v) de cloruro de metileno: acetona (CM:ACE) para incrementar la polaridad de la mezcla (**Tabla 3.2**) y facilitar la extracción de los componentes orgánicos más polares en las PM_{2.5}. La selección de los disolventes se basó en su alta presión de vapor (que facilita la volatilización y posterior concentración de los extractos) y en la eficiencia que poseen para extraer componentes orgánicos (Marvin y Hewitt 2007). Este factor, se evaluó a volumen (20 mL x 2), temperatura (20-25 °C) y nivel de concentración de analitos constantes adicionados sobre filtros de fibra de vidrio recubiertos con teflón (2.2 cm x 20.3 cm) sin muestra de PM_{2.5}. La disolución multiestándar (500 ng mL⁻¹) adicionada (1 mL) contenía 15 oxi-HAP (473-557 ng) y 16 HAP (500 ng).

Tabla 3.2. Polaridad de la mezcla de disolventes, P'

Proporciones CM:ACE (v/v)	$P'_{\text{CM:ACE}}$
1:0	3.4
3:1	3.9
1:1	4.4
1:3	4.9
0:1	5.4

CM: cloruro de metileno, ACE: acetona, $P'_{\text{CM:ACE}} = \Phi_{\text{CM}}P_{\text{CM}} + \Phi_{\text{ACE}}P_{\text{ACE}}$, Φ : fracciones en volumen de cada disolvente, P son los índices de polaridad de cada disolvente, $P_{\text{CM}}=3.4$ y $P_{\text{ACE}}=5.4$. Valores tomados de Thurman y Mills (1998).

3.2.3.2. Efecto de la temperatura del baño en el evaporador rotatorio

La reducción del exceso de disolvente en el extracto orgánico, con evaporador rotatorio, se evaluó a dos temperaturas distintas (30 y 40 °C); 60 mL de cloruro de metileno se mezclaron con 14 *n*-alcanos (7.6 $\mu\text{g mL}^{-1}$), 16 HAP (1.0 $\mu\text{g mL}^{-1}$) y 15 oxi-HAP (1.0 $\mu\text{g mL}^{-1}$), se redujeron aproximadamente a 0.5 mL en evaporador rotatorio y se transfirieron a un matraz aforado en el que se ajustó su volumen a 1 mL.

3.2.3.3. Efecto de la temperatura del baño ultrasónico

La extracción se probó a tres temperaturas del baño ultrasónico modificado (20, 40 y 60 °C) con cloruro de metileno (20 mL) que se renovó cada 30 minutos en tres ocasiones. Los extractos orgánicos se obtuvieron de muestras reales de $\text{PM}_{2.5}$ adicionadas con 15 oxi-HAP (500 ng mL^{-1}) y 16 HAP (500 ng mL^{-1}) y colectas en el sitio Coyoacán (72 h) sobre filtros de fibra de vidrio recubiertos con teflón. El área muestreada del filtro completo (19.8 cm x 20 cm) se cortó en 9 tiras (2.2 cm x 20 cm). De cada grupo de tres tiras, dos se impregnaron con la disolución patrón multiestándar y la tercera actuó como blanco para corregir la determinación. Antes de la extracción, las muestras adicionadas se almacenaron por 24 h a -20 °C para simular el tiempo de contacto de los analitos con la matriz de las $\text{PM}_{2.5}$. Por lo tanto, cada temperatura de extracción se evaluó por duplicado con un grupo distinto de tres tiras en el mismo filtro.

3.2.3.4. Efecto del volumen y ciclos de extracción

Una vez que se seleccionó la temperatura óptima de extracción (40 °C) con baño de ultrasonido modificado se evaluó el volumen de disolvente orgánico y el número máximo de extracciones requeridas para optimizar la eficiencia de extracción; el cloruro de metileno (20 mL) se renovó cada 30 minutos en tres ocasiones para obtener tres extractos que se colectaron y analizaron por separado.

Después de cada ensayo, el extracto orgánico se colectó en un matraz bola, se redujo en evaporador rotatorio (BUCHI), se filtró a través de una membrana de teflón (0.22 µm) y se recibió directamente en un matraz clase A (Pyrex) (**Figura 3.5**). Finalmente, se adicionó una mezcla de compuestos deuterados y su volumen se ajustó a 1 ó 2 mL mediante la adición de disolvente para completar o bien con una corriente suave de nitrógeno cromatográfico para reducir el exceso. La muestra se colocó en un vial de inyección y se almacenó hasta su análisis por CG-EM (cromatografía de gases-espectrometría de masas).

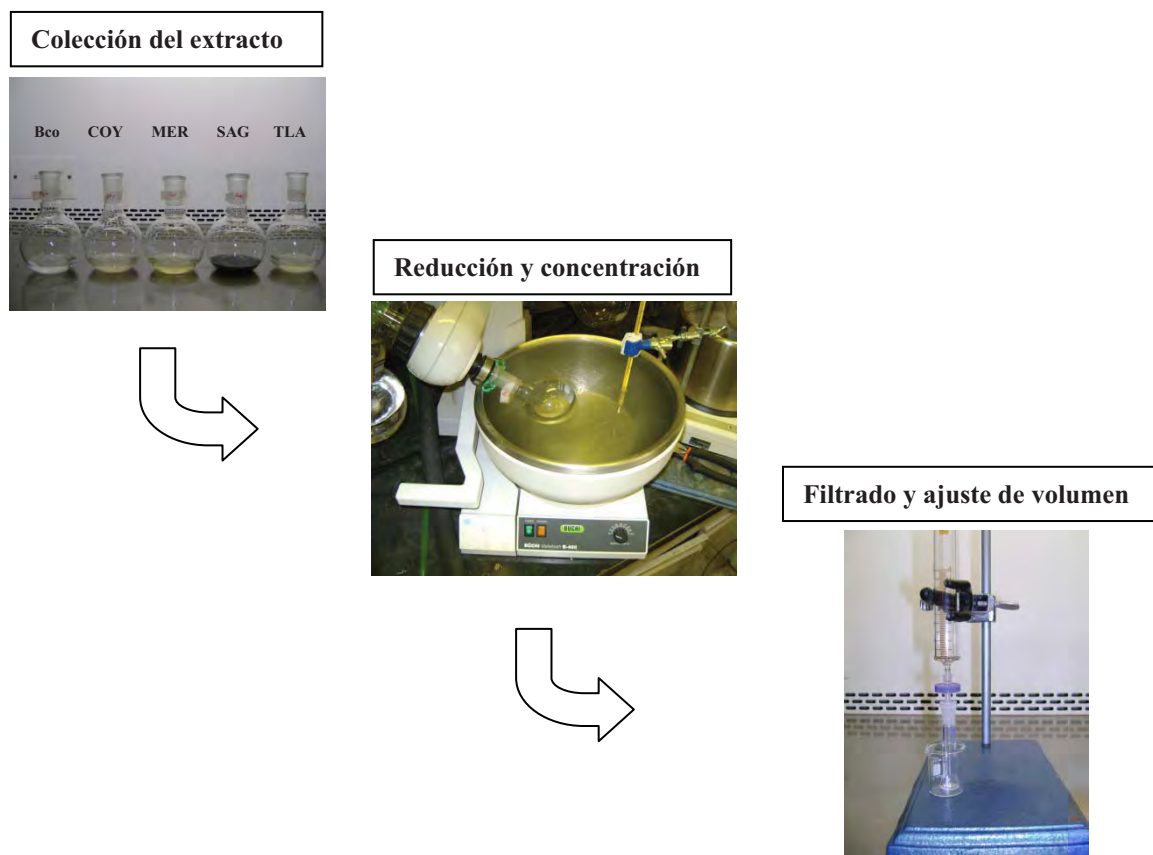


Figura 3.5. Preparación del extracto orgánico para el análisis por CGEM

3.2.4. Determinación de la masa del material orgánico extraído (MOE)

En cada experimento, la masa del material orgánico extraído (MOE), que se obtuvo por ultrasonido modificado, se determinó con base en estudios previos (Villalobos-Pietrini *et al.* 2006). Brevemente, éste se realizó por gravimetría en una balanza micro analítica con $\pm 1 \mu\text{g}$ de precisión (Sartorius MC5) en viales de vidrio horneados, acetoneados y llevados a peso constante en un desecador con sílica gel. Del extracto concentrado y aforado, sin adición de estándares internos, se midió una alícuota de $50 \mu\text{L}$ que se colocó en el vial previamente pesado y se llevó a sequedad con una corriente suave de nitrógeno grado cromatográfico (INFRA). La masa de la MOE (mg) en la alícuota se obtuvo de la diferencia entre el vial con MOE seco y el peso del vial vacío. La MOE total (en el volumen de aforo) se estimó como veinte veces la MOE en la alícuota ($1000 \mu\text{L}/50 \mu\text{L}$).

3.2.5. Optimización del procedimiento de fraccionamiento

El fraccionamiento es una modificación a la forma convencional de emplear la técnica de extracción en fase sólida (EFS). Típicamente, las especies químicas de interés se retienen en la fase sólida (fase estacionaria) y posteriormente se eluyen con un disolvente apropiado (fase móvil) para separarlas de las impurezas o interferencias (**Figura 3.6**). Sin embargo, en este trabajo se usó con otro concepto. Una alícuota de la muestra se colocó sobre la parte superior de la fase sólida empacada y se eluyó secuencialmente con disolventes orgánicos o sus mezclas para realizar una separación selectiva de diversas familias de compuestos y obtenerlas en distintas fracciones (**Figura 3.7**).

La secuencia de elución se configuró de acuerdo con las propiedades de retención de la fase estacionaria. De este modo, para sílica y cianopropilo que funcionan con interacciones de tipo polar (enlaces de hidrógeno, π - π , dipolo-dipolo y dipolo-dipolo inducido) se inició con disolventes no-polares y de baja fuerza eluotrópica (capacidad de un disolvente para eluir un compuesto desde una columna) que disminuyeron la competencia entre el disolvente y los analitos por los sitios polares en la fase sólida favoreciendo su retención. Luego, se utilizaron disolventes más polares y con mayor fuerza eluotrópica (**Tabla 3.3**) para romper gradualmente esas interacciones y conseguir la separación deseada. En las fases estacionarias fenilo y octadecilo se siguió un razonamiento similar, sin embargo la

secuencia de eluyentes se configuró al contrario, ya que el mecanismo para aislar y separar los componentes funciona con base en interacciones no-polares (fuerzas de van der Waals, fuerzas de dispersión o partición) por lo tanto los disolventes menos polares tendrán más alta fuerza eluyente (**Tabla 3.3**). De la serie de disolventes comúnmente utilizados para estos propósitos (Marvin y Hewitt 2007) se seleccionaron *n*-pentano y *n*-hexano por su más baja polaridad; cloruro de metileno y acetona por su baja presión de vapor y polaridad moderada; y metanol por su alta polaridad y fuerza eluotrópica (**Tabla 3.3**). Los volúmenes de los esquemas se estimaron con base en (Thurman y Mills 1998).

Tabla 3.3. Propiedades de disolventes orgánicos

Disolvente	^a E^{ϕ} (SiOH)	^b p'	^c P_{eb} (°C)	^d E^{ϕ} (C ₁₈)	^e P_{vap}
<i>n</i> -pentano	0.00	0.0	36	-	420
<i>n</i> -hexano	0.01	0.1	69	-	124
Ciclohexano	0.03	0.2	81	-	77.5
Tolueno	0.22	2.4	111	-	28.5
Cloroformo	0.31	4.1	61	-	158.4
Cloruro de metileno	0.32	3.1	40	-	350
Acetona	0.43	5.4	56	8.8	184.5
Acetonitrilo	0.50	5.8	82	3.1	88.8
Metanol	0.73	5.1	65	1.0	97

^{a,b}-(Zief y Kiser 1987), ^{c,d,e}(Smallwood 2002). P_{eb} : punto de ebullición (°C), E^{ϕ} (SiOH): fuerza eluotrópica basado en sílica, E^{ϕ} (C₁₈): fuerza eluotrópica basado en octadecilo, p' : índice de polaridad de Snyder, P_{vap} : presión de vapor (torr) a 20 °C (Acetonitrilo a 25 °C).

La eficiencia de separación (resolución entre familias) y el recobro, se determinó mediante disoluciones patrón multiestándar que se fraccionaron directamente (sin efecto matriz) o bien se adicionó a la MOE para optimizar las condiciones del fraccionamiento (con efecto matriz). La cantidad de MOE evaluada y los niveles de concentración de *n*-alcanos y HAP adicionados se estimaron con base en Amador-Muñoz *et al.* (2011) quienes reportaron un rango de MOE entre 3.4 mg y 16.5 mg con mediana en 7.7 mg en partículas del Suroeste de la Ciudad de México.

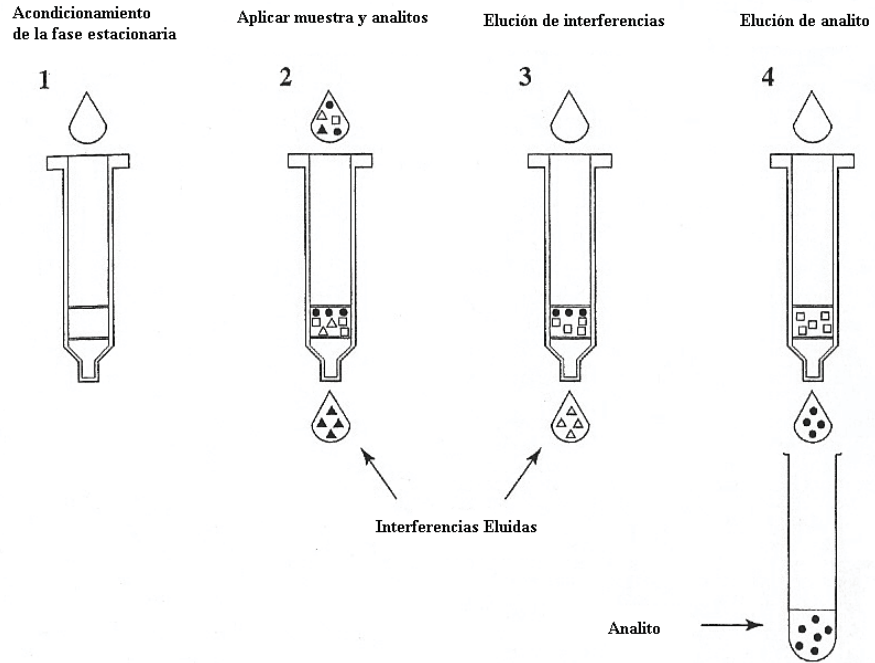


Figura 3.6. Uso convencional de la técnica de extracción en fase sólida (EFS). (modificada de Thurman y Mills 1998)

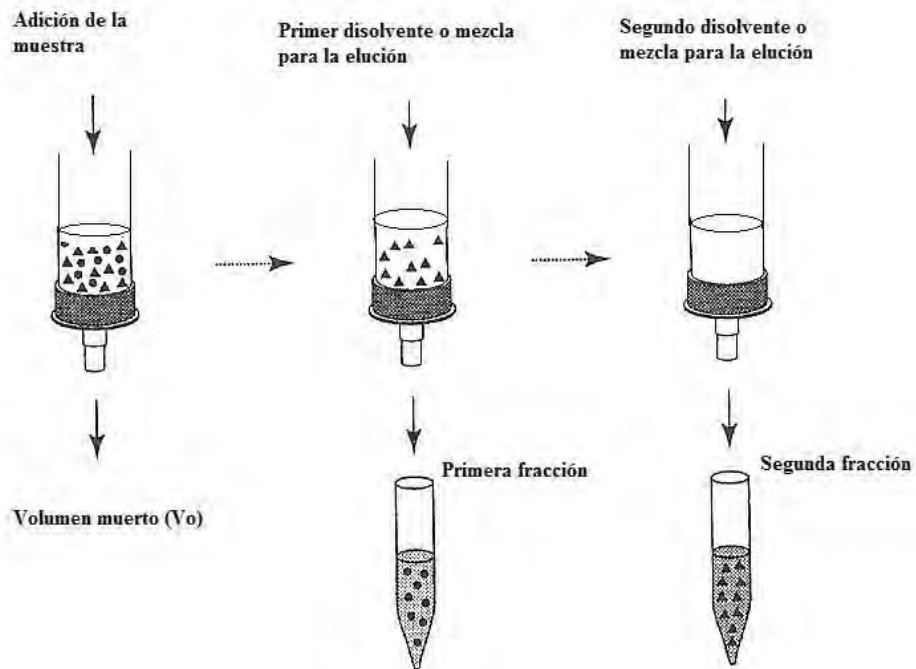


Figura 3.7. Elución selectiva mediante extracción en fase sólida (EFS). (Modificado de Thurman y Mills 1998)

Las columnas para la extracción en fase sólida (EFS) en tubos de polipropileno abiertos empacadas con 0.5 g de sílica o cianopropilo (Alltech) y con 1 g de octadecilo (C₁₈) ó con 0.5 g de fenilo (Supelco), se utilizaron ya sea directamente como las proporcionó el proveedor ó se desempacaron para rellenar columnas (**Figura 3.8**) de vidrio (0.5 mm de diámetro interno) con el fin de probar distintas cantidades de fase (0.5 g, 1 g ó 2 g). Por el contrario, las fases de cianopropilo-“unendcapped” (Grace Davidson y Varian) se adquirieron a granel y para su uso se debieron empacar en columnas de vidrio. Ninguna fase se reutilizó.

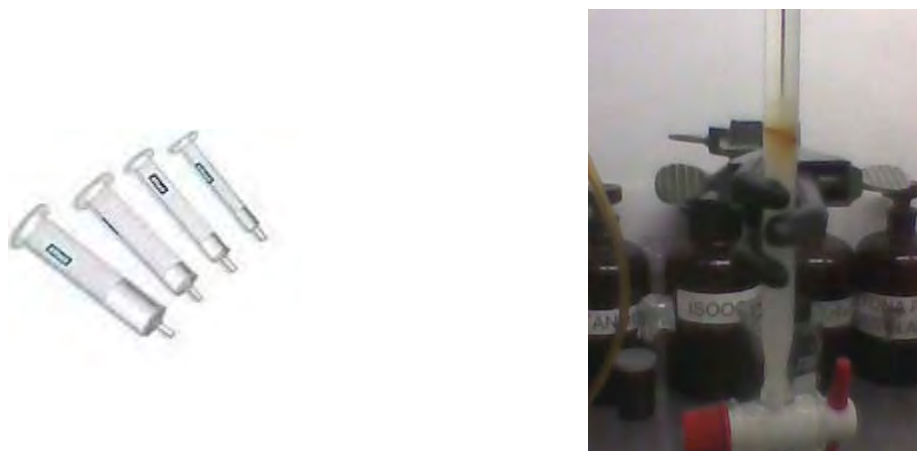


Figura 3.8. Formatos para la extracción en fase sólida: tubos de polipropileno (izquierda) y columnas de vidrio (derecha).

Todos los tipos de fase (**Tabla 3.4**) se acondicionaron antes de los ensayos o análisis para remover el aire y llenar los espacios vacíos dentro de los intersticios del material con disolvente. Además para retirar impurezas que pudieran estar en el mismo empaque o las paredes de los tubos y columnas de vidrio (Thurman y Mills 1998) producto de la fabricación. La sílica y el cianopropilo (de todas las características) se acondicionaron y limpiaron con acetona seguida por cloruro de metileno y *n*-hexano. El octadecilo y el fenilo con metanol seguido de acetona. Se utilizarón 360 μ L de disolvente por cada 100 mg de fase estacionaria (Thurman y Mills 1998). El empaque de la columna permaneció empapado con el último disolvente para mantener solvatados los grupos funcionales de la fase hasta pasar la muestra y a través del procedimiento para favorecer el mecanismo de

interacción y separación de cada tipo fase estacionaria. La cantidad de muestra (mL), puesta sobre la fase estacionaria, se ajustó con la finalidad de evitar el rompimiento anticipado de las interacciones entre los analitos y los sitios activos. De este modo, el volumen tanto de las muestras de prueba como de los extractos disueltos en cloruro de metileno se redujo a 150 μL con una corriente suave de nitrógeno ya que esa cantidad favoreció la formación de una banda estrecha en el inicio de la columna. Posteriormente, el extracto concentrado se disolvió en *n*-hexano o acetona antes de probar los esquemas de fraccionamiento sobre las fases estacionarias normales (sílica y cianopropilo) o reversas (octadecilo y fenilo), respectivamente.

Tabla 3.4. Especificaciones de las fases estacionarias y etiquetas para su identificación.

Tipo de separación	Fase estacionaria	Tamaño de partícula (Å)	Tamaño de poro (μm)	Etiqueta
Fase normal	Sílica	60	50	sílica
	Ciano-“endcapped” ¹	60	50	ciano-EA
	Ciano-“unendcapped” ²	60	35-60	ciano-UG
	Ciano-“unendcapped” ³	60-87	47-60	ciano-UV
Fase reversa	Octadecilo-sílica	62	58	octadecilo
	Fenilo-sílica	60	50	fenilo

¹-cianopropilo-“endcapped” de Alltech[®] (ciano-EA), ²-cianopropilo-“unendcapped” de Grace[®] (ciano-UG), ³-cianopropilo-“unendcapped” de Varian[®] (ciano-UV).

3.2.5.1. Fraccionamiento de las disoluciones multiestándar (sin efecto matriz)

En esta primera etapa, se evaluó la separación de los analitos seleccionados a través de sílica, ciano-EA, octadecilo y fenilo. Se empleó una disolución multiestándar con 14 *n*-alcanos ($7.6 \mu\text{g mL}^{-1}$), 16 HAP ($1.0 \mu\text{g mL}^{-1}$) y 15 oxi-HAP ($1.01\text{-}1.12 \mu\text{g mL}^{-1}$) preparada en cloruro de metileno pero reducida y diluida de nuevo en *n*-hexano o acetona para probar la separación sobre las fases normales (sílica, ciano-EA) y las fases reversas (octadecilo y fenilo), respectivamente. La disolución multiestándar (1 mL) se colocó sobre la columna y se fraccionó mediante varios esquemas de elución propuestos con el fin de determinar las mejores condiciones para ser usadas con los extractos orgánicos complejos obtenidos de las PM_{2.5}. Los esquemas de elución empleados (**Tabla 3.5**) se basaron o se modificaron de acuerdo a lo reportado en la literatura. Así el esquema 1 aplicado para la separación sobre

sílica y ciano-EA se modificó y se basó en Saldarriaga *et al.* (2008). Mientras que, los esquemas 2 y 3, aplicados a fenilo y octadecilo, se configuraron con base en Thurman y Mills (1998). Cada fracción colectada se ajustó a 1 mL antes de su análisis por CG-EM.

Tabla 3.5. Esquemas de elución con disoluciones multiestándar para fases normales y reversas

Fracción	Esquema 1 ^{a,1}		Esquema 2 ^{b,1}		Esquema 3 ^{c,1}		Esquema 4 ^{d,2}		Esquema 5 ^{e,1,2}	
	Disolventes	V(mL)	Disolventes	V(mL)	Disolventes	V(mL)	Disolventes	V(mL)	Disolventes	V(mL)
1	Hex	2	Ace	4	Ace	8	Hex	4	Hex	8
2	Hex:CM (4:1)	4	CM	4	CM	8	CM	8	CM	16
3	Hex:CM (1:1)	4	Hex-CM (1:1)	4	Hex-CM (1:1)	8	Ace-CM (1:1)	8	Ace-CM (1:1)	16
4	CM	4	Hex-CM (4:1)	4	Hex-CM (4:1)	8	Ace-CM (4:1)	8	Ace-CM (4:1)	16
5	Met	4	Hex	2	Hex	4	Ace	8	Ace	16

^a sílica y ciano-EA (0.5 g), ^b fenilo (0.5 g), ^c octadecilo (1 g): a un flujo de elución de 1 mL min⁻¹; ^d sílica (1 g), ^e sílica (2 g), ^f ciano-EA (2 g): a gravedad; ¹

Fases estacionarias empacadas en tubos de jeringa, ² Fases estacionarias empacadas dentro de columnas abiertas. Hex: *n*-hexano, CM: cloruro de metileno,

Met: metanol, Ace: acetona.

En una segunda etapa, se realizó la optimización de la separación con la disolución patrón multiestándar como en la primera etapa, pero sólo se utilizaron sílica y ciano-EA porque mostraron la mayor resolución entre familias de compuestos. Inicialmente se evaluó el cambio de la eficiencia de la separación con el incremento de la longitud del empaque de la columna sin variar su diámetro (0.5 mm). De esta manera, se probaron cantidades distintas de fase estacionaria, tres para sílica (0.5, 1 y 2 g) y dos para ciano-EA (0.5 y 2 g), con el propósito de incrementar proporcionalmente el número de platos teóricos. También, las cantidades de disolventes se incrementaron y se ajustaron equivalentemente a la cantidad de fase sólida empleada. Adicionalmente los esquemas 4 y 5 utilizaron una secuencia de elución mucho más polar que el esquema 1. La optimización de condiciones se siguió solamente con ciano-EA como se describe en el esquema 6 (**Tabla 3.6**), que se corrió a dos flujos distintos pero constantes ($\sim 0.4 \text{ mL min}^{-1}$ y $\sim 2.5 \text{ mL min}^{-1}$) y que disminuye la polaridad de los disolventes respecto al esquema 5 (se empleó hexano en lugar de acetona en las distintas fracciones) debido a que se han reportado inconsistencias en el recobro cuando se usa sílica (Lafleur *et al.* 1986, Sciherer-Roetman *et al.* 1988, Marvin y Hewitt 2007) y a pesar de que los resultados con sílica y ciano-EA fueron muy similares,. Mientras que el esquema 7 se corrió una sola vez ($\sim 1 \text{ mL min}^{-1}$) pero se dividió en sub-fracciones con respecto al esquema 6. Lo que resultó en una separación óptima entre las familias de los compuestos. El flujo en cada caso se estimó mediante la medición del volumen de disolvente y el tiempo de colecta respectivo.

Tabla 3.6. Esquemas de elución con disoluciones multiestándar sobre cianopropilo

Esquema 6 ^a			Esquema 7 ^b		
Fracción	Disolventes	V(mL)	Fracción	Disolventes	V(mL)
1	Hex	8	1	Hex	8
2	Hex:CM (4:1)	16	2	Hex:CM(4:1)	8
3	Hex:CM (3:2)	16	3	Hex:CM(3:2)	8
4	Hex:CM (1:1)	16	4	Hex:CM(1:1)	8
5	CM	16	5	CM	16
6	CM:Ace (1:1)	16	6	CM:Ace(1:1)	16
7	Ace	16	7	Ace	16

Pruebas con Ciano-EA (2 g) empacada en columna de vidrio. ^a Velocidad de flujo 0.4 y 2.5 mL min⁻¹, ^b Velocidad de flujo 1 mL min⁻¹. Hex: *n*-hexano, CM: cloruro de metileno, Met: metanol, Ace: acetona.

3.2.5.2. Fraccionamiento del material orgánico fortificado con disoluciones multiestándar (con efecto matriz)

En esta tercera etapa, cantidades conocidas de MOE (2.8 mg), determinadas por gravimetría (Villalobos-Pietrini *et al.* 2007), adicionadas con una disolución patrón multiestándar y disueltas en cloruro de metileno (150 μ L) se fraccionaron mediante tres distintos esquemas. Inicialmente, la MOE fortificada se fraccionó a través de tres tipos de fase cianopropilo (**Tabla 3.4**) con el esquema 8 (**F1**: 1 mL *n*-hex, **F2.1** a **F2.4**: 0.5 mL *n*-hex: CM, 9:1 *v/v*; **F3.1**: 1 mL y **F3.2**: 3 mL *n*-hex: CM, 6.5:3.5 *v/v*; **F4**: 6 mL CM y **F5**: 10 mL ACE) para evaluar la eficiencia de la separación. La polaridad de la composición de las fracciones en el esquema 8 se disminuyó respecto al esquema 7 (**Tabla 3.6**) para retrasar la elución de los HAP y los oxi-HAP y mejorar la resolución entre las tres clases de compuestos. Luego, se aplicó el esquema 9 (**F1**: 1 mL *n*-hex, **F2**: 2 mL *n*-hex: CM, 9:1 *v/v*; **F3**: 4 mL *n*-hex: CM, 6.5:3.5 *v/v*; **F4**: 8 mL CM y **F5**: 10 mL ACE) sobre ciano-EA, que resultó de la acumulación de las sub-fracciones del esquema 8 para simplificar el procedimiento. Finalmente, se configuró el esquema 10 (**F1**: 0.5 mL *n*-hex, **F2**: 2 mL *n*-hex: CM, 9:1 *v/v*, **F3**: 10 mL CM y **F4**: 10 mL ACE) para optimizar el volumen de elución de la primera fracción e incrementar el grado de separación entre *n*-alcanos y HAP también sobre ciano-EA.

3.2.6 Evaluación de la eficiencia de la separación y del recobro del fraccionamiento optimizado

El procedimiento optimizado (Esquema 10) se aplicó por duplicado a tres distintas masas de MOE (2.6, 5.6 y 8.5 mg) cada una adicionada con la misma cantidad de 14 *n*-alcanos (3.0 μ g), 16 HAP (2.0 μ g) y 15 oxi-HAP (2.0-2.3 μ g) disueltas en cloruro de metileno y ajustadas a un volumen de 150 μ L. La cantidad de MOE, eluida a través de la fase estacionaria de cianopropilo (ciano-EA), se varió con el fin de emular el rango de masa encontrado en las muestras reales. La MOE se preparó acumulando los extractos orgánicos de PM_{2.5} obtenidos en un estudio previo en la AMCM (Amador-Muñoz *et al.* 2011) y enriqueciéndola con las tres familias de compuestos a una concentración constante para incluir el efecto matriz. De este modo, se evaluó la eficiencia de la separación como la distribución porcentual de la masa de los analitos a través de las fracciones y se estimó el

recobro del fraccionamiento optimizado para tres cantidades distintas de MOE. Para ello, la MOE acumulada (55 mg) y disuelta en cloruro de metileno, se ajustó a un volumen de 2 mL y se tomaron tres alícuotas con 8.6, 18.2 y 28.3 mg de MOE, respectivamente. Cada alícuota se mezcló con 10 µg de *n*-alcanos, 6.6 µg de 16 HAP y de 6.6 a 7.6 µg de oxi-HAP. El volumen final de la disolución se ajustó a 500 µL de la que se midieron 150 µL, y al que se le agregó una mezcla de estándares internos (Trifeniletileno y 1,2,3,4,5,6,7,8-octahidroantraceno) ajustándola a 2 mL. Esta dilución se consideró como referencia. Los otros dos volúmenes de 150 µL restantes de cada alícuota se fraccionaron directamente por separado.

3.3. Procedimiento para la evaluación de los parámetros analíticos del método

En esta etapa, la masa de compuestos adicionados se varió con el propósito de evaluar la linealidad, el recobro de la extracción, la eficiencia de la separación y la precisión de cada procedimiento (**Figura 3.9**), antes de aplicarlos a las muestras reales del estudio. De esta manera, cinco muestras de PM_{2.5}, colectadas en tres sitios distintos (SAG, COY y UIZ) en noviembre de 2006 se trataron con los procedimientos de extracción y fraccionamiento optimizados, y como variables de respuesta se midieron la eficiencia de la extracción individual y las separaciones por clase obtenidas en cada nivel de fortificación (**Tabla 3.7**), de los cinco que se ensayaron, para 14 *n*-alcanos, 16 HAP y 15 oxi-HAP. Con este fin las cinco muestras colectadas por 72 h sobre filtros de teflón (**Figura 3.9**) y donde el área muestreada de cada filtro completo (19.8 cm x 20 cm = 396 cm²) se cortó en 3 trozos (19.8 cm x 6.6 cm = 131 cm²), cada uno equivalente a 24 h de muestreo. De cada filtro, dos trozos se impregnaron con la disolución patrón multiestándar, mientras que la tercera actuó como blanco de muestra para corregir el cuantitativo. Las muestras con y sin adición de los compuestos estándares se almacenaron por 24 h a -20 °C, antes del tratamiento analítico, para simular el tiempo de contacto de los analitos con las PM_{2.5}. Por lo tanto, cada ensayo se evaluó por duplicado con un grupo distinto de tres trozos obtenidos del mismo filtro. Posteriormente, los extractos orgánicos obtenidos en cloruro de metileno se transfirieron cuantitativamente sobre el extremo superior de la fase sólida y se fraccionaron con 1 g de cianopropilo (ciano-EA) empacado en una columna de vidrio mediante la elución selectiva siguiendo el procedimiento optimizado (Esquema 10). Los resultados se utilizaron con el

fin de evaluar la capacidad del método analítico para extraer y separar las tres familias de compuestos en presencia de la matriz de la muestra y disminuir la probabilidad de interferencias químicas que pudieran sesgar los resultados.

Tabla 3.7. Niveles de fortificación ($\mu\text{g mL}^{-1}$)

Nivel de fortificación ¹	14 <i>n</i> -alcanos	16 HAP	15 oxi-HAP
1	13	2.6	2.1
2	10.5	2.1	1.6
3	8.0	1.6	1.1
4	5.5	1.1	0.6
5	3.0	0.6	0.1

¹-Se utilizó 1 mL de cada disolución para fortificar

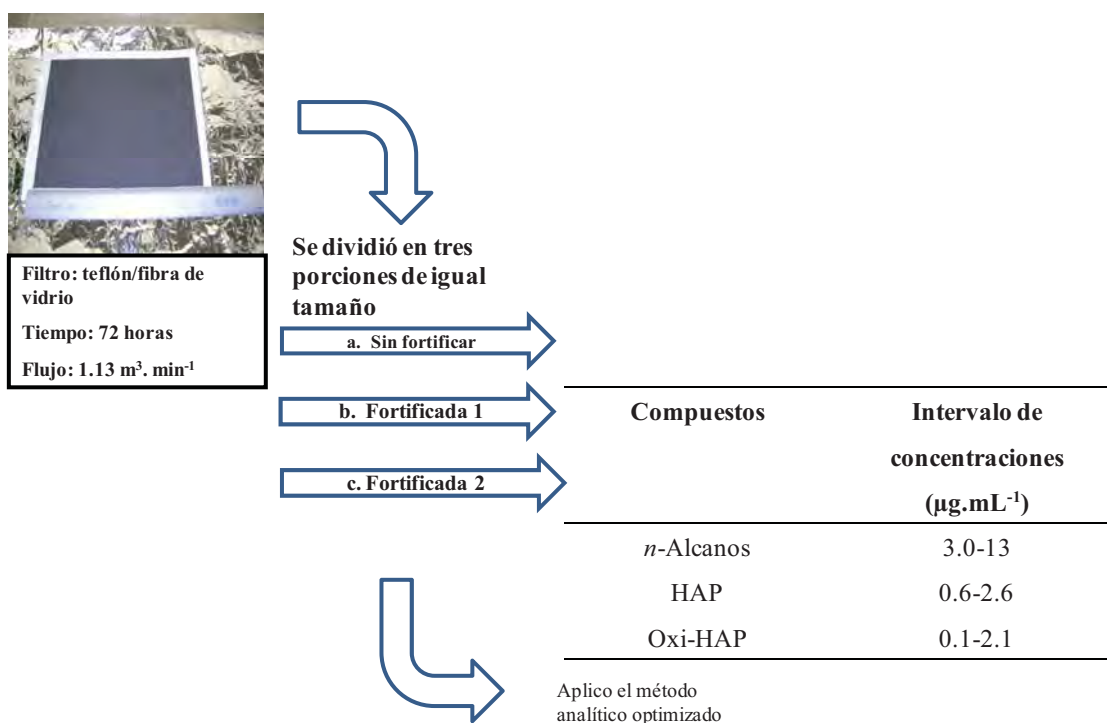


Figura 3.9. Procedimiento para evaluar los parámetros analíticos del método (se utilizó un filtro por cada nivel de fortificación)

3.4. Evaluación de la eficiencia de extracción de la MOE asociada al polvo de referencia SRM 1649a

El material de referencia estándar 1649a es un material particulado atmosférico urbano (Standard Reference Material[®] 1649a Urban Dust) de la NIST (National Institute Standards & Technology) que certifica el porcentaje de masa extraíble con disolventes orgánicos o material orgánico extraíble (MOE). Se utilizó con el fin de evaluar la eficiencia del método para recobrar la MOE y estimar su exactitud. Por lo tanto, se ensayó con cinco cantidades distintas de SRM 1649a (20, 40, 60, 80, 100 mg) basadas en el rango y orden de magnitud de la mediana y percentiles en masa de PM_{2.5} que se colectaron en el AMCM (Amador-Muñoz *et al.* 2011). Cada cantidad se pesó individualmente sobre papel filtro en una balanza microanalítica (Sartorius MC5) y se extrajo con el método optimizado. La cantidad de MOE extraída en cada nivel de ensayo se obtuvo por duplicado y se comparó con el valor certificado para estimar el recobro. También se evaluó la dependencia de la eficiencia de la recuperación de la MOE respecto a la cantidad de SRM 1649a pesado.

3.5. Análisis instrumental

3.5.1. Instrumentación

El análisis químico se realizó en un sistema de cromatografía de gases 6890 acoplado a espectrometría de masas (CG-EM) con filtro de iones cuadrupolar 5973N (Agilent Technologies, USA) equipado con un automuestreador 7683 (Agilent Technologies, EUA) para la inyección de los extractos orgánicos y estándares de calibración o de referencia. Una computadora personal con el programa CHEMSTATION se empleó para controlar los tres módulos y procesar los cromatogramas de cada corrida.

3.5.2. Condiciones cromatográficas

Uno o dos microlitros de la muestra se inyectaron automáticamente en el modo “*splitless*” a 300 °C y los compuestos se separaron en una columna capilar DB-35MS (35 % fenil, 65 % metilpolisiloxano) de 30 m x 0.25 mm de diámetro interno x 0.25 µm de grosor de película (J&W, EUA) con un programa de rampas de temperatura en el horno, inicialmente en 40 °C por 1 min, 50 °C min⁻¹ hasta 110 °C por 0 min, 5 °C min⁻¹ hasta 303 °C por 0 min y finalmente 20 °C min⁻¹ hasta 335 °C por 6 min, tiempo total de la corrida 58.68 min. La

línea de transferencia permaneció a 310 °C y se empleó gas helio de alta pureza (Infra, México) como gas acarreador a flujo constante de 1.2 ml min⁻¹.

3.5.3. Condiciones espectrométricas

Los espectros de masas se obtuvieron mediante impacto electrónico a 70 eV. La temperatura de la fuente de iones se configuró a 280 °C y la del filtro de iones cuadrupolar a 300 °C. La fuente de ionización comenzó 4 min después de la inyección de la muestra. El cuadrupolo se programó en el modo “SCAN” (todo el rango de masas) para el análisis cualitativo en el rango de 35-500 uma y en el modo “SIM” (grupos de iones seleccionados) para el análisis cuantitativo.

3.5.4. Identificación y cuantificación de los compuestos

Para crear el método de integración, los compuestos se identificaron mediante el tiempo de retención (*t_r*) y sus espectros de masas característicos en SCAN de una disolución de calibración multiestándar. Se empleó el tiempo de retención absoluto del pico base (14 *n*-alcanos y 4 oxi-HAP) ó el pico del ion molecular (16 HAP y 11 oxi-HAP) y tres iones con abundancia relativa menor para confirmar su identidad química.

Los análisis para la cuantificación se corrieron en el modo SIM, que consistió en monitorear únicamente los iones más abundantes o característicos de los compuestos de interés obtenidos en SCAN. Los análisis cualitativo y cuantitativo se realizaron mediante el método de estándar interno, con este fin se adicionaron 7 HAP-deuterados a los estándares de calibración y las muestras en una concentración constante (1.25 µg mL⁻¹). El área absoluta del pico más abundante del compuesto de interés se dividió entre la de su correspondiente estándar interno deuterado para obtener el área relativa que se empleó como señal analítica para obtener la concentración de cada compuesto.

3.5.5. Calibración instrumental

El sistema de CG-EM se calibró con ocho niveles distintos de concentración para *n*-alcanos, siete para HAP y cinco para oxi-HAP (**Tabla 3.8**). Cada punto de la curva se inyectó por triplicado y se preparó por dilución desde las mezclas multiestándar descritas previamente (Sección 3.3.2). Inicialmente se calculó el coeficiente de correlación *pearson* (*r*) para estimar el ajuste de los puntos experimentales a una línea recta y posteriormente se realizó un contraste estadístico de *t* de *student* (Miller y Miller 2002) y un análisis de varianza para verificar su significancia. Los puntos experimentales se ajustaron significativamente a un modelo de regresión lineal ($p < 0.05$) con coeficientes de determinación (r^2) mayor que 0.98 para los *n*-alcanos (**Anexo V**), 0.99 para los HAP (**Anexo VI**) y 0.97 para los oxi-HAP (**Anexo VII**). Finalmente un análisis de regresión ponderada se corrió para obtener la ecuación de la línea recta.

Tabla 3.8. Concentraciones de las tres familias de compuestos para la calibración y análisis por CG-EM

Nivel de calibración	<i>n</i> -alcanos ($\mu\text{g mL}^{-1}$)	HAP ($\mu\text{g mL}^{-1}$)	Oxi-HAP ($\mu\text{g mL}^{-1}$)
1	11.70	1.44	1.89
2	9.45	1.20	1.44
3	7.20	0.83	0.99
4	6.0	0.54	0.54
5	2.7	0.30	0.09
6	1.5	0.06	-
7	0.3	0.01	-
8	0.03	-	-

3.5.6. Límites de detección y de cuantificación instrumentales

Estos parámetros se calcularon con base en la curva de calibración instrumental (área relativa vs concentración) por el método de regresión lineal ponderada, cuyos fundamentos y procedimientos se describen en detalle por Miller y Miller 2002, así el límite de detección (LDI) y cuantificación instrumental (LCI) se estimaron con las ecuaciones 3.2 y 3.3, respectivamente.

$$\text{LDI (ng mL}^{-1}\text{)} = 3S_{y/x} / m \quad (3.2)$$

$$\text{LCI (ng mL}^{-1}\text{)} = 10S_{y/x} / m \quad (3.3)$$

Donde m es la pendiente ponderada y $S_{y/x}$ es el estadístico que estima los errores aleatorios en la dirección y (Miller y Miller 2002).

3.6. Aplicación del método

En esta última etapa, el método analítico optimizado y estandarizado se aplicó a muestras únicas de $\text{PM}_{2.5}$ colectadas en cinco sitios en tres temporadas del año (secas frías, secas calientes y lluvias) y como variables de respuesta se midieron la concentración atmosférica de $\text{PM}_{2.5}$, MOE, 14 n -alcanos con número de carbono par, 16 HAP y 15 oxi-HAP.

3.7. Análisis estadístico de los resultados de las determinaciones

Estos análisis se corrieron con el paquete STATISTICA 6.0 y con la herramienta de análisis de datos de Excel. Se utilizaron pruebas no-paramétricas como Mann-Whitney y Kruskal-Wallis para evaluar la variación de las medianas por sitio y temporada (percentil 10-90) de todas las variables medidas.

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Evaluación de las condiciones de extracción por ultrasonido modificado

4.1.1. Eficiencia de la extracción con distintas mezclas de disolventes

Estas pruebas se hicieron para configurar las condiciones iniciales de extracción y únicamente con los oxi-HAP porque se ha demostrado que la polaridad es una propiedad crucial en la tarea de la selección del disolvente cuando se utiliza ultrasonido con este propósito (Lintelmann *et al.* 2006, Walgraeve *et al.* 2010). Los resultados sugieren que la eficiencia de la obtención de los compuestos en extractos con disolventes orgánicos se favoreció con cloruro de metileno (CM) y disminuyó con acetona (ACE) y sus distintas proporciones (**Figura 4.1**). Aunque, las recuperaciones de los oxi-HAP son notablemente más altas con cloruro de metileno y menores con acetona y sus distintas proporciones (v/v), las diferencias entre las eficiencias se reducen con el aumento del peso molecular, de tal manera que los tres compuestos más pesados se podrían extraer con cualquiera de los disolventes o sus mezclas sin que se comprometiera significativamente la eficiencia de extracción (**Figura 4.1**). Sin embargo, la reducción de los extractos en acetona y sus mezclas consumieron mayor tiempo (30-45 min) que los extractos obtenidos con cloruro de metileno (15-20 min) debido a su menor volatilidad y punto de ebullición (56.3 °C). Esta exposición prolongada de la muestra a las condiciones en el evaporador rotatorio (temperaturas mayores que las ambientales) podría explicar la reducción que experimentaron los recobros de los compuestos de menor peso molecular cuando se utilizaron acetona y sus mezclas con cloruro de metileno.

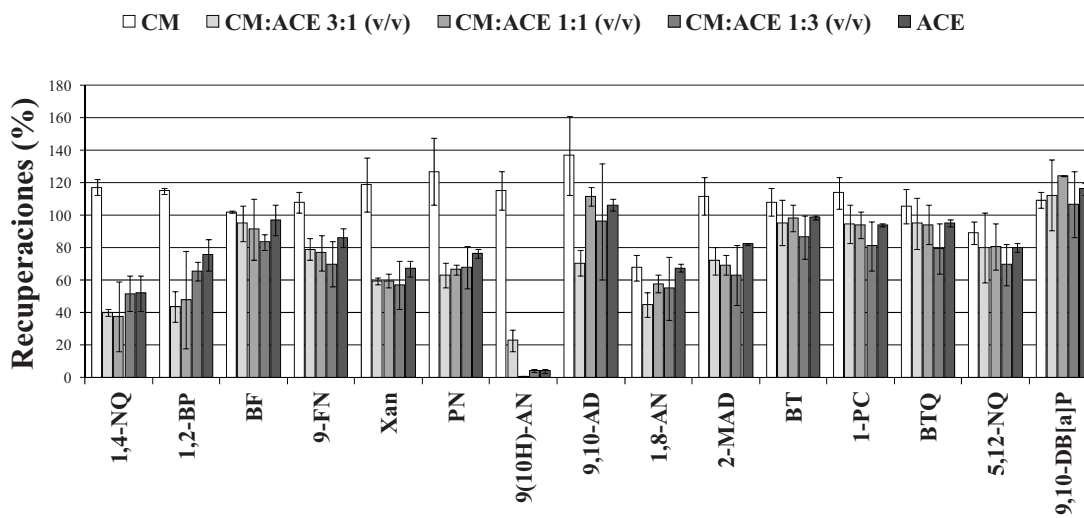


Figura 4.1. Eficiencia de la extracción con cloruro de metileno y acetona . La barra de error representa una desviación estándar de las dos réplicas. 1,4-NQ (1,4-naftoquinona); 1,2-BP (1,2-benzopirona); BF (benzofenona); 9-FN (9-fluorenona); Xan (xantona); PN (perinaftenona); 9-(10H)AN (9(10H)antracena); 9,10-AD (9,10-antracenediona); 1,8-AN (1,8-anhidrido naftalico); 2-MAD (2-metil-antracenediona); BT (benzantrona o 7(H)-benzo[de]antracena-7-ona); 1-PC (1-pirenocarboxialdehido); BTQ (benzantrenoquinona o benzo(a)antracena-7,12-diona); 5,12-NQ (5,12-naftacenoquinona) y 9,10-DHB[a]P (9,10-Dihidrobenzo[a]piren-3-(4H)ona)

En este sentido, el cloruro de metileno proporciona los mejores resultados, ya que simplificó el tratamiento de las muestras y sin duda disminuyó el costo energético (requiere menos tiempo que la acetona para reducirlo). Sin embargo, hay todavía cinco oxi-HAP (1,4-NQ; 1,2-BP, PN, 9(10H)AN y 9,10-AD) con recobros mayores a 100 % que dificultaron su uso directo y mostraron la necesidad de otras pruebas. Además, se ha encontrado que suele favorecer fundamentalmente la extracción selectiva del material orgánico asociado a las partículas comparado con acetona y metanol que, a pesar de ser ampliamente utilizados, producen extractos químicamente más complejos (Yokouchi y Ambe 1986, Gundel *et al.* 1993) por la extracción adicional de sustancias inorgánicas

(iones y metales), las cuales podrían dificultar el tratamiento de la muestra e incrementar, aun más, la probabilidad de errores en la determinación analítica o disminuir la aplicación potencial de las muestras en ensayos biológicos para evaluar los efectos a la salud provocados exclusivamente por la composición química orgánica de las partículas.

4.1.2. Eficiencia de la reducción y concentración de los extractos orgánicos

La evidencia experimental demostró las ventajas de emplear cloruro de metileno para la extracción y con base en ello se evaluaron también las condiciones de evaporación del disolvente, donde se mostró que 30 °C es la temperatura mínima para reducir el extracto en un tiempo razonablemente corto, en condiciones suaves de vacío (127 mmHg) y a 120 rpm. En estas condiciones se probó la reducción, en el evaporador rotatorio, pero a dos temperaturas, de una misma cantidad de cloruro de metileno (60 mL) fortificado. Además, se evitó la sequedad total de la muestra, llevando el extracto aproximadamente a 500 µL para su posterior filtración, transferencia y aforo a 1 mL. Los resultados del experimento mostraron que la disminución de 10 °C en la temperatura del baño incrementa la eficiencia (**Tabla 4.1**), desde 29 % y 64 % hasta 63 % y 105 % para *n*-alcanos (C₄₀ y C₁₆); desde 40 % y 60 % hasta 79 % y 101 % para HAP (DB[*ah*]A y fluoreno); y desde 33 % y 56 % hasta 93 % y 103 % (9,10-DHB[*a*]P y BF), respectivamente.

Tabla 4.1. Porcentajes de recobro en el proceso de reducción con evaporador rotatorio

Compuestos	40 °C			30 °C		
	R (%)	DE	CV (%)	R(%)	DE	CV (%)
<i>n</i>-Alcanos	62	1.3	2.1	103	0.3	0.3
<i>n</i> - Hexadecano (C ₁₆)	64	1.1	1.7	105	0.3	0.3
<i>n</i> -Octadecano (C ₁₈)	63	2.4	3.8	106	1.4	1.3
<i>n</i> - Eicosano (C ₂₀)	60	1.4	2.3	107	1.2	1.1
<i>n</i> -Docosano (C ₂₂)	57	2.5	4.4	105	1.3	1.2
<i>n</i> -Tetracosano (C ₂₄)	53	2.0	3.8	105	0.4	0.4
<i>n</i> -Hexacosano (C ₂₆)	48	1.7	3.5	101	0.6	0.6
<i>n</i> -Octacosano (C ₂₈)	43	2.6	6.0	96	0.2	0.2
<i>n</i> -Triacotano (C ₃₀)	36	2.0	5.6	86	0.3	0.3
<i>n</i> -Dotriacotano (C ₃₂)	31	0.7	2.3	77	0.1	1.6
<i>n</i> -Tetracontano (C ₃₄)	26	1.1	4.2	68	1.1	1.6
<i>n</i> -Hexacontano (C ₃₆)	24	0.1	0.4	60	1.3	2.2
<i>n</i> -Octacontano (C ₃₈)	26	0.6	2.3	58	1.3	2.2
<i>n</i> -Tetracontano (C ₄₀)	29	1.5	5.2	63	0.2	0.3
HAP						
Naftaleno	59	0.3	0.5	101	1.1	1.1
Acenaftileno	57	1.3	2.3	100	1.3	1.3
Acenafteno	59	1.4	2.4	99	0.5	0.5
Fluoreno	60	1.6	2.7	101	0.5	0.5
Fenantreno	58	1.4	2.4	102	0.4	0.4
Antraceno	57	1.5	2.6	106	1.4	1.3
Fluoranteno	58	0.9	1.6	105	1.1	1.0
Pireno	57	1.9	3.3	107	1.3	1.2
Benzo[<i>a</i>]antraceno	48	2.1	4.4	99	1.5	1.5
Criseno	52	0.3	0.6	102	1.2	1.2
Benzo[<i>b</i>]fluoranteno	44	2.7	6.1	92	0.3	0.3
Benzo[<i>k</i>]fluoranteno	48	0.4	0.8	100	0.1	0.1
Benzo[<i>a</i>]pireno	44	0.9	2.0	92	1.9	2.1
Indeno[123- <i>cd</i>]pireno	40	0.4	1.0	81	2.6	3.2
Dibenzo[<i>a,h</i>]antraceno	40	0.3	0.8	79	1.3	1.6
Benzo[<i>ghi</i>]perileno	41	1.1	2.7	80	1.5	1.9
Oxi-HAP						
1,4-NQ	49	1.1	2.0	101	8.1	8.0
1,2-BP	42	1.4	3.3	106	3.0	2.8
BF	56	0.7	1.3	103	1.6	1.5
FN	52	1.0	1.9	98	2.2	2.2
Xan	49	1.2	2.4	101	1.0	1.0
PN	39	0.9	2.3	110	7.1	6.5
9(10 <i>H</i>)AN	59	3.3	5.6	109	34	31
9,10-AD	44	2.3	5.2	94	2.4	2.5
1,8-AN	57	1.4	2.5	129	0.7	0.5
2-MAD	43	0.9	2.1	103	1.2	1.2
BT	32	1.2	3.8	91	0.1	0.1
1-PC	40	12.7	32	100	0.7	0.7
BTQ	36	0.4	1.1	98	1.8	1.8
5,12-NQ	33	0.4	1.2	93	0.2	0.2
9,10-DHB[<i>a</i>]P	33	4.6	14	72	0.5	0.7

R: porcentajes de recobro promedio, calculado de tres replicas con 60 mL de disolvente adicionados con *n*-alcanos (10 µg mL⁻¹), HAP (1 µg mL⁻¹) y oxi-HAP (1 µg mL⁻¹). DE: desviación estándar y CV: coeficiente de variación.

4.1.3. Eficiencia de la extracción con distintas temperaturas en el baño ultrasónico-modificado

Los extractos orgánicos se obtuvieron a tres temperaturas distintas (20, 40 y 60 °C). Se eligió la temperatura límite de operación del equipo de ultrasonido como la mayor, la temperatura ambiental como la menor y una intermedia para efectos de comparación. En estos ensayos se consideró adicionalmente la matriz de la muestra. Solamente se evaluó la eficiencia de extracción de los HAP y oxi-HAP porque son los componentes con mayor probabilidad de sufrir interferencias. Los resultados mostraron que las eficiencias de extracción de ambas clases de compuestos se incrementan notablemente con temperaturas superiores a la ambiental (**Figuras 4.2 y 4.3**). Este resultado se debe a que la viscosidad de los disolventes disminuye cuando la temperatura incrementa (Harvey 2000). De esta manera, se facilita su ingreso e interacción con los componentes orgánicos alojados en los intersticios de la matriz de la muestra para favorecer la eficiencia de la extracción debido a que la capacidad del disolvente para fluir a través de la muestra contribuye en mayor grado que su solubilidad en la obtención eficiente de los extractos y sus componentes (Castells *et al.* 2003). Específicamente, los resultados indican que las eficiencias de cinco de los oxi-HAP más pesados y dos de los más ligeros (señalados en la **Figura 4.2**) son notablemente mayores a 40 °C que a 60 °C y de forma similar un HAP de los más pesados y tres de los más ligeros tienen este comportamiento (**Figura 4.3**). Así que el empleo de 40 °C favorecería sustancialmente la eficiencia de la extracción de la mayoría de los HAP más ligeros y de los oxi-HAP más pesados sin afectar significativamente la recuperación del resto de compuestos en cada familia. También se contribuiría con la disminución del consumo de energía y se incrementaría el tiempo de vida media del sistema, ya que 60 °C es la temperatura máxima de funcionamiento del baño ultrasónico. Sin embargo, en estas temperaturas para la mayoría de los oxi-HAP se encontraron recobros entre 100 % y 120 % (excepto 1,4-NQ; 1,2-BP; 9(10H)AN y 1-PC) que se producen muy probablemente por la presencia de interferencias provenientes de la matriz de la muestra que sesgan la respuesta analítica y que demuestran la necesidad de purificar los extractos para minimizar este efecto.

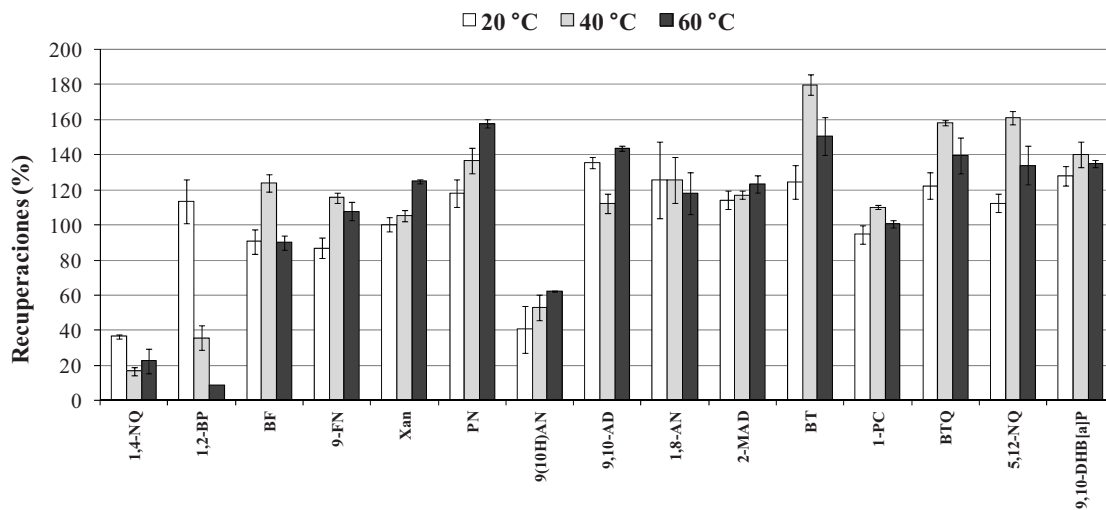


Figura 4.2. Eficiencia de extracción de los oxi-HAP con tres temperaturas distintas. La barra representa una desviación estándar de 2 réplicas,

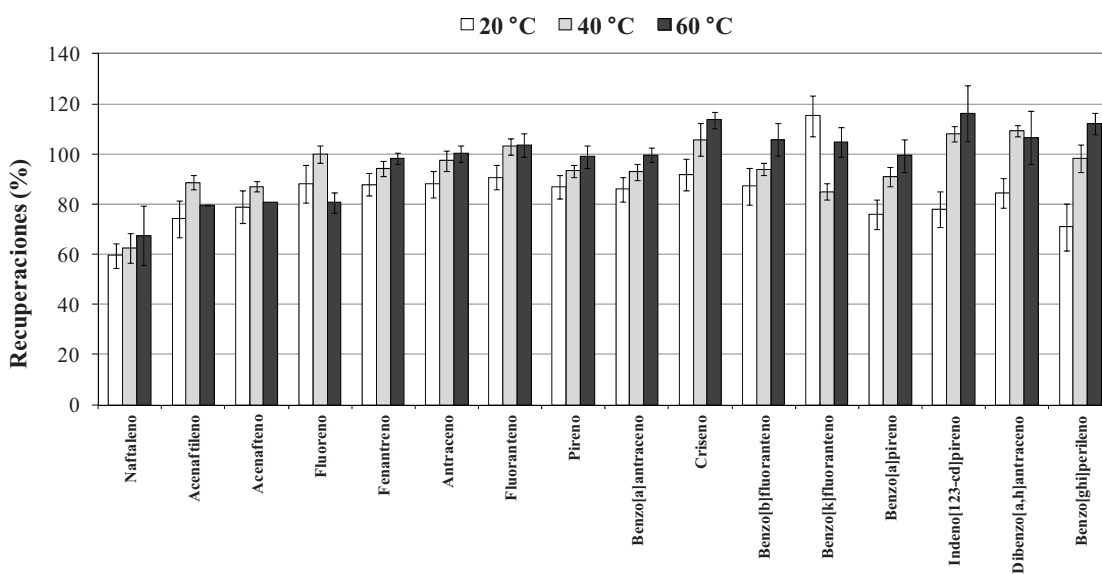


Figura 4.3. Eficiencia de la extracción de los HAP con tres temperaturas distintas. La barra de error representa una desviación estándar de 2 réplicas

4.1.4. Cantidad de disolvente orgánico y periodos de extracción

El volumen de disolvente y el número de extracciones se optimizaron en la extracción con el sistema de ultrasonido modificado. Se realizaron tres extracciones consecutivas de 30 minutos cada una con 20 mL de cloruro de metileno que se colectaron y analizaron por separado. Los resultados muestran que dos extracciones son suficientes para obtener más del 97 %, de la masa adicionada de cada compuesto en la temperatura optimizada. Este resultado ahorra un 33 % de tiempo y cantidad de disolvente. Salvo para fluoranteno, 1,2-BP, 1,8-AN y 9,10-DHBaP (**Tabla 4.2**). Esto se atribuyó a la presencia de falsos positivos producto de la complejidad química de la muestra.

Tabla 4.2. Eficiencia de la extracción con ultrasonido modificado

Nombre	Masa extraída (%) ¹		
	Periodo I	Periodo II	Periodo III
HAP			
Naftaleno	97.0	1.5	1.5
Acenaftileno	99.1	0.7	0.3
Acenafteno	98.6	0.3	1.1
Fluoreno	99.4	0.4	0.1
Fenantreno	98.5	1.1	0.4
Antraceno	99.2	0.6	0.1
Fluoranteno	93.7	3.6	2.7
Pireno	99.2	0.6	0.2
Benzo[<i>a</i>]antraceno	99.0	0.8	0.2
Criseno	98.9	0.9	0.2
Benzo[<i>b</i>]fluoranteno	99.0	0.8	0.2
Benzo[<i>k</i>]fluoranteno	98.7	1.1	0.2
Benzo[<i>a</i>]pireno	97.1	1.2	1.7
Indeno[123- <i>cd</i>]pireno	98.1	1.7	0.2
Dibenzo[<i>a,h</i>]antraceno	98.2	1.6	0.2
Benzo[<i>ghi</i>]perileno	98.4	1.4	0.2
Oxi-HAP			
1,4-NQ	99.1	0.9	0.0
1,2-BP	91.2	7.7	1.1
BF	96.5	2.6	0.9
FN	99.5	0.4	0.1
Xan	99.3	0.6	0.1
PN	99.2	0.6	0.1
9(10 <i>H</i>)AN	99.0	0.8	0.2
9,10-AD	99.4	0.5	0.1
1,8-AN	89.7	4.9	5.4
2-MAD	99.7	0.3	0.0
BT	99.5	0.5	0.0
1-PC	99.0	0.9	0.0
BTQ	99.2	0.8	0.0
5,12-NQ	99.4	0.6	0.1
9,10-DHB[<i>a</i>]P	93.8	0.4	5.8

¹-El cálculo se realizó a partir de muestras de PM_{2.5} impregnadas con una disolución multiestándar (0.5 mL) de 16 HAP (1 µg mL⁻¹) y 20 oxi-HAP (1 µg mL⁻¹). Las muestras se almacenaron a -20 °C y se extrajeron 24 h después. Cada periodo equivale 30 min.

4.2. Separación cromatografica de oxi-HAP, *n*-alcanos y HAP en extractos orgánicos complejos de las PM_{2.5} por extracción en fase sólida

Este procedimiento se optimizó para separar los analitos seleccionados por grupos de compuestos y disminuir la probabilidad de interferencias químicas que podrían dificultar la identificación y sesgar la cuantificación por CG-EM.

4.2.1. Evaluación de la separación con una disolución multiestándar (sin efecto matriz)

4.2.1.1. Selección de la fase estacionaria

La fase normal de sílica se emplea ampliamente para separar compuestos no polares de los polares (König *et al.* 1983) en técnicas preparativas para disminuir la complejidad de las muestras. Sin embargo, los compuestos polares pueden ser adsorbidos irreversiblemente proporcionando bajos recobros y modificación de la composición de la muestra (Lafleur *et al.* 1986, Sciherer-Roetman *et al.* 1988, Finlayson-Pitts y Pitts 2000) que dificultan en mayor grado la determinación de los componentes químicos más polares. Alternativamente se ha propuesto emplear la misma fase sílica pero modificada con cianopropilo que es una fase estacionaria menos polar para reducir estos problemas (Pedersen *et al.* 2004). En esta primera parte del trabajo estos tipos de materiales se compararon con fenilo y C₁₈, que son dos tipos de fase reversa que se emplean para la extracción en fase sólida por fase reversa y con ello configurar las condiciones iniciales y elegir el modo más apropiado y eficiente para separar las tres familias de componentes en una disolución multiestándar.

Los resultados experimentales, de la comparación de los cuatro tipos de fases, sugieren que sílica y cianopropilo-EA proporcionan una separación más eficiente entre clases de compuestos que fenilo y octadecilo mediante los esquemas de elución propuestos (Esquema 1, 2 y 3 en **Tabla 3.2**), ya que en ambas fases normales, los oxi-HAP se separan de los *n*-alcanos y de los HAP (**Figura 4.4 a y b**). Mientras que no hubo separación cuando las fases reversas se utilizaron (**Figura 4.4 c y d**). Debido a que *n*-alcanos y HAP eluyeron juntos en las fases normales, se optimizaron las condiciones para obtenerlos en fracciones separadas como se mostrará más adelante.

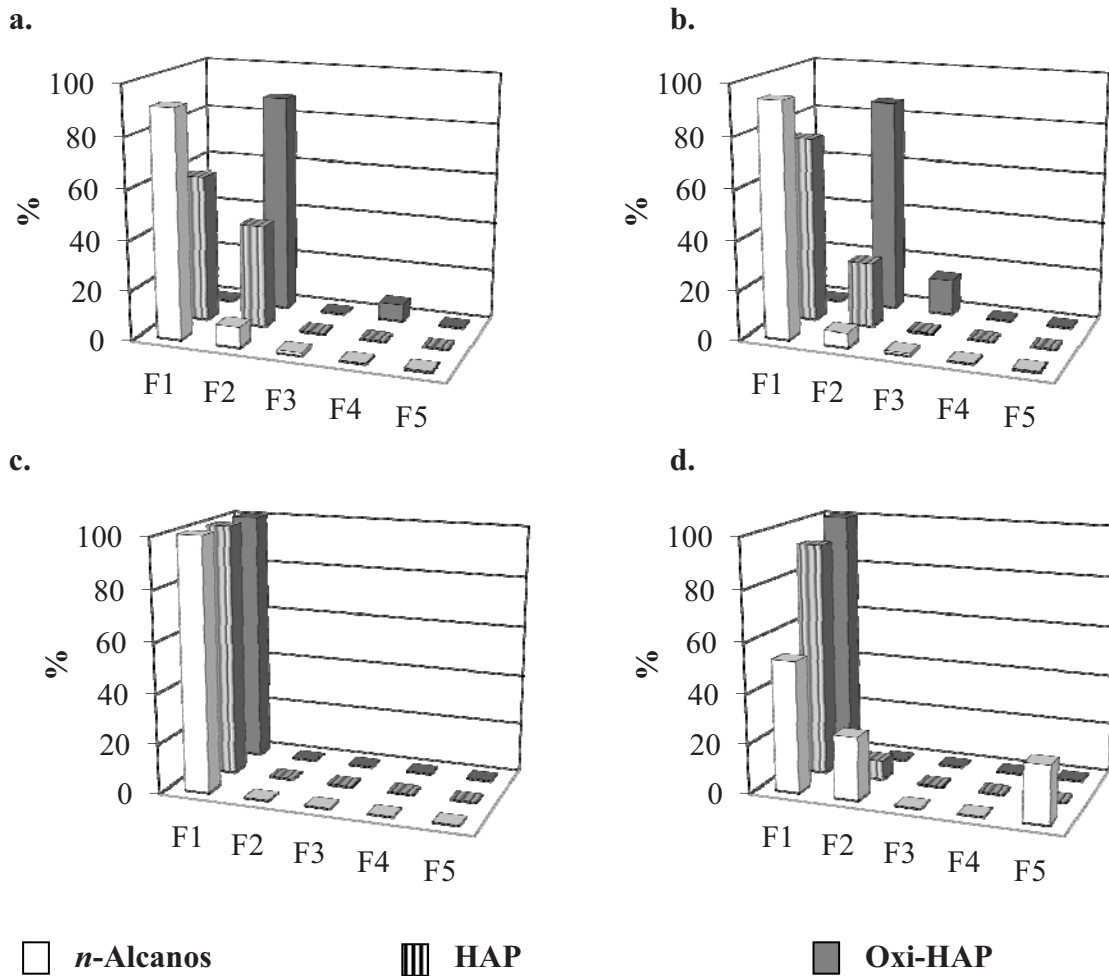


Figura 4.4. Distribución del porcentaje de la masa por fracción de las tres clases de compuestos orgánicos separados a través de **a.** Sílica (0.5 g) (Esquema 1), **b.** Cianopropilo-EA (0.5 g) (Esquema 1), **c.** Fenilo (0.5 g) (Esquema 2), **d.** C₁₈ (1 g) (Esquema 3). Fases empacadas en cartuchos.

4.2.1.2. Evaluación de las cantidades de fase estacionaria

La eficiencia de separación se evaluó también por medio del incremento de la cantidad de fase estacionaria, se probaron 0.5 g y 1 g (Esquema 4) y 2 g de sílica (Esquema 5); y también 0.5 g y 2 g (Esquema 5) de cianopropilo-EA empacado en columnas de vidrio. Los volúmenes de los disolventes se incrementaron y ajustaron proporcionalmente a la cantidad de fase y en todos los experimentos las eluciones se realizaron a gravedad. La eficiencia de la separación entre las tres clases de compuestos no se incrementó sobre 1 g y 2 g respecto a 0.5 g de sílica ni con 2 g respecto a 0.5 g de cianopropilo. Los oxi-HAP se separaron de

los *n*-alcanos pero los HAP coeluyeron con los *n*-alcanos y los oxi-HAP. Este comportamiento se atribuyó a un exceso del volumen de disolvente y a esquemas de elución más polares con respecto al esquema 1 (**Tabla 3.2**). Basados en estos resultados y debido a que los componentes de la disolución multiestándar separados sobre sílica y cianopropilo-EA mostraron una distribución similar, los experimentos siguientes se enfocaron en evaluar las condiciones de separación con cianopropilo. Además, estudios previos en el laboratorio describieron recuperaciones bajas cuando se empleó sílica (Saldarriaga *et al.* 2008).

4.2.1.3. Efecto de la variación del flujo, de la polaridad de la mezcla de elución y del volumen de los disolventes

La disolución multiestándar se eluyó también a través de 2 g de cianopropilo-EA mediante el ajuste de la velocidad del flujo de elución de los disolventes orgánicos a 0.4 y 2.5 mL min⁻¹ por medio del Esquema 6 y a 1 mL min⁻¹ con el Esquema 7, siendo ambos esquemas de menor polaridad que el Esquema 5. Los *n*-alcanos se distribuyeron 100 % en la fracción no polar; los HAP coeluyeron con los *n*-alcanos, de 59 % a 80 % y con los oxi-HAP, de 20 % a 41 %, con el Esquema 5. Los oxi-HAP aparecen en las fracciones más polares cuando el flujo decrece. Un experimento adicional se realizó con el Esquema 7 pero en cada fracción los volúmenes se subdividieron para detallar la separación, lo que resultó en un incremento de la separación, 86 y 100 % total de los oxi-HAP con los HAP y los *n*-alcanos, respectivamente. Estos resultados se aplicaron para optimizar el método con muestras reales. El Esquema 7 se empleó como guía para optimizar los volúmenes de elución para cada clase de compuestos orgánicos.

4.2.2. Evaluación de la separación por extracción en fase sólida con extractos orgánicos adicionados con disolución multiestándar (con efecto matriz)

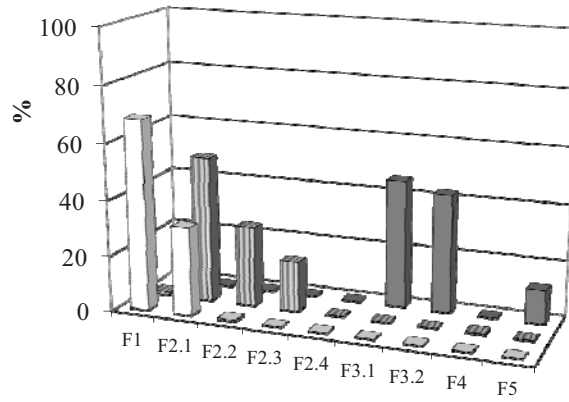
4.2.2.1. Comparación entre tres tipos de fases sólidas de cianopropilo

El incremento proporcional de los volúmenes del disolvente con respecto a la cantidad de fase estacionaria no produce buenas resoluciones entre las tres clases de compuestos químicos. La separación mejoró y el resultado mostró una distribución más eficiente cuando los volúmenes se sub-fraccionaron (Esquema 7). Esto sugirió el empleo de volúmenes menores de disolventes, y por lo tanto la reducción de la cantidad de fase, que concuerda con la idea de que para conseguir una adecuada concentración de los compuestos y un tratamiento de muestra mínimo, se requiere recobrarlos en un pequeño volumen de disolvente (Poole *et al.* 2000). Por esto se redujo la cantidad de cianopropilo-EA de 2 g a 1 g y luego se comparó con el mismo tipo de fase pero proporcionado por dos fabricantes distintos, rotulados como cianopropilo-UG (Grace) y cianopropilo-UV (Varian) diferenciados por la distribución del tamaño de poro y partícula (**Tabla 3.4**). Posteriormente, la polaridad de los disolventes de elución se redujo relativamente (Esquema 8 respecto a Esquema 7), esto retrasó la elución de los HAP y los oxi-HAP. De esta manera, el Esquema 8 se aplicó con el fin de evaluar la eficiencia de separación mediante las fases cianopropilo de tres distintos fabricantes.

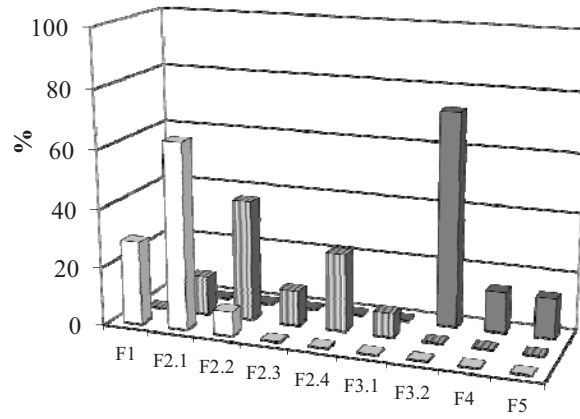
En las tres fases cianopropilo, los HAP y los *n*-alcanos se separaron completamente de los oxi-HAP, los cuales eluyen en las fracciones más polares con respecto a los Esquemas 6 y 7. Sin embargo, los HAP y los *n*-alcanos aun coeluyeron. El 32 % de los *n*-alcanos se superpusieron con 52 % de los HAP en cianopropilo-EA (F2.1 en **Figura 4.5a**), 72 % del total de los *n*-alcanos con 54 % de los HAP en cianopropilo-UG (F2.1 en **Figura 4.5b**) y 100 % de los *n*-alcanos con 92 % de HAP en cianopropilo-UV (F1+F2.1 en **Figura 4.5c**). Cianopropilo-EA se seleccionó para los próximos experimentos, ya que los HAP y los *n*-alcanos se sobrepusieron en menor grado respecto a las otras dos tipos de cianopropilo. Esto se debió probablemente a que el diámetro de partícula y poro de cianopropilo-EA son más homogéneos (la variación del tamaño de partícula es menor) que cianopropilo UG y UV, respectivamente. Lo que causa menor flujo anisotópico (variación del flujo con la

dirección) y canaleo (desviación de las moléculas por los conductos de una fase estacionaria) a través de los intersticios de la fase estacionaria (Poole *et al.* 1997). Además, la mayor densidad de empaque para cianopropilo-EA (0.728 g cm^{-3}) podría producir un número de platos teóricos más altos y por tanto una mayor resolución que la proporcionada por ciano-UG, que posee una densidad más baja (0.637 g cm^{-3}), favoreciendo la sobreposición entre *n*-alcanos y HAP. Aunque ciano-UV tuvo la más alta densidad de empaque (0.784 g cm^{-3}), en gran medida la coelución entre HAP y *n*-alcanos se podría deber más bien a una mayor polaridad causada por el efecto de “*no endcapping*” o bloqueo que produce pobre selectividad para ambas clases de compuestos y disminuyen el poder de la columna para resolverlos.

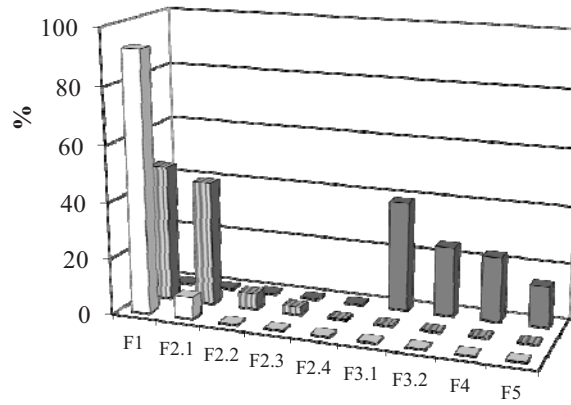
a.



b.



c.



□ *n*-Alcanos

▨ HAP

■ Oxi-HAP

Figura 4.5. Distribución porcentual de la masa de las tres familias de compuestos orgánicos sobre tres tipos de fases cianopropilo **a.** Cianopropilo-EA, **b.** Cianopropilo-UG y **c.** Cianopropilo-UV (1g) eluidos con el esquema 8.

4.2.2.2. Esquema de elución optimizado

Después de haber seleccionado a cianopropilo-EA para la separación, se combinaron las sub-fracciones que contenían la misma clase de compuestos y se incrementó el volumen de aquella fracción corrida con cloruro de metileno para retener los oxi-HAP hasta aplicar la fracción de acetona (Esquema 9 en la **Tabla 4.3**). En esas condiciones, los HAP todavía coeluyen (55 %) con los *n*-alcanos (Fracción 1 en la **Figura 4.6a**). Sin embargo, el volumen de la fracción 1 se redujó posteriormente a 0.5 mL (Esquema 10 en la **Tabla 4.3**). Este cambio en la cantidad de disolvente produce < 10 % de coelución entre HAP y *n*-alcanos y < 5% de los HAP con los oxi-HAP (Fracción 3 en la **Figura 4.6b**). Se ha demostrado que se requiere una separación eficiente entre los *n*-alcanos y HAP (Villalobos-Pietrini *et al.* 2007), ya que se han descrito interferencias de los *n*-alcanos en las respuestas genotóxicas de los HAP cuando son eluidos en la misma fracción a través de sílica. Procedimientos de fraccionamiento similares se han empleado para evaluar las propiedades genotóxicas de diferentes clases de compuestos orgánicos en mezclas ambientales complejas (Schuetzle y Lewtas 1986, Casellas *et al.* 1995).

Tabla 4.3. Esquemas de elución aplicados para el fraccionamiento de MOE,

Fracción y sub-fracciones	Esquema 8 ^a		Fracción	Esquema 9 ^b		Esquema 10 ^c	
	disolventes	V(mL)		disolventes	V(mL)	disolventes	V(mL)
1	Hex	1.0	1	Hex	1.0	Hex	0.5
2.1	Hex-CM (9:1)	0.5	2	Hex-CM (9:1)	2.0	Hex-CM (9:1)	2.0
2.2	Hex-CM (9:1)	0.5	3	Hex-CM (6.5:3.5)	4.0	CM	10.0
2.3	Hex-CM (9:1)	0.5	4	CM	8.0	Ace	10.0
2.4	Hex-CM (9:1)	0.5	5	Ace	10.0		
3.1	Hex-CM (6.5:3.5)	1.0					
3.2	Hex-CM (6.5:3.5)	3.0					
4	CM	6.0					
5	Ace	10.0					

MOE adicionada con una disolución multiestándar. ^a cianopropilo-EA, cianopropilo-UG y cianopropilo-UV: elución a gravedad; ^{b, c} cianopropilo-EA; elución a gravedad: Esquema 9 (fracciones 1,2,3) y esquema 10 (fracciones 1, 2); y con nitrógeno cromatográfico a flujo controlado (1 mL min⁻¹): Esquema 9 (fracciones 4,5) y esquema 10 (fracciones 3, 4). Cada fase (1g) se empacó en una columna de vidrio. Hex: *n*-hexano, CM: cloruro de metileno, Met: metanol, Ace: acetona.

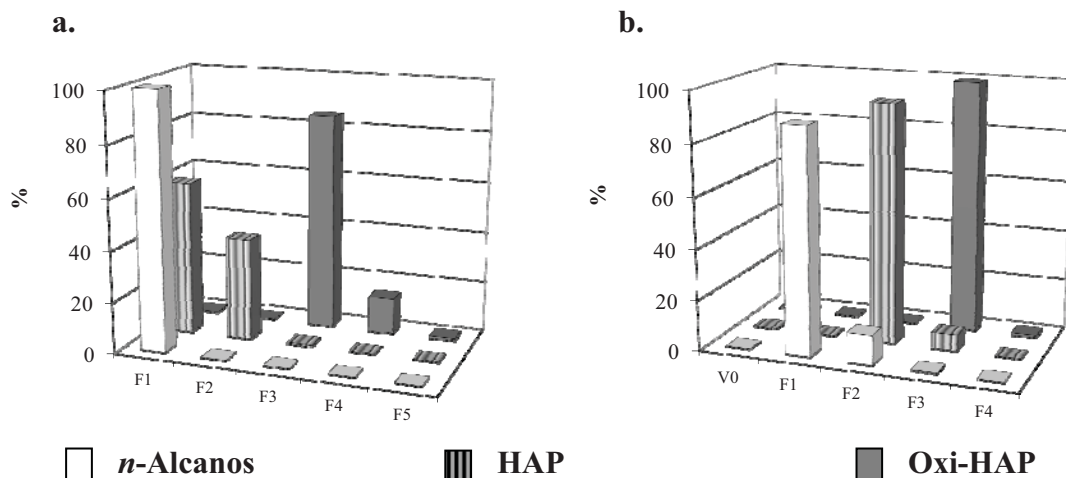


Figura 4.6. Distribución del porcentaje de masa por fracción de las tres clases de compuestos orgánicos separadas a través de cianopropilo-EA (1 g) mediante **a.** Esquema 9 y **b.** Esquema 10 (Vo: volumen muerto de la columna equivalente a 1 mL de *n*-hexano).

Finalmente, los oxi-HAP eluyeron en la tercera fracción constituida solamente por cloruro de metileno (Esquema 10 en la **Tabla 4.3**), en lugar de *n*-hexano:cloruro de metileno (6.5:3.5). Esto facilitó el empleo de condiciones más suaves, de temperatura y presión (30 °C, 127 mmHg) para la evaporación del exceso de disolvente en el evaporador rotatorio con el incremento en las recuperaciones (**Tabla 4.4**).

Tabla 4.4. Recobros de los oxi-HAP en la fracción 3

Oxi-HAP	Elución con 4 mL HEX:CM (6.5:3.5) (Esquema 9)	Elución con 10 mL de CM (Esquema 10)
1,4-Naftoquinona	55	76
1,2-Benzopirona	36	75
Benzofenona	65	87
9-Fluorenona	49	79
Xantona	38	79
Perinaftenona	52	72
9,10-Antracenediona	42	74
Anhídrido-1,8-Naftalico	43	75
2-Metilantracenediona	39	75
7(<i>H</i>)-Benzo(de)antracen-7-ona	29	59
1-Pirenocarboxialdehído	72	83
Benzo(<i>a</i>)antracen-7,12-diona	31	65
5,12-Naftacenoquinona	19	59
9,10-Dihidrobenzo(<i>a</i>)piren3(4H)ona	28	65

9(10*H*)-Antracena se excluyó debido a inconsistencias en los recobros

4.2.3. Evaluación de la eficiencia del procedimiento de separación

El esquema optimizado se aplicó a tres distintas cantidades de material orgánico extraíble adicionado con la misma cantidad de disolución multiestándar. La eficiencia de separación y recuperación se evaluó también en función de la masa de materia orgánica extraíble. Se probaron tres cantidades distintas de muestras reales de MOE (2.6, 5.6, 8.5 mg). Los resultados mostraron que la separación entre las clases de compuestos es reproducible, lo cual se comprobó por la similitud exhibida de las distribuciones obtenidas al fraccionar 2.6 mg de MOE por duplicado e ilustrado mediante las figuras **4.6b** y **4.7a**. El fraccionamiento de las tres cantidades distintas de MOE muestra que los oxi-HAP se eluyen en la fracción 3 y coeluyen con < 8 % de la masa total de HAP; los *n*-alcanos se distribuyen entre las fracciones 1 y 2, y eluyen junto con los HAP en la fracción 2 pero el grado de coelución varía con la cantidad de MOE, cuando se fraccionan 2.6 mg de MOE llega hasta 17 %, con 5.5 mg de MOE hasta 30 % y alcanza 32 % con 8.5 mg de MOE (**Figura 4.7c**). Este resultado se atribuye a un exceso de *n*-alcanos en las muestras reales como se discutirá en la siguiente sección. La cantidad de MOE no es la principal causa, sin embargo la masa de analito sí podría serlo. Esta afirmación se basó en que la distribución de HAP y oxi-HAP permaneció constante con el incremento de la MOE. A pesar de que se aumentó la masa de estos compuestos, resultó insuficiente para superar la capacidad de la fase. Esto indica que la resolución entre clases de compuestos podría verse afectada en muestras que contengan relativamente grandes cantidades de analito respecto a cantidades bajas de MOE como sucedió con los *n*-alcanos. Sin embargo, en el fenómeno contrario, aquellas muestras con contenido alto de MOE y masas bajas de analito, la resolución podría no verse afectada, como se observó con los HAP y los oxi-HAP.

Los HAP y los oxi-HAP se retuvieron cuantitativamente en cianopropilo-EA hasta un punto en que el volumen de muestra excedió la capacidad de retención de la fase estacionaria. Esto no resultó cierto para los *n*-alcanos, ya que eventualmente sus concentraciones entrantes y salientes de la columna se igualaron debido a que sobrecargaron la columna.

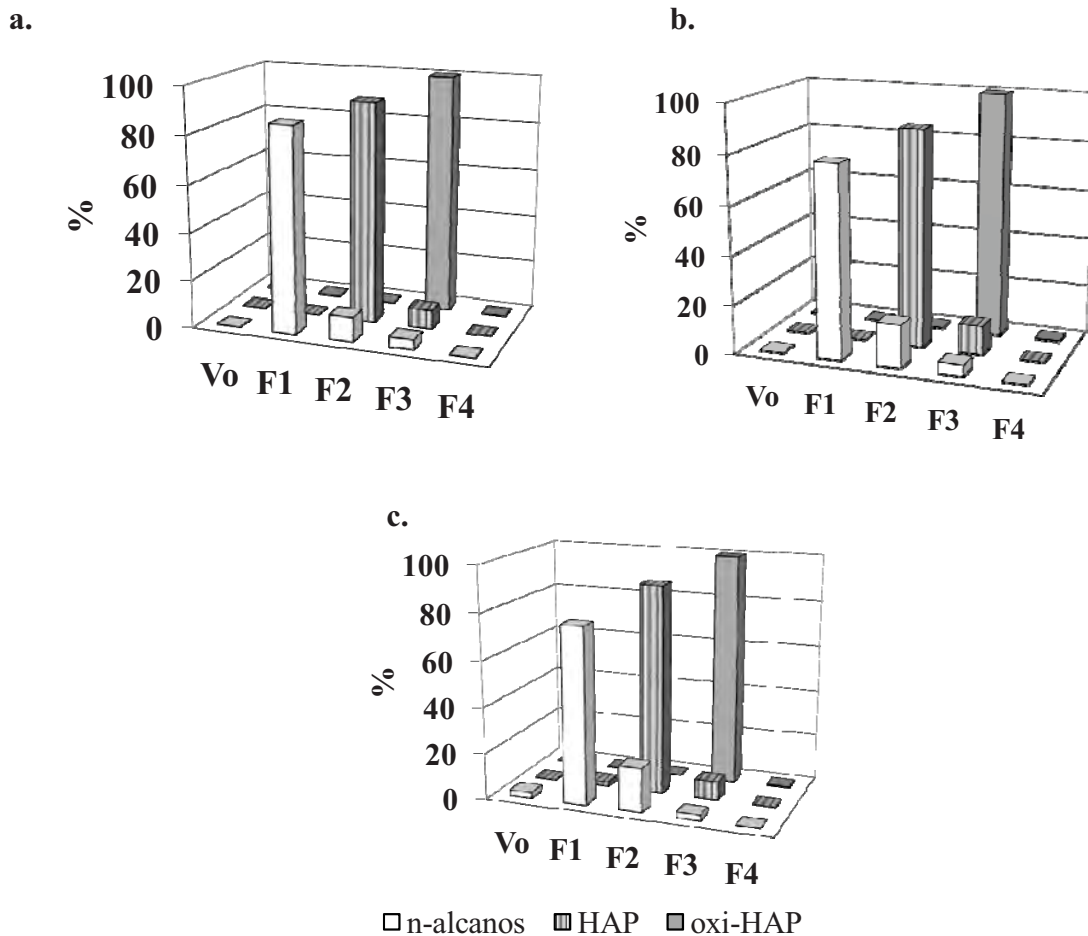


Figura 4.7. Distribución de la masa de compuestos a través de las distintas fracciones mediante la aplicación del fraccionamiento optimizado (1 g de cianopropilo-EA, esquema 10) a tres cantidades diferentes de MOE fortificada **a.** 2.6 mg, **b.** 5.6 mg y **c.** 8.5 mg.

4.2.4. Evaluación de la eficiencia de recuperación

El procedimiento de fraccionamiento optimizado se aplicó a tres cantidades distintas de masa de MOE como las encontradas en las muestras reales. Esta MOE se adicionó con una disolución multiestándar compuesta por las tres clases de familias orgánicas. Estas se emplearon para evaluar la cantidad de carga de MOE y considerar el efecto de la matriz atmosférica en la eficiencia de recuperación del procedimiento de fraccionamiento desarrollado. Previamente se mencionó la manera como se prepararon las muestras para estos ensayos. Sin embargo, se describirá brevemente, se tomaron dos alícuotas de 150 μ L de cada masa de MOE (2.6, 5.6 y 8.5 mg) y se pasaron a través de 1 g de cianopropilo-EA,

una tercera alícuota, que no se fraccionó, se empleó como referencia para conocer el recobro. Las recuperaciones oscilaron desde $53 \pm 17 \%$ hasta $101 \pm 11 \%$ para los *n*-alcanos, desde $58 \pm 5 \%$ hasta $85 \pm 9 \%$ para los HAP y desde $68 \pm 12 \%$ hasta $108 \pm 9 \%$ para los oxi-HAP (**Tabla 4.5**). En general, se recuperaron con mayor eficiencia los compuestos más pesados que los más ligeros proporcionales a sus presiones de vapor. A pesar de que la eficiencia de recuperación es baja para algunos compuestos se debe considerar que los resultados contemplan todas las etapas del tratamiento por el procedimiento de fraccionamiento evaluado con tres masas distintas de MOE obtenido de muestras auténticas y en el rango encontrado en la matriz atmosférica. De la misma forma, los resultados se obtuvieron mediante muestras que contemplan la composición compleja de la MOE acumulada o individual extraída de las $PM_{2.5}$ y colectada de cinco sitios en la AMCM con *n*-alcanos, HAP, oxi-HAP y otras clases de compuestos orgánicos con variadas propiedades originadas por fuentes biogénicas y antrópicas que introducen dificultades para el análisis químico e incrementan la probabilidad de errar en la identificación e incrementar la estimación de incertidumbres. Por lo tanto, este método podría ser muy confiable para aplicarse a los extractos orgánicos de las $PM_{2.5}$ y minimizaría la incertidumbre de su determinación.

Tabla 4.5. Iones para el análisis por CG-EM y porcentajes de recobro (n=24) sobre MOE

Clases	Compuestos	Ion Primario	Iones secundarios	Promedio (%)	± IC (95 %)
<i>n</i> -Alcanos ¹	<i>n</i> -Tetradecano	57	43, 71	64	10 (54-74)
	<i>n</i> -Hexadecano	57	43, 71	64	10 (54-74)
	<i>n</i> -Octadecano	57	43, 71	71	9 (62-80)
	<i>n</i> -Eicosano	57	43, 71	77	9 (68-86)
	<i>n</i> -Docosano	57	43, 71	84	11 (73-95)
	<i>n</i> -Tetracosano	57	43, 71	99	12 (87-111)
	<i>n</i> -Hexacosano	57	43, 71	101	11 (90-112)
	<i>n</i> -Octacosano	57	43, 71	97	11 (86-108)
	<i>n</i> -Triacotano	57	43, 71	91	11 (80-102)
	<i>n</i> -Dotriacotano	57	43, 71	84	12 (72-96)
	<i>n</i> -Tetratriacotano	57	43, 71	79	14 (65-93)
	<i>n</i> -Hexatriacotano	57	43, 71	76	18 (58-94)
	<i>n</i> -Octatriacotano	57	43, 71	62	18 (44-80)
	<i>n</i> -Tetracontano	57	43, 71	53	17 (36-70)
HAP ²	Naftaleno	128	129, 64	69	8 (61-77)
	Acenaftileno	152	153, 76	69	7 (62-76)
	Acenafteno	154	155, 77	81	8 (73-89)
	Fluoreno	166	167, 83	67	6 (61-73)
	Fenantreno	178	179, 89	58	5 (53-63)
	Antraceno	178	179, 89	70	6 (64-76)
	Fluoranteno	202	203, 101	76	8 (68-84)
	Pireno	202	203, 101	81	7 (74-88)
	Benzo[<i>a</i>]antraceno	228	229, 114	60	7 (53-67)
	Criseno	228	229, 114	82	9 (73-91)
	Benzo[<i>b</i>]fluoranteno	252	253, 126	63	8 (55-68)
	Benzo[<i>k</i>]fluoranteno	252	253, 126	85	9 (76-94)
	Benzo[<i>a</i>]pireno	252	253, 126	72	10 (62-82)
	Indeno[1,2,3- <i>cd</i>]pireno	276	277, 138	66	11 (55-77)
	Dibenzo[<i>a,h</i>]antraceno	278	279, 139	58	11 (47-69)
Benzo[<i>ghi</i>]perileno	276	277, 138	73	11 (62-84)	
Oxi-HAP ^{3,4}	1,4-Naftoquinona	158	102, 130	96	11 (85-107)
	1,2-Benzopirona	118	146, 89	108	9 (99-117)
	Benzofenona	105	77, 182	104	8 (96-112)
	9 <i>H</i> -Fluoren-9-ona	180	152, 76	95	8 (87-103)
	Xantona	198	168, 139	94	9 (85-103)
	1 <i>H</i> -Phenalen-1-one	152	180, 76	79	12 (67-91)
	9,10-Antraquinona	208	180, 152	78	12 (66-90)
	1,8-Anhidrido Naftalico	154	126, 198	106	12 (94-118)
	2-Metil-antraquinona	222	194, 166	84	11 (73-95)
	7 <i>H</i> -Benz[<i>de</i>]antraceno-7-ona	230	202, 101	83	13 (70-96)
	1-Pyrenocarboxialdehido	230	202, 100	99	14 (85-113)
	Benz[<i>a</i>]antraceno-7,12-quinona	258	202, 230	77	12 (65-89)
	5,12-Naftacenoquinona	258	202, 230	80	11 (69-91)
	9,10-Dihidrobenc[<i>a</i>]piren-7(8 <i>H</i>)ona	270	214, 239	68	12 (56-80)

MOE adicionada y fraccionada con esquema optimizado. ¹Cuantificado por estándar interno con escualeno, ²Cuantificado por estándar interno con trifeniletileno, ³Cuantificado por estándar interno con 1, 2, 3,4, 5,6, 7,8-octahidroantraceno. ⁴9(10*H*)-Antraceno se excluyó debido a inconsistencias en los recobros.

4.2.5. Capacidad de carga de la fase cianopropilo-EA

La capacidad de la carga de la fase estacionaria, se evaluó para conocer la cantidad de analito soportado por 1 g de cianopropilo-EA. Se consideró la masa total de *n*-alcanos y HAP adicionados y la masa contenida por la MOE acumulada y determinada mediante un trabajo previo (Amador-Muñoz *et al.* 2011). Los resultados mostraron (**Tabla 4.6**) que 1 g de cianopropilo-EA se sobrecarga con cerca de 59.5 µg de los *n*-alcanos, de los cuales el 17 % eluyó junto con los HAP. Sin embargo, cuando los HAP se encuentran en una masa ≤ 42.1 µg, la fracción 2 contiene de 89 % a 95 % de su masa total y menos del 10 % se distribuye entre las fracciones 1 y 3. En ese mismo estudio (Amador-Muñoz *et al.* 2011). Se encontró que las medianas de la masa de los compuestos oscilaron de 5.0 a 9.0 µg para HAP y de 43.2 a 70.9 µg para C₁₉-C₃₃ en periodos de muestreo de 24 h en cinco sitios de la AMCM. Sin embargo el rango de la masa de los *n*-alcanos se encontró en niveles por debajo de 80.3 µg en 5.6 mg de MOE, lo que llevaría a < 30 % de coelución con los HAP en las condiciones optimizadas, por lo que futuros ajustes deberían ser realizados. La situación de los HAP es distinta, el rango encontrado previamente es más bajo que la masa en este estudio. Las cantidades de oxi-HAP no se han reportado en México, sin embargo la comparación con las concentraciones halladas en otras ciudades indica similares o más bajos niveles que los HAP, así el método de separación propuesto se constituye en una opción bastante confiable para ser aplicado a las muestras en este estudio.

Tabla 4.6. Masa estimada total de analitos en MOE acumulada y fraccionada mediante esquema 10.

Compuestos	MOE acumulada (mg)		
	2.6	5.5	8.5
∑14 <i>n</i> -alcanos*, µg	59.5	80.3	101.3
∑16 HAP, µg	35.0	38.7	42.1

* La suma incluye 14 *n*-alcanos adicionados a la MOE más 15 *n*-alcanos (C₁₉H₄₀-C₃₃H₆₈) estimados en un estudio previo (Amador-Muñoz *et al.* 2011)

4.3. Evaluación del método analítico

Después de optimizar las condiciones analíticas de la extracción y el fraccionamiento (Secciones 4.1 y 4.2) y antes de aplicarlo a las muestras objeto de estudio, el método se probó, con partículas PM_{2.5} colectadas previamente en el AMCM (Sección 3.1.3) pero adicionadas ahora con cinco cantidades distintas de cada uno de los compuestos (Tabla 3.5), para calificar su desempeño mediante la determinación sus parámetros analíticos (linealidad, recobros, reproducibilidad, la eficiencia de separación y los límites de detección y de cuantificación). El intervalo de masas ensayadas se seleccionó de acuerdo a estimaciones previas, conservando una relación menor que 1 µg de compuesto / mg de materia orgánica extraída y equivalente a concentraciones atmosféricas reportadas anteriormente en partículas finas de zonas urbanas (Oda *et al.* 2001, Feng *et al.* 2006, Amador *et al.* 2011). Además, se calificó su validez para extraer el contenido de la materia orgánica certificada por el material de referencia SRM 1649a.

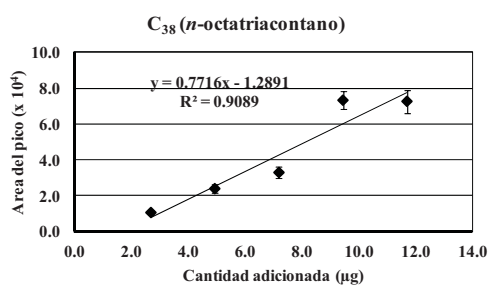
4.3.1. Linealidad del método

En el intervalo de masas ensayado, el análisis de correlación (*r* de *Pearson*) y el contraste de *t* de *student* indicaron que los puntos experimentales, obtenidos después de la extracción y el fraccionamiento para todos los compuestos estudiados, se ajustan significativamente ($p < 0.5$) a un modelo lineal (Tabla 4.7 y 4.8). Sin embargo, el análisis de los coeficientes de determinación para cada compuesto (r^2) mostró que el porcentaje de variabilidad ($r^2 \times 100$) del fraccionamiento es menos explicada (50 a 99 %) por el cambio de la masa ensayada que la de la extracción (84.9 y 100 %) porque los valores de r^2 disminuyen cuando se aplica el fraccionamiento (Tabla 4.8). Por lo tanto, la proporción de variabilidad no explicada o debida a otros factores resultó mayor para el fraccionamiento (1 a 50 %) que para la extracción (0 a 14.9 %).

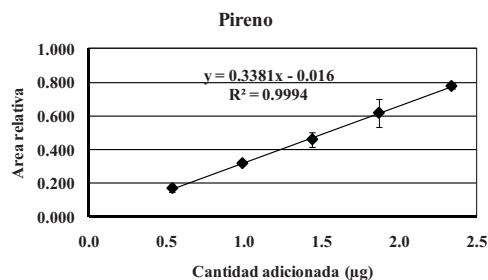
Particularmente se encontró que hay dificultades cuando se fracciona la materia orgánica (Tabla 4.8) para 7 *n*-alcanos (C₂₄ a C₃₆) y 2 oxi-HAP (9-FN y BTQ). El comportamiento de los *n*-alcanos se produce muy probablemente por la dificultad para controlar su elución, ya que su interacción con la fase podría estar más dominada por mecanismos de adsorción

o exclusión que por las interacciones moleculares en las que se basa la fase estacionaria cianopropilo (Thurman y Mills 1998). En relación a los resultados de los oxi-HAP, se observó experimentalmente una mayor dificultad para eluirlos que los otros dos componentes debido a su fuerte interacción con la fase estacionaria, por lo tanto hubo que utilizar mayor volumen del disolvente orgánico (10 mL de cloruro de metileno) y reducir adicionalmente la fracción en la que se obtuvieron para concentrarlos y alcanzar los límites de cuantificación del método instrumental (Sección 4.3.6).

a.



b.



c.

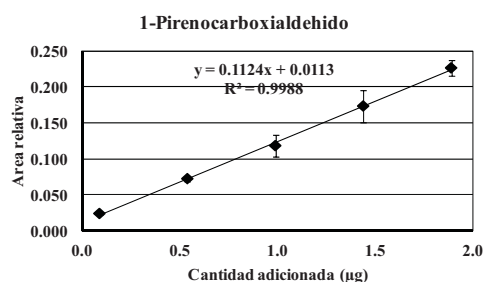
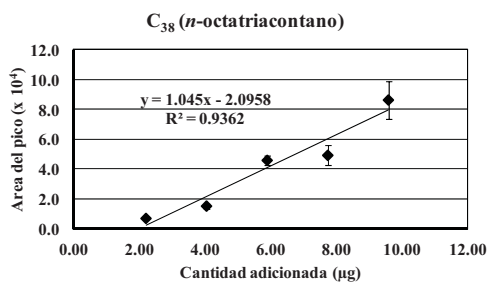
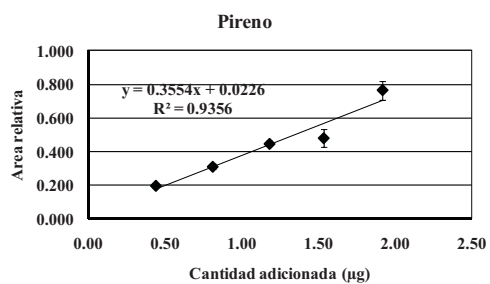


Figura. 4.8. Linealidad de la extracción, ejemplificada mediante a. C₃₈ (n-octatriacontano), b. Pireno y c. 1-Pirenocarboxialdehído.

a.



b.



c.

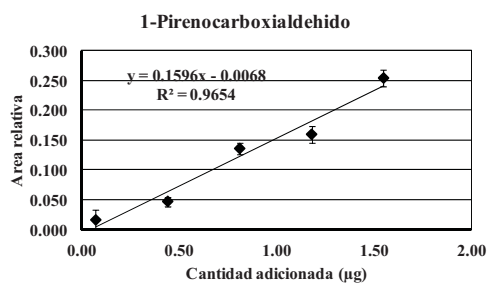


Figura. 4.9. Linealidad del procedimiento de fraccionamiento, ejemplificado mediante **a.** C₃₈ (*n*-octatriacontano), **b.** Pireno y **c.** 1-Pirenocarboxialdehído.

Tabla 4.7. Parámetros de la extracción

Compuesto	r	r ²	Pendiente ±IC	Intercepto ±IC
n-Alcanos				
C ₁₄	0.987	0.975	2.361 ±0.147	-1.758 ±0.474
C ₁₆	0.987	0.974	2.072 ±0.132	-1.779 ±0.425
C ₁₈	0.979	0.958	1.756 ±0.142	-1.476 ±0.458
C ₂₀	0.978	0.957	1.531 ±0.125	-1.334 ±0.402
C ₂₂	0.961	0.924	1.425 ±0.158	-1.529 ±0.508
C ₂₄	0.932	0.869	1.246 ±0.188	-1.165 ±0.603
C ₂₆	0.963	0.928	1.180 ±0.127	-1.705 ±0.409
C ₂₈	0.971	0.943	1.099 ±0.105	-1.741 ±0.336
C ₃₀	0.962	0.926	1.020 ±0.112	-1.380 ±0.359
C ₃₂	0.974	0.948	0.958 ±0.087	-1.433 ±0.279
C ₃₄	0.959	0.920	0.955 ±0.109	-1.457 ±0.350
C ₃₆	0.976	0.952	0.972 ±0.084	-1.284 ±0.271
C ₃₈	0.953	0.909	0.772 ±0.095	-1.289 ±0.304
C ₄₀	0.866	0.749	0.755 ±0.169	-1.322 ±0.543
HAP				
Naft	0.984	0.968	0.374 ±0.027	-0.028 ±0.017
Ace	0.998	0.995	0.277 ±0.007	-0.010 ±0.005
Acenafti	0.995	0.990	0.167 ±0.006	0.001 ±0.004
Flu	0.995	0.990	0.181 ±0.007	-0.005 ±0.005
Fent	0.998	0.997	0.340 ±0.008	-0.005 ±0.005
Antr	0.999	0.998	0.324 ±0.006	-0.009 ±0.004
Flt	1.000	1.000	0.341 ±0.002	-0.002 ±0.001
Pir	1.000	0.999	0.338 ±0.003	-0.016 ±0.002
B[a]A	0.999	0.998	0.397 ±0.007	-0.025 ±0.004
Cris	0.999	0.997	0.417 ±0.009	-0.065 ±0.005
B[b]F	0.996	0.992	0.448 ±0.016	-0.165 ±0.010
B[k]F	0.973	0.947	0.448 ±0.041	-0.109 ±0.026
B[a]P	0.997	0.994	0.375 ±0.011	-0.036 ±0.007
I[123-cd]P	0.982	0.964	0.410 ±0.031	-0.041 ±0.020
D[ah]A	0.994	0.989	0.383 ±0.016	-0.019 ±0.010
B[ghi]P	0.993	0.987	0.389 ±0.018	-0.116 ±0.011
Oxi-HAP				
1,4-NQ	0.998	0.996	0.029 ±0.001	0.001 ±0.000
1,2-BP	0.990	0.980	0.123 ±0.007	0.003 ±0.003
BF	0.999	0.999	0.105 ±0.002	-0.002 ±0.001
9-FN	0.997	0.994	0.198 ±0.006	-0.006 ±0.003
Xan	0.989	0.978	0.141 ±0.008	-0.007 ±0.004
PN	0.993	0.987	0.094 ±0.004	-0.004 ±0.002
9(10)-AN	0.922	0.849	0.075 ±0.012	-0.011 ±0.006
9,10-AD	0.991	0.982	0.095 ±0.005	0.001 ±0.002
1,8-AN	0.926	0.858	0.039 ±0.006	-0.005 ±0.003
2_MAD	0.999	0.997	0.072 ±0.001	-0.001 ±0.001
BT	0.996	0.993	0.206 ±0.007	-0.018 ±0.003
1-PC	0.999	0.999	0.112 ±0.002	0.011 ±0.001
BTQ	0.994	0.988	0.123 ±0.005	-0.006 ±0.002
5,12-NQ	0.999	0.998	0.221 ±0.004	-0.008 ±0.002
9,10-DHB[a]P	1.000	1.000	0.147 ±0.001	0.003 ±0.001

La correlación se probó con un contraste de *t* de student. En todos los casos *t* calculado (Miller y Miller 2002) resultó mayor que *t*_(m-2) de tablas (gl=28) y se concluyó que todos los coeficientes de correlación de Pearson resultaron significativos (*p*<0.05), m: pendiente de la línea recta, IC: intervalo de confianza (95 %).

Tabla 4.8. Parámetros del fraccionamiento

Compuestos	r	r ²	m	±IC	Intercepto	±IC
n-Alcanos						
C ₁₄	0.902	0.814	4.75	±0.88	-0.508	2.313
C ₁₆	0.909	0.827	4.45	±0.79	-1.135	2.079
C ₁₈	0.912	0.831	4.42	±0.77	-1.963	2.031
C ₂₀	0.920	0.847	4.80	±0.79	-3.417	2.087
C ₂₂	0.885	0.783	5.45	±1.11	-3.517	2.925
C ₂₄	0.753	0.567	4.68	±1.58	1.817	4.168
C ₂₆	0.708	0.502	4.58	±1.77	1.845	4.658
C ₂₈	0.773	0.598	4.14	±1.32	0.899	3.467
C ₃₀	0.775	0.601	3.17	±1.00	2.240	2.633
C ₃₂	0.803	0.645	2.49	±0.71	1.672	1.884
C ₃₄	0.791	0.626	2.08	±0.62	0.276	1.644
C ₃₆	0.877	0.770	1.69	±0.36	-0.940	0.943
C ₃₈	0.968	0.936	1.05	±0.11	-2.096	0.278
C ₄₀	0.976	0.953	0.68	±0.06	-1.598	0.153
HAP						
Naft	0.992	0.984	0.32	±0.02	0.022	0.008
Ace	0.991	0.983	0.33	±0.02	-0.028	0.009
Acenafti	0.996	0.992	0.20	±0.01	0.011	0.004
Flu	0.996	0.992	0.16	±0.01	0.012	0.003
Fent	0.916	0.839	0.36	±0.06	0.025	0.032
Antr	0.968	0.938	0.28	±0.03	-0.056	0.014
Flt	0.975	0.951	0.30	±0.03	0.002	0.014
Pir	0.967	0.936	0.36	±0.04	0.023	0.019
B[a]A	0.932	0.868	0.47	±0.07	-0.042	0.038
Cris	0.885	0.783	0.73	±0.15	-0.119	0.078
B[b]F	0.910	0.828	0.47	±0.08	-0.012	0.044
B[k]F	0.847	0.717	0.47	±0.12	0.114	0.061
B[a]P	0.953	0.909	0.35	±0.04	0.024	0.022
I[123-cd]P	0.824	0.680	0.24	±0.17	0.207	0.091
D[ah]A	0.952	0.907	0.18	±0.08	0.003	0.040
B[ghi]P	0.896	0.803	0.41	±0.08	0.039	0.041
Oxi-HAP						
1,4-NQ	0.879	0.773	0.03	±0.01	-0.010	0.002
1,2-BP	0.969	0.938	0.08	±0.01	0.001	0.003
BF	0.918	0.843	0.09	±0.02	-0.010	0.006
9-FN	0.812	0.659	0.16	±0.04	-0.016	0.017
Xan	0.918	0.844	0.10	±0.02	-0.002	0.007
PN	0.966	0.932	0.06	±0.01	-0.003	0.002
9(10H)-AN						
9,10-AD	0.871	0.758	0.07	±0.02	-0.002	0.006
1,8-AN	0.974	0.948	0.04	±0.00	0.000	0.001
2_MAD	0.841	0.707	0.05	±0.01	-0.003	0.005
BT	0.926	0.858	0.21	±0.03	-0.012	0.013
1-PC	0.983	0.965	0.16	±0.01	-0.007	0.005
BTQ	0.832	0.692	0.11	±0.03	-0.013	0.011
5,12-NQ	0.879	0.772	0.18	±0.04	-0.028	0.015
9,10-DHB[a]P	0.873	0.762	0.24	±0.05	-0.054	0.021

La correlación se probó con un contraste de *t* de student. En todos los casos *t* calculado (Miller y Miller 2002) resultó mayor que *t*_(n-2) de tablas (gl=28) y se concluyó que todos los coeficientes de correlación de Pearson resultaron significativos (*p*<0.05), m: pendiente de la línea recta, IC: intervalo de confianza (95%). El compuesto 9(10H)Antracena se excluyó del análisis porque la señal se perdió en las fracciones.

Los resultados para esos compuestos definieron la manera de analizarlos. De este modo, los *n*-alcanos solamente se analizaron en el extracto orgánico sin fraccionar porque se encuentran en concentraciones ($\mu\text{g m}^{-3}$) dos o tres órdenes de magnitud más altas que los aromáticos policíclicos en aire y tienen señales analíticas fácilmente distinguibles del ruido (**Figura 4.19b**). Por el contrario, los HAP y los oxi-HAP se determinaron en las fracciones, ya que el ruido en las muestras complejas dificulta la distinción de sus picos correspondientes (**Figuras 4.28a, 4.28b y 4.35b**) y la purificación contribuye a disminuir la probabilidad de falsas identificaciones (**Sección 4.35**).

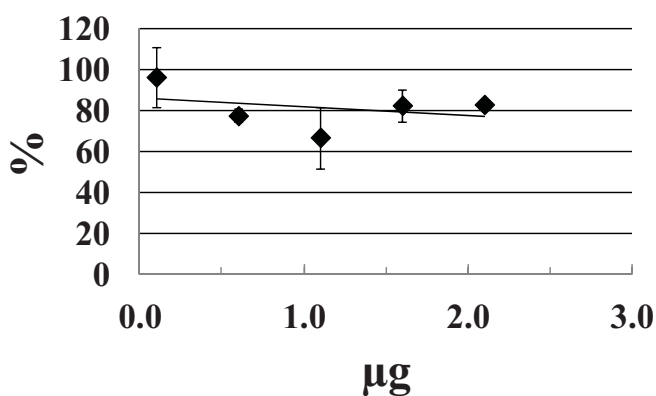
4.3.2. Recobro

Este parámetro analítico se determinó, a través de cada uno de los cinco niveles de concentración ensayados, con el fin de evaluar el comportamiento de la eficiencia de la extracción y del fraccionamiento en condiciones optimizadas para cada compuesto. El cálculo de los porcentajes de recobro de la extracción, correspondientes a cada nivel de ensayo, se basó en estándares de referencia preparados por dilución en una alícuota de los respectivos extractos orgánicos obtenidos del filtro sin fortificar (con efecto matriz), debido a que los obtenidos directamente con el estándar de referencia puro (sin efecto matriz) mostraron resultados inconsistentes, similar a lo encontrado por Medina-Valtierra 2010 y Valle-Hernández *et al.* 2010. Fundamentalmente, se observó mayor coleo y asimetría de los picos como consecuencia del incremento de la interacción entre el analito y la fase estacionaria en ausencia de la matriz de la muestra, lo que dificultó su integración, disminuyendo el área del pico del estándar e incrementando los recobros.

Los recobros obtenidos con base en el resultado anterior se analizaron para determinar la dependencia de la eficiencia de la extracción y el fraccionamiento respecto de la masa adicionada de cada compuesto mediante un análisis de regresión lineal. Se planteó como hipótesis nula que (**H₀**): la eficiencia del recobro “*no depende*” de la masa adicionada y se contrastó con la hipótesis alterna (**H₁**): la eficiencia del recobro “*depende*” de la masa adicionada. Cuando el modelo lineal explicó significativamente la dispersión de los datos ($p < 0.05$), evaluado con “F” de Fisher, **H₀** fue rechazada y el recobro deberá corregirse en función de la cantidad encontrada. Por el contrario, cuando no fue significativa ($p > 0.05$), se

deberá emplear el promedio de los recobros como factor de corrección para cuantificar la cantidad real en las $PM_{2.5}$ independientemente de la cantidad determinada. En el rango de masa probado, los resultados de este análisis mostraron que la mayoría de los compuestos tienen recobros que son independientes de la cantidad adicionada ($p>0.05$) cuando únicamente se consideró el procedimiento de extracción (**Figura 4.10a**). Las excepciones correspondieron a criseno, benzo[*b*]fluoranteno, 7*H*-benzo[*de*]antracen-7-ona, 1-pirenocarboxialdehído, 5,12-naftacenoquinona y 9,10-dihidrobenzo[*a*]piren3[4*H*]ona con recobros que varían significativamente ($p<0.05$) cuando la cantidad adicionada se incrementa (**Figura 4.10b**).

a.



b.

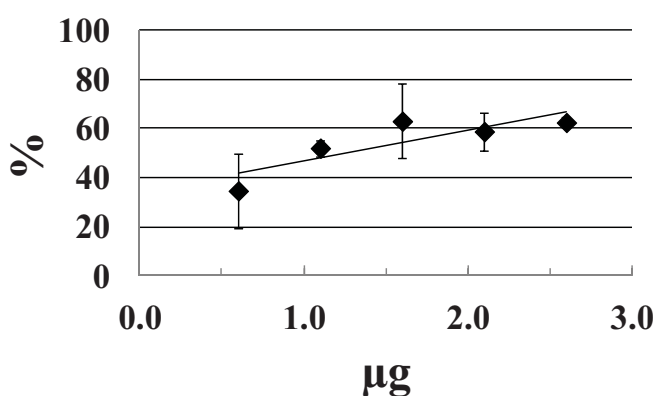
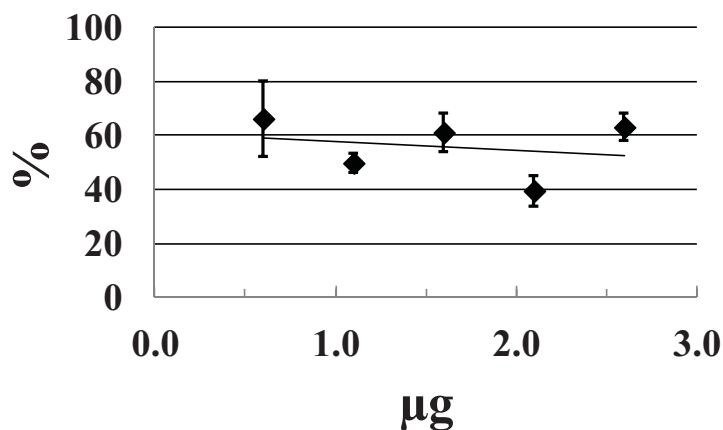


Figura 4.10. Porcentaje de recuperación (%) del método de extracción versus la masa adicionada (μg) ejemplificado con **a.** perinaftenona ($p>0.05$) y **b.** benzo[*b*]fluoranteno ($p<0.05$). La barra una desviación estándar de las dos réplicas.

De forma similar, después del fraccionamiento, se encontró que los recobros de la mayoría de los compuestos son independientes de la cantidad procesada ($p>0.05$). Excepto para fenantreno, pireno e indeno[123-*cd*]pireno. Respecto a los *n*-alcanos, los recobros por el método completo (extracción + fraccionamiento) se excluyeron del análisis debido a que su determinación resultó bastante confiable en los extractos orgánicos complejos porque se producen picos que se distinguen sin dificultad del ruido (Figura 4.19b).

a.



b.

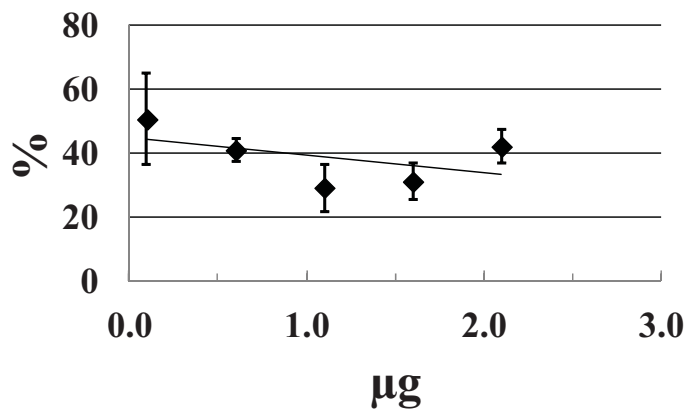


Figura 4.11. Porcentaje de recuperación (%) de la extracción + el fraccionamiento versus la masa adicionada (μg) ejemplificado con **a.** perinaftenona ($p>0.05$) y **b.** benzo[*b*]fluoranteno ($p<0.05$). La barra representa una desviación estándar de las dos réplicas.

En el intervalo de masas evaluado, los porcentajes de recuperación promedio ($n=6$) de la extracción y el fraccionamiento varían de acuerdo con la familia y el compuesto individual. Los recobros después de la extracción, oscilaron entre 65 (C₄₀) y 91 % (C₁₈) para los *n*-alcanos. Entre 65 % (naftaleno) y 83 % (Fluoreno) para los HAP y de 57 % (1,8-Anhidrido Naftálico) a 89 % (1,2-Benzopirona) para los oxi-HAP (**Tabla 4.9**). Una vez que se fraccionaron, se encontraron eficiencias de recuperación entre 38 % (D[*ah*]A) y 89 % (Cris) para los HAP y entre 38 % (1,2-benzopirona) y 63 % (9,10-DHB[*a*]P) para los oxi-HAP (**Tabla 4.9**). La disminución de la recuperación después del fraccionamiento de los HAP y los oxi-HAP resultó de un mayor tratamiento de muestra, ya que se incluyeron más pasos (reducir el extracto con una corriente suave de nitrógeno, transferir a la columna y pasar por la fase estacionaria). Adicionalmente, las fracciones con oxi-HAP (10 mL de cloruro de metileno) se redujeron en evaporador rotatorio para eliminar el exceso de disolvente y ajustar a 1 mL antes del análisis por CG-EM. El criterio de aplicación del recobro para corregir las muestras de estudio dependió de los resultados de comparación de muestras complejas y fraccionadas. Los analitos, con recobros por debajo de 60% en el fraccionamiento, se estimaron en los extractos sin fraccionar sólo si la identificación de interferencias resultó negativa en todas las muestras de prueba.

Los recobros por extracción de 14 HAP analizados se encuentran dentro del intervalo de aceptación (60 % a 120 %) sugerido por el método de referencia TO13A (EPA 1999a). Mientras que, únicamente 6 HAP (Ace, Acenafti, BaA, Cris, BkF y BghiP) reúnen este criterio en el fraccionamiento. Hasta ahora, no hay un criterio de aceptación similar para los recobros de los *n*-alcanos y los oxi-HAP y existen escasos reportes detallados que dificultan hacer una comparación directa para evaluar con mayor confiabilidad sus recobros. Aunque, los recobros encontrados no se basan en un material de referencia certificado, tienen una contribución bastante significativa para la determinación de estos compuestos orgánicos en partículas. Sobre todo para los oxi-HAP. Ya que, se cuenta con un factor de corrección que incluye el efecto matriz y distintas masas de muestra y analitos. Por lo tanto, se favorecerá la estimación más confiable del orden de magnitud, hasta ahora desconocido para los oxi-HAP y el seguimiento a los niveles ambientales de los *n*-alcanos y los HAP, previamente reportados por Amador-Muñoz *et al.* 2011, en las PM_{2.5} del AMCM

4.3.3. Precisión

Este parámetro se expresó como el coeficiente de variación porcentual (CV) y se evaluó como repetibilidad dentro de cada nivel de ensayo ($CV = \text{desviación estándar/promedio} \times 100$) y como reproducibilidad ($CV \text{ global } \acute{o} CVg = CV \text{ dentro de cada nivel} / 5$) entre todos los niveles, respectivamente. Las dos porciones de cada filtro fortificado, extraídas y fraccionadas se inyectaron por triplicado ($n=2 \times 3$) y se utilizaron para calcular la repetibilidad. Mientras que los resultados a través de los cinco niveles de fortificación ($n=5$) se emplearon para estimar la reproducibilidad.

En la extracción, la repetibilidad de los *n*-alcanos varió entre 2.4 % (C_{18}) y hasta 22.5 % (C_{40}) y la reproducibilidad entre 5 % (C_{30}) y 14.3 % (C_{40}). Para los HAP, esos parámetros mostraron valores entre 1.5 % (antraceno) y 29.1 % (B[ghi]P) y entre 3.8 % (acenafteno) y 17.2 % (B[ghi]P). Mientras que, para los oxi-HAP se encontraron coeficientes de variación entre 0.7 % (9-fluorenona) y 26.8 % (1,8-anhidrido naftálico) y entre 3.3 % (benzopirona) y 26.8 % (1,8-anhidrido naftálico), respectivamente. En el método completo, de igual forma, para los HAP se obtuvieron valores entre 0.6 % (naftaleno) y 31. % (antraceno) y entre 5.3 % (fenantreno) y 24.2 % (antraceno); y para los oxi-HAP entre 5.6 % (perinaftenona) y 36.3 % (1,8-AN) y entre 9.2 (Xan) y 34. 7 (1,8-AN).

El incremento de la variación en la repetibilidad y reproducibilidad para los HAP y en mayor grado para los oxi-HAP, cuando se obtienen las fracciones (**Tabla 4.9**) se debió a los pasos de tratamiento de muestra adicionales. Sin embargo, la mayor polaridad de los oxi-HAP muy probablemente dificultó su elución de la fase estacionaria (cianopropilo), además las fracciones en las que se obtienen se redujeron de nuevo, lo que no se aplicó para las fracciones 1 y 2, en las que los *n*-alcanos y los HAP eluyeron en mayor proporción. La reproducibilidad del método aplicado por completo a los HAP es consistente con la recomendada (30 %) por el método de referencia EPA TO-13A. Aunque, para el resto de componentes no existe un valor de referencia, estos resultados se consideran aceptables, porque constituyen una base confiable para ser aplicados en este trabajo y serán considerados en el desarrollo de futuros métodos analíticos y estudios.

Tabla 4.9. Eficiencia del recobro y reproducibilidad del método analítico

Compuesto	Extracción		Fraccionamiento	
	R (%)	CVg (%)	R (%)	CVg (%)
<i>n</i>-Alcanos				
C ₁₄	77	7.1	n.r	
C ₁₆	88	7.1	n.r	
C ₁₈	98	7.3	n.r	
C ₂₀	97	8.0	n.r	
C ₂₂	97	8.6	n.r	
C ₂₄	92	12.6	n.r	
C ₂₆	90	9.3	n.r	
C ₂₈	90	8.4	n.r	
C ₃₀	89	7.3	n.r	
C ₃₂	87	5.0	n.r	
C ₃₄	83	6.1	n.r	
C ₃₆	79	9.3	n.r	
C ₃₈	70	8.9	n.r	
C ₄₀	70	14.3	n.r	
HAP				
Naft	65	4.9	47	8.7
Ace	76	4.2	63	6.4
Acenafti	79	3.8	73	8.1
Flu	83	4.0	58	10.4
Fent	77	5.8	-	
Antr	81	4.9	48	24.2
Flt	78	8.2	52	8.8
Pir	73	7.7	-	
B[a]A	75	8.6	64	5.6
Cris	-		89	8.0
B[b]F	-		56	12.8
B[k]F	76	17.3	73	20.2
B[a]P	66	10.2	53	11.0
I[123-cd]P	74	15.6	-	
D[ah]A	82	6.8	38	13.9
B[ghi]P	65	19.8	65	20.8
Oxi-HAP				
1,4-NQ	84	6.4	40	17.1
1,2-BP	89	5.8	38	30.3
BF	86	3.3	47	12.9
9-FN	76	6.7	45	13.8
Xan	72	5.4	46	9.2
PN	81	7.5	39	13.0
9(10 <i>H</i>)-AN	64	9.2	n.r	
9,10-AD	84	8.2	48	18.0
1,8-AN	57	26.1	46	34.7
2-MAD	87	6.7	53	15.2
BT	-		48	23.7
1-PC	-		53	12.3
BTQ	84	5.5	52	17.7
5,12-NQ	86	9.3	40	20.0
9,10-DHB[a]P	83	6.3	63	18.0

-el porcentaje de recobro depende de la cantidad adicionada, nr = no reportado, R= recobro (n=30), CVg = coeficiente de variación global (n=5)

4.3.4. Eficiencia de la separación

Previamente se describió la eficiencia del método para obtener las tres familias de compuestos en distintas fracciones (**Sección 4.2.3**), donde se varió la masa de la materia orgánica (MOE) y se adicionó una sola cantidad conocida de estándares de los compuestos. Ahora, se describen los resultados del fraccionamiento de extractos con una cantidad de materia orgánica semejante (6.6, 7.8, 8.5, 6.2 y 7.2 mg) pero cada uno fortificado con una masa distinta de compuestos. Para esto, se determinó inicialmente la eficiencia de separación entre las tres clases de compuestos, como el porcentaje de la distribución de la masa a través de las fracciones, y posteriormente se mostró a detalle la eficiencia de separación que ofrece el método de fraccionamiento optimizado para evaluar su selectividad y reproducibilidad y valorar su aplicabilidad a muestras reales.

La sobreposición entre clases de compuestos y los cambios en la distribución en los cinco ensayos se atribuyeron principalmente a la variación normal del procedimiento manual más que a una sobrecarga de la fase estacionaria por las cantidades de compuestos encontradas y adicionadas en la muestra original, ya que los resultados muestran que las coeluciones suceden independientemente de la masa de compuestos adicionada. Así, las menores coeluciones se obtuvieron con los niveles de ensayo de la más alta (**Figura 4.12a**) y la más baja masa de analitos adicionada (**Figura 4.12e**). Mientras que las mayores coeluciones ocurren en los niveles de ensayo intermedios (**Figura 4.12b, c y d**). Una probable explicación, es la reducción incorrecta del exceso de cloruro de metileno en el extracto y otra es el cambio de la proporción de eluyentes (*n*-hexano: cloruro de metileno, 9:1 *v/v*) sobre la columna por el arrastre de aire en la campana de extracción. Los cuales, favorecieron la elución temprana de los analitos. Por lo tanto, en las muestras de estudio hubo que reducir el extracto en un vial previamente aforado a 200 μL y utilizar menor flujo de extracción en la campana.

La mayor eficiencia de separación se encontró cuando se fraccionaron 6.6 mg y 7.2 mg de MOE que corresponden con los extractos obtenidos de las muestras de $\text{PM}_{2.5}$ fortificadas con la mayor (**Figura 4.12a**) y la menor (**Figura 4.12e**) masa de compuestos. En este par de ensayos los *n*-alcanos eluyeron casi totalmente en la fracción 1 (94 y 85 %) y una

cantidad muy baja (6 y 15 %) coeluyó con los HAP en la fracción 2; la masa de los HAP se distribuyó mayoritariamente en la fracción 2 (87 y 72%) aunque una proporción < 12 % coeluyó con los *n*-alcanos ó se eluyó hasta la fracción 3 con los oxi-HAP (2 y 11%); mientras que los oxi-HAP eluyeron casi totalmente (100 y 98 %) en la fracción 3. La eficiencia más baja y la menor reproducibilidad se observó cuando se fraccionaron los extractos que contenían 7.8 mg, 8.5 mg y 6.2 mg de MOE correspondientes a los niveles de ensayo intermedio (**Figura 4.12b, 4.12c y 4.12d**). En estos tres casos, los *n*-alcanos eluyeron también casi totalmente en la fracción 1 (93, 90 y 72 %) con una cantidad muy baja (7, 10, 28 %) que coeluyó con los HAP en la fracción 2. Sin embargo, los HAP se distribuyeron entre la fracción 1 (45, 39, 20 %) y la fracción 2 (54, 60, 72 %) y hasta 7 % en la fracción 3. De forma similar los oxi-HAP se distribuyeron en la fracción 2 (38 y 26 %), fracción 3 (62, 73, 99 %) y menos del 3 % en la fracción 4.

En general, las variaciones y las co-eluciones encontradas muestran que la separación obtenida por el método optimizado es satisfactoria, porque procesa tamaños de muestras similares a los reportados en muestras reales (Valle-Hernández *et al.* 2010, Amador *et al.* 2011) con buena resolución entre clases de compuestos que representan menos del 1 % en masa respecto a la cantidad de MOE y con una reproducibilidad que es la esperada para un procedimiento casi totalmente manual. Aunque, el procedimiento es poco robusto para separar los HAP de los *n*-alcanos su mayor ventaja es que los oxi-HAP son separados completamente de los *n*-alcanos en los cinco ensayos.

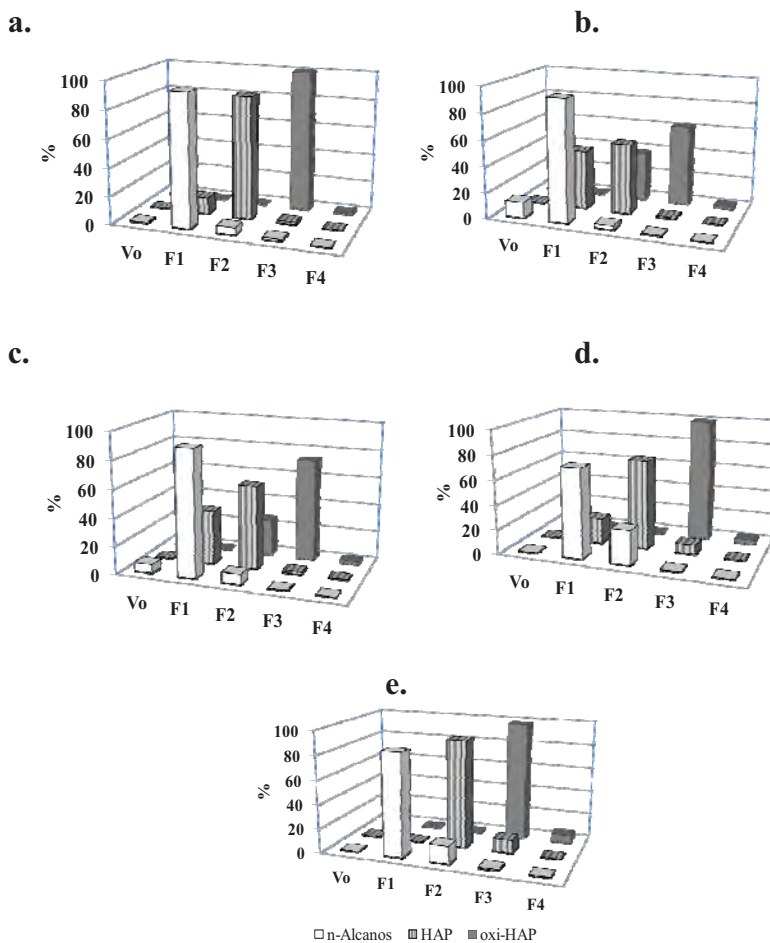


Figura 4.12. Separación de las tres clases de compuestos cuando se fraccionaron: **a.** 6.6 mg, **b.** 7.8 mg, **c.** 8.5 mg, **d.** 6.2 mg y **e.** 7.2 mg de MOE adicionadas con distintas cantidades de cada uno de los 14 *n*-alcanos (**a.** 11.7, **b.** 9.4, **c.** 7.2, **d.** 5.0 y **e.** 2.7 μg), 16 HAP (**a.** 2.3, **b.** 1.9, **c.** 1.4, **d.** 1.0 y **e.** 0.5 ng) y 15 oxi-HAP (**a.** 1.9, **b.** 1.4, **c.** 1.0, **d.** 0.5 y **e.** 0.1 ng), en condiciones optimizadas.

4.3.5. Selectividad

El fraccionamiento optimizado (**Secciones 4.2 y 4.3**) facilitó la obtención de cada familia de compuestos en una fracción distinta (**Figura 4.13**) con menor probabilidad de interferencias químicas, incrementándose de esta manera la selectividad de la determinación para algunos de los compuestos.

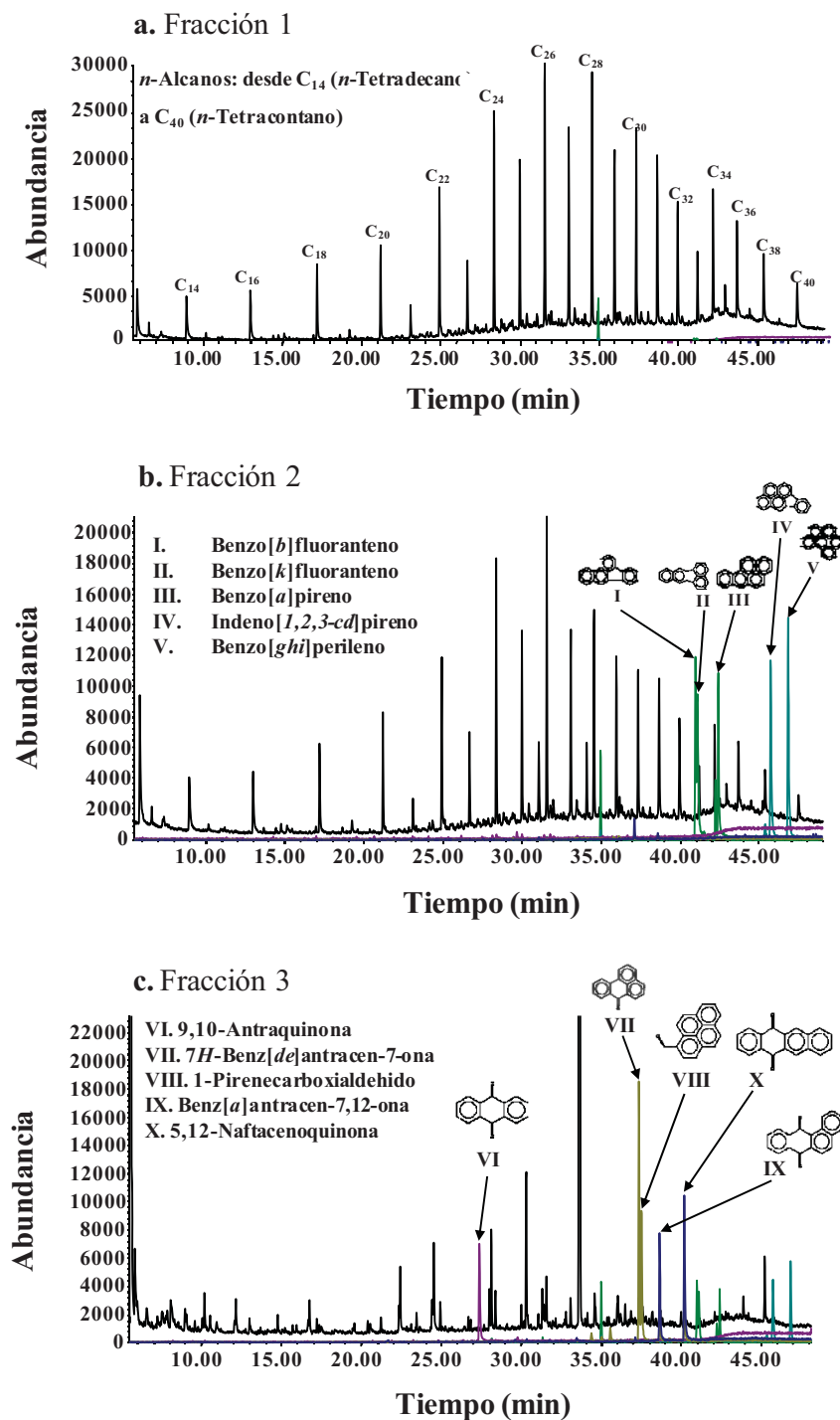


Figura 4.13. Iones representativos extraídos en los cromatogramas de las fracciones para algunos de los compuestos orgánicos más importantes: *n*-alcanos (57 *m/z*- picos C₁₄-C₄₀ en las fracciones 1 y 2), HAP (252 *m/z*- picos I, II y III; y 276 *m/z*- picos IV y V) y oxi-HAP (208 *m/z*-pico VI; 230 *m/z*-picos VII y VIII; y 258 *m/z*-picos IX y X) y algunas estructuras obtenidas en las distintas fracciones mediante el esquema 10. Donde, a. *n*-hexano (0.5 mL), b. *n*-hexano-cloruro de metileno (9:1) (2 mL) y c. cloruro de metileno (10 mL)

Un buen ejemplo de la utilidad de este parámetro es la determinación de 7(*H*)-benzo [*de*]antracen-7-ona. Este compuesto presentó un pico simétrico y muy bien definido cuando se analizó en muestras complejas (**Figura 4.14a**) o incluso en las fracciones (**Figura 4.14b**). Sin embargo, el análisis detallado de los cromatogramas de las fracciones, obtenidas del mismo extracto crudo, mostró que en la segunda fracción hay un pico perteneciente a un compuesto distinto (**Figura 4.14b**) y desconocido que podría sobreestimar la cantidad de este oxi-HAP, ya que eluye en un tiempo de retención que se encuentra dentro de la misma ventana de identificación (entre 35.5 y 36.5 min) y contiene al ión más abundante (230) del 7(*H*)-benzo (*de*)antracen-7-ona, pero con un espectro de masa diferente. Este tipo de interferencia podría sesgar la determinación de su concentración o dificultar su identificación en extractos orgánicos complejos de las PM_{2.5}. El análisis de los cromatogramas de las fracciones y de sus respectivos extractos complejos mostraron que este fenómeno tendría mayor efecto sobre la determinación de los oxi-HAP y en grado menor sobre los *n*-alcanos y los HAP debido a que similares dificultades se observaron para la identificación de 1,4-naftoquinona, 1,2-benzopirona, benzofenona, 9,10-antracenediona, fluorenona, perinaftenona (en la fracción cuatro se observa un pico intenso con el mismo ion molecular y en el mismo tiempo de retención, pero de un compuesto distinto), xantona, 1,8-anhidrido naftálico, benzo[*a*]antracen-7,12-diona, 5,12-naftoquinona, 9,10-dihidrobenzo[*a*]piren-3(*4H*)ona, acenafteno y fluoreno. Por lo tanto, la identificación y cuantificación de estos compuestos se realizó únicamente en las fracciones.

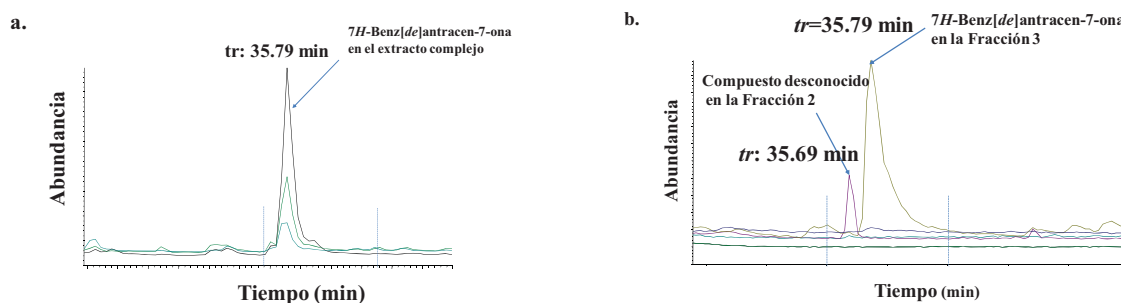


Figura 4.14. Cromatogramas obtenidos en modo SIM de: **a.** Extracto complejo que muestra los picos de los iones más abundante (230) y secundarios (202 y 101) extraídos para identificar 7(*H*)-Benzo(*de*)antracen-7-ona y **b.** Fracciones sobrepuestas de la respuesta del ion 230 obtenidas por EFS del mismo extracto complejo con un pico en la fracción 3 correspondiente a 7(*H*)-Benzo(*de*)antracen-7-ona y otro en la fracción 2 con tiempo de retención muy cercano pero desconocido. Límites de la ventana de integración (35.5 – 36.5 min) señalada con línea punteada.

4.3.6. Límites de detección y de cuantificación

Estos parámetros se obtuvieron mediante las ecuaciones 4.1 y 4.2, respectivamente.

$$\mathbf{LD_{aire}} = (\mathbf{LDI} \times \mathbf{Vaforo}) / (\mathbf{Vstd} \times \mathbf{R}) \quad (4.1)$$

$$\mathbf{LC_{aire}} = (\mathbf{LDI} \times \mathbf{Vaforo}) / (\mathbf{Vstd} \times \mathbf{R}) \quad (4.2)$$

Donde **LDI** y **LDC** son los límites de detección y de cuantificación instrumental, respectivamente (**Tabla 4.10**). **Vaforo** es el volumen de aforo de los extractos o fracciones expresado en mL, **Vstd** es el volumen de muestreo en condiciones estándares y **R** es el factor de recobro promedio utilizado para corregir las determinaciones.

Los límites de detección (LD_{aire}) y cuantificación (LC_{aire}) del método (**Tabla 4.11**) para los *n*-alcanos tuvieron valores mayores que los de los HAP y los oxi-HAP hasta en dos órdenes de magnitud. Los límites de detección, mayor y menor, en los *n*-alcanos, correspondieron a C₄₀ y C₁₆. En los HAP a B(b)F y pireno y en los oxi-HAP a 1,8-AN y 1,4-NQ, respectivamente. En las determinaciones de los compuestos en las PM_{2.5}, sólo se reportan aquellos valores por encima del límite de cuantificación.

Tabla 4.10. Límites de detección y de cuantificación instrumental

Compuestos	LDI	LCI
<i>n</i>-Alcanos	(ng μL^{-1})	(ng μL^{-1})
C ₁₄	0.297	0.989
C ₁₆	0.212	0.707
C ₁₈	0.329	1.098
C ₂₀	0.276	0.919
C ₂₂	0.414	1.379
C ₂₄	0.312	1.039
C ₂₆	0.587	1.956
C ₂₈	0.440	1.468
C ₃₀	0.432	1.439
C ₃₂	0.283	0.944
C ₃₄	0.934	3.112
C ₃₆	0.347	1.155
C ₃₈	0.342	1.139
C ₄₀	0.795	2.649
HAP		
Naft	0.013	0.043
Ace	0.010	0.032
Acenafti	0.023	0.077
Flu	0.002	0.008
Fent	0.002	0.005
Antr	0.009	0.029
Flt	0.002	0.007
Pir	0.002	0.005
B[a]A	0.010	0.034
Cris	0.004	0.014
B[b]F	0.021	0.069
B[k]F	0.007	0.022
B[a]P	0.013	0.043
I[123-cd]P	0.012	0.039
D[ah]A	0.002	0.006
B[ghi]P	0.005	0.017
Oxi-HAP		
1,4-NQ	0.002	0.006
1,2-BP	0.001	0.005
BF	0.009	0.030
9-FN	0.004	0.014
Xan	0.007	0.024
PN	0.008	0.027
9(10H)-AN	0.005	0.016
9,10-AD	0.003	0.010
1,8-AN	0.041	0.135
2-MAD	0.004	0.013
BT	0.010	0.034
1-PC	0.006	0.020
BTQ	0.019	0.064
5,12-NQ	0.013	0.044
9,10-DHB[a]P	0.006	0.019

LDI: límite de detección instrumental, LDC: límite de cuantificación instrumental

Tabla 4.11. Límites de detección y de cuantificación del método analítico como criterio para reportar las concentraciones atmosféricas de los analitos

Compuestos	LDaire (ng m⁻³)	LCaire (ng m⁻³)
<i>n</i>-Alcanos		
C ₁₄	0.327	1.091
C ₁₆	0.204	0.681
C ₁₈	0.285	0.949
C ₂₀	0.241	0.802
C ₂₂	0.374	1.246
C ₂₄	0.298	0.994
C ₂₆	0.585	1.950
C ₂₈	0.456	1.519
C ₃₀	0.430	1.432
C ₃₂	0.290	0.967
C ₃₄	0.992	3.305
C ₃₆	0.382	1.272
C ₃₈	0.413	1.375
C ₄₀	0.961	3.205
HAP		
Naft	0.021	0.072
Ace	0.012	0.040
Acenafti	0.025	0.083
Flu	0.003	0.011
Fent	0.002	0.006
Antr	0.017	0.056
Flt	0.003	0.011
Pir	0.002	0.006
B[a]A	0.013	0.042
Cris	0.004	0.012
B[b]F	0.029	0.097
B[k]F	0.006	0.020
B[a]P	0.019	0.062
I[123-cd]P	0.012	0.041
D[ah]A	0.004	0.013
B[ghi]P	0.006	0.019
Oxi-HAP		
1,4-NQ	0.003	0.011
1,2-BP	0.003	0.010
BF	0.015	0.049
9-FN	0.007	0.024
Xan	0.012	0.041
PN	0.017	0.055
9(10H)-AN	n.c	n.c
9,10-AD	0.005	0.016
1,8-AN	0.069	0.229
2_MAD	0.006	0.020
BT	0.016	0.055
1-PC	0.009	0.029
BTQ	0.029	0.098
5,12-NQ	0.026	0.087
9,10-DHB[a]P	0.007	0.024

n.c: no calculado, LDaire: limite de detección, LCaire: limite de cuantificación

4.4. Eficiencia de extracción de la MOE

La eficiencia del método para recobrar la cantidad de material orgánico extraíble (MOE) se evaluó para efectos de comparación con trabajos previos y también el comportamiento de los recobros cuando distintas masas de MOE se obtienen. Los recobros se basaron en el valor certificado por el material de referencia SRM 1649a (NIST), ya que la cantidad original de materia orgánica en las PM_{2.5} fortificadas, utilizadas para optimizar el método se desconocía, además es el material más parecido al material particulado que considera este parámetro. El método se aplicó a cinco distintas cantidades en un intervalo de masa (20, 40, 60, 80 y 100 mg) similar al esperado en muestras reales, que equivalen a 1.24, 2.37, 2.95, 3.07 y 5.01 mg de MOE. En el rango evaluado, los resultados mostraron que el método es eficiente y confiable para la extracción de la MOE, en los distintos niveles de ensayo (**Figura 4.15**), además el porcentaje ($n=10$) de masa recuperada (4.5 ± 0.5 %) no difiere significativamente ($p<0.01$) del valor certificado (4.6 ± 0.4 %) en el material de referencia SRM 1649a.

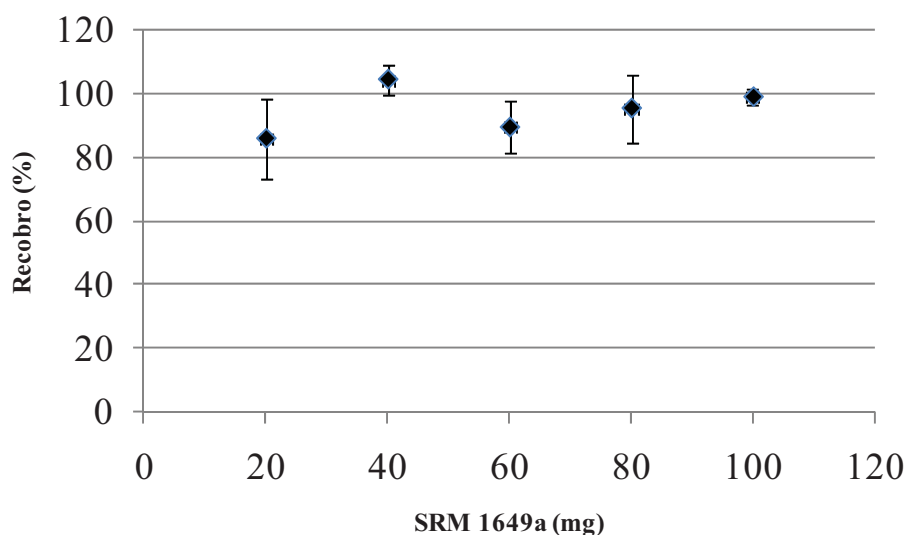


Figura 4.15. Recobro de la MOE mediante el método de extracción optimizado a través de distintas masas de SRM 1649a. En cada punto se realizaron tres réplicas. En promedio se pesaron 20.8, 40.7, 61.5, 80.5 y 101.0 mg. La barra indica la desviación estándar.

4.5. Determinación de las concentraciones de PM_{2.5} y de sus componentes

En las siguientes secciones se presentan y discuten los resultados del comportamiento por sitio y temporada de las concentraciones atmosféricas encontradas mediante la aplicación del método analítico optimizado a 30 muestras de PM_{2.5}, colectadas en cinco sitios de la Area Metropolitana de la Ciudad de México (AMCM), en tres temporadas y siete días de 2008 para determinar simultáneamente las concentraciones atmosféricas de la materia orgánica extraída (MOE) y tres clases de compuestos orgánicos: *n*-alcanos, hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAP) y sus derivados oxigenados (oxi-HAP). En la tabla 4.12 se presentan los resultados de la comparación de los parámetros meteorológicos por temporadas para todo el estudio.

Tabla 4.12. Parámetros meteorológicos: promedio (máximo – mínimo) y comparación entre temporadas

Parámetro	Temporada			Probabilidad		
	Secas frías	Secas calientes	Lluvias	SFvsSC	SCvsLL	SFvsLL
T (°C)	16.7 (15.3-18.1)	19.4 (17.1-21.4)	18.3 (15.2-20.1)	< 0.01	0.134	0.030
HR (%)	33.7 (32.1 – 39.4)	43 (28.1 – 56.0)	67 (57.2 – 84.5)	0.017	< 0.01	< 0.01
VV (m s ⁻¹)	1.7 (1.2 – 2.2)	1.7 (1.2 – 3.0)	1.5 (0.7 – 2.6)	0.886	0.301	0.230

SF: secas frías (febrero), SC: secas calientes (abril), LL: lluvias (agosto), T: temperatura, HR: humedad relativa, VV: velocidad del viento. Prueba *t* student: $p < 0.05$ son significativos con una confiabilidad del 95 %. Datos recabados de la RAMA 2008.

4.5.1. PM_{2.5} y MOE

Las concentraciones atmosféricas de las PM_{2.5} (µg m⁻³) se obtuvieron de la base de datos de la red de muestreo manual (REDMA) del AMCM (SMA 2008) y las concentraciones atmosféricas de la MOE (µg m⁻³) se calcularon directamente de la masa (µg) en el extracto orgánico obtenido de cada muestra de PM_{2.5} y el volumen de muestreo (m³).

En ninguno de los días de estudio (**Tabla 4.13**) se rebasó la concentración máxima permitida de PM_{2.5} (65 µg m⁻³ en 24 h) basado en la norma mexicana (NOM-025-SSA1-1993). Respecto a la MOE, actualmente no existe una norma que regule sus concentraciones, sin embargo hay estudios recientes, sobre MOE en PM_{2.5}, en el AMCM que reportan niveles ambientales que concuerdan con los hallados en este trabajo. Así, la mediana (10-90 percentil) del estudio total ($n = 30$), 5.3 µg m⁻³ (2.5 µg m⁻³ - 8.1 µg m⁻³), es

consistente con la mediana anual estimada por Valle-Hernández *et al.* (2010), $5.8 \mu\text{g m}^{-3}$ ($3.2 \mu\text{g m}^{-3}$ - $9.7 \mu\text{g m}^{-3}$) en el norte del AMCM (2006-2007), y la reportada en 2006 por Amador-Muñoz *et al.* (2011), $5.7 \mu\text{g m}^{-3}$ ($2.9 \mu\text{g m}^{-3}$ - $10.4 \mu\text{g m}^{-3}$), en los mismos cinco sitios de este estudio.

Tabla 4.13. Concentraciones individuales de $\text{PM}_{2.5}$ ($\mu\text{g m}^{-3}$) en el AMCM (2008)

Sitio	Feb-06	Feb-18	Abr-06	Abr-12	Abr-24	Ago-10	Ago-18
COY	16	22	17	25	23	12	15
MER	26	22	20	27	21	14	10
SAG	23	26	19	23	19	12	16
TLA	18	22	22	26	23	14	21
UIZ	c.n.d	c.n.d	c.n.d	c.n.d	18	14	14

- c.n.d: concentración no disponible en la base de datos por cierre de la estación

Las concentraciones individuales de $\text{PM}_{2.5}$ y MOE se agruparon para obtener las medianas de sus concentraciones y del porcentaje de MOE en $\text{PM}_{2.5}$ ($\text{MOE}/\text{PM}_{2.5}$) para cada sitio (Tabla 4.14), por temporada y contemplando las tres temporadas (Tabla 4.15).

Tabla 4.14. Medianas (Percentiles 10-90) de las concentraciones atmosféricas ($\mu\text{g m}^{-3}$) en cada sitio

	COY ($n=7$)	MER ($n=6$)	SAG ($n=7$)	TLA ($n=7$)	UIZ ($n=3$)
$\text{PM}_{2.5}$	17 (13.8 - 23.8)	21 (12.0 - 26.6)	19 (14.4 - 24.2)	22 (16.4 - 24.2)	14 (14 - 21.2)
MOE	5.2 (2.5 - 7.9)	6.3 (2.8 - 7.7)	4.8 (2.9 - 8.2)	5.9 (3.1 - 8.0)	4.1 (2.4 - 5.3)
% MOE	26.5 (15.9 - 41.3)	26.3 (22.5 - 35.3)	26.2 (18.4 - 36.9)	25.7 (18.2 - 39.7)	24.1 (16.2 - 28.5)

Tabla 4.15. Medianas (Percentiles 10-90) de las concentraciones atmosféricas ($\mu\text{g m}^{-3}$) por temporada y en total

	Seca frías ($n=8$)	Secas calientes ($n=14$)	Lluvias ($n=10$)	Tres temporadas ($n=30$)
$\text{PM}_{2.5}$	22.0 (17.4 - 26.0)	23 (19.0 - 25.9)	14 (11.8 - 16.5)	20.5 (13.8 - 26.0)
MOE	7.7 (6.4 - 8.8)	5.7 (4.7 - 7.2)	3.1 (2.0 - 3.3)	5.3 (2.5 - 8.1)
% MOE	34.8 (29.8 - 38.6)	24.7 (20.3 - 41.9)	22.8 (13.9 - 26.8)	26.0 (15.4 - 38.1)

Las medianas de la concentración de $\text{PM}_{2.5}$ y MOE no difieren estadísticamente ($p > 0.05$) entre sitios (Figura 4.16). Sin embargo, la MOE mostró diferencias significativas entre las tres temporadas (Figura 4.17b), mientras que las $\text{PM}_{2.5}$ difieren solamente ($p < 0.05$) entre secas frías y secas calientes respecto a lluvias (Figura 4.17a). Tanto $\text{PM}_{2.5}$ como MOE,

tuvieron la menor concentración en lluvias, con mayor masa de $PM_{2.5}$ en seca caliente (**Figura 4.17a**) y de MOE en seca fría (**Figura 4.17b**). La mayor mediana de MOE en seca fría se explica por la estabilidad atmosférica en esta temporada (Amador-Muñoz *et al.* 2011, Firoz Khan *et al.* 2010), mientras que la disminución significativa de las concentraciones en lluvias, como sucedió también con $PM_{2.5}$, se debió a su depositación húmeda, similar a lo observado por Valle-Hernández *et al.* (2010).

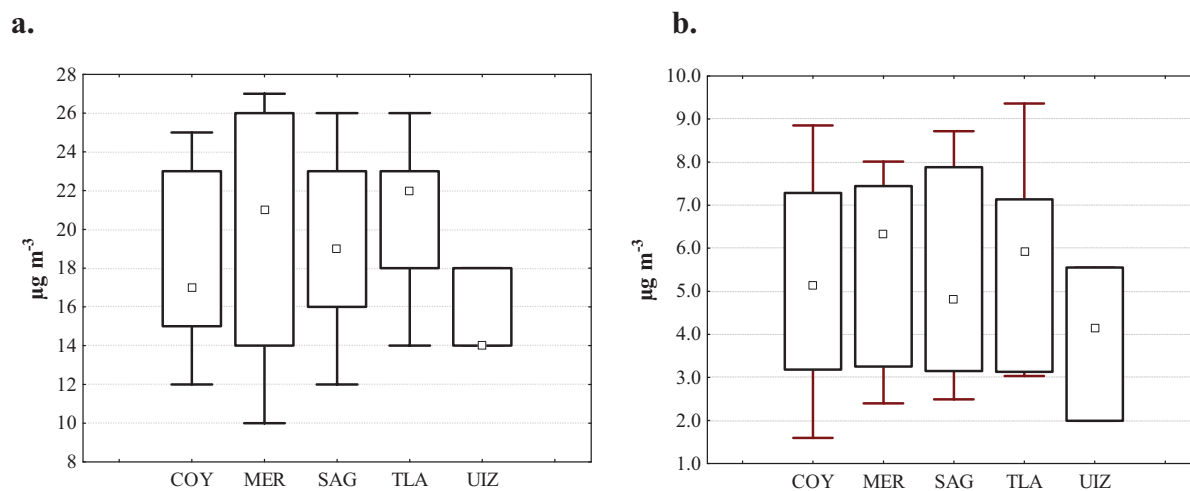


Figura 4.16. Medianas de las concentraciones de **a.** $PM_{2.5}$ y **b.** MOE en cinco sitios de la AMCM (2008). El número de muestras (n) corresponde al reportado en la tabla 4.14. Mediana (\square cuadrado interno), intercuartiles 25-75% (\square Rectángulo), percentil 10-90% (I barras).

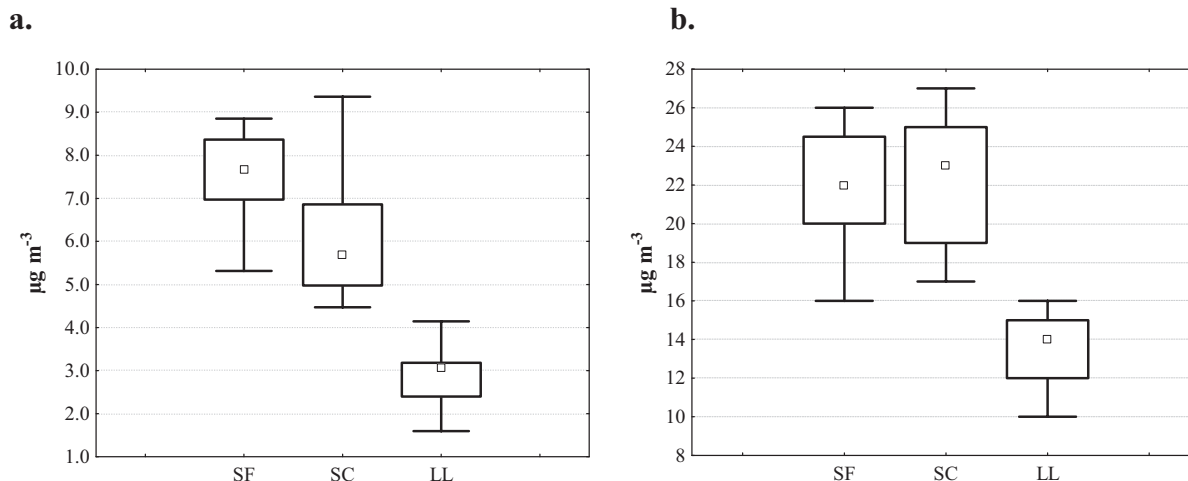


Figura 4.17. Medianas de las concentraciones de **a.** $\text{PM}_{2.5}$ y **b.** MOE en las temporadas de SF: secas frías (febrero), SC: secas calientes (abril) y LL: lluvias (agosto) en el AMCM (2008). El número de muestras (n) corresponde al reportado en la tabla 4.15. Mediana (\square cuadrado interno), intercuartiles 25-75% (\square Rectángulo), percentil 10-90% (I barras).

La mediana estimada de la MOE en el estudio total representó el 26.0 % (15.4- 38.1) de la masa de las $\text{PM}_{2.5}$. De esta forma y por diferencia se puede sugerir que aproximadamente 74.0 % (61.9% - 84.6 %) de la composición de las $\text{PM}_{2.5}$, colectadas en el periodo de estudio, correspondió a material no extraíble con cloruro de metileno (iones inorgánicos, metales y carbono elemental). El porcentaje de MOE en $\text{PM}_{2.5}$ concuerda con lo estimado en 2008 por Amador-Muñoz *et al.* (2011) en cinco sitios de la AMCM (25.6 %) y es menor que lo encontrado en 1998 por Chow *et al.* (2002) en la AMCM y Topinka *et al.* (2011) en la República Checa (31-36 %) y más bajo que lo reportado por Valle-Hernández *et al.* (2010) en el norte de la AMCM (84.6 %). La cantidad de compuestos orgánicos extraíbles en las $\text{PM}_{2.5}$ parece depender de otro factor distinto al sitio en que se colectan, ya que este porcentaje no mostró diferencias significativas ($p > 0.05$) entre ellos (**Figura 4.18a**), las diferencias significativas ($p < 0.05$) de las medianas entre las temporadas de secas frías y lluvias, con mayor contribución en secas frías, sin diferencias entre secas frías y calientes y secas calientes y lluvias (**Figura 4.18b**) comprueba el efecto depurador del agua por el incremento significativo de la humedad relativa ($p < 0.05$ en **Tabla 4.12**) en la temporada de lluvias y sugiere que tanto la MOE como las $\text{PM}_{2.5}$ probablemente contienen especies

químicas con propiedades hidrofílicas (Hori 2003, Amador-Muñoz *et al.* 2010) que podrían favorecer su depositación húmeda. Por el contrario en secas frías, las condiciones atmosféricas con las menores temperaturas del año, la menor humedad relativa y la mayor frecuencia de inversiones térmicas (SMA 2006), favorecieron su acumulación y el incremento proporcional de ambos contaminantes, por lo que la relación MOE/PM_{2.5} se mantuvo con un ligero decremento en secas calientes (**Figura 4.18b**) debido probablemente a la evaporación de materia orgánica a la fase gas (Amador-Muñoz *et al.* 2010) ya que en esta temporada la temperatura fue mayor (**Tabla 4.12**).

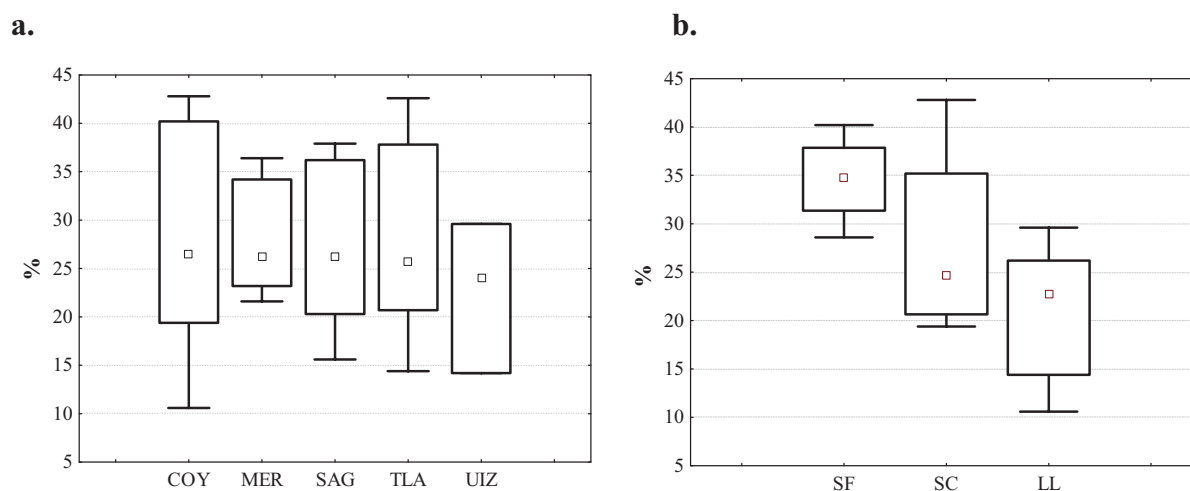


Figura 4.18. Medianas de MOE/PM_{2.5} (%) en **a.** Los cinco sitios de muestreo y **b.** Tres temporadas en el AMCM (2008). SF: secas frías (febrero), SC: secas calientes (abril) y LL: lluvias (agosto). Mediana (□ cuadrado interno), intercuartiles 25-75% (□ Rectángulo), percentil 10-90 (I barras).

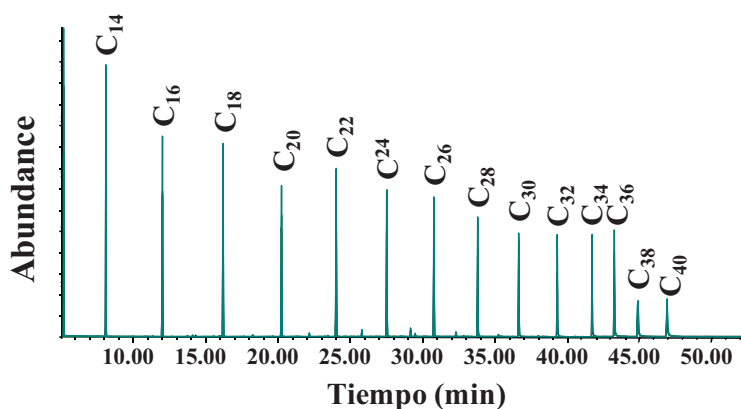
4.5.2 *n*-Alcanos en las PM_{2.5}

4.5.2.1 Concentraciones atmosféricas

El análisis por CG-EM (**Figura 4.19a**) demostró la presencia de 14 *n*-alcanos con número de carbono par (C₁₄ a C₄₀) en las PM_{2.5} del AMCM en 2008 (**Figura 4.19b**). Sin embargo, C₁₄, C₃₈ y C₄₀ se omitieron de la discusión y de los cálculos finales porque se detectaron y cuantificaron en muy pocas muestras (< 2 observaciones por sitio), lo que resultó insuficiente para el análisis estadístico. Las concentraciones atmosféricas (ng m⁻³) se

agruparon por sitio y temporada y se obtuvo la mediana (percentil 10 – 90) con la finalidad de describir su comportamiento por grupos de compuestos (Σn -alcanos $> C_{27}$, ΣC_{23} - C_{26} y Σn -alcanos $< C_{23}$) e individual (**Tabla 4.16**) para explicar y proponer posibles fuentes de emisión (Azevedo *et al.* 1999). Los resultados mostraron que las medianas de los n -alcanos individuales (C_{20} a C_{32}) tienen órdenes de magnitud similares a los encontrados en 2006 por Amador-Muñoz *et al.* (2011) para los mismos sitios en el AMCM. Sin embargo, los grupos de sumas son menores en este estudio debido a que sólo se consideran n -alcanos con número par de carbonos. De la misma forma, los resultados aquí encontrados, son menores que los reportados por Park *et al.* (2006) en Gwangju (Corea), Pindado *et al.* (2009) en Carpintería (España) y Wang *et al.* (2006) en Nanjing (China).

a.



b.

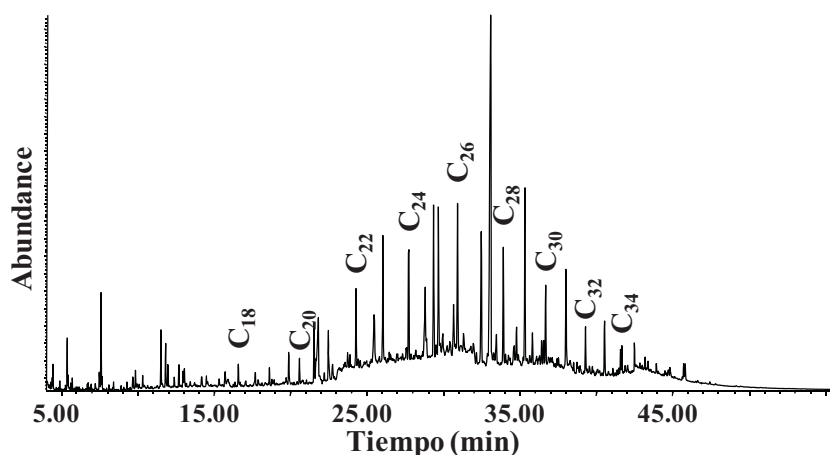


Figura 4.19. Cromatogramas de n -alcanos en a. estándar de referencia (11.7 ng mL^{-1}) y b. muestra de $\text{PM}_{2.5}$ (SAG 06/02/2008)

Tabla 4.16. Medianas anuales de las concentraciones atmosféricas (ng m^{-3}) de *n*-alcanos durante 2008 en el AMCM.

<i>n</i> -alcano	TLA	SAG	MER	COY	UIZ
C ₁₆	0.29 (0.23-0.42)	0.42 (0.25-0.55)	0.22 (0.22-0.22)	0.29 (0.22-0.36)	0.23 (0.22-0.25)
C ₁₈	0.39 (0.34-0.60)	0.60 (0.43-0.87)	0.32 (0.32-0.33)	0.41 (0.31-0.60)	0.44 (0.42-0.46)
C ₂₀	0.49 (0.42-0.67)	0.89 (0.81-1.38)	0.39 (0.30-0.44)	0.37 (0.32-0.45)	0.43 (0.42-0.46)
C ₂₂	1.45 (1.24-2.60)	3.36 (2.94-4.17)	1.28 (1.00-1.36)	0.71 (0.59-1.35)	0.76 (0.69-1.39)
C ₂₄	6.23 (4.82-11.91)	7.72 (6.27-8.90)	5.14 (3.89-5.59)	1.84 (1.05-2.50)	1.50 (1.22-2.10)
C ₂₆	7.78 (4.53-13.74)	7.26 (3.99-8.32)	7.31 (6.01-7.92)	3.36 (2.20-3.73)	3.73 (3.27-3.74)
C ₂₈	4.69 (2.76-8.79)	6.22 (4.04-7.56)	4.69 (3.81-5.57)	3.00 (1.94-3.73)	2.92 (2.85-3.31)
C ₃₀	2.83 (2.68-5.31)	4.55 (2.71-5.55)	2.94 (2.37-3.96)	2.20 (1.36-2.56)	2.32 (2.24-2.32)
C ₃₂	1.97 (1.56-2.89)	2.80 (1.67-3.63)	1.60 (1.42-3.28)	1.56 (0.92-1.96)	1.49 (1.24-1.80)
C ₃₄	1.35 (1.07-1.95)	2.44 (1.55-2.81)	1.26 (1.19-1.63)	1.42 (0.86-1.48)	1.25 (1.25-1.25)
C ₃₆	1.17 (0.53-1.45)	1.85 (0.90-2.62)	0.89 (0.82-1.49)	1.13 (0.57-1.24)	0.67 (0.48-1.18)
¹ ∑ < C ₂₃	2.62 (2.14-4.30)	5.09 (4.09-7.18)	1.74 (1.32-2.16)	1.29 (0.50-2.17)	1.76 (1.70-2.45)
¹ ∑ C ₂₃ -C ₂₆	14.25 (11.73-24.54)	14.60 (11.26-16.15)	12.49 (9.90-13.47)	5.50 (3.26-5.97)	4.89 (4.70-5.76)
¹ ∑ > C ₂₇	13.48 (10.17-21.33)	19.63 (11.26-25.47)	9.68 (8.15-15.58)	7.59 (4.22-10.86)	8.37 (7.00-11.01)
¹ ∑ <i>n</i> -alcanos	29.24 (24.82-50.17)	41.16 (28.71-46.24)	24.11 (20.38-29.98)	15.42 (7.98-18.08)	14.94 (13.44-19.21)

¹La suma se realizó para los *n*-alcanos determinados en cada muestra y en cada sitio

4.5.2.2 Distribución por sitios

Entre sitios, las medianas de la suma de *n*-alcanos mostraron el siguiente orden de abundancia SAG>TLA>MER>UIZ>COY (**Figura 4.20**), sin diferencias entre SAG y TLA ($p>0.05$), sugiriendo que la contribución por *n*-alcanos a la masa de PM_{2.5} es significativamente mayor en el norte de la ciudad, seguido por el centro y sur. Esto es probablemente una consecuencia de la intensa actividad industrial y vehicular que caracteriza el sector norte y centro respecto del sur de la ciudad (Chow *et al.* 2002, Guzmán-Torres *et al.* 2009) o bien a una importante contribución por fuentes biogénicas que también han sido sugeridas como responsables de la presencia de *n*-alcanos en las partículas suspendidas finas (Rinehart *et al.* 2006, Duan *et al.* 2010).

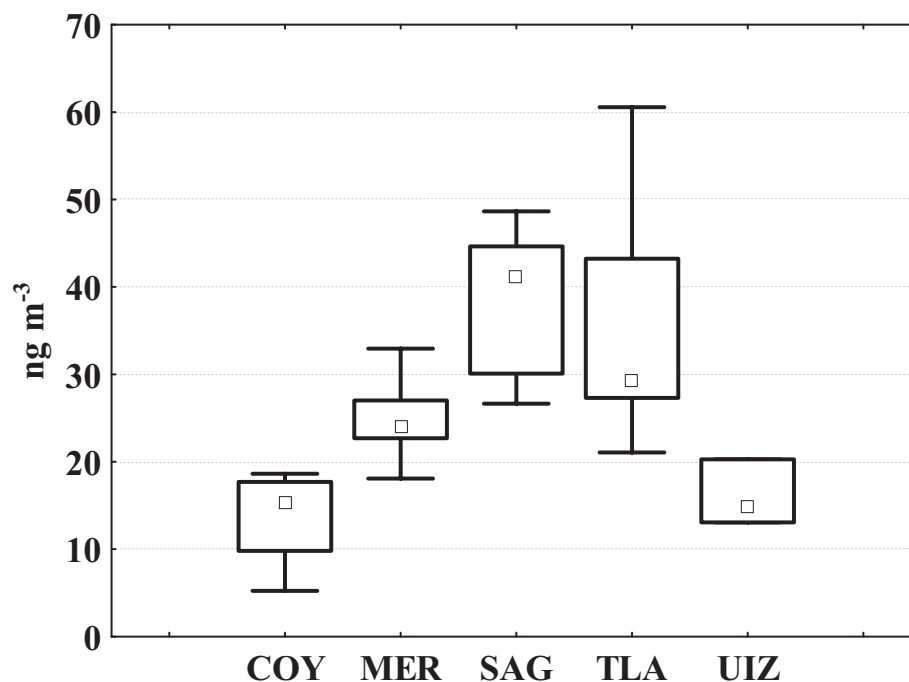


Figura 4.20. Medianas de los n -alcanos en los cinco sitios de muestreo. Mediana (\square cuadrado interno), intercuartiles 25-75% (\square Rectángulo), percentil 10-90 (I barras)

Para corroborar las clases de fuentes, se realizó también la comparación entre los cinco sitios de la Σn -alcanos $> C_{27}$, la ΣC_{23} - C_{26} y la Σn -alcanos $< C_{23}$. Donde se encontró que COY tuvo la menor ΣC_{23} - C_{26} ($p < 0.05$) (**Figura 4.21**), mientras que SAG tuvo la mayor Σn -alcanos $< C_{23}$ ($p < 0.05$) (**Figura 4.22**), lo cual es consistente con lo reportado en 2006 por Amador-Muñoz *et al.* (2011) en el AMCM. El resultado en SAG sugiere una contribución significativa por fuentes de emisión petrogénica debido probablemente al uso de diesel ya que las emisiones provenientes de este tipo de combustible están enriquecidas con n -alcanos de bajo peso molecular (Fraser *et al.* 2003).

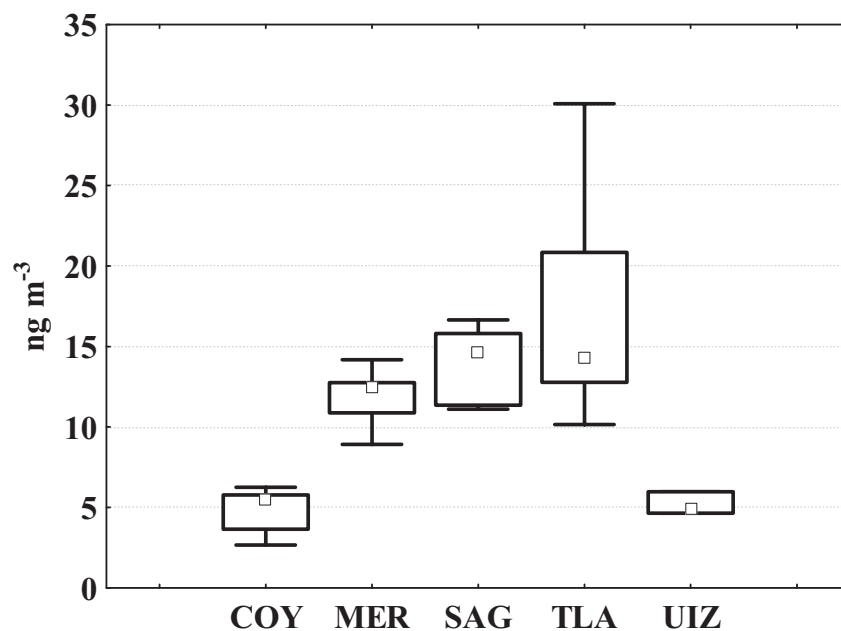


Figura 4.21. Medianas de la $\Sigma C_{23}-C_{26}$ en los cinco sitios de muestreo. Mediana (\square cuadrado interno), intercuartiles 25-75% (\square Rectángulo), percentil 10-90 (I barras)

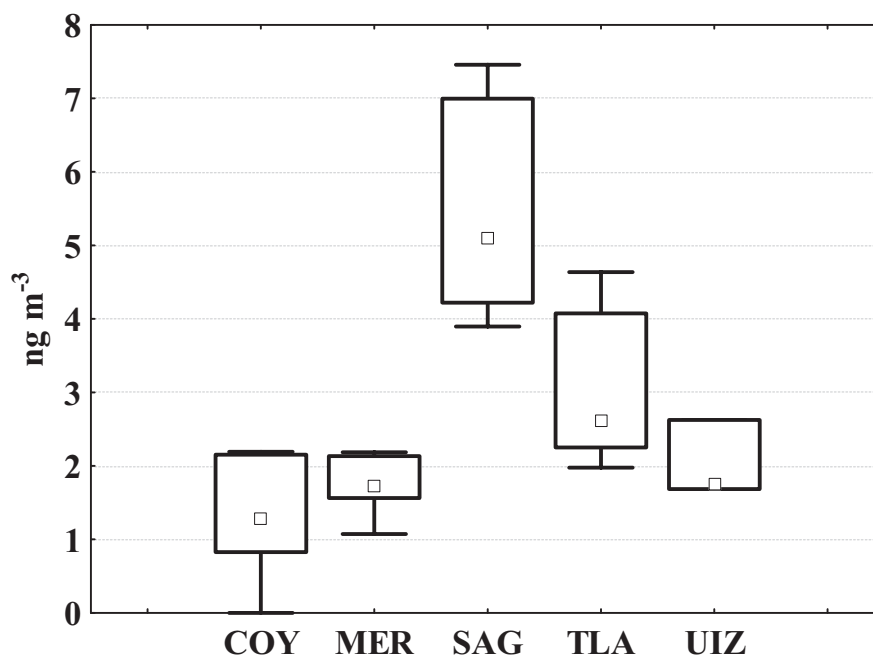


Figura 4.22. Medianas de la Σn -alcanos $< C_{23}$ en los cinco sitios de muestreo. Mediana (\square cuadrado interno), intercuartiles 25-75% (\square Rectángulo), percentil 10-90 (I barras)

En el análisis de los *n*-alcanos individuales, se encontró que C₂₆ es el compuesto más abundante en la mayoría de los sitios, excepto en SAG (C₂₄), seguido por C₂₈ (TLA, COY, UIZ), C₂₄ (MER) y C₃₀ (**Figura 4.23**). Esto confirma la importante contribución tanto por fuentes biogénicas como antrópicas en estos sectores, ya que se ha demostrado que los *n*-alcanos con número de carbonos menor a C₂₅ provienen de actividades humanas y los mayores a C₂₅ se atribuyen a fuentes biogénicas (Abas y Simoneit 1996), particularmente la abundancia de C₂₄ SAG es una posible consecuencia de la contribución por el uso de combustibles fósiles (Alves *et al.* 2001) debido al tránsito de vehículos impulsados con diesel que se caracteriza por tener perfiles de emisiones de alifáticos de menor peso molecular que los de gasolina (Fraser *et al.* 2003) y que concuerda con la intensa circulación de camiones de carga y de transporte de pasajeros que son impulsados por este tipo de combustible y que circulan diariamente por estas zonas de la ciudad respecto al centro (MER) y sur (COY, UIZ). También, se encontró que las medianas de C₂₆ y C₂₈ en SAG, TLA y MER son similares ($p>0.05$) entre sí y mayores que las de COY y UIZ ($p<0.05$), mientras que se observaron abundancias parecidas ($p>0.05$) entre la mayoría de los *n*-alcanos en TLA y MER, lo que indica que estos tres sitios comparten fuentes comunes con tasas de emisión similares.

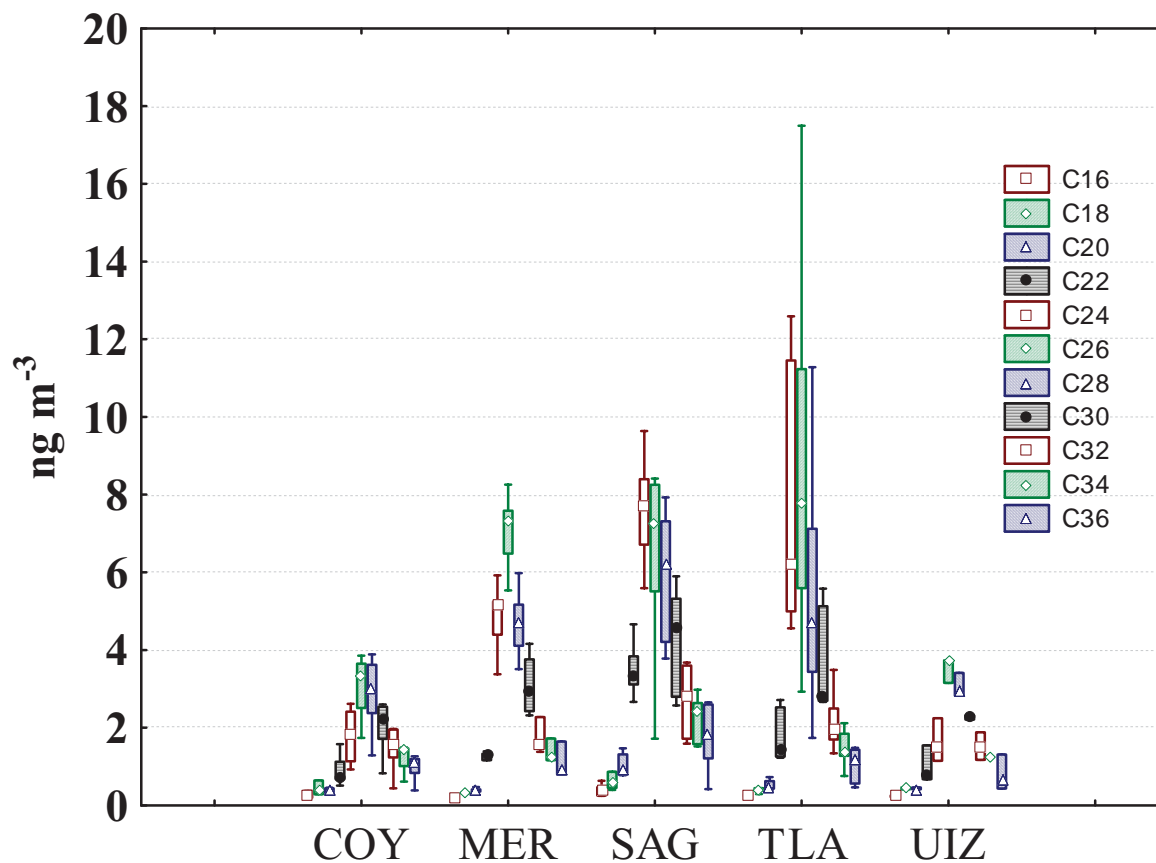


Figura 4.23. Medianas de las concentraciones individuales *n*-alcanos (C₁₆ a C₃₆) en los cinco sitios de muestreo del AMCM (2008). Mediana (símbolo interno), intercuartiles 25-75% (rectángulo), percentiles 10-90 (barras).

4.5.2.3 Distribución por temporada

Únicamente se encontraron diferencias significativas ($p < 0.05$) entre las temporadas de SF y LL para la Σ *n*-alcanos > 27 (**Figura 4.24**), la Σ *n*-alcanos (**Figura 4.25**), C₂₆, C₂₈ y C₃₂ y entre SC y LL para C₃₂ (**Figura 4.26**) con mayores abundancias en SF y SC, respectivamente. Esto indica que las condiciones ambientales jugaron un papel menos importante en el comportamiento de las concentraciones de los *n*-alcanos en el AMCM que sus fuentes de emisión.

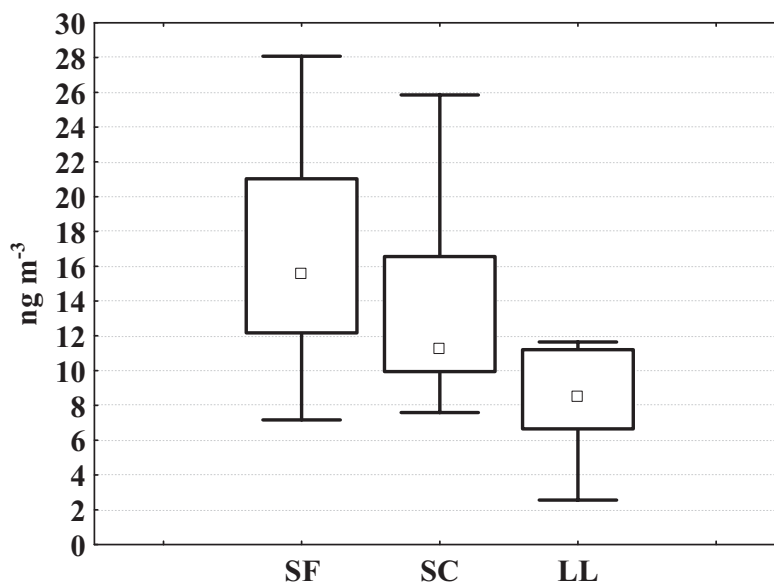


Figura 4.24. Medianas de la Σn -alcanos $> C_{27}$ en tres temporadas del AMCM (2008). SF: secas frías (febrero), SC: secas calientes (abril) y LL: lluvias (agosto). Mediana (cuadrado interno), intercuartiles 25-75% (rectángulo), percentiles 10-90 (barras).

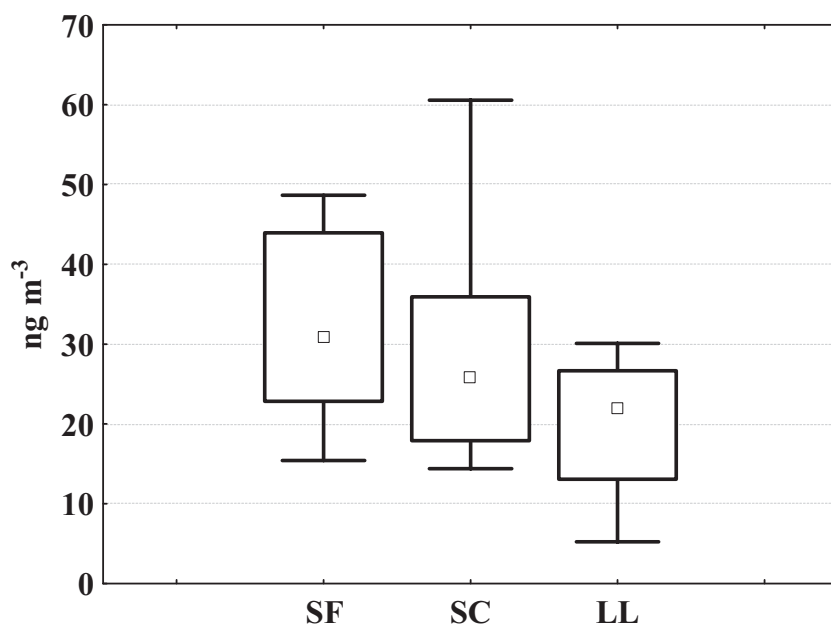


Figura 4.25. Medianas de la Σn -alcanos en tres temporadas del AMCM (2008). SF: secas frías (febrero), SC: secas calientes (abril) y LL: lluvias (agosto). Mediana (cuadrado interno), intercuartiles 25-75% (rectángulo), percentiles 10-90 (barras).

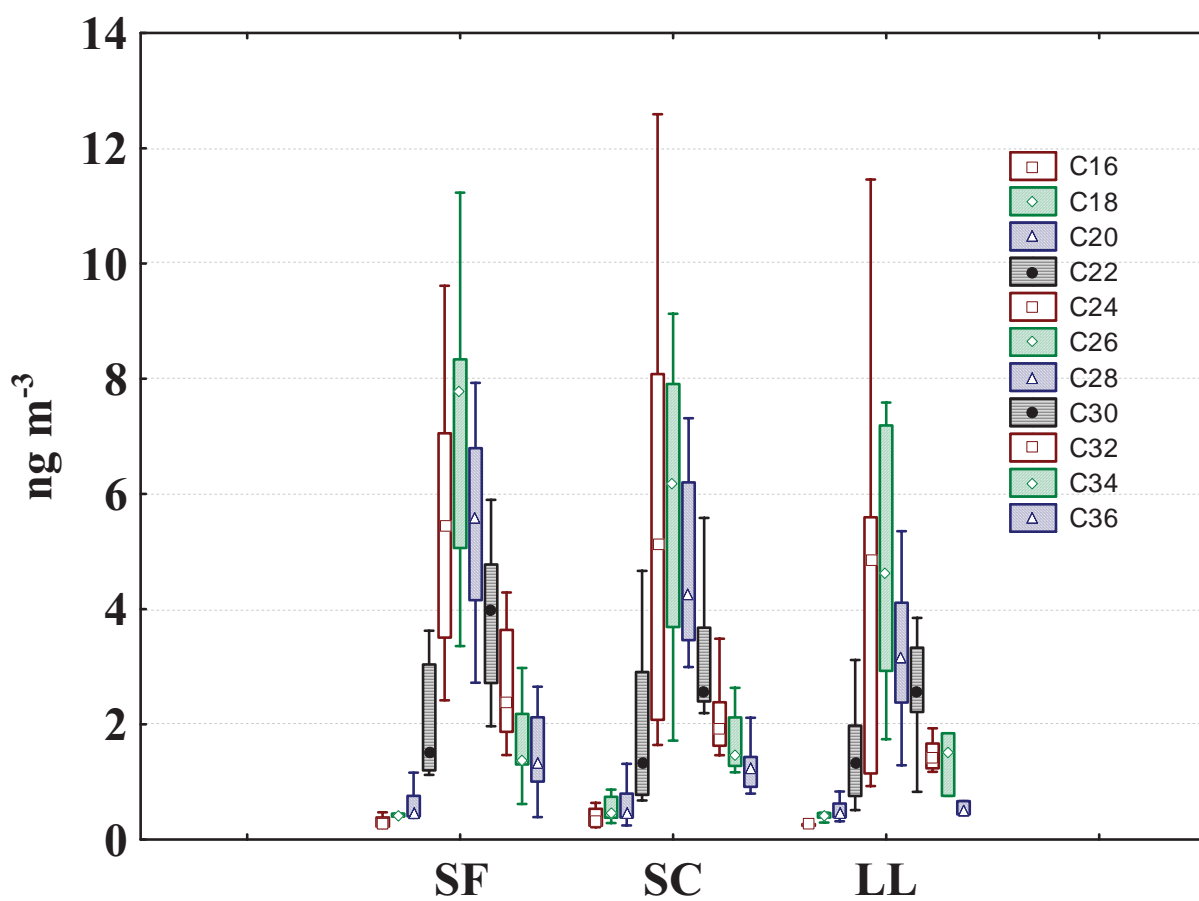


Figura 4.26. Medianas de los *n*-alcanos individuales en las tres temporadas del AMCM (2008). SF: secas frías (febrero), SC: secas calientes (abril) y LL: lluvias (agosto). Mediana (símbolo interno), intercuartiles 25-75% (rectángulo), percentiles 10-90 (barras)

4.5.3. HAP en las PM_{2.5}

4.5.3.1 Concentraciones atmosféricas

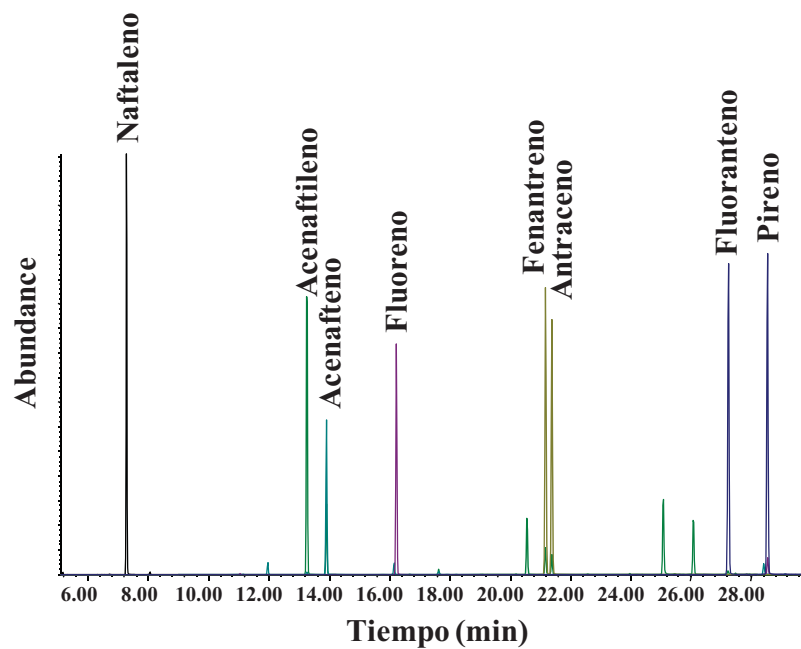
En las PM_{2.5} se evaluó también la presencia y las concentraciones de 16 HAP considerados como prioritario por sus efectos tóxicos (EPA 1986a). Los resultados de la identificación y cuantificación mediante CG-EM (**Figura 4.27**) demostraron la presencia de 15 HAP (excepto acenafteno) en las PM_{2.5} (**Figura 4.28**). La variación de sus concentraciones atmosféricas se analizó por sitio y por temporada para describir su comportamiento en el AMCM. Las concentraciones de los HAP ligeros (peso molecular ≤ 202 g mol⁻¹), desde naftaleno a pireno, y HAP pesados (peso molecular ≥ 228 g mol⁻¹) desde B[a]A a B[ghi]P, se consideraron por separado debido a que los HAP de dos anillos se encuentran en la fase gas, los que tienen tres y cuatro anillos se distribuyen entre las fases gas y particulada, mientras que los de mayor peso molecular o con más de cinco anillos se encuentran adsorbidos o absorbidos en la fase particulada principalmente (Finlayson-Pitts y Pitts 2000). El análisis de las concentraciones individuales mostró que la mayor mediana del estudio ($n=30$) se estimó para B[ghi]P (0.63 ng m⁻³) consistente con lo reportado previamente (2006) en los mismos sitios para PM_{2.5} por Amador *et al.* 2011 y la menor ($n=24$) para fluoreno (0.01 ng m⁻³). Las concentraciones promedio de los HAP ligeros (excepto naftaleno) se encuentran en el mismo orden de magnitud que las obtenidas en Guadalajara, Los Ángeles y Houston pero son menores que las reportadas en las ciudades Chinas (**Tabla 4.17**).

Tabla 4.17. Concentraciones atmosféricas promedio de HAP (ng m⁻³) en el AMCM (2008) y otras ciudades

HAP	Nanjing ¹ (China)	Hong Kong ² (China)	Houston ³ (EUA)	Los Angeles ⁴ (EUA)	Guadalajara (México) ⁵	Este estudio
Naft	-	-	-	-	2.36	0.17
Ace	3.05	-	0.04	-	0.14	0.04
Acenafti	2.12	-	0.02	-	0.10	n.d
Flu	1.79	0.16	0.04	-	n.d.	0.02
Fent	4.99	0.47	0.14	-	0.32	0.16
Antr	0.52	0.15	0.08	-	0.00	0.08
Flt	8.11	3.79	0.14	2.06	0.22	0.30
Pir	6.26	3.84	0.17	2.00	0.34	0.34
B[a]A	3.76	0.98	0.21	0.93	0.44	0.15
Cris	9.09	2.60	0.25	1.08	0.45	0.14
B[b]F	11.4	9.10	0.22	2.04	1.39	0.46
B[k]F	8.20	0.58	0.24	0.98	0.79	0.26
B[a]P	5.75	2.54	0.18	2.01	1.11	0.23
I[123cd]P	8.23	4.63	0.28	2.93	2.19	0.21
D[ah]A	2.19	2.39	0.18	4.21	0.13	0.09
B[ghi]P	10.5	2.73	0.31	5.78	2.26	0.74

¹ Wang *et al.* 2006; ² Guo *et al.* 2003; ³ Fraser *et al.* 2003; ⁴ Venkataraman *et al.* 1994; ⁵ Cuevas-Lomas 2011

a.



b.

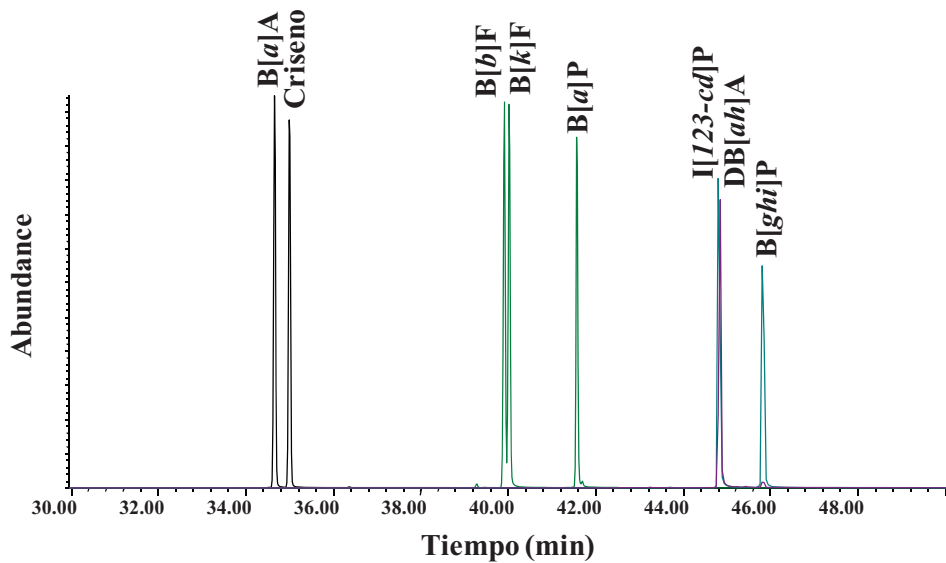


Figura 4.27. Cromatogramas (ion extraído) de la mezcla estándar de **a.** HAP $\leq 202 \text{ g mol}^{-1}$ y **b.** HAP $\geq 228 \text{ g mol}^{-1}$

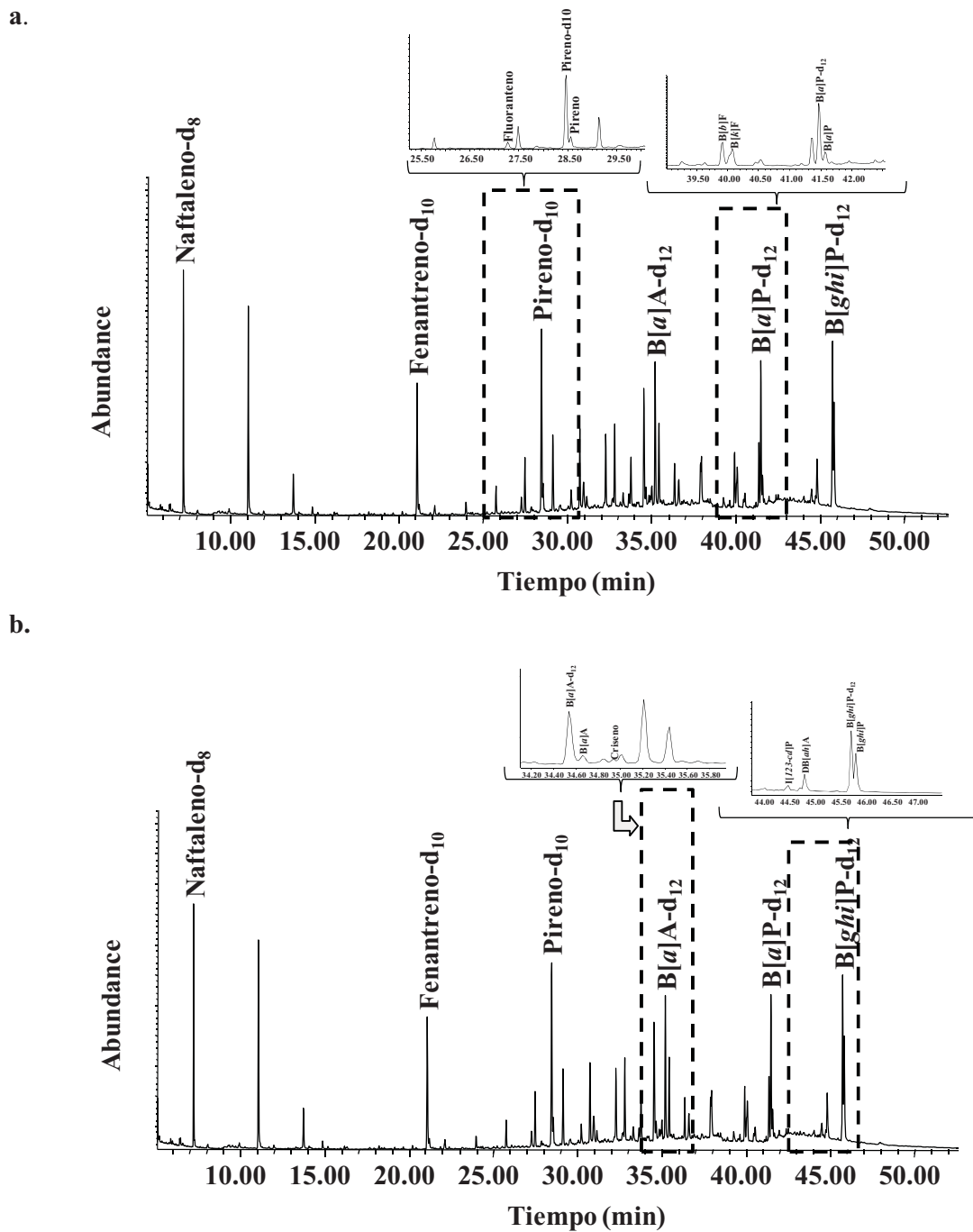


Figura 4.28. Orden de elución de los estándares internos (6 HAP-deuterados) y de los HAP $\leq 202 \text{ g mol}^{-1}$ (a. fluoranteno y pireno) y de los HAP $\geq 228 \text{ g mol}^{-1}$ (a. B[b]F, B(k)F, B[a]P y b. B[a]A, criseno, I[1,2,3-cd]P, DB[ah]A y B[ghi]P) en una muestra de PM_{2.5} (MER 06/02/2008).

4.5.3.2 Variación por sitio

Las medianas de la $\Sigma \text{HAP} \leq 202 \text{ g mol}^{-1}$ y la $\Sigma \text{HAP} \geq 228 \text{ g mol}^{-1}$ se comportaron de forma distinta entre sitios. Así, mientras la $\Sigma \text{HAP} \geq 228 \text{ g mol}^{-1}$ es similar entre sectores, la $\Sigma \text{HAP} \leq 202 \text{ g mol}^{-1}$ es mayor en SAG ($p < 0.05$) que en el resto de lugares (**Figura 4.29**). Igualmente, las medianas de la $\Sigma \text{HAP} \geq 228 \text{ g mol}^{-1}$ son mayores que la $\Sigma \text{HAP} \leq 202 \text{ g mol}^{-1}$ con proporciones ($\Sigma \text{HAP} \geq 228 \text{ g mol}^{-1} / \Sigma \text{HAP} \leq 202 \text{ g mol}^{-1}$) entre 3.5 (COY) y 5.87 (UIZ), excepto en SAG con 0.48 (**Tabla 4.18**).

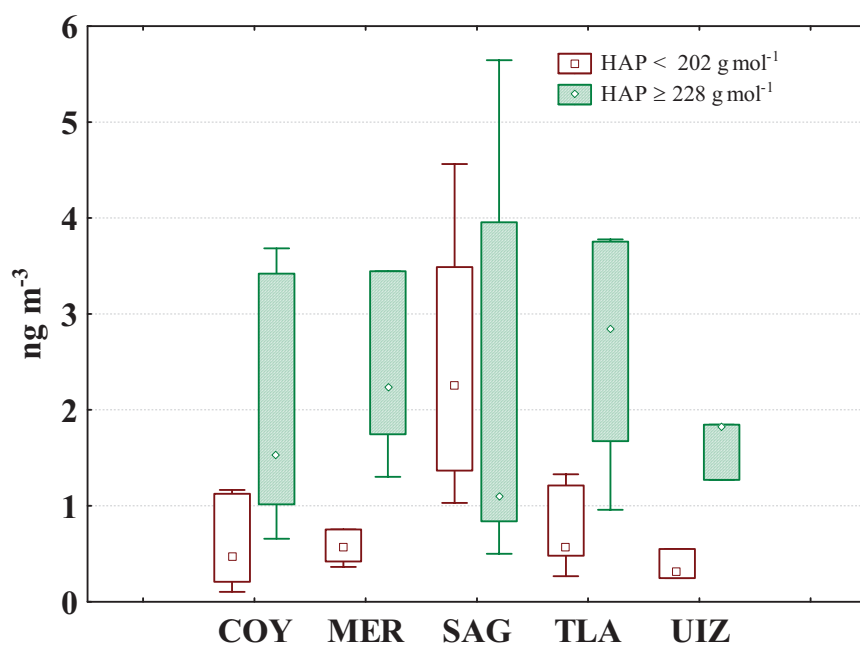


Figura 4.29. Medianas de la $\Sigma \text{HAP} \leq 202 \text{ g mol}^{-1}$ y de la $\text{HAP} \geq 228 \text{ g mol}^{-1}$ en los cinco sitios de muestreo del AMCM (2008). El número de muestras (n) corresponde al reportado en la Tabla 4.18. Mediana (símbolo interno), intercuartiles 25-75% (rectángulo), percentiles 10-90 (barras).

Tabla 4.18. Medianas de las concentraciones de HAP (ng m^{-3}) por sitio en las $\text{PM}_{2.5}$ del AMCM

Compuesto	COY			MER			SAG			TLA			UIZ		
	n	Med	(Perc 10-90)	n	Med	(Perc 10-90)	n	Med	(Perc 10-90)	n	Med	(Perc 10-90)	n	Med	(Perc 10-90)
Naft	6	0.07	(0.03-0.18)	6	0.06	(0.04-0.14)	7	0.37	(0.28-0.68)	7	0.07	(0.04-0.12)	3	0.03	(0.03-0.06)
Ace	4	0.03	(0.01-0.04)	6	0.02	(0.01-0.04)	6	0.04	(0.03-0.11)	7	0.02	(0.01-0.04)	-	n.d	-
Acenafti	-	n.d	-	-	n.d	-	-	n.d	-	-	n.d	-	-	n.d	-
Flu	5	0.01	(0.01-0.02)	6	0.01	(0.01-0.02)	6	0.05	(0.04-0.08)	6	0.01	(0.01-0.02)	1	0.01	(0.01-0.01)
Fent	7	0.09	(0.04-0.16)	6	0.09	(0.07-0.20)	7	0.33	(0.20-0.59)	7	0.09	(0.07-0.18)	3	0.05	(0.05-0.09)
Antr	2	0.04	(0.04-0.04)	4	0.02	(0.02-0.07)	6	0.11	(0.07-0.19)	6	0.03	(0.02-0.17)	1	0.02	(0.02-0.02)
Flt	7	0.13	(0.05-0.33)	6	0.17	(0.10-0.36)	7	0.65	(0.29-1.14)	7	0.16	(0.10-0.35)	3	0.10	(0.08-0.14)
Pir	7	0.16	(0.07-0.36)	6	0.20	(0.12-0.40)	7	0.74	(0.31-1.21)	7	0.23	(0.14-0.41)	3	0.12	(0.10-0.18)
B[a]A	7	0.07	(0.03-0.19)	6	0.12	(0.08-0.29)	7	0.15	(0.09-0.47)	7	0.13	(0.07-0.22)	3	0.08	(0.05-0.08)
Cris	7	0.10	(0.03-0.19)	6	0.11	(0.07-0.26)	7	0.16	(0.09-0.42)	7	0.12	(0.07-0.21)	3	0.08	(0.06-0.13)
B[b]F	7	0.33	(0.13-0.70)	6	0.44	(0.26-1.15)	7	0.26	(0.15-1.08)	7	0.48	(0.24-0.62)	3	0.31	(0.23-0.40)
B[k]F	7	0.18	(0.09-0.40)	6	0.24	(0.15-0.66)	7	0.15	(0.09-0.58)	7	0.27	(0.15-0.36)	3	0.21	(0.15-0.23)
B[a]P	7	0.17	(0.07-0.35)	6	0.22	(0.16-0.53)	7	0.11	(0.07-0.58)	7	0.23	(0.11-0.41)	3	0.15	(0.10-0.18)
I[123-cd]P	7	0.18	(0.11-0.37)	6	0.22	(0.17-0.53)	7	0.05	(0.03-0.34)	7	0.24	(0.13-0.33)	3	0.18	(0.16-0.20)
D[ah]A	7	0.07	(0.02-0.21)	6	0.09	(0.06-0.15)	6	0.03	(0.02-0.10)	7	0.10	(0.06-0.14)	3	0.07	(0.06-0.09)
B[ghi]P	7	0.54	(0.37-1.11)	6	0.80	(0.55-1.55)	7	0.21	(0.16-1.06)	7	0.96	(0.48-1.51)	3	0.55	(0.54-0.66)
Σ HAP	7	1.93	(1.04-4.67)	6	2.84	(1.92-6.27)	7	3.82	(1.97-7.97)	7	3.89	(1.81-4.64)	3	2.15	(1.64-2.33)
Σ HAP ≤ 202	7	0.47	(0.17-1.14)	6	0.57	(0.39-1.20)	7	2.25	(1.23-3.92)	7	0.57	(0.39-1.26)	3	0.31	(0.26-0.50)
Σ HAP ≥ 228	7	1.53	(0.87-3.53)	6	2.23	(1.52-5.11)	7	1.10	(0.70-4.63)	7	2.84	(1.39-3.76)	3	1.82	(1.38-1.84)

n: número de determinaciones por encima del LC_{aire} (límite de cuantificación en aire), Med: mediana, Perc: percentil

El análisis individual mostró que la mayor mediana en SAG para Σ HAP ≤ 202 g mol^{-1} es originada por la mayor abundancia de naftaleno, fenantreno, fluoranteno y pireno ($p < 0.05$) en ese lugar respecto al resto de sitios (**Figura 4.30**), mientras que la similitud de la Σ HAP ≥ 228 g mol^{-1} se debe que los HAP pesados tienen concentraciones atmosféricas sin diferencias entre sitios ($p > 0.05$), únicamente se encontró que la mediana de DB(*ah*)A en SAG difiere ($p < 0.05$) de la estimada en TLA (**Figura 4.31**).

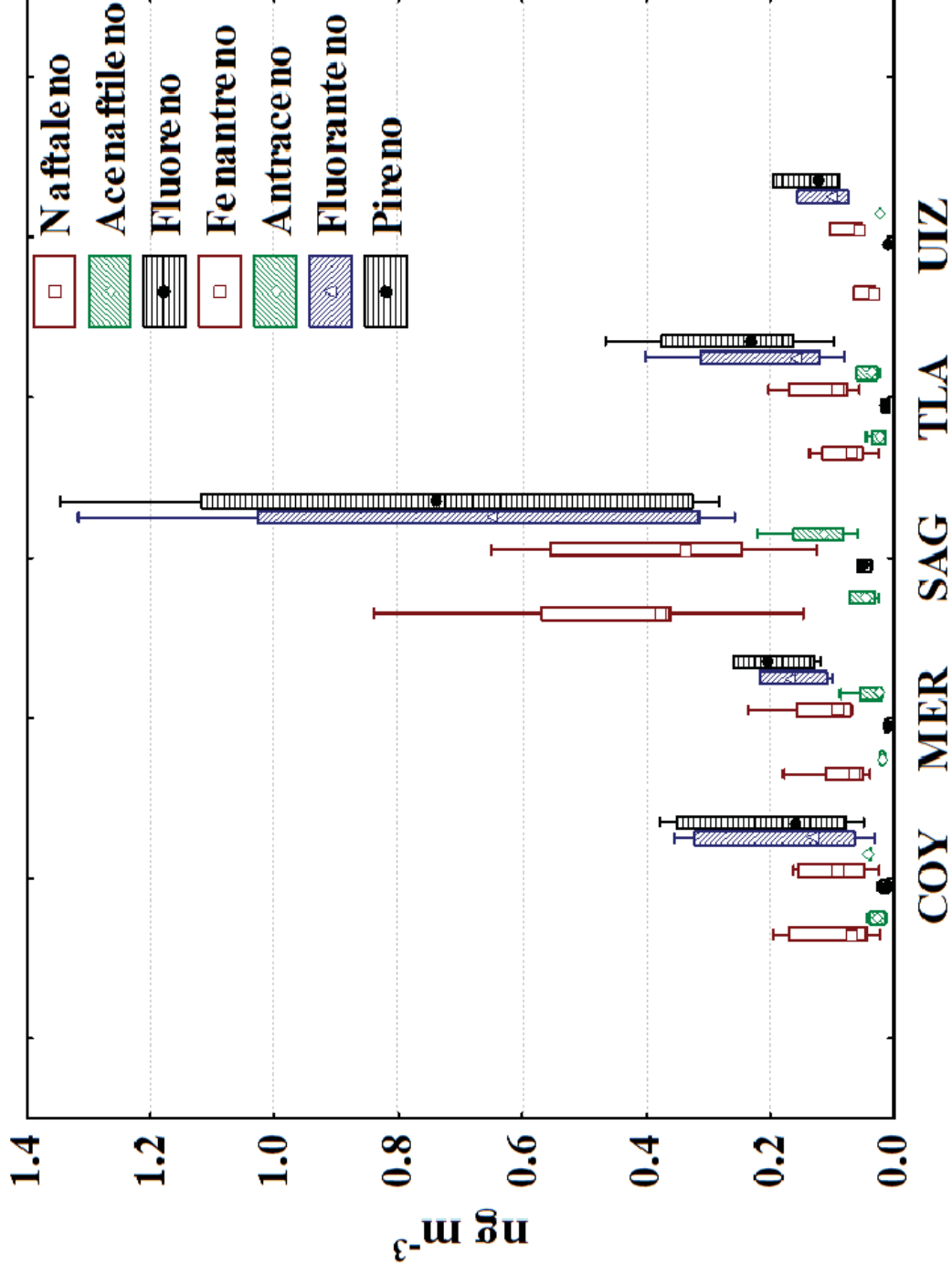


Figura 4.30. Medianas de las concentraciones individuales de HAP ≤ 202 en los cinco sitios de muestreo del AMCM (2008). El número de muestras (n) corresponde al reportado en la Tabla 4.18. Mediana (símbolo interno), intercuartiles 25-75% (rectángulo), percentiles 10-90 (barras).

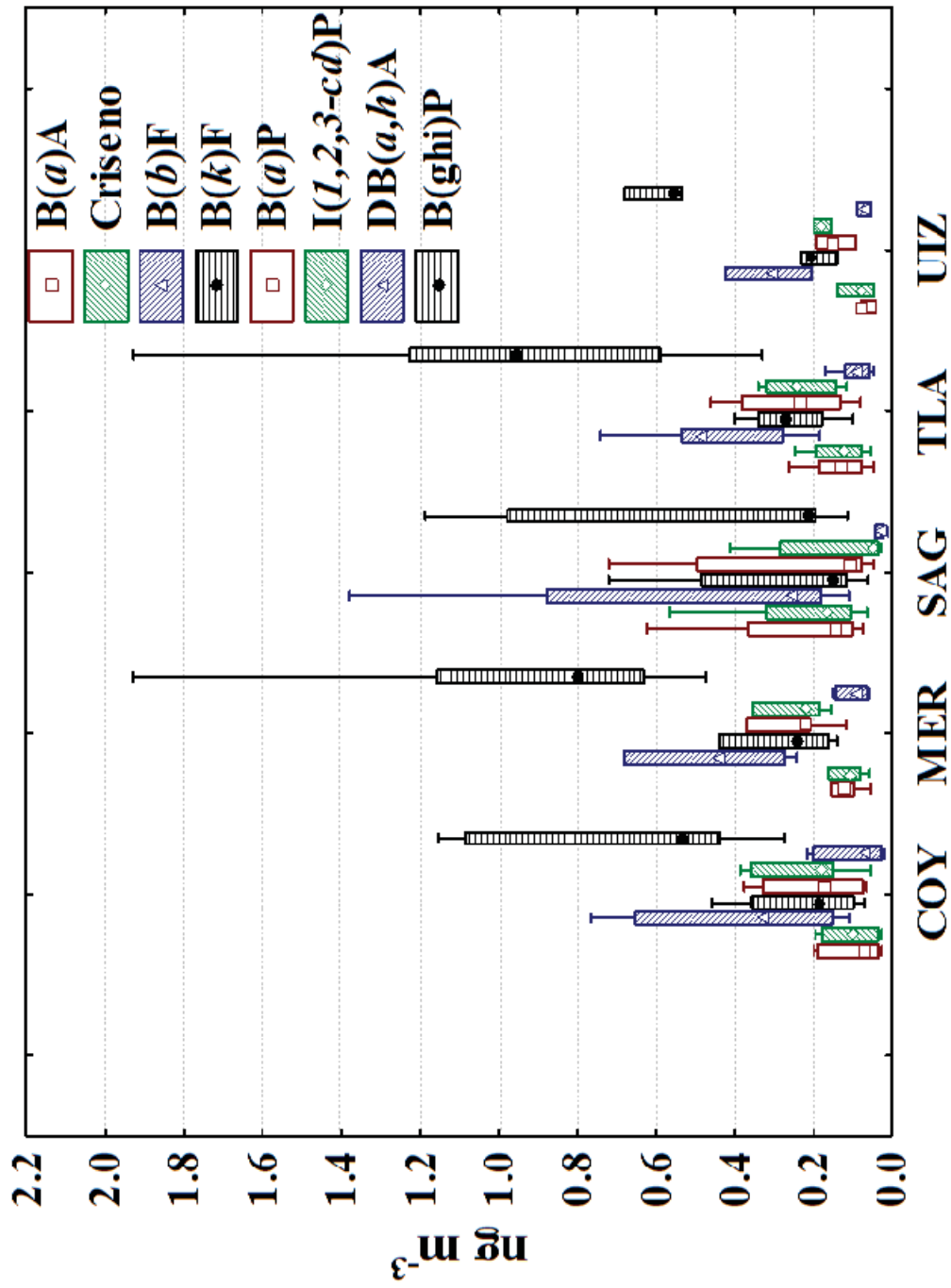


Figura 4.31. Medianas de las concentraciones individuales de HAP ≥ 228 en los cinco sitios de muestreo del AMCM (2008). El número de muestras (n) corresponde al reportado en la Tabla 4.18. Mediana (símbolo interno), intercuartiles 25-75% (rectángulo), percentiles 10-90 (barras).

En el análisis individual se encontraron también diferencias marcadas de los perfiles de distribución por sitio entre los dos grupos de HAP. Mientras que los HAP ligeros tienen perfiles muy similares en los distintos sitios con cuatro de los cinco sitios mostrando el mismo orden de abundancia (pireno > fluoranteno > fenantreno > naftaleno > antraceno > acenafteno > fluoreno) excepto en SAG (donde antraceno > naftaleno) (**Figura 4.30**). Por el contrario, para los HAP pesados en cada sitio se encontró que aunque las medianas individuales tienen valores máximo y mínimos muy similares (**Figura 4.31**) con la mayor mediana para B[ghi]P y la menor para DB[ah]A, excepto SAG, donde la mayor mediana resultó para B[b]F, hay singulares diferencias en el orden de los otros seis HAP, así COY y UIZ tienen el mismo orden (B[ghi]P > B[b]F > B[k]F > I[123-cd]P > B[a]P > Criseno > B[a]A > DB[ah]A), TLA y MER tienen también este orden excepto que B[a]A > criseno en ambos sitios, mientras que en SAG hubo varias diferencias como se observa en la siguiente secuencia B[b]F > B[ghi]P > Criseno > B[k]F > B[a]A > B[a]P > I[123-cd]P > DB[ah]A.

Estos resultados muestran que las concentraciones de HAP en PM_{2.5} se distribuyeron homogéneamente entre los distintos sectores del AMCM. Esto se basa en la similitud encontrada entre los niveles ambientales y los perfiles de abundancia en los cinco sitios. Donde, pireno y B[ghi]P exhiben las mayores abundancias de los HAP ≤ 202 g mol⁻¹ y los HAP ≥ 228 g mol⁻¹, respectivamente. Esta semejanza sugiere la existencia de fuentes comunes que contribuyen posiblemente de forma similar a las PM_{2.5} en los distintos sitios. La comparación entre sitios mostró también que la suma de HAP ≤ 202 g mol⁻¹ es menor que la suma de HAP ≥ 228 g mol⁻¹. Sin embargo, en SAG esto se invirtió como resultado de las mayores concentraciones de naftaleno, fluoreno, fenantreno, fluoranteno y pireno respecto a los otros cuatro sitios (*p*<0.05). Esto se debe probablemente a que los autos que circulan por SAG son principalmente de carga y pasajeros y de acuerdo con Miguel *et al.* (1998) el empleo de diesel para impulsar este tipo de vehículos emite partículas que son enriquecidas con HAP de bajo peso molecular. Resultados similares fueron hallados por Amador-Muñoz *et al.* 2011, aunque en términos de la variabilidad por sitio ellos encontraron diferencias significativas para algunos HAP entre sitios. Además, menores concentraciones de HAP fueron halladas durante 2008 respecto a 2006 para los mismos sitios de medición.

4.5.3.3 Variación por temporada

En forma similar al comportamiento por sitios, la suma de HAP ≥ 228 g mol⁻¹ mostró medianas desde 2.97 (SF) hasta 3.35 (LL) veces más altas que las de la suma de HAP ≤ 202 g mol⁻¹ en todo el estudio (**Tabla 4.19**), mientras que los dos grupos de compuestos tuvieron la mayor y menor ($p < 0.05$) mediana en SF y LL, respectivamente (**Figura 4.32**).

Tabla 4.19. Medianas de las concentraciones (ng m⁻³) individuales de HAP por temporadas en las PM_{2.5} del AMCM

Compuestos	SF				SC				LL			
	n	Mediana	Percentil		n	Mediana	Percentil		n	Mediana	Percentil	
			10	90			10	90			10	90
Naft	8	0.17	0.10	0.57	12	0.07	0.05	0.37	9	0.04	0.02	0.19
Ace	8	0.04	0.03	0.10	10	0.02	0.01	0.04	4	0.02	0.01	0.02
Acenafti	-	n.d	-	-	-	n.d	-	-	-	n.d	-	-
Flu	8	0.02	0.02	0.07	12	0.01	0.01	0.04	4	0.01	0.01	0.03
Fent	8	0.18	0.14	0.44	12	0.10	0.07	0.33	10	0.06	0.04	0.14
Antr	8	0.05	0.03	0.13	6	0.06	0.03	0.19	5	0.02	0.02	0.15
Flt	8	0.38	0.28	0.91	12	0.16	0.13	0.63	10	0.10	0.06	0.26
Pir	8	0.42	0.32	0.93	12	0.19	0.16	0.72	10	0.12	0.08	0.28
B[a]A	8	0.23	0.16	0.49	12	0.10	0.07	0.18	10	0.07	0.03	0.11
Cris	8	0.22	0.15	0.42	12	0.12	0.08	0.18	10	0.06	0.03	0.10
B[b]F	8	0.75	0.62	1.45	12	0.34	0.26	0.53	10	0.19	0.11	0.32
B[k]F	8	0.45	0.35	0.77	12	0.20	0.15	0.29	10	0.13	0.07	0.24
B[a]P	8	0.38	0.30	0.70	12	0.16	0.10	0.22	10	0.10	0.06	0.24
I[123-cd]P	8	0.36	0.27	0.50	12	0.18	0.05	0.25	10	0.15	0.05	0.21
D[ah]A	8	0.15	0.08	0.21	12	0.08	0.02	0.10	9	0.06	0.02	0.08
B[ghi]P	8	1.16	1.04	1.44	12	0.57	0.22	0.91	10	0.45	0.20	0.81
Σ HAP	8	4.97	4.06	8.95	12	2.42	1.96	4.06	10	1.63	1.18	2.48
Σ HAP ≤ 202	8	1.25	0.94	3.14	12	0.54	0.46	2.20	10	0.34	0.20	1.06
Σ HAP ≥ 228	8	3.72	3.25	5.98	12	1.72	1.13	2.62	10	1.14	0.64	2.04

n: número de determinaciones por encima del LC_{aire} (límite de cuantificación en aire),

SF: secas frías (febrero), SC: secas calientes (abril) y LL: lluvias (agosto)

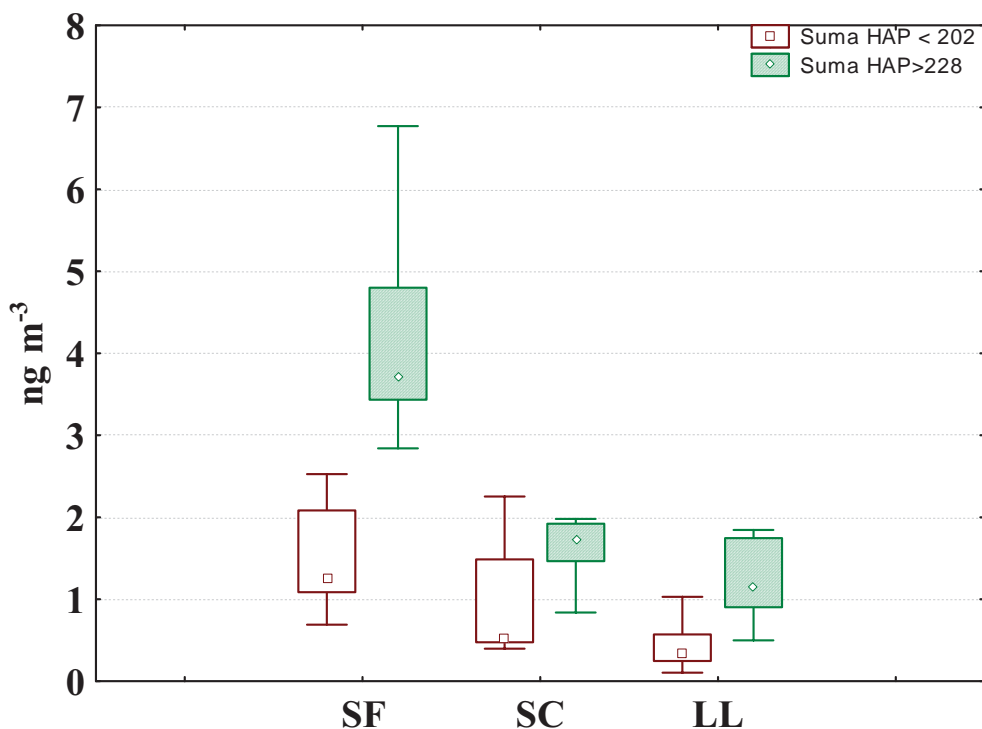


Figura 4.32. Medianas de la suma de HAP $\leq 202 \text{ g mol}^{-1}$ y la suma HAP $\geq 228 \text{ g mol}^{-1}$ en las tres temporadas de 2008 en el AMCM. El número de muestras (n) corresponde al reportado en la **Tabla 4.19**. Mediana (símbolo interno), intercuartiles 25-75% (rectángulo), percentiles 10-90 (barras)

En cada temporada, las medianas de los HAP $\leq 202 \text{ g mol}^{-1}$ individuales mostraron una marcada similitud en el orden de abundancia (pireno > fluoranteno > fenantreno > naftaleno > antraceno > acenaftileno) y a través del año sus valores experimentaron una reducción (secas frías > secas calientes > lluvias) para todos los compuestos (**Figura 4.33**), aunque con distinto grado de significancia. De esta manera, las medianas difieren significativamente ($p < 0.05$) para pireno y fluoranteno (entre todas las temporadas), naftaleno (secas frías > lluvias), acenaftileno (secas frías > secas calientes y lluvias), fluoreno (secas frías > secas calientes), fenantreno (secas frías y calientes > lluvias) y sin diferencias para antraceno.

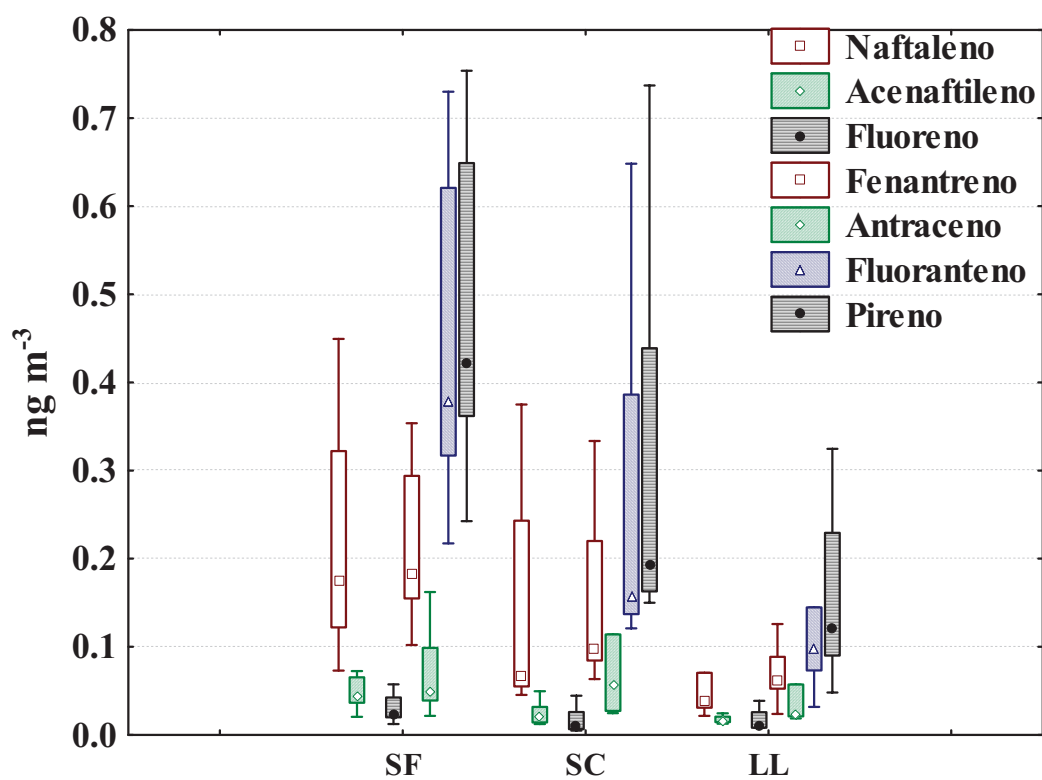


Figura 4.33. Medianas de las concentraciones individuales de HAP ≤ 202 en las tres temporadas de 2008 en el AMCM. SF: secas frías (febrero), SC: secas calientes (abril) y LL: lluvias (agosto). El número de muestras (n) corresponde al reportado en la **Tabla 4.19**. Mediana (símbolo interno), intercuartiles 25-75% (rectángulo), percentiles 10-90 (barras)

En cada temporada, las medianas de los HAP $\geq 228 \text{ g mol}^{-1}$ individuales, a diferencia de los HAP $\leq 202 \text{ g mol}^{-1}$, mostraron un distinto orden de abundancia, sin embargo en todas las temporadas B(*ghi*)P y B(*b*)F tuvieron las mayores medianas y similarmente a través del año sus valores experimentaron también una reducción (secas frías>secas calientes>lluvias) con distinto grado de significancia y comportamiento para todos los compuestos respecto a los HAP $\leq 202 \text{ g mol}^{-1}$ (Figura 4.34). Las medianas de todos los compuestos difieren entre secas frías respecto a secas calientes y lluvias ($p < 0.05$), sin embargo solamente los más ligeros del grupo, desde B(*a*)A hasta B(*k*)F, muestran diferencias entre secas calientes y lluvias.

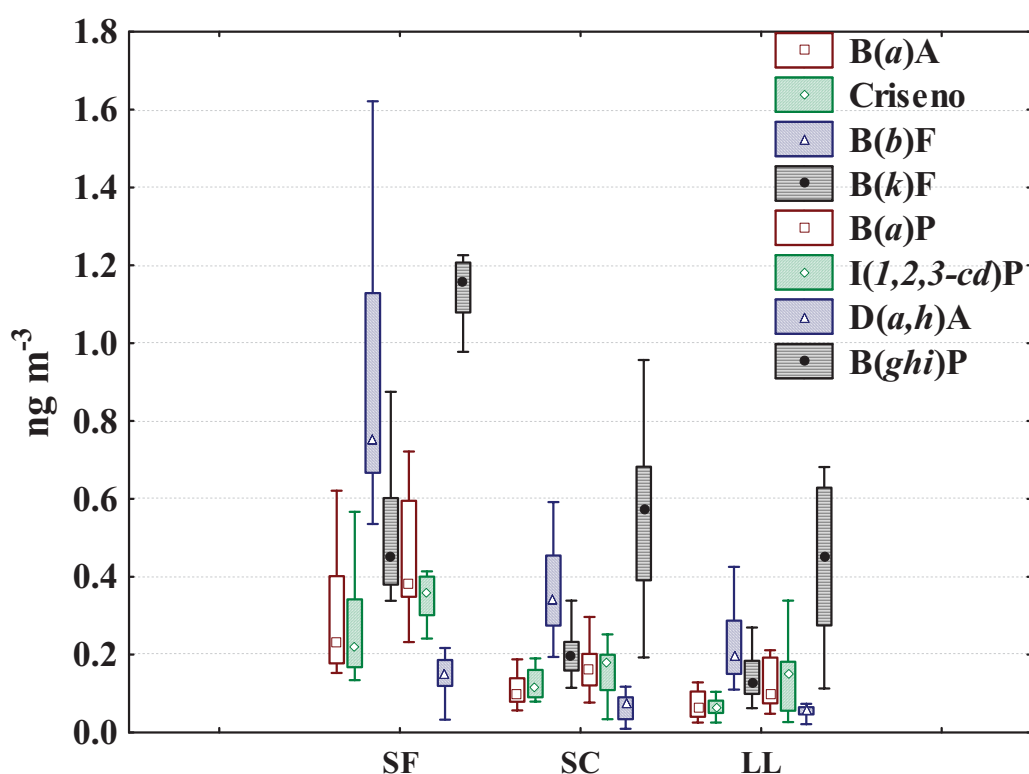


Figura 4.34. Medianas de las concentraciones individuales de HAP ≤ 228 en las tres temporadas de 2008 en el AMCM. SF: secas frías (febrero), SC: secas calientes (abril) y LL: lluvias (agosto). El número de muestras (n) corresponde al reportado en la **Tabla 4.19**. Mediana (símbolo interno), intercuartiles 25-75% (rectángulo), percentiles 10-90 (barras).

En general, ambos grupos de compuestos describen una variación temporal con mayores concentraciones en la temporada de secas frías que en secas calientes y lluvias. En la temporada de secas frías, las medianas más abundantes sugieren la emisión directa de los HAP o bien un incremento de sus emisiones debido a una combinación de factores meteorológicos, los cuales juegan también un importante rol, así las menores temperaturas favorecen la mayor presencia de HAP en la fase partícula (Schnelle-Kreis *et al.* 2005b) y el incremento de la frecuencia de las inversiones térmicas disminuyen la dispersión de estos y otros contaminantes que ayudan a su acumulación (SMA 2006). Además la radiación es mucho menor y decae la fotodegradación de los HAP (Shimmo *et al.* 2002). En secas calientes, el incremento de las temperaturas favorecen la menor presencia de los HAP en la fase partícula (Amador-Muñoz *et al.* 2011). Mientras que, la disminución de las inversiones térmicas provoca mayor dispersión de los contaminantes y reducción de concentraciones atmosféricas (SMA 2006), lo que explica las menores medianas en secas calientes respecto a secas frías. En lluvias, los contaminantes son removidos más eficientemente del aire y sus concentraciones decaen significativamente respecto a las otras temporadas (Valle-Hernández *et al.* 2010). Todos los HAP con excepción del fluoranteno, muestran concentraciones significativamente menores en lluvias, el comportamiento de fluoranteno se debe probablemente a la variabilidad de sus concentraciones más que a la tasa con que se remueve del aire ambiente.

4.5.3.4 Evaluación de posibles fuentes

La mayor abundancia de pireno y B[ghi]P indica una probable contribución por la quema de combustibles fósiles ya que la presencia de estos compuestos se ha relacionado con emisiones por el uso de diesel (Masclat *et al.* 1996) y B[ghi]P por el empleo de gasolina (Miguel *et al.* 1998, Ciganek *et al.* 2004), respectivamente. Lo que es consistente con el intenso tráfico vehicular que caracteriza la Ciudad de México y con lo encontrado en distintas ciudades Chinas (Zheng *et al.* 2000, Guo *et al.* 2003, Hou *et al.* 2006), Japonesas (Kume *et al.* 2007), Europeas (Kirso *et al.* 2006, Pindado *et al.* 2009), Americanas (Li *et al.* 2009, Han *et al.* 2010), y Latinoamericanas (Kavouras *et al.* 1999, Bourotte *et al.* 2005) donde la presencia de HAP se atribuye al tráfico vehicular, principalmente a través del escape de los vehículos impulsados con gasolina y diesel (Guo *et al.* 2003, Morville *et al.* 2004, Chirico *et al.* 2007, Shi *et al.* 2007), en mayor proporción que la contribución por otras fuentes como quema de carbón y madera que podrían originar también importantes cantidades y específicos tipos de HAP.

Para confirmar el origen de los HAP en el AMCM, se utilizaron y analizaron distintas proporciones de las concentraciones de los HAP, las cuales suministran indicios sobre la contribución de diferentes tipos de fuentes en la formación del material particulado (Rajput y Lakhani 2010). En cada sitio se calcularon las proporciones promedio que se muestran y describen en la **Tabla 4.20**. El rango encontrado (0.69-0.86) para CPAH/TPAH indica que una porción representativa de los HAP se puede estar originando de la combustión de fuentes móviles como vehículos equipados con catalizadores (Rogge *et al.* 1993). Mientras que el rango encontrado (0.20-0.24) para IP/(IP+BghiP) sugiere la importancia por emisiones producto del uso de gasolina (Rajput y Lakhani 2010). Por otro lado, los valores (0.75-0.94) para Fen/(Fen+Ant) son típicos de combustibles fósiles y lubricantes (Alves *et al.* 2001). Los de BaA/(BaA+Cris) (0.43-0.52) muestran la contribución por el uso de gasolina y diesel (Kavouras *et al.* 2001) y finalmente Fl/(Fl+Pir) con valores entre 0.44 y 0.48 se atribuye a emisiones de vehículos con catalizadores (Kavouras *et al.* 1999). Estos resultados son consistentes con los hallazgos realizados por Amador-Muñoz *et al.* (2011), quienes sugieren que la presencia de HAP > 228 en partículas finas provienen principalmente de combustión incompleta y comprueban la contribución significativa que tiene la actividad vehicular en las partículas finas, específicamente por el uso de gasolina y diesel en vehículos equipados con catalizadores en el AMCM.

Tabla 4.20. Proporciones promedio por sitio de las concentraciones de HAP para evaluar la contribución por fuentes

Sitios	CPAH/TPAH	IP/(IP+BghiP)	Fen/(Fen+Ant)	BaA/(BaA+Cris)	Fl/(Fl+Pir)
COY	0.85	0.24	0.94	0.47	0.46
MER	0.85	0.24	0.86	0.52	0.46
SAG	0.69	0.20	0.77	0.51	0.48
TLA	0.84	0.20	0.75	0.50	0.44
UIZ	0.86	0.23	0.93	0.43	0.45

CPAH: Fluoranteno+pireno+BaA+BbF+BkF+BaP+I(123-cd)P+B(ghi)P, TPAH: 16 HAP determinados en este estudio

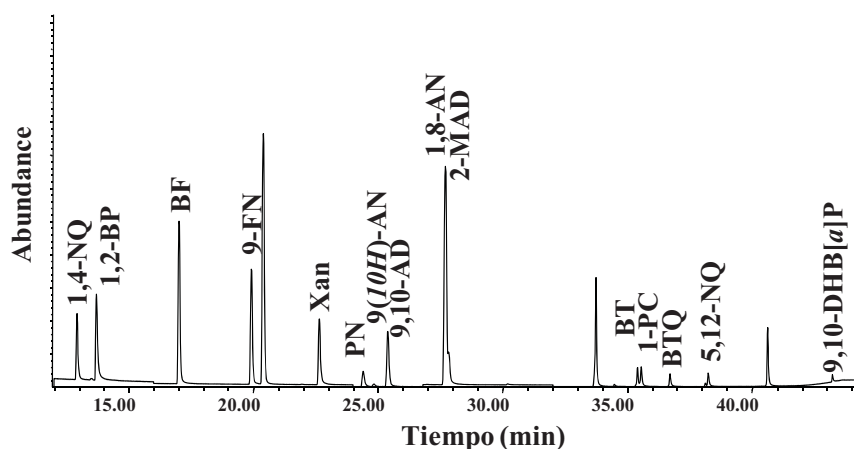
4.5.4. Oxi-HAP en las PM_{2.5}

4.5.4.1. Concentraciones atmosféricas

El método optimizado se aplicó también para la determinación de quince oxi-HAP clasificados en cinco cetonas (BF: benzofenona, FN: fluorenona, PN: perinaftenona, 9(10H)-antracenona: 9(10H)A, 7H-benzo[de]Antracen-7-ona: 7HB(de)A ó benzantrona), cinco quinonas (1,4-naftoquinona: 1,4-NQ, 2-metil-antracenodiona: 2-MAD; 9,10-Antracenodiona: 9,10-AD, benzo[a]antracen-7,12-diona: B(a)A-7,12-D ó

Benzantrenoquinona y 5,12-naftacenoquinona: 5,12-NQ), dos lactonas (1,2-benzopirona: 1,2-BP y xantona: XAN), un aldehído (1-pirenocarboxialdehído: 1-PC) y un anhídrido (1,8-anhídrido naftálico: 1,8-AN). Esta clase de compuestos, que se reportan por primera vez en las PM_{2.5} del AMCM (**Figura 4.35b**), se determinó principalmente en la fracción 3 (**Figura 4.35a**), que se obtuvo con 10 mL de cloruro de metileno. Sin embargo, el proceso de identificación y cuantificación también se corrió en la fracción 2 (2 mL de CM:HEX, 1:3 v/v) y fracción 4 (10 mL de Acetona) para descartar su posible presencia.

a.



b.

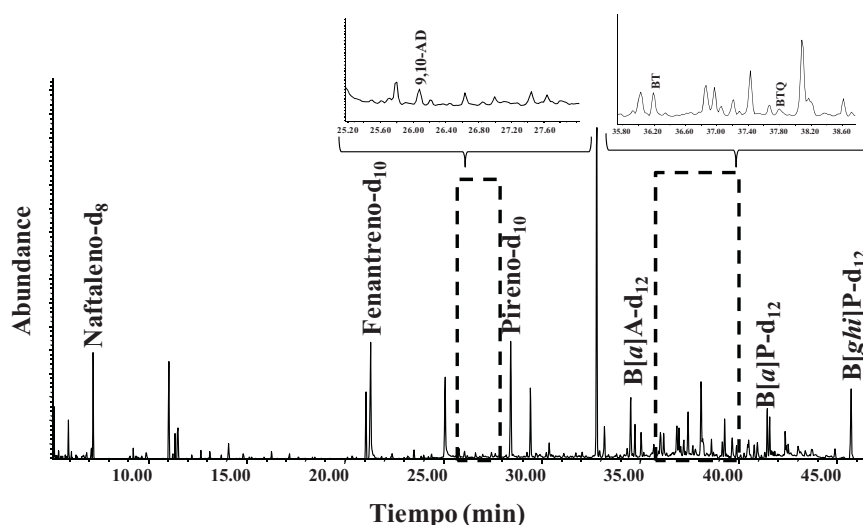


Figura 4.35. Cromatogramas de oxi-HAP en un estándar de referencia (a) y en una muestra de PM_{2.5} (b)

Únicamente tres de los quince compuestos mostraron dificultades para ser medidos debido a que se perdieron en el fraccionamiento ya que su señal era indistinguible del ruido en los extractos orgánicos complejos (9(10H)Antracena), tuvieron concentraciones por debajo de los LD y LC (9,10-dihidrobenzo[a]piren-3-(4H)ona) y su identificación se dificultó a bajas concentraciones debido a problemas de especificidad (1,8-AN) (Tabla 4.21).

Tabla 4.21. Concentraciones atmosféricas totales (ng m⁻³) de los oxi-HAP

Compuestos	n	Mediana	Percentil		Promedio
			10	90	
1,4-Naftoquinona	27	0.05	0.01	0.13	0.06
1,2-Benzopirona	15	0.04	0.02	0.10	0.05
Benzofenona	26	0.07	0.03	0.19	0.09
9-Fluorena	30	0.06	0.03	0.22	0.10
Xantona	11	0.02	0.01	0.06	0.03
Perinaftena	29	0.16	0.05	0.80	0.29
9(10H)Antracena	-	n.d	-	-	n.d
9,10-Antracenaodiona	30	0.11	0.05	0.43	0.18
Anhidrido-1,8-Naftalico	-	n.d	-	-	n.d
2-Metilanttracenaodiona	28	0.07	0.03	0.23	0.11
7(H)-Benzo[de]anttracena-7-ona	30	0.33	0.12	0.79	0.41
1-Pirenocarboxialdehído	27	0.05	0.03	0.18	0.08
Benzo[a]anttracena-7,12-diona	26	0.09	0.05	0.20	0.11
5,12-Naftacenoquinona	22	0.06	0.05	0.10	0.07
9,10-Dihidrobenzo(a)piren3(4H)ona	-	n.d	-	-	n.d
Σ Oxi-HAP	30	1.11	0.49	2.96	1.47

n: número de muestras superiores al LD_{aire} (límite de cuantificación en aire), n.d: no detectado

Los promedios de las concentraciones del estudio total tienen niveles que son consistentes con los previamente reportados (ng m⁻³) para esta clase de compuestos en material particulado respirable (Allen *et al.* 1997, Shimmo *et al.* 2002, Castells *et al.* 2003, Kallio *et al.* 2003, Ré-Poppi y Santiago-Silva 2005, Albinet *et al.* 2006, Sienna *et al.* 2006). Así, el valor más alto correspondió a benzantrona (0.41 ng m⁻³), seguido por perinaftena y el más bajo a XAN (0.03 ng m⁻³). En este rango, las concentraciones promedio de los oxi-HAP individuales asociadas a las PM_{2.5} en el AMCM son menores que las encontradas en Tampa (USA) para PN, XAN, BT, 1,4-NQ, 9,10-AD y BT (Delhomme *et al.* 2008), en California (USA) para 1,4-NQ y 9,10-AD (Cho *et al.* 2004), en Munich (Alemania) para 9-FN, PN, 9,10-AD, BTQ (Schenelle-Kreis *et al.* 2001) y en Ausburg (Alemania) para 9,10-AD (Schenelle-Kreis *et al.* 2005b). La inexistencia de normas que regulen sus concentraciones en México y otros países dificultó un

diagnóstico confiable del grado de peligrosidad que podrían representar los niveles medidos. Sin embargo, su comprobada mutagenicidad en ensayos con bacterias y células humanas (Durnat *et al.* 1996) indica que hay un riesgo potencial por la exposición a estos contaminantes que se agrava porque se han detectado en partículas que los transportan con mayor facilidad hasta los tejidos alveolares dentro de los pulmones (Finlayson-Pitts y Pitts 2000), las cuales se ha demostrado que se asocian significativamente con diversas enfermedades de tipo respiratorio y cardiovascular (De Kok *et al.* 2006, Pope *et al.* 2002). Además, los dos compuestos con mayor abundancia reportados en este estudio (benzantrona y PN) corresponden con aquellos que muestran dos de las tasas más altas de mutagenicidad en ensayos con células humanas (Durant *et al.* 1996).

4.5.4.2. Variación por sitio

En este análisis se consideraron inicialmente la suma de oxi-HAP (Σ Oxi-HAP). La mayor mediana (**Figura 4.36**) se encontró en SAG, seguido por TLA con un orden de abundancia similar al de los *n*-alcanos y HAP (Sag>Tla>Mer>Coy>Uiz), aunque sin diferencias significativas entre sitios ($p > 0.05$).

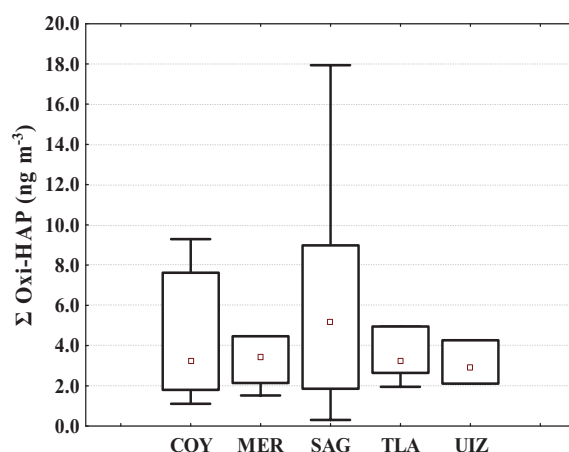


Figura 4.36. Medianas de la suma de las concentraciones de oxi-HAP en los cinco sitios de muestreo en la AMCM (2008). El número de muestras (n) corresponde al reportado en la **Tabla 4.22**. Mediana (cuadrado interno), intercuartiles 25-75% (rectángulo), percentiles 10-90 (barras).

Respecto a las concentraciones individuales, las medianas de los compuestos guardaron, en general, el siguiente orden SAG>TLA>MER>UIZ>COY (**Figura 4.37**), sin diferencias significativas ($p > 0.05$) y con un orden de abundancia similar dentro de cada sitio (BT > PNaf > 9,10-AD > BTQ > 2-MAD > BF > 5,12NQ > 9-FN > 1,4-NQ > 1-PC > 1,2-BP > XAN), excepto en SAG, donde PNaf resultó mayor que BT, mientras que 1-PC mostró la más baja de todas las medianas. La similitud de sus concentraciones debe muy probablemente a la homogeneidad de la tasa de emisión con la que estos contaminantes ingresan a la atmósfera o a tipos de fuentes o procesos comunes que los originan en los distintos sitios del AMCM.

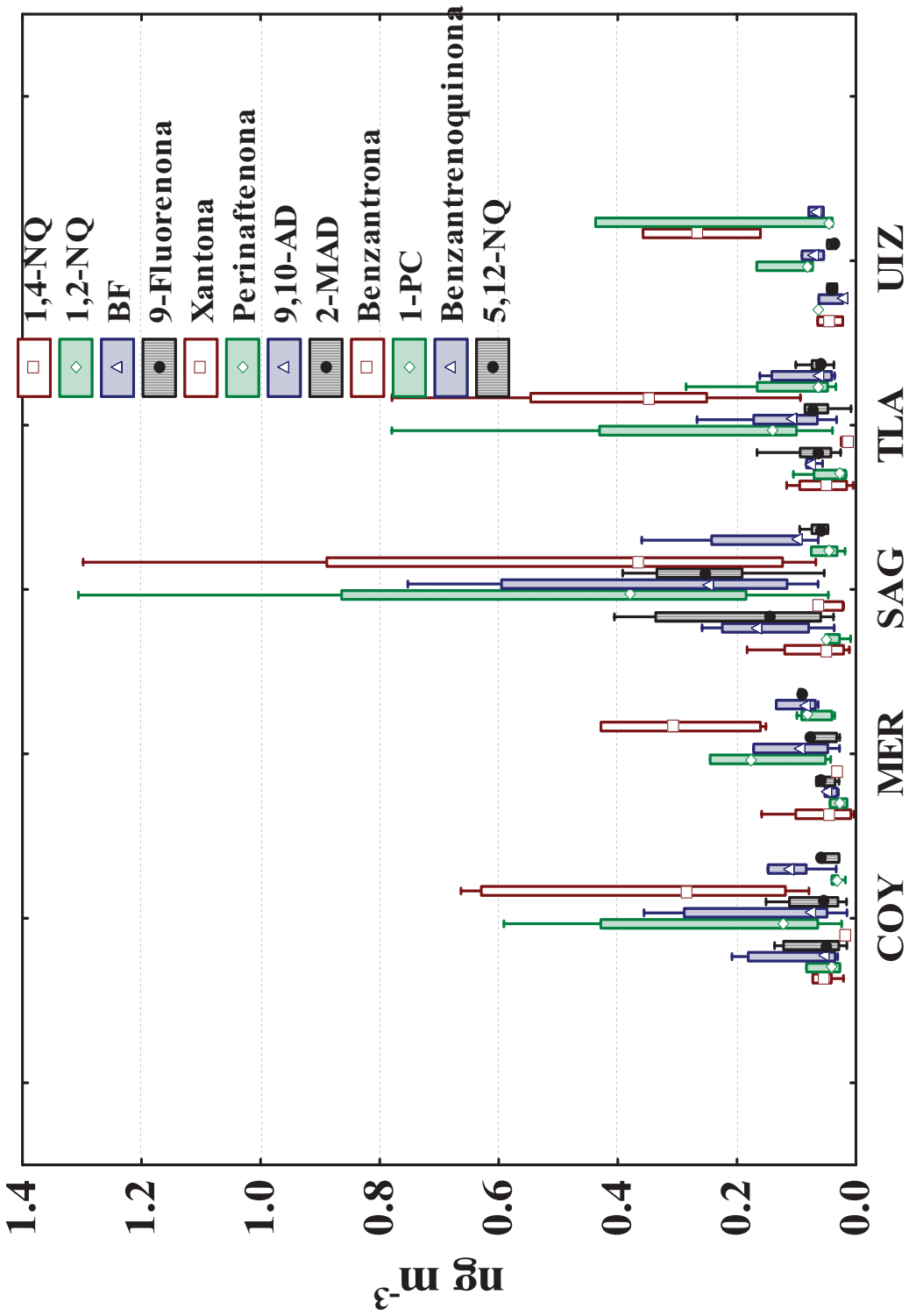


Figura 4.37. Medianas de las concentraciones individuales de oxi-HAP en los cinco sitios de muestreo de la AMCM (2008). El número de muestras (*n*) corresponde al reportado en la **Tabla 4.22**. Mediana (símbolo interno), intercuartiles 25-75% (rectángulo), percentiles 10-90 (barras).

Tabla 4.22. Concentraciones atmosféricas (ng m^{-3}) de los oxi-HAP por sitio

Compuestos	COY			MER			SAG			TLA			UIZ													
	n	Med	Percentil	Prom	n	Med	Percentil	Prom	n	Med	Percentil	Prom	n	Med	Percentil	Prom										
																	10	90	10	90	10	90	10	90		
1,4-Naftoquinona	7	0.05	0.01	0.10	0.06	6	0.05	0.01	0.13	0.06	6	0.05	0.02	0.15	0.07	7	0.05	0.01	0.10	0.06	2	0.04	0.03	0.06	0.04	
1,2-Benzopirona	3	0.04	0.03	0.07	0.05	2	0.03	0.02	0.04	0.03	5	0.05	0.02	0.09	0.05	4	0.03	0.02	0.08	0.04	1	0.06	0.06	0.06	0.06	
Benzofenona	6	0.06	0.03	0.19	0.09	5	0.05	0.03	0.11	0.06	7	0.17	0.06	0.24	0.15	5	0.08	0.06	0.12	0.09	3	0.02	0.02	0.05	0.04	
9-Fluorenona	7	0.05	0.02	0.13	0.07	6	0.06	0.03	0.14	0.08	7	0.14	0.05	0.36	0.20	7	0.06	0.04	0.12	0.08	3	0.04	0.03	0.05	0.04	
Xantona	2	0.02	0.02	0.02	0.02	1	0.03	0.03	0.03	0.03	5	0.06	0.02	0.07	0.05	3	0.01	0.01	0.02	0.02	-	n.d.	-	-	n.d.	
Perinaftena	7	0.12	0.05	0.49	0.21	6	0.17	0.05	0.60	0.27	6	0.38	0.12	1.08	0.53	7	0.14	0.08	0.57	0.26	3	0.08	0.07	0.15	0.11	
9(10H)Antracena	-	n.d.	-	-	n.d.	-	n.d.	-	-	n.d.	-	n.d.	-	-	n.d.	-	n.d.	-	-	n.d.	-	n.d.	-	-	-	n.d.
9,10-Antracenediona	7	0.08	0.04	0.32	0.14	6	0.10	0.04	0.29	0.14	7	0.25	0.09	0.66	0.37	7	0.11	0.05	0.21	0.13	3	0.07	0.06	0.09	0.07	
Anhidrido-1,8-Naftalico	-	n.d.	-	-	n.d.	-	n.d.	-	-	n.d.	-	n.d.	-	-	n.d.	-	n.d.	-	-	n.d.	-	n.d.	-	-	-	n.d.
2-Metilantracenediona	7	0.06	0.02	0.13	0.07	5	0.08	0.03	0.13	0.07	6	0.25	0.12	0.36	0.25	7	0.07	0.03	0.11	0.07	3	0.04	0.03	0.05	0.04	
7(F)-Benzol(de)antracen-7-ona	7	0.28	0.10	0.64	0.33	6	0.31	0.16	1.01	0.49	7	0.37	0.10	1.05	0.49	7	0.35	0.19	0.64	0.40	3	0.27	0.18	0.34	0.26	
1-Pirenocarboxialdehido	5	0.03	0.02	0.06	0.04	6	0.08	0.04	0.10	0.07	6	0.04	0.03	0.13	0.07	7	0.07	0.04	0.21	0.10	3	0.04	0.04	0.36	0.17	
Benzol(g)antracen-7,12-diona	6	0.11	0.06	0.15	0.11	5	0.09	0.07	0.22	0.13	5	0.10	0.08	0.31	0.17	7	0.06	0.04	0.15	0.09	3	0.07	0.06	0.08	0.07	
5,12-Naftacenoquinona	3	0.06	0.03	0.06	0.05	5	0.09	0.08	0.12	0.10	7	0.06	0.05	0.08	0.06	7	0.06	0.05	0.08	0.06	-	n.d.	-	-	n.d.	
9,10-Dihidrobencol(piren)3(4H)ona	-	n.d.	-	-	n.d.	-	n.d.	-	-	n.d.	-	n.d.	-	-	n.d.	-	n.d.	-	-	n.d.	-	n.d.	-	-	-	n.d.
Σ Oxi-HAP	7	0.81	0.29	2.34	1.12	6	1.04	0.54	2.72	1.43	7	1.48	0.43	4.41	2.25	7	1.18	0.80	1.98	1.33	3	0.69	0.57	1.19	0.85	

n: número de determinaciones superiores al LC_{aire} (Límite de cuantificación en aire), Med: mediana, Prom: promedio. Medianas obtenidas con menos de tres observaciones no se consideraron en el análisis estadístico.

4.5.4.3. Variación por temporada

Los resultados de este análisis mostraron que hay una disminución de las medianas de la suma de oxi-HAP (Σ Oxi-HAP) y de las concentraciones individuales de la mayoría de los oxi-HAP conforme transcurre el año, desde la temporada de secas frías a la de lluvias (**Figura 4.38**), por lo tanto, las medianas de todos estos parámetros mostraron diferencias entre temporadas con los valores más altos en la temporada secas frías, seguida por secas calientes y las más baja en lluvias.

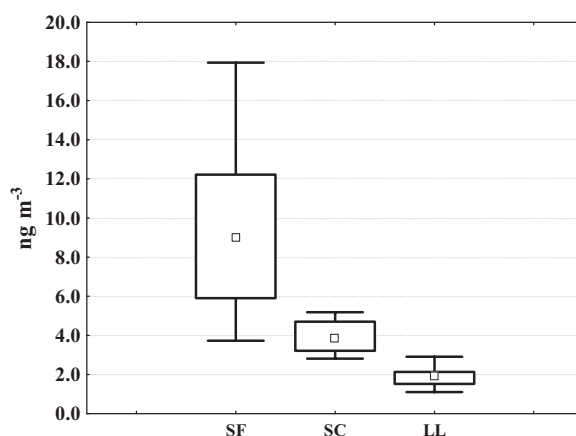


Figura 4.38. Medianas de la suma de las concentraciones de oxi-HAP en el AMCM (2008) para tres temporadas. SF: secas frías (febrero), SC: secas calientes (abril) y LL: lluvias (agosto). El número de muestras (n) corresponde al reportado en la **Tabla 4.23**. Mediana (cuadrado interno), intercuartiles 25-75% (rectángulo), percentiles 10-90 (barras).

Respecto a las medianas individuales de los oxi-HAP, estas mostraron notable similitud en el orden de abundancia a través de las temporadas (BT > PNaf > 9,10-AD > BF > 9-FN > BTQ > 1-PC > 2-MAD > 1,4-NQ > 1,2-BP > Xan > 5,12-NQ) con valores que experimentaron una disminución para la mayoría de los compuestos (**Figura 4.39**) conforme transcurrió el año desde la temporada secas frías a la de lluvias (SF>SC>LL). De esta manera, se encontró que las medianas difieren también significativamente, entre todas las temporadas, para 1,4-NQ, 9-FN, PN, 9,10-AD, BT y BTQ; al menos entre dos temporadas para 1,2-BP (excepto entre seca fría y lluvias), BF (excepto entre secas calientes y lluvias) y 2-MAD (excepto entre seca fría y seca caliente) y sin diferencias para las medianas de XAN, 1-PC y 5,12-NQ.

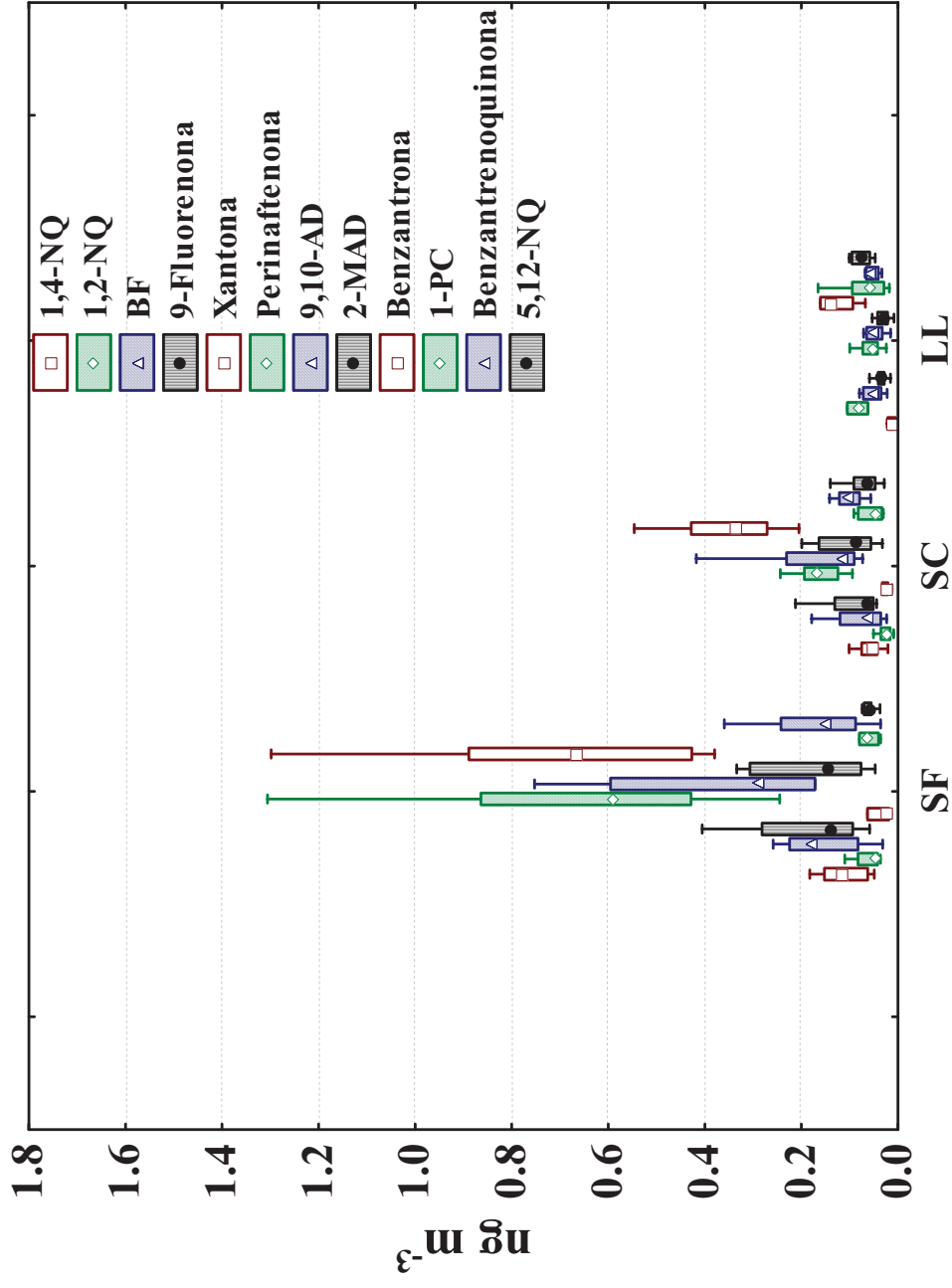


Figura 4.39. Medianas de las concentraciones individuales de oxi-HAP en el AMCM (2008) para tres temporadas. SF: secas frías (febrero), SC: secas calientes (abril) y LL: lluvias (agosto). El número de muestras (n) corresponde al reportado en la tabla 4.23. Mediana (símbolo interno), intercuartiles 25-75% (rectángulo), percentiles 10-90 (barras).

La disminución significativa de las medianas desde secas frías, seguida por secas calientes y lluvias es una consecuencia del incremento del grado de volatilización que experimentan los compuestos desde la fase particulada a la fase gas por el aumento de la temperatura (Castells *et al.* 2003, Delhomme *et al.* 2008) y por efecto depurador de la lluvia que favorece la remoción de los compuestos y partículas del aire (Amador-Muñoz *et al.* 2010). Las más altas concentraciones en secas frías se deben muy probablemente a la acumulación de contaminantes como consecuencia de la disminución de la dispersión vertical y la estabilidad atmosférica (Wang *et al.* 2007) que caracteriza esta temporada en el AMCM (Guzmán-Torres *et al.* 2009).

Tabla 4.23. Concentraciones atmosféricas (ng m⁻³) de los oxi-HAP por temporadas

Compuestos	Seca 1					Seca 2					Lluvias				
	n	Mediana	Percentil		Promedio	n	Mediana	Percentil		Promedio	n	Mediana	Percentil		Promedio
			10	90				10	90				10	90	
1,4-NQ	8	0.12	0.06	0.17	0.11	12	0.05	0.03	0.09	0.06	7	0.01	0.00	0.02	0.01
1,2-BP	6	0.05	0.04	0.10	0.06	7	0.02	0.01	0.04	0.02	2	0.08	0.07	0.10	0.08
BF	8	0.17	0.07	0.23	0.16	11	0.06	0.03	0.17	0.07	7	0.05	0.03	0.08	0.05
9-FN	8	0.15	0.08	0.32	0.18	12	0.06	0.05	0.14	0.10	10	0.03	0.02	0.04	0.03
XAN	7	0.02	0.02	0.06	0.03	4	0.02	0.01	0.06	0.03	-	n.d	-	-	n.d
PN	8	0.69	0.37	1.06	0.70	12	0.17	0.11	0.24	0.19	9	0.05	0.04	0.09	0.06
9(10H)AN	-	n.d	-	-	n.d	-	n.d	-	-	n.d	-	n.d	-	-	n.d
9,10-AD	8	0.32	0.17	0.64	0.38	12	0.11	0.07	0.25	0.16	10	0.05	0.03	0.08	0.05
1,8-AN	-	n.d	-	-	n.d	-	n.d	-	-	n.d	-	n.d	-	-	n.d
2-MAD	8	0.15	0.07	0.31	0.17	12	0.08	0.05	0.20	0.11	8	0.03	0.01	0.05	0.03
BT	8	0.72	0.41	1.38	0.83	12	0.33	0.24	0.43	0.34	10	0.14	0.08	0.27	0.16
1-PC	8	0.07	0.04	0.12	0.08	11	0.04	0.03	0.29	0.10	8	0.06	0.02	0.12	0.07
BTQ	8	0.15	0.07	0.30	0.18	12	0.10	0.06	0.13	0.10	6	0.06	0.04	0.07	0.05
5,12-NQ	8	0.06	0.05	0.09	0.07	8	0.06	0.04	0.09	0.06	6	0.08	0.05	0.10	0.08
9,10-DHB(a)P	-	n.d	-	-	n.d	-	n.d	-	-	n.d	-	n.d	-	-	n.d
Σ Oxi-HAP	8	2.69	1.40	4.54	2.94	12	1.18	0.82	1.47	1.28	10	0.51	0.29	0.72	0.52

n: número de determinaciones superiores al LC_{aire} (límite de cuantificación en aire), Med: mediana, Prom: promedio, SF: secas frías (febrero), SC: secas calientes (abril) y LL: lluvias (agosto)

4.5.4.4. Posibles fuentes

En el siguiente análisis se utilizarán los resultados de las dos secciones anteriores con el fin de sugerir las probables fuentes que explicarían la presencia de los oxi-HAP en las PM_{2.5} del AMCM, aunque la evidencia y la cantidad de datos desafortunadamente son insuficientes para una detallada interpretación y asignación de fuentes específicas de los oxi-HAP medidos. El estudio de su comportamiento en la atmósfera ha demostrado que estos compuestos son el producto de procesos fotoquímicos que involucran especies oxigenadas que reaccionan con sus precursores (HAP) pero a diferencia de los HAP su emisión se debe también a procesos de combustión de distintos materiales, diesel, gasolina y producción de carbón (Walgraeve *et al.* 2010). En el AMCM, aunque podría haber una combinación de ambos procesos y existir varias fuentes, se dificultará establecer el grado de contribución y el tipo de fuente que genera a cada oxi-HAP, a pesar de esto, se encontraron resultados que podrían ayudar a sugerir su probable origen. De esta manera, el análisis de la evidencia experimental mostró que hay importantes similitudes entre los oxi-HAP más abundantes, entre sitios, que indican posiblemente la existencia de fuentes comunes o procesos meteorológicos que afectan de forma parecida las concentraciones. Las concentraciones más altas en SAG y TLA, que son sectores con intensa actividad vehicular e industrial, indican que una probable fuente de emisión de los oxi-HAP más abundantes es el empleo de combustibles fósiles que es similar a lo que previamente se sugirió para *n*-alcanos y HAP y es consistente con la sugerencia de considerar a los oxi-HAP como marcadores de autos a diesel (Oda *et al.* 2001, Sienna *et al.* 2006), ya que se ha encontrado que el material particulado expulsado por los escapes de automóviles contiene mayores cantidades de oxi-HAP que el material particulado del aire ambiente (Schulze *et al.* 1984), y que concuerda con lo reportado por Allen *et al.* (1997), quienes encontraron que Benzantrona (que es el oxi-HAP más abundante en cada sitio y temporada en este estudio) tiene probablemente un origen común con los HAP que son también marcadores de emisiones vehiculares, ya que la distribución de su masa (bimodal) a través de distintos rangos de tamaño en partículas finas (< 2.5 µm) coincide con la de los HAP, a diferencia de otros oxi-HAP. También, Albinet *et al.* (2007), mediante un análisis por componentes principales (PCA), sugieren que benzantrona muy probablemente tiene un origen primario, ellos se basan en la fuerte correlación encontrada con óxidos de nitrógeno y señala que la

ausencia de correlación con 1-NP y la significativa correlación con B[ghi]+Coroneno/ Σ HAP supone un origen probable por el uso de gasolina en vehículos. Sin embargo esto difiere de lo encontrado por Feilberg *et al.* (2002) que demostró que vehículos impulsados con diesel son la fuente dominante de benzantrona en el centro de København, respecto a los otros tres oxi-HAP más abundantes encontrados en este estudio. Albinet *et al.* (2007) hallaron también que BTQ, potencialmente es emitido por diesel, ya que sus concentraciones correlacionan con 1-nitropireno, que es un marcador de este tipo de combustible. Mientras que para 9,10-AD proponen un posible doble origen que se confirmó a través de su fuerte correlación con ozono y marcadores de diesel (1-NP, 2-NFluoreno y 6-NCriseno). Sin embargo, este compuesto se ha reportado en partículas emitidas directamente de la quema del combustóleo (Rogge *et al.* 1997) y respecto a 9-FN, se ha sugerido también que sus concentraciones son más abundantes cuando se quema diesel (Choudhury 1982).

Un análisis de abundancia de los oxi-HAP respecto a sus potenciales precursores, se realizó con el fin de evaluar la importancia de la actividad fotoquímica en la formación de oxi-HAP. Así, la evolución de las medianas de las tasas de oxi-HAP respecto al HAP precursor se calcularon en cada temporada para 1,4-NQ, 1,2-BP, 9-FN, 9,10-AD, 2-MAD y B[a]A-7,12D (**Tabla 4.24**). De acuerdo con Walgraeve *et al.* (2010), el incremento significativo de los valores de estas tasas en la temporada con mayor radiación solar (secas calientes) podrían sugerir mayor contribución de oxi-HAP por procesos fotoquímicos. Los resultados mostraron que solamente 9-FN y BTQ presentan valores mayores en secas calientes que en secas frías pero sin diferencias significativas, lo que muy probablemente indica que la presencia de estos compuestos en las PM_{2.5} tengan un componente fotoquímico, es decir que su origen se deba a la reacción de sus precursores HAP con especies reactivas oxigenadas en la atmósfera y que concuerda con lo propuesto por Amador-Muñoz *et al.* (2011), quienes sugieren la presencia de compuestos orgánicos oxigenados en la MOE. Sin embargo, hay muy pocos datos para confirmar esos procesos de formación con este estudio.

Tabla 4.24. Medianas de la taza de oxi-HAP/HAP

Temporada	Estadísticos	1,4-NQ/Naf	1,2-BP/Naf	9-FN/Fluo	9,10-AD/Ant	2-MAD/Ant	7,12-B(a)A/B[a]A
Secas frías	<i>n</i>	8	8	8	8	8	8
	Mediana	0.67	0.17	5.05	5.10	2.64	0.63
	Percentil 10	0.89	0.33	7.90	8.30	3.64	0.75
	Percentil 90	0.25	0.00	4.54	4.43	1.68	0.47
	Promedio	0.60	0.18	5.66	6.01	2.59	0.60
Secas calientes	<i>n</i>	12	12	12	6	6	12
	Mediana	0.79	0.05	6.41	3.43	2.53	0.86
	Percentil 10	1.02	0.38	10.41	4.50	3.19	1.43
	Percentil 90	0.08	0.00	3.70	1.76	1.12	0.61
	Promedio	0.71	0.13	6.67	3.23	2.28	0.98
Lluvias	<i>n</i>	7	9	4	5	5	10
	Mediana	0.20	-	2.91	2.02	0.93	0.60
	Percentil 10	0.81	1.60	3.41	2.67	1.84	1.24
	Percentil 90	0.07	0.00	1.89	0.77	0.00	0.00
	Promedio	0.34	0.39	2.72	1.80	0.89	0.59

Naf: naftaleno, Fluo: fluoreno, Ant: antraceno, B[a]A: benzo[a]antraceno

5. CONCLUSIONES

- El método analítico optimizado, es válido para extraer la materia orgánica del polvo urbano NIST 1649a, mostró buena eficiencia para aislar la mayoría de los compuestos orgánicos seleccionados desde las $PM_{2.5}$ y facilitó la separación de los extractos orgánicos en tres distintas fracciones que disminuyeron la probabilidad de interferencias y favorecieron la identificación y cuantificación por cromatografía de gases y espectrometría de masas (CGEM) debido a su menor complejidad química.
- En particular el método optimizado muestra condiciones analíticas mejoradas que le otorgan mayores ventajas sobre aproximaciones previamente reportadas en la literatura y considera factores que no son frecuentemente evaluados y que se describen a continuación:

Debido a la falta de un material de referencia que certificara todos los componentes seleccionados en $PM_{2.5}$, tanto la optimización de las condiciones analíticas finales de extracción como las del fraccionamiento se basaron en muestras reales y no únicamente en estándares. Por lo tanto, el método brinda confiabilidad para la determinación de esos compuestos en una matriz atmosférica compleja como las partículas finas.

El empleo de ultrasonido, en vez del sistema de extracción de referencia Soxhlet, en si facilitó la obtención de los extractos en un tiempo razonablemente corto (1 h) respecto a las 24 horas que son requeridas convencionalmente. Además, disminuyó el consumo de disolvente, de los 200-300 mL que utiliza Soxhlet a los 40 mL del ultrasonido. Igualmente se comprobó que los recobros de los oxi-HAP y los HAP se incrementaron con la temperatura en el sistema de ultrasonido modificado, adaptando un refrigerante. Así mismo, se demostró que los recobros de las tres clases de compuestos seleccionados se incrementan cuando se disminuye la temperatura del baño en el evaporador rotatorio.

También, sustanciales mejoras se realizaron al fraccionamiento de los extractos orgánicos complejos por extracción en fase sólida. Se demostró que el método propuesto es útil para purificar extractos orgánicos de partículas finas colectadas diariamente y evita la necesidad de hacer acumulados con muestras de distintos días de colecta. Además, se encontró que recobra satisfactoriamente la mayoría de los oxi-HAP y los separa eficientemente de los *n*-alcanos y los HAP independientemente de la cantidad de materia orgánica extraída y de los analitos estudiados, disminuyendo los sesgos en la identificación.

La obtención de los componentes en fracciones con menor complejidad química disminuyó la probabilidad de interferencias y la posibilidad de falsas identificaciones y sobrestimaciones de los componentes químicos. Esto confiere mayor confiabilidad a las determinaciones y facilita la aplicación del método a muestras reales de PM_{2.5} donde hay una mezcla compleja de distintas clases de compuestos con diversas propiedades y concentraciones.

- El análisis de la variación por sitio de los contaminantes seleccionados en el Area Metropolitana de Ciudad de México durante 2008 mostró que hay probablemente una tasa similar de emisión en los distintos sitios. Sólo en el sitio San Agustín (NE), se encontró que hubo las mayores abundancias de la Σ *n*-alcanos < C₂₃ y de los HAP de menor peso molecular (HAP \leq 202 g mol⁻¹). El resultado indica contribución vehicular petrogénica por la quema de diesel y es consistente con la mayor circulación de camiones de carga en ese sector de la ciudad que se impulsan con este combustible.
- El análisis de la variación temporal mostró que la mayoría de los contaminantes estudiados, tanto las partículas como sus componentes, son removidos eficientemente del aire por la lluvia, mientras que sus concentraciones experimentaron un aumento significativo en la estación seca fría debido al

incremento de la humedad relativa y a condiciones ambientales que favorecen la menor dispersión y la acumulación de contaminantes (menor velocidad del viento y mayor frecuencia de inversiones térmicas), respectivamente. Únicamente la Σ *n*-alcanos < C₂₃ y la Σ *n*-alcanos C₂₃-C₂₆ tienen abundancias similares entre temporadas, este resultado se debe muy probablemente a las diferencias entre fuentes de emisión que se encontraron entre sitios.

- El reporte por primera vez de los oxi-HAP en las PM_{2.5} del AMCM confirma el significativo efecto de las emisiones antrópicas pues su presencia es atribuida también a la quema de combustibles fósiles. Sin embargo, sugiere que hay otros procesos que pueden estar contribuyendo a la formación de la componente orgánica de las partículas finas, ya que distintos autores han encontrado que parte de su masa se atribuye a la transformación fotoquímica de los HAP.

COMENTARIOS Y SUGERENCIAS

- Las condiciones analíticas optimizadas, a pesar de que tienen desventajas por los bajos recobros en el fraccionamiento, se obtuvieron mediante el método de adición patrón sobre la misma matriz de la muestra y consideran distintas masas de analito y cantidades de materia orgánica, siendo una aproximación más confiable que el empleo de sólo estándares.

- En próximos trabajos se sugiere:
 - Considerar el uso de materiales de referencia que certifiquen los n-alcanos, los oxi-HAP y los HAP para determinar el sesgo del método.
 - Acortar el tratamiento de muestra o automatizar el procedimiento con el propósito de incrementar la precisión.
 - Evaluar el uso sistemas cromatograficos con mayor resolución como alternativa para minimizar la incertidumbre en la identificación y cuantificación de los analitos.
 - Optar por métodos de análisis más sensibles para realizar determinaciones sobre muestras colectadas en periodos más cortos que faciliten la evaluación de la variabilidad diaria (diurna y nocturna) para seguir con mayor precisión la formación y abundancia de los contaminantes tóxicos.
 - Medir tamaños de partículas menores ($PM_{1.0}$) con el fin de precisar el rango de partículas en los que se acumulan e inferir con mayor precisión sobre sus efectos a la salud.
 - Estimar la contribución de oxi-HAP por emisiones directas (combustión) y por procesos de formación a partir de sus precursores.

7. BIBLIOGRAFIA

- Abas M.R.B. y Simoneit B.R.T. (1996). Composition of extractable organic matter of air particles from malaysia: initial study. *Atmospheric Environment* 30, 2779-2793.
- Abou Chakra O.R., Joyeux M., Nerrière E., Strub M. P. y Zmirou-Navier D. (2007). Genotoxicity of organic extracts of urban airborne particulate matter: An assessment with a personal exposure study. *Chemosphere* 66, 1375-1381.
- Albinet A., Garziandia E.L., Budzinski H. y Villenave E. (2007). Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs), nitrated PAHs and oxygenated PAHs in ambient air of the Marseilles area (South of France): concentrations and sources. *Science of the Total Environment* 384, 280-292.
- Albinet A., Leoz-Garziandia E., Budzinski H. y Villenave E. (2006). Simultaneous analysis of oxygenated and nitrated polycyclic aromatic hydrocarbons on standard reference material 1649^a (urban dust) and on natural ambient air samples by gas chromatography-mass spectrometry with negative ion Chemicals ionisation. *Journal of Chromatography A* 1121, 106-113. Doi:10.1016/j.chroma.2006.04.043.
- Allen J.O., Dookeran N.M., Smith K.A., Sarofim A.F. Taghizadeh K. y Lafleur A.L. (1996). Measurement of polycyclic aromatic hydrocarbons associated with size-segregated atmospheric aerosols in massachusetts. *Environment Science & Technology* 30, 1023-1031.
- Allen J.O., Dookeran N.M., Taghizadeh K., Lafleur A.L., Smith K.A y Sarofim A.F. (1997). Measurement of Oxygenated Polycyclic Aromatic Hydrocarbons Associated with a Size-segregated Urban Aerosol. *Environment Science & Technology* 31, 2064-2070.
- Allen J.O., Duran J.L., Dookeran N.M., Taghizadeh K., Plummer E.F., Lafleur A.L., Sarofim A.F. y Smith K.A. (1998). Measurement of C₂₄H₁₄ polycyclic aromatic hydrocarbons associated with size segregated urban aerosol. *Environment Science & Technology* 32, 1928-1932.
- Alves C., Pio C. y Duarte A. (2001). Composition of extractable organic matter of air particles from rural and urban Portuguese areas. *Atmospheric Environment* 35, 5485-5496.
- Alves, C.A. (2008). Characterisation of solvent extractable organic constituents in atmospheric particulate matter: an overview. *Anais da Academia Brasileira de Ciencias* 80, 21-82.
- Amador-Muñoz O., Villalobos-Pietrini R., Miranda J. y Vera-Avila L.E. (2011). Organic compounds of PM_{2.5} in Mexico Valley: spatial and temporal patterns, behavior and sources. *Science of the Total Environment* 409, 1453-1465.
- Andreou G. y Rapsomanikis S. (2009). Origins of n-alkanes, carbonyl compounds and molecular biomarkers in atmospheric fine and coarse particles of Athens, Greece. *Science of the Total Environment* 407, 5750-5760. Doi:10.1016/j.scitotem 2009.07.019.
- AOAC (Association of official analytical chemists). (1973). Official Method 963.15. Fat in Cacao Products. Soxhlet Extraction Method
- Arey J., Harger W.P., Helming D. y Atkinson R. (1992). Bioassay-directed fractionation of mutagenic PAH atmospheric photooxidation products and ambient particulate extracts. *Mutation Research* 281, 67-76.
- Arriaga-Colina J.L., West J.J., Sosa G., Escalona S.S., Ordúñez R.M. y Cervantes A.D.M. (2004). Measurements of VOCs in Mexico City (1992-2001) and evaluation of VOCs and CO in the emissions inventory. *Atmospheric Environment* 38, 2523-2533. Doi:10.1016/j.atmosenv.2004.01.033.
- Azevedo D., Silveira L. y Soares D. (1999). Composition of extractable organic matter in aerosols from urban areas of Rio de Janeiro city. *Atmospheric Environment* 33, 4987-5001.

- Bae M.S., Schwab J.J., Chen W.N., Lin C.Y., Rattigan O.V. y Demerjian K.L. (2011). Identifying pollutant source directions using multiple analysis methods at a rural location in New York. *Atmospheric Environment* 45, 2531-2540.
- Bélanger J.M.R. y Paré J.R.J. (2006). Applications of microwave-assisted processes (MAPTM) to environmental analysis. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 386, 1049-1028.
- Bem H., Gallorini M., Rizzio E. y Krzemińska M. (2003). Comparative studies on the concentrations of some elements in the urban air particulate matter in Lodz City of Poland and in Milan, Italy. *Environment International* 29, 423-428.
- Bi X., Simoneit B.R.T., Sheng, G. y Fu J. (2008). Characterization of molecular markers in smoke from residential coal combustion in China. *Fuel* 87, 112-119.
- Billet S., Garçon G., Dagher Z., Verdin A., Ledoux F., Cazier F., Courcot D., Aboukais A. y Shirali P. (2007). Ambient particulate matter (PM_{2.5}): Physicochemical characterization and metabolic activation of the organic fraction in human lung epithelial cells (A549). *Environmental Research* 105, 212-223.
- Boezen H.M., Van der Zee S.C., Postmam D.S., Vonk J.M., Gerritsen J.M., Hoek G., Brunekreef B., Rijken B. y Schouten J.P. (1999). Effects of ambient air pollution on upper and lower respiratory symptoms and peak expiratory flow in children. *The Lancet* 353, 874-878.
- Bolton J.L., Trush M.A., Penning T.M., Dryhurst G. y Monks T.J. (2000). Role of quinones in toxicology. *Chemical Research in Toxicology* 13, 135-160.
- Borrás E. y Tortajada-Genaro L.A. (2007). Characterisation of polycyclic aromatic hydrocarbons in atmospheric aerosols by gas chromatography-mass spectrometry. *Analytica Chimica Acta* 583, 266-276. Doi:10.1016/j.aca.2006.10.043.
- Bourotte C., Forti M.C., Taniguchi S., Caruso Bicego M. y Andrade Lotufo P. (2005). A wintertime study of PAHs in fine and coarse aerosols in São Paulo city, Brazil. *Atmospheric Environment* 39, 3799-381.
- Braga C.F., Teixeira E.C., Meira L., Wiegand F., Yoneama M.L. y Dias J.F. (2005) Elemental composition of PM₁₀ and PM_{2.5} in urban environment in South Brazil. *Atmospheric Environment* 39, 1801-1815.
- Casellas M., Fernández P., Bayona J.M. y Solanas A.M. (1995). Bioassay-directed chemical analysis of genotoxic components in urban airborne particulate matter from Barcelona (Spain). *Chemosphere* 30, 725-740.
- Castells P., Santos F.J. y Galceran M.T. (2003). Development of a sequential supercritical fluid extraction method for the analysis of nitrated and oxygenated derivatives of polycyclic aromatic hydrocarbons in urban aerosols *Journal of Chromatography A* 1010 141-151.
- Cheng Y., Li S.M., Leithhead A. y Brook J.R. (2006). Spatial and diurnal distributions of n-alkanes and n-alkan-2-ones on PM_{2.5} aerosols in the Lower Fraser Valley, Canada *Atmospheric Environment* 40, 2706-2720.
- Cheng, Y. y Li, S.M. (2004). Analysis method development of long chain ketones in PM_{2.5} aerosols using accelerated solvent extraction and GC/FID/MSD. *International Journal of Environmental Analytical Chemistry* 84, 367-378.
- Cheung H.C., Wang T., Baumann K. y Guo H. (2005) Influence of regional pollution outflow on the concentrations of fine particulate matter and visibility in the coastal area of southern China. *Atmospheric Environment* 39, 6463-6474.
- Chirico R., Spezzano P. y Cataldi D. (2007). Gas-particle partitioning of polycyclic aromatic hydrocarbons during the spring and summer in a suburban site near major traffic arteries. *Polycyclic Aromatic Hydrocarbons* 27, 401-423.

- Cho A.K., Di Stefano E., You Y., Rodriguez C.E., Schmintz D.A., Kumagai Y., Miguel A.H., Eiguren-Fernandez A., Kobayashi T., Avol E. y Froines J.R. (2004). Determination of four quinones in diesel exhaust particles, SRM1649a, and atmospheric PM_{2.5}. *Aerosol Science and Technology* 38, 68-81. doi: 10.1080/02786820390229471.
- Choudhury, D. R. (1982). Characterization of polycyclic ketones and quinones in diesel emission particulates by gas chromatography/mass spectrometry. *Environment Science and Technology* 16, 102-106.
- Chow J.C., Watson J.G., Edgerton S.A. y Vega E. (2002). Chemical composition of PM_{2.5} and PM₁₀ in Mexico City during winter 1997. *The Science of the Total Environment* 287, 177-201.
- Christensen A., Östman C. y Westerholm R. (2005). Ultrasound-assisted extraction and on-line LC-GC-MS for determination of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH) in urban dust and diesel particulate matter. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*. 381, 1206-1216. Doi: 10.1007/s00216-005-3065-z.
- Ciganek M., Neca J., Adamec V., Janosek J. y Machala M. (2004). A combined chemical and bioassay analysis of traffic-emitted polycyclic aromatic hydrocarbons. *Science of the Total Environment* 334–335, 141–148.
- Claxton L.D. y Woodall Jr. G.M. (2007). A review of the mutagenicity and rodent carcinogenicity of ambient air. *Mutation Research* 636, 36–94.
- Cuevas-Lomas J. E (2011). Especiación química de PM_{2.5} en la ZMG: Determinación de hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAP). Reporte técnico de proyecto de aplicación profesional (PAP). ITESO, 36 p.
- Cyrys J., Stölzel M., Heinrich J., Kreyling W.G., Menzel N., Wittmaack K., Tuch T. y Wichmann H.-E. (2003). Elemental composition and sources of fine and ultrafine ambient particles in Erfurt, Germany. *The Science of the Total Environment* 305, 143-156.
- Dagher Z., Garçon G., Billet S., Gosset P., Ledoux F., Courcot D., Aboukais A. y Pirouz S. (2006). Activation of different pathways of apoptosis by air pollution particulate matter (PM_{2.5}) in human epithelial lung cells (L132) in culture. *Toxicology* 225, 12-24. Doi:10.1016/j.tox.2006.04.038.
- De Kok T.M.C.M., Drieste H.A.L., Hogervorst J.G.F. y Briedé J.J. (2006). Toxicological assessment of ambient and traffic-related particulate matter: A review of recent studies. *Mutation Research* 613, 103-122. Doi:10.1016/j.mrrev.2006.07.001.
- De Kok T.M.C.M., Hogervorst J.G.F., Briedé J. J. y Van Herwijnen M.H., Maas L.M., Moonen E.J. y Kleinjanen J.C. (2005). Genotoxicity and physicochemical characteristics of traffic-related ambient particulate matter. *Environmental and Molecular Mutagenesis* 46, 71-80
- De Martinis B.S., Okamoto R.A., Kado N.Y., Gundel L.A. y Carvalho L.R.F. (2002). Polycyclic aromatic hydrocarbons in a bioassay-fractionated extract of PM₁₀ collected in São Paulo, Brazil. *Atmospheric Environment* 36, 307-314.
- Delhomme O., Miller M. y Herckes P. (2008). Determination of oxygenated polycyclic aromatic hydrocarbons in atmospheric aerosol samples by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Talanta* 74, 703-710. Doi:10.1016/j.talanta.2007.06.037.
- DeMarini D.M., Williams R.W., Brooks L.R. y Taylor M.S. (1992). Use of cyanopropyl-bonded HPLC column for bioassay-directed fractionation of organic extracts from incinerator emissions. *International Journal of Analytical Chemistry* 48, 187-199.
- Du Four V.A., Janssen C.R., Brits E. y Van Larebeke N. (2005). Genotoxic and mutagenic activity of environmental air samples from different rural, urban and industrial sites in Flanders, Belgium. *Mutation Research* 588, 106-117. Doi:10.1016/j.mrgentpx.2005.09.007.

- Duan F., He K. y Liu X. (2010). Characteristics and source identification of fine particulate n-alkanes in Beijing, China. *Journal of Environmental Sciences* 22, 998-1005.
- Durant J.L., Busby W.F., Lafleur A.L., Penman B.W. y Crespi C.L. (1996). Human cell mutagenicity of oxygenated, nitrated and unsubstituted polycyclic aromatic hydrocarbons associated with urban aerosols. *Mutation Research* 37, 123-157.
- Englert N. (2004). Fine particles and human health- a review of epidemiological studies. *Toxicology Letters* 149, 235-242.
- EPA (Environmental Protection Agency) (1999b). Compendium of Methods for the Determination of Inorganic Compounds in Ambient Air. Compendium Method IO-2.2, Calculations for Standard Volume. Center for Environmental Research Information. Office of Research and Development. U.S. Environmental Protection Agency. Cincinnati, OH 45268, Junio 1999. EPA/625/R-96/010a.
- EPA (Environmental Protection Agency) (2007a). Method 3562: ultrasonic extraction. 17 pp.
- EPA (Environmental Protection Agency) (2007b). Method 3550C: Supercritical fluid extraction of polychlorinated biphenyls (PCBs) and organochlorine pesticides. 15 pp.
- EPA (Environmental Protection Agency). (1986a). Carcinogen Classifications, National Center for Environmental Assessment, Office of Research and Development. Washington, EUA. EPA-600/R-93-089.
- EPA (Environmental Protection Agency). (1986a). Method 8310: Polynuclear aromatic hydrocarbons. 13 pp.
- EPA (Environmental Protection Agency). (1996b). Method 3540C: Soxhlet extraction. 8 pp.
- EPA (Environmental Protection Agency). (1996c). Method 3560: Supercritical fluid extraction of total recoverable petroleum hydrocarbons fraction. 8 pp
- EPA (Environmental Protection Agency). (1996d). Method 3561: Supercritical fluid extraction of polynuclear aromatic hydrocarbons fraction. 14 pp
- EPA (Environmental Protection Agency). (1999a). Compendium method TO-13A: Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in ambient air using gas chromatography/mass spectrometry (GC/MS). Segunda edición. Cincinnati, EUA. EPA/625/R-96/010b.
- Feilberg A., Ohura T., Nielsen T. y Amagai T. (2002). Occurrence and photostability of 3-nitrobenzanthrone associated with atmospheric particles. *Atmospheric Environment* 36, 3591-3600.
- Feng J., Hu M., Chan C.K., Lau P.S., Fang M., He L. y Tang X. (2006). A comparative study of the organic matter in PM_{2.5} from three Chinese megacities in three different climatic zones. *Atmospheric Environment* 40, 3983-3994.
- Fine P.M., Cass G.R. y Simoneit, B. R. (2001). Chemical Characterization of Fine Particle Emissions from Fireplace Combustion of Woods Grown in the Northeastern United States. *Environmental Science & Technology* 35, 2665-2675.
- Finlayson-Pitts B.J. y Pitts Jr J.N. (1997). Tropospheric air pollution: ozone, airborne toxics, polycyclic aromatic hydrocarbons, and particles. *Science* 276, 1045-1052.
- Finlayson-Pitts B.J. y Pitts Jr. J.N. (2000). *Chemistry of the Upper and Lower Atmosphere: Theory, Experiments, and Applications*. Academic Press. San Diego, EUA. 969 pp.
- Firoz Khan Md., Shirasuna Y., Hirano K. y Masunaga S. Characterization of PM_{2.5}, PM_{2.5-10} and PM_{>10} in ambient air, Yokohama, Japan. *Atmospheric Research* 96, 159-172.
- Fondelli M.C., Chellini E., Yli-Tuomi T., Cenni I., Gasparrini A., Nava S., Garcia-Orellana I., Lupi A., Grechi D., Mallone S. y Jantunen M. (2008). Fine particle in buses and taxis in Florence, Italy. *Atmospheric Environment* 42, 8185-8193.

- Forster P., Ramaswamy V., Artaxo P., Berntsen T., Betts R., Fahey D.W., Haywood J., Lean J., Lowe D.C., Myhre G., Nganga J., Prinn R., Raga G., Schulz M. y Van Dorland R. (2007). Changes in Atmospheric Constituents and in Radiative Forcing. In: *Climate Change 2007: The Physical Science Basis. Contribution of Working Group I to the Fourth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change* [Solomon, S., Qin D., Manning M., Chen Z., Marquis M., Averyt K.B., Tignor M. y Miller H.L. (eds.)]. Cambridge University Press, Cambridge, United Kingdom y New York, NY, USA.
- Fraser M. P., Buzcu B., Yue Z. W., McGaughey G. R., Desai N. R. y Allen D. T. (2003). Separation of fine particulate matter emitted from gasoline and diesel vehicles using chemical mass balancing techniques. *Environmental Science & Technology* 37, 3904-3909.
- Gilli G., Pignata C., Schilirò T., Bono R., La Rosa A. y Traversi D. (2007). The mutagenic hazards of environmental PM_{2.5} in Turin. *Environmental Research* 103, 168-175. Doi:10.1016/j.envres.2006.08.006.
- Goldstein A.H., Worton D.R., Williams B.J., Hering S.V., Kreisberg N.M., Panić O. y Górecki T. (2008). Thermal desorption aerosol comprehensive two-dimensional gas chromatographic resolution for in-situ measurements of organic aerosols. *Journal of Chromatography A* 1186, 340-347. Doi:10.1016/j.chroma.2007.09.094.
- Gullett B.K., Touati A. y Hays M.D. (2003). PCDD/F, PCB, HxCBz, PAH, and PM emission factors for fireplace and woodstove combustion in the San Francisco Bay region. *Environmental Science & Technology* 37, 1758-1765.
- Gundel L.A., Mahanama K.R.R. y Daisey J.M. (1993). Fractionation of polar organic extracts of airborne particulate matter using cyanopropyl-bonded silica in solid-phase extraction. *Journal of Chromatography* 629, 75-82.
- Guo H., Lee S.C., Ho K.F., Wang X.M. y Zou S.C. (2003). Particle-associated polycyclic aromatic hydrocarbons in urban air of Hong Kong. *Atmospheric Environment* 37, 5307-5317.
- Guo X., Huang X. y Jin Y. (2006). Effects of PM_{2.5} and PM₁₀ collected during the dust storm period on the phagocytic function and cytokine secretion of rat alveolar macrophages. *Abstracts/ Toxicology Letters* 164S, S1-S324.
- Guo Z., Lin T., Zhang G., Hu L. y Zheng M. (2009). Occurrence and sources of polycyclic aromatic hydrocarbons and *n*-alkanes in PM_{2.5} in the roadside environment of a major city in China. *Journal of Hazardous Materials* 170, 888-894. Doi:10.1016/j.jhazmat.2009.05.051.
- Guzmán-Torres D., Eiguren-Fernández A., Cicero-Fernández P., Maubert-Franco M, Retama-Hernández A., Ramos-Villegas R., et al. (2009). Effects of meteorology on diurnal and nocturnal levels of priority polycyclic aromatic hydrocarbons and elemental and organic carbon in PM₁₀ at a source and a receptor area in Mexico City. *Atmospheric Environment* 43, 2693-2699.
- Han I., Ramos-Bonilla J.P., Rule A.M., Mihalic J.N., Polyak L.M., Breyse P.N. y Geyh A.S. (2010). Comparison of spatial and temporal variations in p-PAH, BC, and p-PAH/BC ratio in six US counties. *Atmospheric Environment* artículo en prensa, 1 - 9. Doi:10.1016/j.atmosenv.2010.10.042
- Han Y.J., Kim T.S. y Kim H. (2008). Ionic constituents and source analysis of PM_{2.5} in three Korean cities. *Atmospheric Environment* 42, 4735-4746. Doi:10.1016/j.atmosenv.2008.01.047
- Hannigan M.P., Cass G.R., Penman B.W., Crespi C.L., Lafleur A.L., Busby Jr. W.F., Thilly W.G. y Simoneit B.R.T. (1998). Bioassay-directed chemical analysis of los angeles airborne

- particulate matter using a human cell mutagenicity assay. *Environmental Science & Technology*. 32, 3502-3514.
- Harvey D. (2000). *Modern Analytical Chemistry*. Mc Graw Hill. New York, EUA. 816 pp.
- Hays M.D., Smith N.D., Kinsey J., Dong Y. y Kariher P. (2003). Polycyclic aromatic hydrocarbon size distributions in aerosols from appliances of residential wood combustion as determined by direct thermal desorption–GC/MS. *Aerosol Science* 34, 1061-1084. Doi: 10.1016/s0021-8502(03)00080-6.
- Henry T.R. y Wallace K.B. (1996). Differential Mechanisms of Cell Killing by Redox Cycling and Arylating Quinones. *Archives of Toxicology* 70, 482–489.
- Hien T.T., Thanh L.T., Kameda T., Takenaka N. y Bandowa H. (2007). Distribution characteristics of polycyclic aromatic hydrocarbons with particle size in urban aerosols at the roadside in Ho Chi Minh City, Vietnam. *Atmospheric Environment* 41, 1575–1586. Doi:10.1016/j.atmosenv.2006.10.045
- Hochstetler H.A., Yermakov M., Reponen T., Ryan P.H. y Grinshpun S.A. (2011). Aerosol particles generated by diesel-powered school buses at urban schools as a source of children’s exposure. *Atmospheric Environment* 45, 1444 - 1453. Doi:10.1016/j.atmosenv.2010.12.018.
- Hori M. (2003). Role of organic aerosols in the activation of cloud condensation nuclei. *Journal Aerosol Research* 18, 257-265.
- Hou X., Zhuang G., Sun Y. y An Z. (2006). Characteristics and sources of polycyclic aromatic hydrocarbons and fatty acids in PM_{2.5} aerosols in dust season in China. *Atmospheric Environment* 40, 3251–3262.
- Husain L., Dutkiewicz V.A., Khan A.J. y Ghauri B.M. (2007). Characterization of carbonaceous aerosols in urban air. *Atmospheric Environment* 41, 6872–6883. Doi:10.1016/j.atmosenv.2007.04.037.
- IARC (International Agency for Research on Cancer). (1987). Monographs on the evaluation of the carcinogenic risk of Chemicals to humans: an updating of IARC monographs. World Health Organization. Lyon, Francia. Vol. 1 a 42, suplemento 7, 252-254.
- INEGI (Instituto Nacional de Estadística y Geografía) (2010). Censo de población y vivienda 2010, resultados definitivos, tabulados básicos.
- Jacobson M.Z (2002). *Atmospheric pollution. History, science and regulation*. Cambridge University Press. Cambridge, United Kingdom. 377 pp.
- Jakober C.A., Riddle S.G., Robert M.A., Destailats H., Charles M.J., Green P.G. y Kleeman M.J. (2007). Quinone emissions from gasoline and diesel motor vehicles. *Environmental Science & Technology* 41, 4548-4554.
- Janssen N.A.H., Brunekreef B., Vliet P., Arts F., Meliefste K., Harssema H. y Fischer P. (2003). The Relationship between air pollution from heavy traffic and allergic sensitization, bronchial hyperresponsiveness, and respiratory symptoms in Dutch schoolchildren. *Environmental Health Perspectives* 111, 1512-1518.
- Jáuregui, O.E. (2000). *El clima de la Ciudad de México*. UNAM. Plaza y Valdés, México.
- Jinhui X. y Lee F.S., (2001). Analysis of nitrated polynuclear aromatic hydrocarbons. *Chemosphere* 42, 245-250.
- Kallio M., Hyotylainen T., Lehtonen M., Jussila M., Hartonen K., Shimmo M. y Riekkola M-L. (2003). Comprehensive two-dimensional gas chromatography in the analysis of urban aerosols. *Journal of Chromatography A* 1019, 251-260. Doi:10.1016/S0021-9673(03)01238-X.

- Kampa M. y Castanas E. (2008) Human health effects of air pollution. *Environmental Pollution* 151, 362-367. Doi:10.1016/j.envpol.2007.06.012
- Kappos A.D., Bruckmann P., Erikmann T., Englert N., Heinrich U., Höpfe P., Koch E., Krause G.H.M., Kreyling W.G., Rauchfuss K., Rombout P., Schulz-Klemp V., Thiel W.R. y Wichman H.E. (2004). Health effects of particles in ambient air. *International Journal Hygiene and Environmental Health* 207, 399-407.
- Karanasiou A.A., Sitaras I.E., Siskos P.A. y Eleftheriadis K. (2007). Size distribution and sources of trace metals and n-alkanes in the Athens urban aerosol during summer. *Atmospheric Environment* 41, 2368–2381. Doi:10.1016/j.atmosenv.2006.11.006
- Karnaes S. y Jhon K. (2011). Source apportionment of fine particulate matter measured in an industrialized coastal urban area of South Texas. *Atmospheric Environment* 45, 3769-3776. Doi:10.1016/j.atmosenv.2011.04.040
- Kavouras I.G., Lawrence J., Koutrakis P., Stephanou E.G. y Oyola P. (1999). Measurement of particulate aliphatic and polynuclear aromatic hydrocarbons in Santiago de Chile: source reconciliation and evaluation of sampling artifacts. *Atmospheric Environment* 33, 4977-4986.
- Kavouras, I.G., Koutrakis, P., Tsapakis, E., Lagoudaki, E., Stephanou, E.G., von Baer, D. y Oyola, P. 2001. Source apportionment of urban particulate aliphatic and polynuclear aromatic hydrocarbons (PAHS) using multivariate methods. *Environmental Science and Technology* 35, 2288–2294.
- Kawanaka Y., Matsumoto E., Sakamoto K., Wang N. y Yun S.J. (2004). Size distributions of mutagenic compounds and mutagenicity in atmospheric particulate matter collected with a low-pressure cascade impactor. *Atmospheric Environment* 38, 2125-2132. Doi:10.1016/j.atmosenv.2004.01.021.
- Kikuno S., Taguchi K., Iwamoto N., Yamano S., Cho A.K., Froines J.R. y Kumagai Y. (2005). 1,2-Naphthoquinone activates vanilloid receptor 1 through increased protein tyrosine phosphorylation, leading to contraction of guinea pig trachea. *Toxicology and Applied Pharmacology* 210, 47-54. Doi:10.1016/j.taap.2005.06.015.
- Kim H.S., Huh J.B., Hopke P.K., Holsen T.M. y Yi S.M. (2007). Characteristics of the major chemical constituents of PM_{2.5} and smog events in Seoul, Korea in 2003 and 2004. *Atmospheric Environment* 41, 6762–6770. Doi:10.1016/j.atmosenv.2007.04.060.
- Kim Y.J., Kima M.J., Lee K.H. y Park S.S. (2006). Investigation of carbon pollution episodes using semi-continuous instrument in Incheon, Korea. *Atmospheric Environment* 40, 4064–4075. Doi:10.1016/j.atmosenv.2006.03.028.
- Kirso U., Urb G., Laja M., Teinmaa E., Reinik J., Gebefügi I. y Kettrup A. (2006). PAH airborne particulate matter. *Polycyclic Aromatic Compounds* 26, 111-119. Doi:10.1080/10406630600642337.
- König J., Balfanz E., Funcke W. y Romanowski T. (1983). Determination of oxygenated polycyclic aromatic hydrocarbons in airborne particulate matter by capillary gas chromatography and gas chromatography/mass spectrometry. *Analytical Chemistry* 55, 599-603.
- Kristensson A., Johanson C., Westerholm R., Swietlicki E., Gidhagen L., Wideqvist U. y Vesely V. (2004). Real-world traffic emission factors of gases and particles measured in a road tunnel in Stockholm, Sweden. *Atmospheric Environment* 38, 657-673.
- Kubatova A., Vermeylen R., Claeys M., Cafmeyer J. y Maenhaut W. (2002). Organic compounds in urban aerosols from Ghent, Belgium: characterization, sources and seasonal differences. *Journal of Geophysical Research-Atmospheres* 107, 8343-8355. Doi:10.1029/2001JD000556

- Kume K., Ohura T., Noda T., Amagaia T. y Fusaya M. (2007). Seasonal and spatial trends of suspended-particle associated polycyclic aromatic hydrocarbons in urban Shizuoka, Japan. *Journal of Hazardous Materials* 144, 513–521. Doi:10.1016/j.jhazmat.2006.10.079.
- Lafleur A.L., Braun A.G., Monchamp P.A. y Plummer E.F. (1986). Preserving toxicologic activity during chromatographic fractionation of bioactive complex mixtures, *Analytical Chemistry* 58, 568–572.
- Lee J.T., Son J.Y. y Cho Y.S. (2007). The adverse effects of fine particle air pollution on respiratory function in the elderly. *Science of the Total Environment* 385, 28-36.
- Leotz-Gartziandia E., Tatry V. y Carlier P. (2000). Sampling and Analysis of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAH) and Oxygenated PAH in diesel exhaust and ambient air. *Polycyclic Aromatic Compounds* 20, 245-258. Doi:10.1080/10406630008034789.
- Levy J.I., Hammit J.K. y Spengler J.D. (2000). Estimating the mortality impacts of particulate matter: what can be learned from between study variability?. *Environmental Health Perspectives* 108, 109–117.
- Li W., Peng Y. y Bai Z. (2010). Distributions and sources of *n*-alkanes in PM_{2.5} at urban, industrial and coastal sites in Tianjin, China. *Journal of Environmental Sciences* 22, 1551–1557. Doi: 10.1016/S1001-0742(09)60288-6.
- Li Z., Porter E. N., Sjödin A., Needham L.L., Lee S., Russell A.G. y Mulholland J.A. (2009). Characterization of PM_{2.5}-bound polycyclic aromatic hydrocarbons in Atlantad Seasonal variations at urban, suburban, and rural ambient air monitoring sites. *Atmospheric Environment* 43, 4187–4193. Doi:10.1016/j.atmosenv.2009.05.031.
- Lintelmann J., Fischer K. y Matuschek G. (2006). Determination of oxygenated polycyclic aromatic hydrocarbons in particulate matter using high-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography A* 1133, 241-247. Doi:10.1016/j.chroma.2006.08.038.
- Lonati G., Giugliano M. y Ozgen S. (2008). Primary and secondary components of PM_{2.5} in Milan (Italy). *Environment International* 34, 665–670.
- Lundstedt S., White P.A., Lemieux C.L., Lynes K.D., Lambert L.B., Öberg L., Haglund P. y Tysklind M. (2007). Sources, fate, and toxic hazards of oxygenated polycyclic Aromatic hydrocarbons (PAHs) at PAH-contaminated sites. *Ambio* 36, 475-485.
- Mahmoud K.F., Alfaro S.C., Favez O., Abdel Wahab M.M. y Sciare J. (2008). Origin of black carbon concentration peaks in Cairo (Egypt). *Atmospheric Research* 89, 161–169. Doi:10.1016/j.atmosres.2008.01.004.
- Manoli E., Kouras A. y Samara C. (2004). Profile analysis of ambient and source emitted particle-bound polycyclic aromatic hydrocarbons from three sites in northern Greece. *Chemosphere* 56, 867–878. Doi:10.1016/j.chemosphere.2004.03.013
- Mantis J., Chaloulakou A. y Samara C. (2005). PM₁₀-bound polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in the Greater Area of Athens, Greece. *Chemosphere* 59, 593–604. Doi:10.1016/j.chemosphere.2004.10.019.
- Marriott P. y Shellie R. (2002). Principles and applications of comprehensive two-dimensional gas chromatography. *Trends in Analytical Chemistry* 9+10, 573-583.
- Marvin C.H. y Hewitt L.M. (2007). Analytical methods in bioassay-directed investigations of air particulate material. *Mutation Research* 636, 4-35. Doi 10.1016/j.mrrev.2006.05.001.
- Marvin C.H., Allan L. y McCarry B.E. (1992). A comparison of ultrasonic extraction and Soxhlet extraction of polycyclic aromatic hydrocarbons from sediments and air particulate material. *International Journal of Environmental Analytical Chemistry* 49, 221-230.

- Masclet P., Mouvier G., Nikolaou K., (1996). Relative decay index and sources of polycyclic aromatic hydrocarbons. *Atmospheric Environment* 20, 439–446.
- McDonald J. D., Eide I., Seagrave J., Zielinska B., Whitney K., Lawson D. R. y Mauderly J. L. (2004). Relationship between composition and toxicity of motor vehicle emission samples. *Environmental Health Perspective* 112, 1527–1538.
- McKenzie C.H. L., Ayoko G.A. y Morawska L. (2005). Characterization of elemental and polycyclic aromatic hydrocarbon compositions of urban air in Brisbane. *Atmospheric Environment* 39, 463–476. Doi:10.1016/j.atmosenv.2004.09.050.
- McNair H. M. y Miller J.M. (1998). *Basic gas chromatography: techniques in analytical chemistry*. John Wiley & Sons. New York, EUA. 104 pp.
- Medina-Valtierra M. (2010). Diseño y estandarización de un método analítico para la determinación de disruptores endocrinos en partículas suspendidas $\leq 2.5 \mu\text{m}$. Universidad Nacional Autónoma de México. 95 p.
- Mendoza A. y García M.R. (2009). Aplicación de un modelo de calidad del aire de segunda generación a la Zona Metropolitana de Guadalajara, México. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental* 25, 73-85.
- Meng Z. y Zhang Q. (2007). Damage effects of dust storm $\text{PM}_{2.5}$ on DNA in alveolar macrophages and lung cells of rats. *Food and Chemical Toxicology* 45, 1368-1374.
- Miguel A.H., Kirchstetter T.W., Harley R.A. y Hering S.V. (1998). On-road emissions of particulate polycyclic aromatic hydrocarbons and black carbon from gasoline and diesel vehicles. *Environment Science & Technology* 32, 450–455.
- Miller J.N. y Miller J.C. (2002). *Estadística y Quimiometría para Química Analítica*. Cuarta Edición. Pearson, Prentice Hall, Impreso en España, 278 p.
- Miranda J., Cahill T.A. y Morales R. (1994). Determination of elemental concentrations in atmospheric aerosols in Mexico City using proton induced x-ray emission, proton elastic scattering, and laser absorption. *Atmospheric Environment* 28, 2299-2306.
- Mitra S. (2003). Sample preparation techniques in analytical chemistry. En: *Chemical Analysis: a series of monographs on analytical chemistry and its applications* (J.D. Winefordner, Ed). Wiley-Interscience A John Wiley & Sons. New Jersey, EUA. Volume 62. 458 pp.
- Molina M. y Molina L. (2002). *Air quality in the Mexico megacity. An integrated assessment*. Kluwer Academic Publishers. Dordrecht, Londres.
- Morville S., Scheyer A., Mirabel P. y Millet M. (2004). Sampling and analysis of polycyclic aromatic hydrocarbons in urban and rural atmospheres: Spatial and geographical variations of concentrations. *Polycyclic Aromatic Compounds* 24, 617-634.
- Mouli P.C., Venkata S., Balaram V., Kumar M.P. y Jayarama S. (2006). A study on trace elemental composition of atmospheric aerosols at semi-arid urban site using ICP-MS technique. *Atmospheric Environment* 40, 136-146.
- Moya M., Grutter M. y Baéz A. (2004). Diurnal variability of size-differentiated inorganic aerosols and their gas-phase precursors during January and February of 2003 near downtown Mexico City. *Atmospheric Environment* 38, 5651–5661. Doi:10.1016/j.atmosenv.2004.05.045.
- Moyano E. y Galceran M.T. (1997). Determination of oxy-, nitro- and hidroxi- polycyclic aromatic hydrocarbons in atmospheric aerosol samples. *Química Analítica* 16, 159-164.
- Mugica V., Hernández S., Torres M. y García R. (2010). Seasonal variation of polycyclic aromatic hydrocarbons exposure levels in Mexico City. *Journal Air & Waste Management Association* 60, 548-555. Doi 10.3155/1047-3289.60.5.548.

- Mugica V., Maubert M., Torres M., Muñoz J. y Rico E. (2002). Temporal and spatial variations of metal content in TSP and PM₁₀ in Mexico City during 1996-1998. *Aerosol Science* 33, 91-102.
- Mugica V., Ortiz E., Molina L., De Vizcaya-Ruiz A., Nebot A., Quintana R., Aguilar J. y Alcánta E. (2009). PM composition and source reconciliation in Mexico City. *Atmospheric Environment* 43, 5068-5074.
- NOM-025-SSA1-1993. Norma Oficial Mexicana. Criterios para evaluar la calidad del aire ambiente, con respecto a material particulado. Valor de concentración máxima de material particulado para partículas suspendidas totales PST, partículas menores de 10 micrómetros PM₁₀ y partículas menores de 2.5 micrómetros PM_{2.5} en el aire ambiente como medida de protección a la salud. Secretaría de Salud. Diario Oficial de la Federación. D.O.F. 26 de septiembre de 2005.
- Oda J., Nomura S., Yasuhara A. y Shibamoto T. (2001). Mobile sources of atmospheric polycyclic aromatic hydrocarbons in a roadway tunnel. *Atmospheric Environment* 35, 4819-4827.
- Pankow J.F., Luo W., Isabelle L.M., Bender D.A y Baker R.J., (1998). Determination of wide range of volatile organic compounds in ambient air using multisorbent adsorption/thermal desorption and gas chromatography/mass spectrometry. *Analytical Chemistry* 70, 5213-5221.
- Park S.S., Bae M.S., Schuer J.J., Kim Y.J., Cho S.Y. y Kim S. J. (2006). Molecular composition of PM_{2.5} organic aerosol measured at an urban site of Korea during the ACE-Asia campaign. *Atmospheric Environment* 40, 4182-4198. Doi:10.1016/j.atmosenv.2006.02.012
- Pedersen D.U., Durant J.L., Penman B.W., Crespi C.L., Hemond H.F. y Lafleur A.L. (2004). Human-cell mutagens in respirable airborne particles in the northeastern United States. 1. Mutagenicity of fractionated samples. *Environmental Science & Technology* 38, 682-689.
- Peters A. (2005). Review: Particulate matter and heart disease: Evidence from epidemiological studies. *Toxicology and Applied Pharmacology* 207, S477-S482.
- Phouongphouang P.T. y Arey J. (2003). Sources of the atmospheric contaminants, 2-nitrobenzanthrone and 3-nitrobenzanthrone. *Atmospheric Environment* 37, 3189-3199.
- Pindado O., Pérez R. Ma., García S., Sánchez M., Galán P. y Fernández M. (2009). Characterization and sources assignment of PM_{2.5} organic aerosol in a rural area of Spain. *Atmospheric Environment* 43, 2796-2803. Doi:10.1016/j.atmosenv.2009.02.046
- Piñeiro-Iglesias M., Grueiro-Noche G., López-Mahía P., Muniategui-Lorenzo L. y Prada-Rodríguez D. (2004). Assessment of methodologies for airborne BaP análisis. *Science of the Total Environment* 334 – 335, 377 – 384. Doi:10.1016/j.scitotenv.2004.04.041.
- Piñeiro-Iglesias M., Miñones-Vázquez E., Vázquez-Blanco E., Muniategui-Lorenzo S., López-Mahía P. y Prada-Rodríguez D. (2002). Concentration and clean-up of trace hydrocarbons from atmospheric particulate matter. *Chromatographia* 56, 483-488.
- Pohjola S.K., Lappi M., Honkanen M., Rantanen L. y Savela K. (2003). DNA binding of polycyclic aromatic hydrocarbons in a human bronchial epithelial cell line treated with diesel and gasoline particulate extracts and benzo[a]pyrene, *Mutagenesis* 18, 429-438.
- Poole C.F., Gunatilleka A.T. y Sethuraman R. (2000). Contributions of theory to method development in solid-phase extraction. *Journal of Chromatography A* 885, 17-39.
- Pope III C.A., Burnett R.T., Thun M.J., Calle E.E., Krewski D., Ito K. y Thurston G.D. (2002). Lung cancer, cardiopulmonary mortality, and long-term exposure to fine particulate air pollution. *American Medical Association* 287, 1132-1141.

- Prahalad A.K., Soukup J.M., Inmon J., Willis R., Ghio A. J., Becker S. y Gallaghe J.E. (1999). Ambient air particles: effects on cellular oxidant radical generation in relation to particulate elemental chemistry. *Toxicology and Applied Pharmacology*. 158, 81–91.
- PROAIRE (Programa para mejorar la calidad del aire de la ZMVM 2002-2010). (2010). Capítulo 5, Secretaría del Medio ambiente del Distrito Federal, http://www.sma.df.gob.mx/sma/links/download/archivos/proaire_2002-2010.pdf.
- Rajput N. y Lakhani A. (2010). Measurements of polycyclic aromatic hydrocarbons in an urban atmosphere of Agra, India. *Atmósfera* 23, 165-183.
- Reiss R., Anderson E.L., Cross C.E., Hidy G., Hoel D., McClellan R. y Moolgavkar S. (2007). Evidence of health impacts of sulfate- and nitrate-containing particles in ambient air. *Inhalation Toxicology* 19, 419-449.
- Ré-Poppi N. y Santiago-Silva M. (2005). Polycyclic aromatic hydrocarbons and other selected organic compounds in ambient air of Campo Grande City, Brazil. *Atmospheric Environment* 39, 2839-2850.
- Ré-Poppi N. y Santiago-Silva M. R. (2002). Identification of polycyclic aromatic hydrocarbons and methoxylated phenols in wood smoke emitted during production of charcoal. *Chromatographia* 55, 475-481.
- Reyes-Rodríguez G.J., Gioda A., Mayol-Bracero O.L. y Collett Jr. J. (2009). Organic carbon, total nitrogen, and water-soluble ions in clouds from a tropical montane cloud forest in Puerto Rico. *Atmospheric Environment* 43, 4171–4177.
- Rinehart L.R., Fujita E.M., Chow J.C., Magliano K. y Zielinska B. (2006). Spatial distribution of PM_{2.5} associated organic compounds in central California. *Atmospheric Environment* 40, 290–303. Doi:10.1016/j.atmosenv.2005.09.035.
- Riveros-Rosas H., Pfeifer G.D., Lynam D.R., Pedroza J.L., Julián-Sánchez A., Canales O. y Garfías J. (1997). Personal exposure to elements in Mexico City. *The Science of the Total Environment* 198, 79-96.
- Rogge W.F., Mazurek M.A., Hildemann L.M., Cass G.R. y Simoneit B.R.T. (1993). Quantification of urban organic aerosols at a molecular level: Identification, abundance and seasonal variation. *Atmospheric Environment* 27, 1309-1330.
- Rogge, W.F., Hildemann, L.M., Mazurek, M.A., Cass, G.R. y Simoneit, B.R.T. (1997). Sources of Fine Organic Aerosol .8. Boilers Burning No. 2 Distillate Fuel Oil. *Environment Science & Technology* 31, 2731–2737.
- Rosenfeld D. (2000). Suppression of rain and snow by urban and industrial air pollution. *Science* 287, 1793-1796. Doi: 10.1126/science.287.5459.1793.
- Rosenfeld D., Lohmann U., Raga G.B., O'Dowd C.D., Kulmala M., Fuzzi S., Reissell A. y Andreae M.O. (2008). Flood or Drought: How Do Aerosols Affect Precipitation?. *Science* 321, 1309-1313.
- Safai P.D., Kewat S., Praveen P.S., Rao P.S.P., Momin G.A, Ali K. y Devara P.C.S. (2007). Seasonal variation of black carbon aerosols over a tropical urban city of Pune, India. *Atmospheric Environment* 41, 2699–2709. Doi:10.1016/j.atmosenv.2006.11.044.
- Salcedo D., Onasch T.B., Dzepina K., Canagaratna M.R., Zhang Q., Huffman J.A., DeCarlo P.F., Jayne J.T., Mortimer P., Worsnop D.R., Kolb C.E., Johnson K.S., Zuberi B., Marr L.C., Volkamer R., Molina L.T., Molina M.J., Cardenas B., Bernabé R., Márquez C., Gaffney J.S., Marley N.A., Laskin A., Shutthanandan V., Xi Y., Brune W., Leshner R., Shirley T. y Jimenez J.L. (2006). Characterization of ambient aerosols in Mexico City during the MCMA-2003 campaign with Aerosol Mass Spectrometry: results from the CENICA Supersite. *Atmospheric Chemistry and Physics* 6, 925–946.

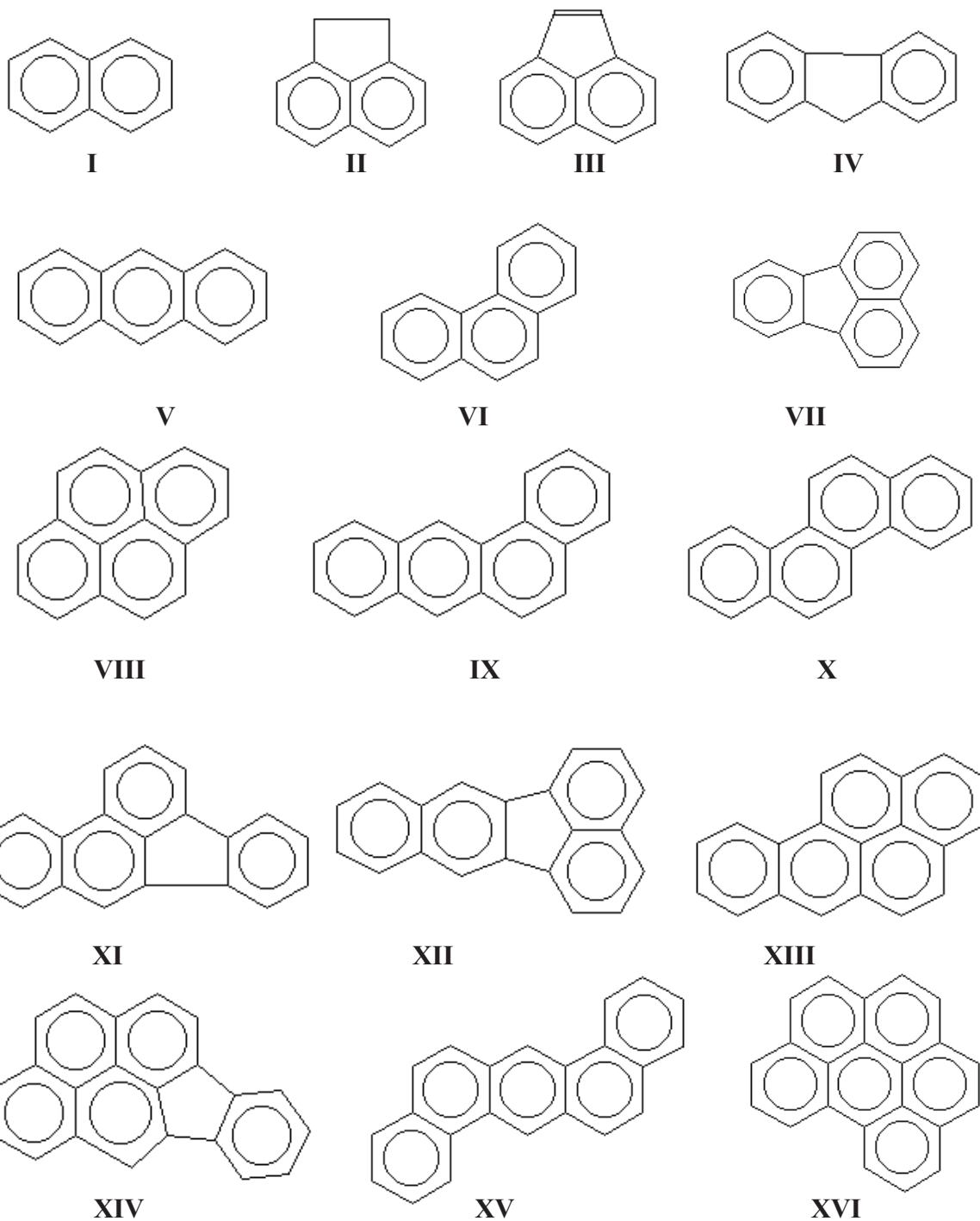
- Saldarriaga H., Villalobos R., Solano G., Amador O., Gaspariano R., Palma R. y Munive Z. (2008). Aliphatic, polycyclic aromatic hydrocarbons and nitrated-polycyclic aromatic hydrocarbons in PM₁₀ in southwestern Mexico City. *Polycyclic Aromatic Compounds* 28, 578–597.
- Saxena P., Hildemann L.M., McMurry P.H. y Seinfeld J.H. (1995). Organics alter hygroscopy behavior of atmospheric particles. *Journal of Geophysical Research* 100, 18755-18770.
- Schlemitz S., Pfannhauser W. y Lebensm Z. (1996). Monitoring of nitropolycyclic aromatic hydrocarbons in food using gas chromatography. *Unters Forsch A* 203, 61-64.
- Schnelle-Kreis J., Gebefügi I., Welzl G., Jaensch T. y Kettrup A. (2001). Occurrence of particle-associated polycyclic aromatic compounds in ambient air of the city of Munich. *Atmospheric Environment* 35, S71-S81.
- Schnelle-Kreis J., Sklorz M., Peters A., Cyrus J. y Zimmermann R. (2005b). Analysis of particle-associated semi-volatile aromatic and aliphatic hydrocarbons in urban particulate matter on a daily basis. *Atmospheric Environment* 39, 7702-7714. Doi:10.1016/j.atmosenv.2005.04.001.
- Schnelle-Kreis J., Welthagen W., Sklorz M. y Zimmermann R. (2005a). Application of direct thermal desorption gas chromatography and comprehensive two-dimensional gas chromatography coupled to time of flight mass spectrometry for analysis of organic compounds in ambient aerosol particles. *Journal of Separation Science* 28, 1648-1657. Doi 10.1002/jssc.200500120.
- Schuetzle D. y Lewtas J. (1986). Bioassay-directed chemical analysis in environmental research. *Analytical Chemistry* 58, 1060A-1075A.
- Schulze, J., Hartung, A., Kiess, H., Kraft, J. y Lies, K.H. (1984). Identification of Oxygenated Polycyclic Aromatic-Hydrocarbons in Diesel Particulate Matter by Capillary Gas-Chromatography and Capillary Gas-Chromatography Mass-Spectrometry. *Chromatographia* 19, 391-397.
- Sciherer-Roetman A.A., Ramlal M., Voogd C.E. y Bloemen H.J.Th. (1988). The fractionation of extracts of ambient particulate matter for mutagenicity testing, *Atmospheric Environment* 22 2803–2808.
- Seinfeld J.H. y Pandis S.N. (2006). *Atmospheric chemistry and physics: from air pollution to climate change*. Segunda Edición. John Wiley & Sons. New York, EUA. 1326 pp.
- Shi Y., Murr L.E., Soto K.F., Lee W.Y., Guerrero P.A. y Ramírez D.A. (2007). Characterization and comparison of speciated atmospheric carbonaceous particulates and their polycyclic aromatic hydrocarbon contents in the context of the paso del norte airshed along the U.S.-Mexico border. *Polycyclic Aromatic Compounds* 27, 361–400.
- Shimmo M., Adler H., Hyötyläinen T., Hartonen K., Kulmala M. y Riekkola M-L. (2002). Analysis of particulate polycyclic aromatic hydrocarbons by on-line coupled supercritical fluid extraction-liquid chromatography-gas chromatography-mass spectrometry. *Atmospheric Environment* 36, 2985-2995.
- Sidhu S., Gullett B., Striebich R., Klosterman J., Contreras J. y DeVito M. (2005). Endocrine disrupting chemical emissions from combustion sources: diesel particulate emissions and domestic waste open burn emissions. *Atmospheric Environment*. 39, 801-811.
- Sienra M del R. (2006). Oxygenated polycyclic aromatic hydrocarbons in urban air particulate matter. *Atmospheric Environment* 40, 2374-2384. Doi:10.1016/j.atmosenv.2005.12009.
- Sienra M del R., Préndez M. y Romero R. (2002). Metodología para la extracción, fraccionamiento y cuantificación de hidrocarburos aromáticos policíclicos presentes en material particulado urbano. *Boletín de la Sociedad Chilena de Química* 47, 1-17.

- Sienra M del R., Rosazza N.G. y Préndez M. (2005). Polycyclic aromatic hydrocarbons and their molecular diagnostic ratios in urban atmospheric respirable particulate matter. *Atmospheric Research* 75, 267-281. Doi:10.1016/j.atmosres.2005.01.003.
- Simoneit B.R.T. (1984). Organic matter of the troposphere-III characterization and sources of petroleum and pyrogenic residues in aerosols over the western united states. *Atmospheric Environment* 18, 51-67.
- Simoneit B.R.T. (1986). Characterization of organic constituents in aerosols in relation to their origin and transport: a review. *International Journal of Environmental Analytical Chemistry* 23, 207-237.
- Simoneit B.R.T. y Mazurek M. (1982). Organic matter of the troposphere-II natural background of biogenic lipid matter in aerosols over the rural western United States. *Atmospheric Environment* 16, 2139-2159.
- Simoneit B.R.T., Bi X.H., Oros D.R., Medeiros P.M., Sheng G.Y. y Fu J. M. (2007). Phenols and hydroxy-PAHs (arylphenols) as tracers for coal smoke particulate matter: source tests and ambient aerosol assessments. *Environmental Science & Technology* 41, 7294-7302.
- SMA (Secretaría del Medio Ambiente) (2008a). Sistema de Monitoreo Atmosférico de la Ciudad de México, Red Manual de Monitoreo Atmosférico. [En línea]. <http://www.sma.df.gob.mx/simat2/informaciontecnica/index.php?opcion5&opciondifusiobd=10>
- SMA (Secretaría del Medio Ambiente). (2004). Informe climatológico Ambiental del Valle de México 2004. Gobierno del Distrito Federal, México. 143 pp.
- SMA (Secretaría del Medio Ambiente). (2006). Informe climatológico ambiental del Valle de México 2006. Gobierno del Distrito Federal, México. 212 pp.
- SMA (Secretaría del Medio Ambiente). (2008b). Informe de la Calidad del Aire en la ZMVM. Estado y tendencias 1990-2007, Secretaría de Medio Ambiente, Gobierno del distrito Federal, Dirección General de Gestión de la Calidad del Aire, Dirección de Monitoreo Atmosférico, Ciudad de México; 2008.
- Sogorb M.A. y Vilanova E. (2004). Técnicas Analíticas de Contaminantes Químicos: aplicaciones toxicológicas medioambientales y alimentarias. Ediciones Díaz de Santos S.A. Impreso en España. 176 p.
- Thurman E.M. y Mills M.S. (1998). Solid-phase extraction: principles and practice. En: *Chemical Analysis: a series of monographs on analytical chemistry and its applications* (Winefordner J.D, Ed). John Wiley & Sons. New York, EUA. 339 pp.
- Tiittanen P., Timonen K.L., Ruuskanen J., Mirme A. y Pekkanen J. (1999). Fine particulate air pollution, resuspended road dust and respiratory health among symptomatic children. *European Respiratory Journal* 13, 266-273.
- Tong Q., Gao C.M., Feng S.Y., Ruan Y. y Wu L. (1995). Study on vapor-phase and particulate n-alkanes in the Huhhot urban atmosphere. *Acta Scientiae Circumstantiae* 15, 9-14.
- Topinka J., Rossner P., Milcova A., Schmuczerova, Svecova V. y Sram R.J. (2011). DNA adducts and oxidative DNA damage induced by organic extracts from PM2.5 in an acellular assay. *Toxicology Letters* 202, 186-192.
- Tran T., Amador-Muñoz O., Purcaro G. y Marriott P.J. (2007). Gas chromatographic analysis of polyaromatic hydrocarbons. En: *Environmental Impact of Polynuclear Aromatic Hydrocarbons* (Chimezie Anyakora, Ed.). Kerala, India. pp. 1-48.
- Tremblay R.T., Riemer D.D. y Zika R.G. (2007). Organic composition of PM2.5 and size-segregated aerosols and their sources during the 2002 Bay Regional Atmospheric

- Chemistry Experiment (BRACE), Florida, USA. *Atmospheric Environment* 41, 4323 – 4335. Doi:10.1016/j.atmosenv.2006.11.061
- Turpin B., Saxena P. y Andrews E. (2000). Measuring and simulating particulate organics in the atmosphere: problems and prospects. *Atmospheric Environment* 34, 2983-3013.
- Valavanidis A., Fiotakis K., Bakeas E. y Vlahogianni T. (2005). Electron paramagnetic resonance study of the generation of reactive oxygen species catalysed by transition metals and quinoid redox cycling by inhalable ambient particulate matter, *Redox Report* 10, 37-51.
- Valle-Hernández B.L., Mugica Álvarez V., Salinas-Talavera E., Amador-Muñoz O., Murillo-Tovar M.A., Villalobos-Pietrini R. y De Vizcaya-Ruiz A. (2010). Temporal variation of nitro-polycyclic aromatic hydrocarbons in PM₁₀ and PM_{2.5} collected in Northern Mexico City. *Science of the Total Environment* 408, 5429-5438. Doi:10.1016/j.scitotenv.2010.07.065.
- Venkataraman, C., Lyons, J.M. y Friedlander, S.K. (1994). Size distribution of polycyclic aromatic hydrocarbons and elemental carbon. 1. Sampling, measurement methods, and source characterization. *Environmental Science and Technology* 28, 555–562.
- Villalobos-Pietrini R., Amador-Muñoz O., Waliszewski S., Hernández-Mena L., Munive-Colín Z., Gómez-Arroyo S., Bravo-Cabrera J.L. y Frías-Villegas A. (2006). Mutagenicity and polycyclic aromatic hydrocarbons associated with extractable organic matter from airborne particles $\leq 10 \mu\text{m}$ in southwest Mexico City. *Atmospheric Environment* 40, 5845-5857. Doi:10.1016/j.atmosenv.2006.05.009.
- Villalobos-Pietrini R., Blanco-Jiménez S. y Gómez-Arroyo S. (1995). Mutagenicity assessment of airborne particles in Mexico City. *Atmospheric Environment* 29, 517-524.
- Villalobos-Pietrini R., Blanco-Jiménez S. y Gómez-Arroyo S. (1999). Direct- and indirect-acting mutagens or airborne particles from Southwestern Mexico City. *Toxicological Environmental Chemistry* 70, 103-115.
- Villalobos-Pietrini R., Gómez-Arroyo S. y Amador-Muñoz O. (2000). Genetic monitoring of airborne particles. En: *Biomonitoring and biomarkers as indicators of environmental change 2*. (Butterworth F.M., Gunatilaka A., Gonsebatt M.E., Eds.). Academic/Plenum Publishers. New York, EUA. 457-486 pp.
- Villalobos-Pietrini R., Hernández-Mena L., Amador-Muñoz O., Munive-Colín Z., Bravo-Cabrera J.L., Gómez-Arroyo S., Frías-Villegas A., Waliszewski S., Ramírez-Pulido J. y Ortiz-Muñoz R. (2007). Biodirected mutagenic chemical assay of PM₁₀ extractable organic matter in Southwest Mexico City. *Mutation Research* 634, 192–204. Doi:10.1016/j.mrgentox.2007.07.004.
- Vione D., Barra S., De Gennaro G., De Rienzo M., Gilardoni S., Perrone M.G. y Pozzoli L. (2004). Polycyclic aromatic hydrocarbons in the atmosphere: monitoring, sources, sinks and fate. II: sinks and fate. *Annali di Chimica* 94, 257-268.
- Vione D., Maurino V., Minero C., Pelizzetti E., Harrison M. A.J., Olariu R.I. y Arsene C. (2006). Photochemical reactions in the tropospheric aqueous phase and on particulate matter. *Chemical Society Reviews* 35, 441-453.
- Walgraeve C., Demeestere K., Dewulf J., Zimmermann R. y Van Langenhove H. (2010). Oxygenated polycyclic aromatic hydrocarbons in atmospheric particulate matter: Molecular characterization and occurrence. *Atmospheric Environment* 44, 1831-1846. Doi: 10.1016/j.atmosenv.2009.12.004.
- Walker J.T., Whittall R.D., Robarge W. y Paerl W.H. (2004). Ambient ammonia and ammonium aerosol across a region of variable ammonia emission density. *Atmospheric Environment* 38, 1235-1246.

- Wang G., Huang L., Zhao X., Niu H. y Dai Z. (2006). Aliphatic and polycyclic aromatic hydrocarbons of atmospheric aerosols in five locations of Nanjing urban area, China. *Atmospheric Research* 81, 54-66.
- Wang G.H., Kawamura K., Zhao X., Li Q.G., Dai Z.X. y Niu, H.Y. (2007). Identification, abundance and seasonal variation of anthropogenic organic aerosols from a mega-city in China. *Atmospheric Environment* 41, 407-416.
- Watson J.G., Chow J.C. y Houck J.E. (2001). PM_{2.5} chemical source profiles for vehicle exhaust, vegetative burning, geological material, and coal burning in Northwestern Colorado during 1995. *Chemosphere* 43, 1141-1151.
- Welthagen W., Kreis-Schnelle J. y Zimmermann R. (2003). Search criteria and rules for compressive two-dimensional gas chromatography-time-of-flight mass spectrometry analysis of airborne particulate matter. *Journal of Chromatography A*. 1019, 233-249. Doi:10.1016/j.chroma.2003.08.053.
- Willoughby R., Sheehan E. y Mitrovich S. (1998). A Global view of LC/MS How to solve your most challenging analytical problems. First Edition, Global view publishing, Pittsburgh, Pennsylvania, p 51-92.
- Yasaa N., Meklati B.Y., Cecinato A. y Marino F. (2001). Organic aerosols in urban and waste landfill of Algiers Metropolitan Area: occurrence and sources. *Environment Science and Tecnology* 35, 306-311.
- Yokouchi Y. y Ambe Y. (1986). characterization of polar organics in airborne particulate matter. *Atmospheric Environment* 20, 1727-1734.
- Young L.H. y Wang C.S. (2002). Characterization of n-alkanes in PM_{2.5} of the Taipei aerosol. *Atmospheric Environment* 36, 477-482.
- Zheng M., Fang M., Wang F. y To K. L. (2000). Characterization of the solvent extractable organic compounds in PM_{2.5} aerosols in Hong Kong. *Atmospheric Environment* 34, 2691-2702.
- Zief M. y Kiser R. (1987). Solid-Phase Extraction for Sample Preparation. J.T Baker INC., Phillipsburg, NJ.

ANEXO I. Estructuras de los hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAP)



I: Naftaleno, **II:** Acenafteno, **III:** Acenaftileno, **IV:** Fluoreno, **V:** Antraceno, **VI:** Fenantreno, **VII:** Fluoranteno, **VIII:** Pireno, **IX:** Benzo[*a*]antraceno, **X:** Criseno, **XI:** Benzo[*b*]fluoranteno, **XII:** Benzo[*k*]fluoranteno, **XIII:** Benzo[*a*]pireno, **XIV:** Indeno[1,2,3-*cd*]P, **XV:** Dibenzo[*a,h*]antraceno, **XVI:** Benzo[*ghi*]perileno.

ANEXO II. Propiedades fisicoquímicas de los HAP

No.	Nombre	CAS	PM	Pf	Pe	Pv	Sol
I	Naf						
II	Acenafti	208-96-8	152.2	92	270	0.029 (20 °C)	3.93
III	Ace	83-32-9	154.2	95	96.2	4.47x10 ⁻³	1.93
IV	Fluo	86-73-7	166.2	117	295	3.2x10 ⁻⁴ (20 °C)	1.98
V	Antr	120-12-7	178.2	218	342	1.7x10 ⁻⁵ (25 °C)	0.76
VI	Fen	85-01-8	178.2	100	340	6.8x10 ⁻⁴ (25 °C)	1.2
VII	Flut	206-44-0	202.2	11	375	5x10 ⁻⁶ (25 °C)	0.26
VIII	Pir	129-00-0	202.3	156	404	2.5x10 ⁻⁶ (25 °C)	0.077
IX	B[a]A	56-55-3	228.2	159	400	2.2x10 ⁻⁸ (20 °C)	0.01
X	Cris	218-01-9	228.3	256	448	6.3x10 ⁻⁷ (25 °C)	2.8x10 ⁻³
XI	B[a]P	50-32-8	252.3	179	311	5.6x10 ⁻⁹	2.3x10 ⁻³
XII	B[b]F	205-99-2	252.3	168	-	5x10 ⁻⁷ (20-25 °C)	0.0012
XIII	B[k]F	207-08-9	252.3	216	480	9.59x10 ⁻¹¹ (25 °C)	7.6x10 ⁻⁴ (25 °C)
XIV	I[1,2,3-cd]P	193-39-5	276.3	164	530	1x10 ⁻⁶ (20 °C)	0.062
XV	B[ghi]P	191-24-2	276.3	273	550	1.03x10 ⁻¹⁰ (25 °C)	2.6x10 ⁻⁴ (25 °C)
XI	DB[ah]A	53-70-3	278.3	262	-	1x10 ⁻¹⁰ (20 °C)	5x10 ⁻⁴

Datos tomados de Finlayson-Pitts y Pitts 1999

CAS: Chemical Abstract Service

PM: Peso molecular (g mol⁻¹).

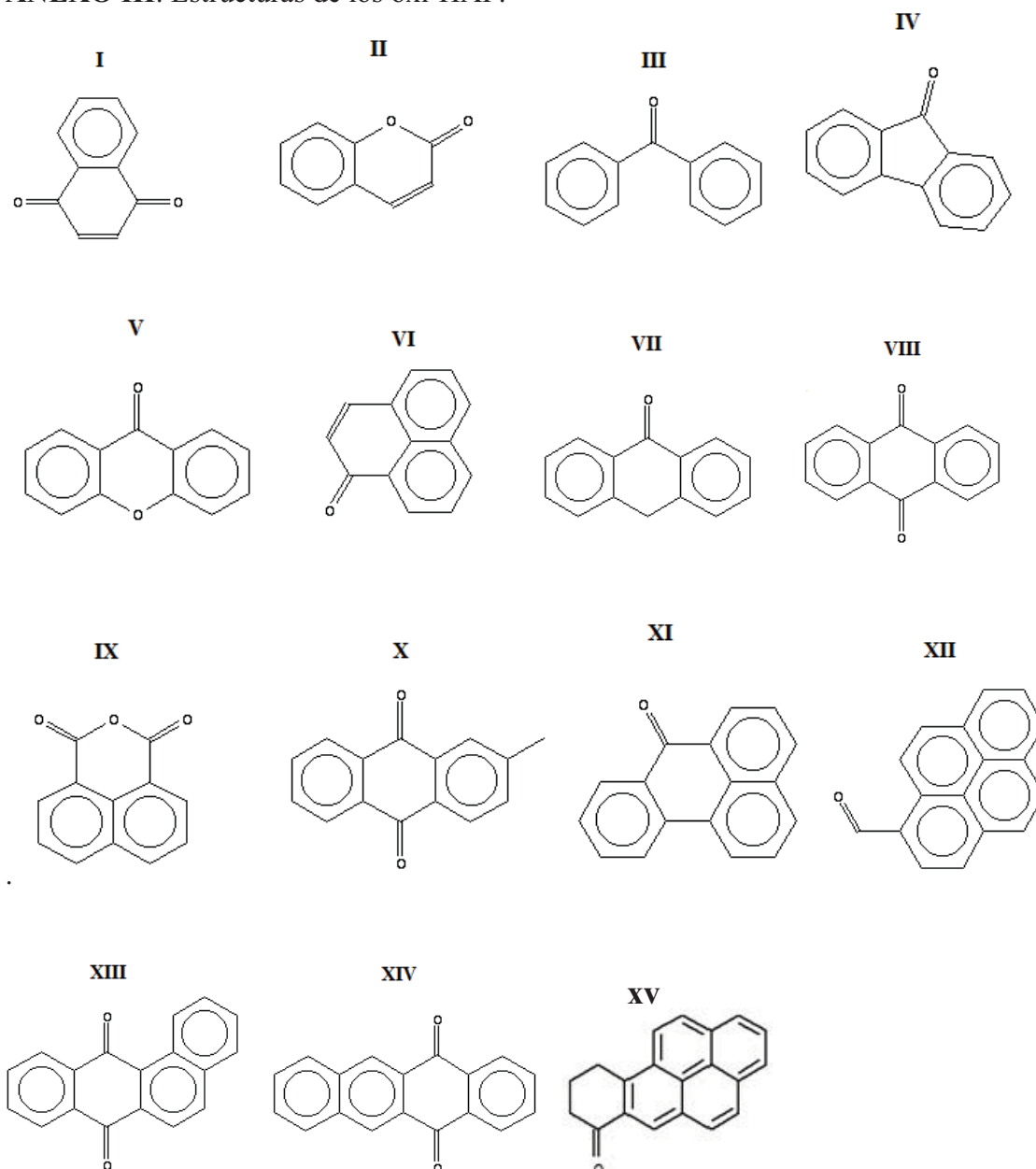
Pf: Punto de fusión (°C).

Pe: Punto de ebullición (°C).

Pv: Presión de vapor (mmHg)

Sol: Solubilidad (mg L⁻¹)

ANEXO III. Estructuras de los oxi-HAP.



I: 1,4- Naftoquinona (1,4-NQ), **II:** 1,2-Benzopinona (1,2-BP), **III:** Benzofenona (BF), **IV:** 9-Fluorenona (9-FN), **V:** Xantona (Xan), **VI:** Perinaftenona (PN), **VII:** 9-(10H) Antracena (9(10H)-AN), **VIII:** 9,10-Antracenediona (9,10-AD), **IX:** 1,8-Anhídrido Naftalico (1,8-AN), **X:** 2-Metilantracenediona (2-MAD), **XI:** 7H-Benzo[de]antracena-7-ona (BT), **XII:** 1-Pirenocarboxialdehído (1-PC), **XIII:** Benzo[a]antracena-7,12-diona (BTQ), **XIV:** 5,12-Naftacenoquinona (5,12-NQ), **XV:** 9,10-Dihidrobenczo[a]piren-7(8H)-ona.

ANEXO IV. Propiedades fisicoquímicas de los oxi-HAP

Nombre	CAS	PM	Pf	Pe	Pv
1,4-NQ	130-15-4	158	109-129	298	1.8×10^{-4}
1,2-BP	91-64-5	146	343	571.2	0.988 ^a
BF	119-61-9	182	321.2 ± 0.7	$550. \pm 100$	3.04×10^{-3b}
9-FN	486-25-9	180	75-86	342	5.7×10^{-5}
Xan	90-47-1	196	172-177	349-350	-
PN	548-39-0	180	150-156	355	3.22×10^{-5}
9(10H)-AD	90-44-8	194	144-157	343	1.85×10^{-5}
9,10-AD	84-65-1	208	269-288	376-377	1.18×10^{-7}
1,8-AN	81-84-5	198	265-276	408	7.60×10^{-7}
2-MAD	84-54-8	222	171-201	408	7.45×10^{-7}
BT	82-05-3	230	143-173	436	2.24×10^{-7}
1-PC	3029-19-4	230	125-129	438	4.13×10^{-8}
BTQ	2498-66-0	258	165-171	473	3.55×10^{-8}
5,12-NQ	90-13-7	258	280-294	473	4.30×10^{-9}

CAS: Chemical Abstract Service

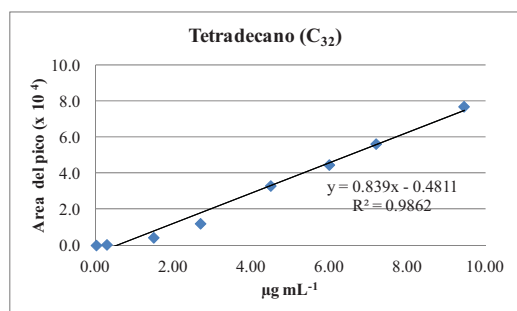
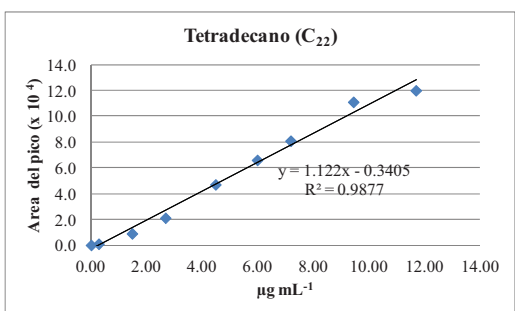
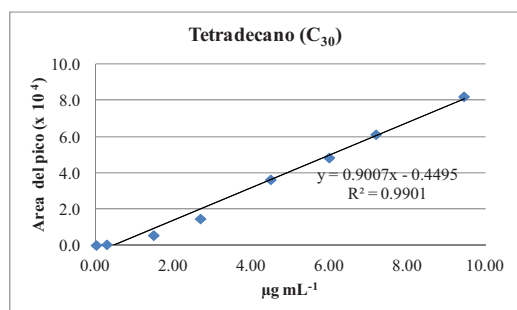
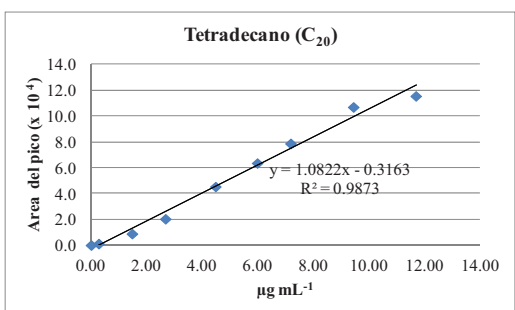
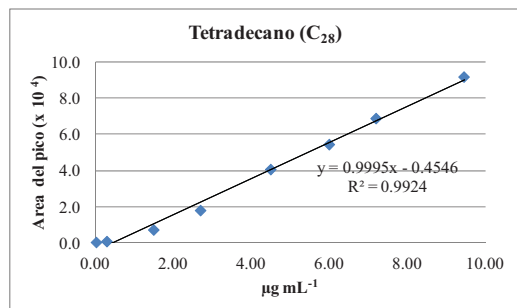
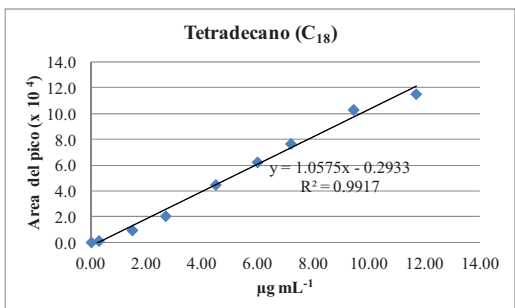
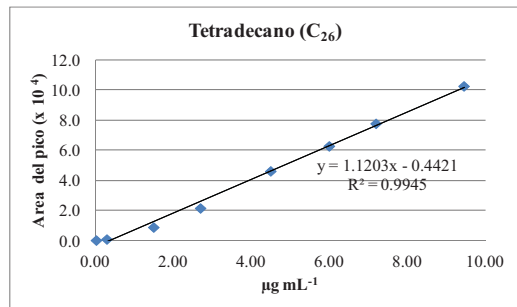
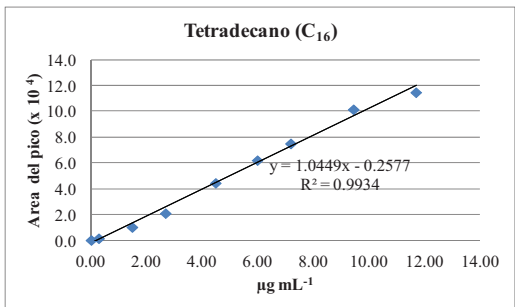
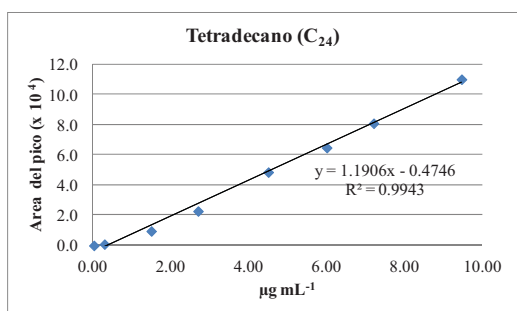
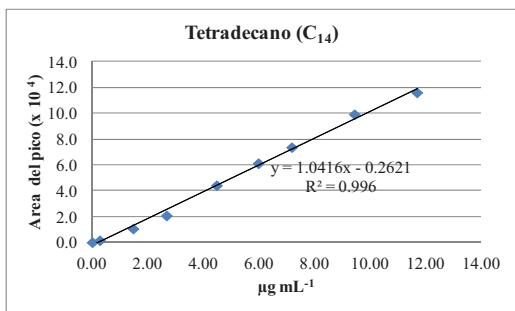
PM: Peso molecular, g mol^{-1} (Finlayson-Pitts y Pitts 1999)

Pf: Punto de fusión, °C (NIST WEB BOOK)

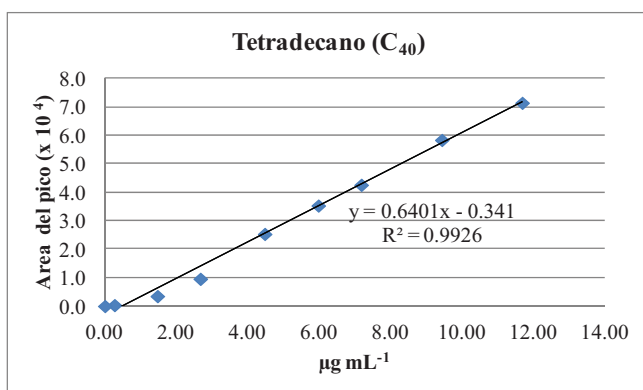
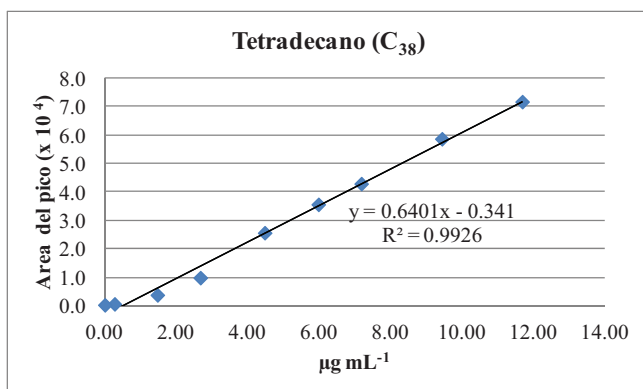
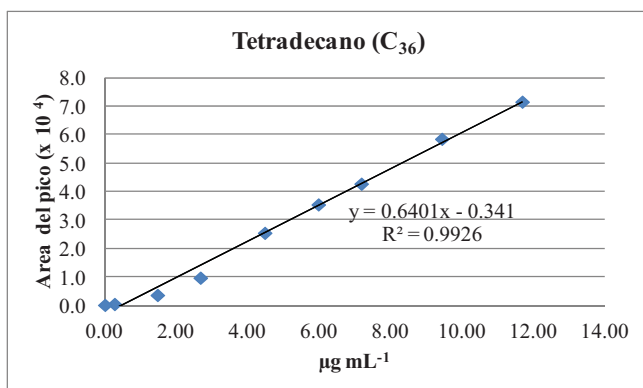
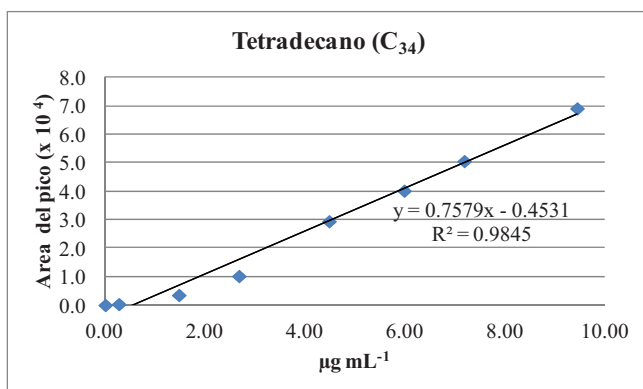
Pe: Punto de ebullición, °C (NIST WEB BOOK)

Pv: Presión de vapor, mmHg (Walgraeve et al. 2010), ^{a,b} (Catalogo Merck 2010)

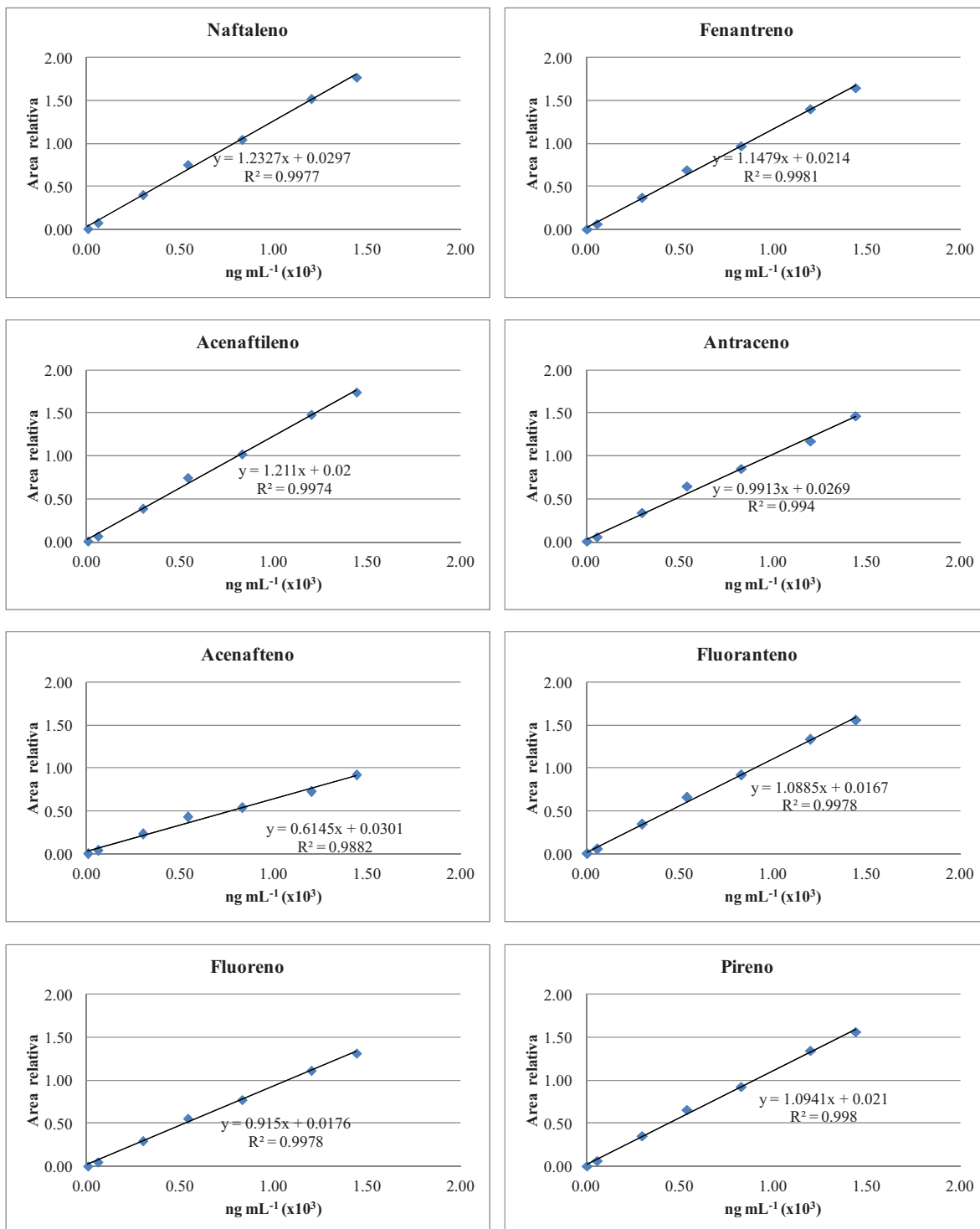
ANEXO V. Curvas de calibración instrumental de los *n*-alcanos.



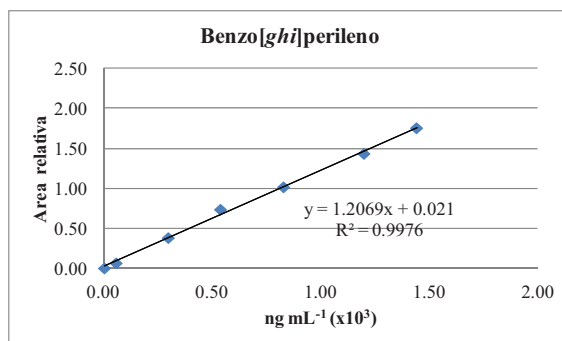
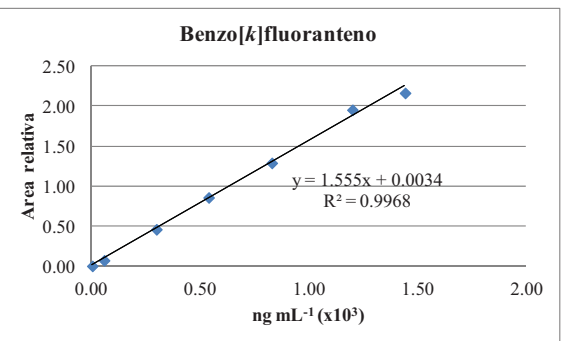
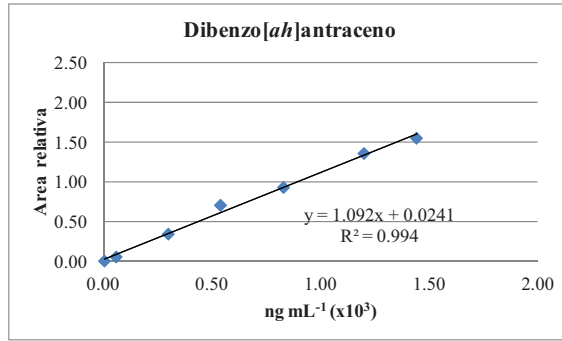
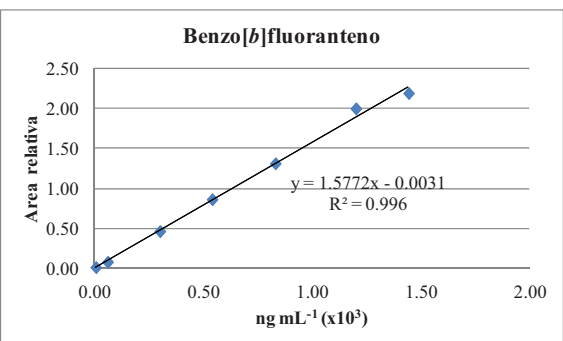
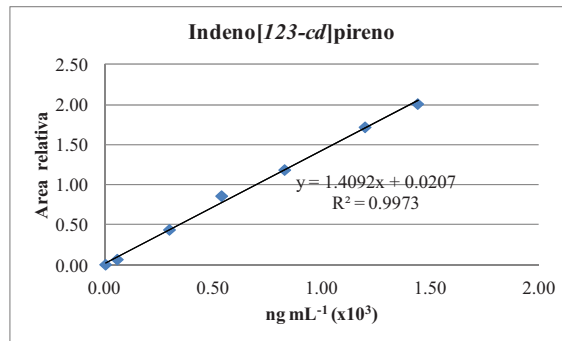
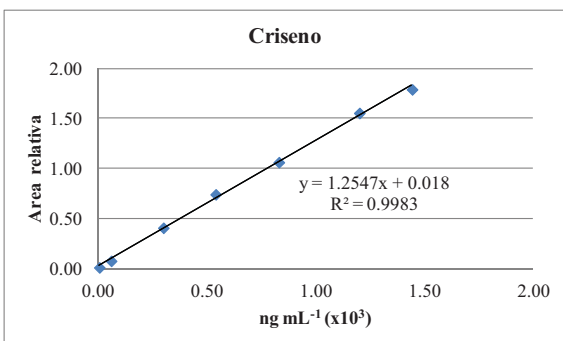
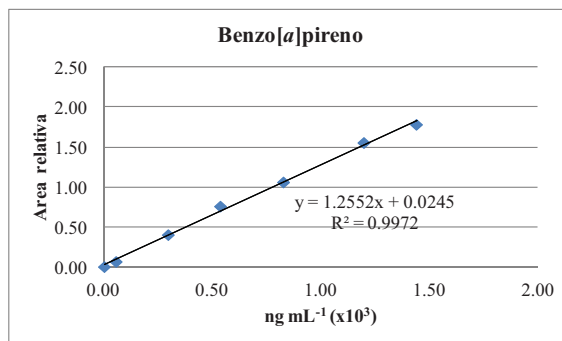
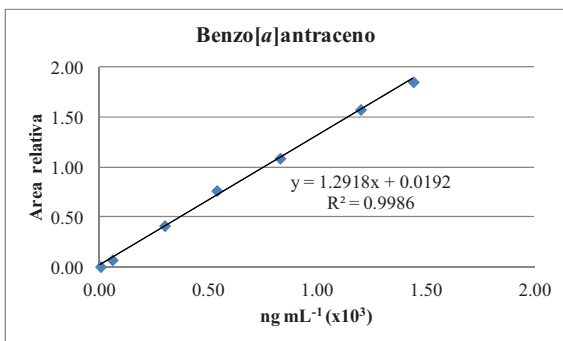
Continuación Anexo V



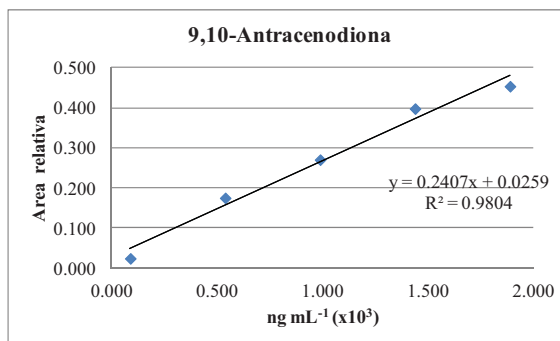
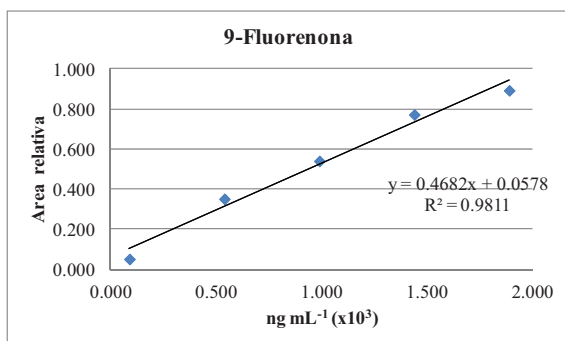
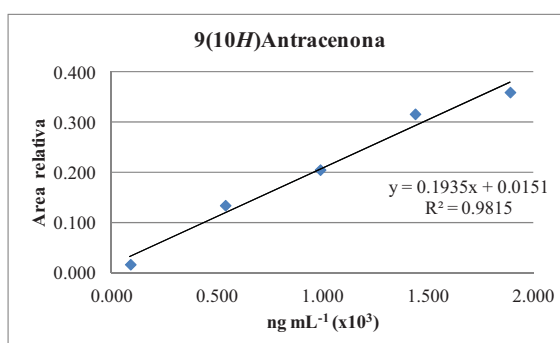
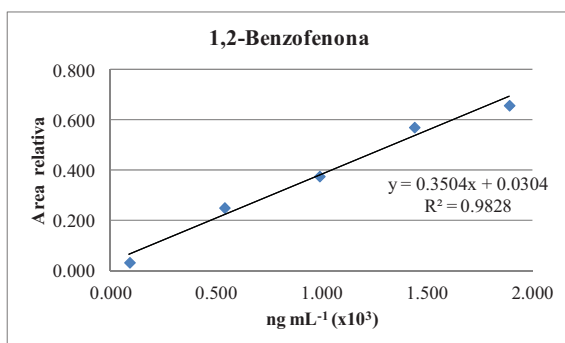
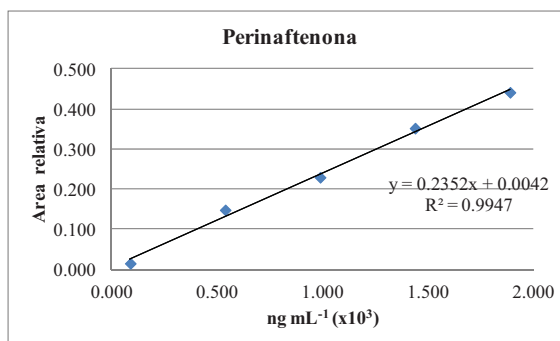
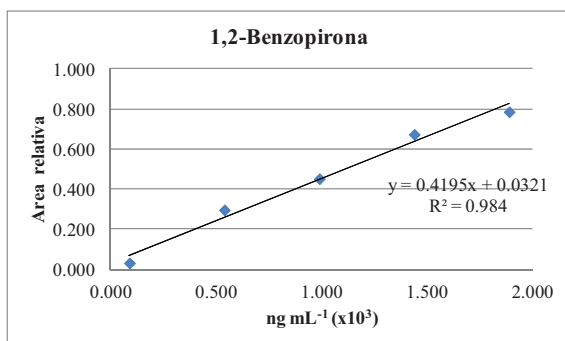
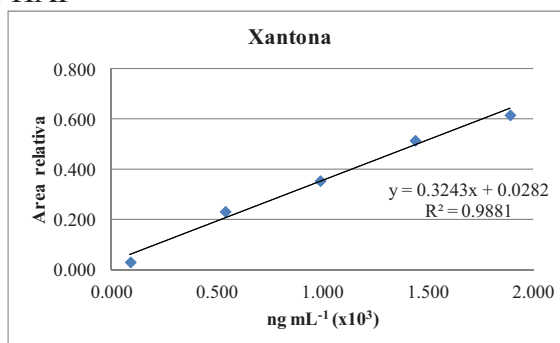
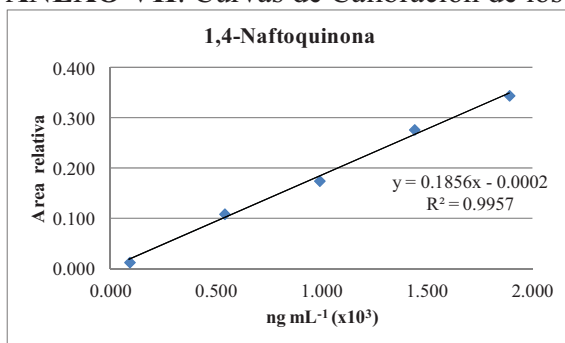
ANEXO VI. Curvas de Calibración de los HAP



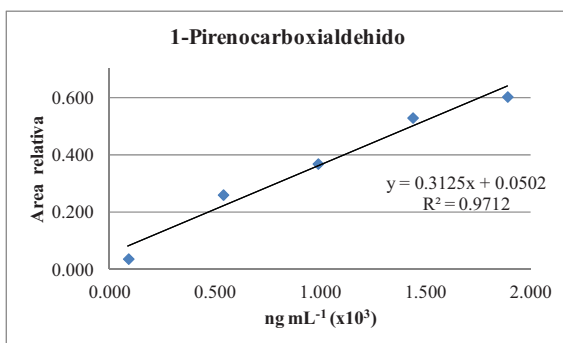
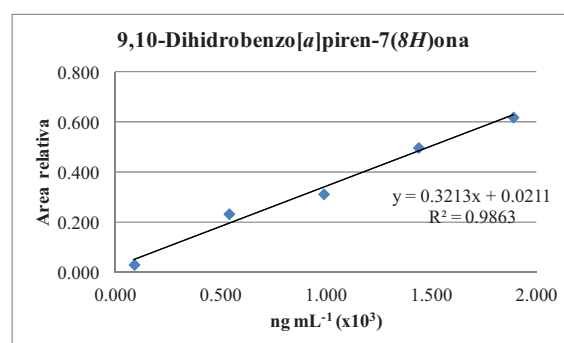
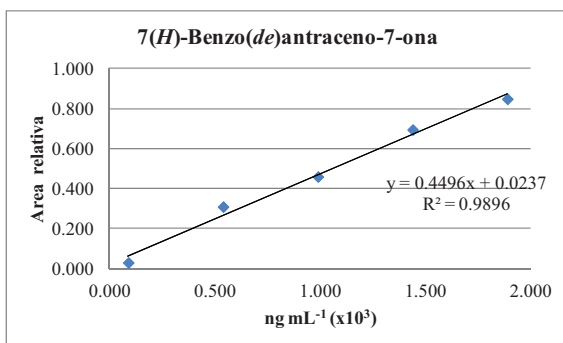
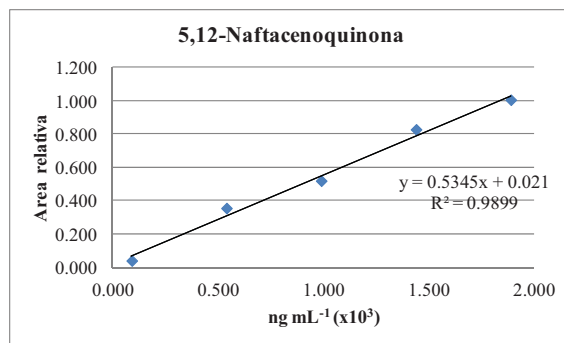
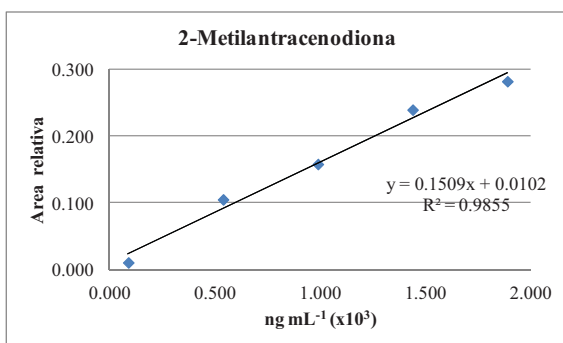
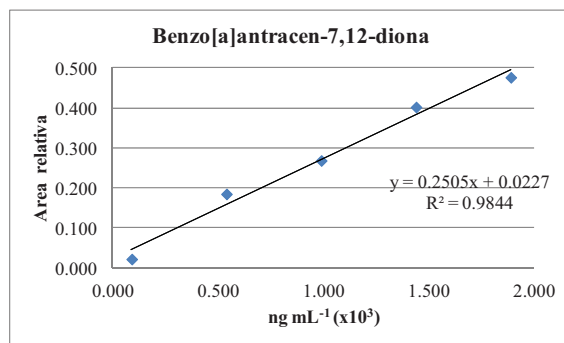
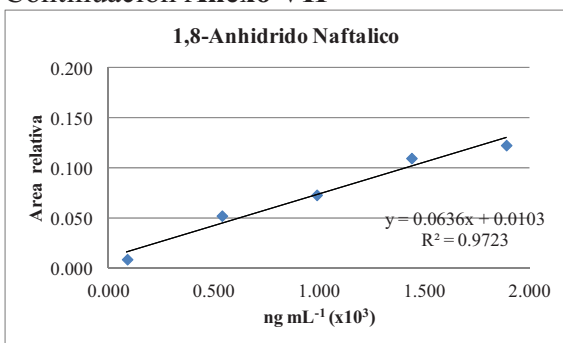
Continuación Anexo VI



ANEXO VII. Curvas de Calibración de los oxi-HAP



Continuación Anexo VII



ANEXO VIII. Productos académicos

Artículo científico original

Mario Alfonso Murillo-Tovar, Omar Amador-Muñoz, Rafael Villalobos-Pietrini, Philip J. Marriott. Selective Separation of oxy-PAH from *n*-Alkanes and PAH in Complex Organic Mixtures Extracted from airborne PM_{2.5}. (2010). *Chromatographia* 72, 913-921. DOI: 10.1365/s10337-010-1738-z.

Ponencia

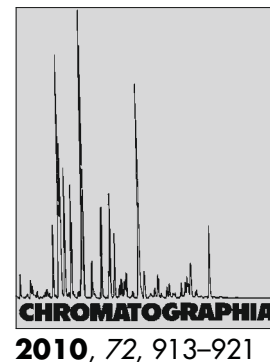
Mario Alfonso Murillo-Tovar, Omar Amador-Muñoz, Rafael Villalobos-Pietrini, Philip J. Marriott. Título de la Ponencia: Separación selectiva y eficiente de oxi-HAP en extractos orgánicos del material particulado $\leq 2.5 \mu\text{m}$. (2009).. 8° Congreso Internacional, 14° Nacional de Ciencias Ambientales, y 3^{er} Congreso de Medio Ambiente. Tlaxcala, México. CA 556-0.

Resúmenes en Memorias de Congresos

Murillo-Tovar, M., Amador-Muñoz, O., Villalobos-Pietrini, R., Marriott, P.J. Selective Separation of *n*-alkanes, PAHs and oxy-PAHs in complex organic mixtures extracted from airborne particulate matter $\leq 2.5 \mu\text{m}$. (2009). HPLC 2009, 34th International Symposium on High-Performance Liquid Phase Separations and Related Techniques. Dresden, Alemania. ENV 23, 337.

M. A. Murillo-Tovar, O. Amador-Muñoz, M. Medina-Valtierra, M.A. Ibañez García, R. Villalobos-Pietrini. Separación selectiva de oxi-HAPs en la materia orgánica extraída de las partículas atmosféricas $\leq 2.5 \mu\text{m}$ (PM_{2.5}). ExpoINCYTAM 2008. Distrito Federal, México. AE81001.

Selective Separation of Oxy-PAH from *n*-Alkanes and PAH in Complex Organic Mixtures Extracted from Airborne PM_{2.5}



Mario Alfonso Murillo-Tovar^{1,2,✉}, Omar Amador-Muñoz¹, Rafael Villalobos-Pietrini¹, Philip J. Marriott³

¹ Sección de Mutagénesis Ambiental, Centro de Ciencias de la Atmósfera, Universidad Nacional Autónoma de México, 04510 Distrito Federal, Mexico

² Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco, Av. Normalistas 800, 44270 Guadalajara, Jalisco, Mexico; E-Mail: mtovar@ciatej.net.mx

³ Australian Centre for Research on Separation Science, School of Applied Sciences, RMIT University, GPO Box 2476V, Melbourne, Australia

Received: 29 March 2010 / Revised: 27 July 2010 / Accepted: 30 July 2010
Online publication: 7 September 2010

Abstract

A fast and simple fractionation method was optimized to selectively separate oxy-PAH from polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH) and *n*-alkanes contained in solvent extracted organic matter (SEOM) from atmospheric particles with an aerodynamic diameter $\leq 2.5 \mu\text{m}$ (PM_{2.5}). Samples were collected in Mexico City. Multivariate parameters were adjusted on a standard mixture, and on SEOM spiked with pure standard mixture solutions: type and amount of phase; packing densities; type, proportion and amount of solvents, and elution flow rates were tested under several elution schemes. Cyanopropylsilyl-bonded phase material was the selected stationary phase. The separation method was applied to real samples of SEOM (2.6, 5.6 and 8.5 mg) spiked with *n*-alkanes, PAH and oxy-PAH. *n*-Alkanes overlapped with PAH due to an excess of *n*-alkanes in real samples overloading the capacity of the stationary phase. Oxy-PAH was separated totally from *n*-alkanes and PAH. Mean recoveries \pm confidence intervals (95%) for *n*-alkanes ranged from $53 \pm 17\%$ (*n*-tetracontane) to $101 \pm 11\%$ (*n*-hexacosane); for PAH from $58 \pm 5\%$ (phenanthrene) to $85 \pm 9\%$ (benzo[*k*]fluoranthene); and for oxy-PAH from $68 \pm 12\%$ (9,10-dihydrobenzo[*a*]pyren-7(8*H*)one) to $108 \pm 9\%$ (1,2-benzopyrone). This method is an efficient fractionation procedure to be applied to oxy-PAH, PAH and *n*-alkanes in complex organic mixtures extracted from PM_{2.5}.

Keywords

Gas chromatography
Solid-phase extraction
Atmospheric particulate matter
Polycyclic aromatic hydrocarbons
Oxy-PAH
Alkanes

Introduction

Airborne particulate matter with an aerodynamic diameter $\leq 2.5 \mu\text{m}$ (PM_{2.5}) has been shown to have harmful effects on human health [1]. An increase in PM_{2.5} concentration is associated with an increase in human morbidity and mortality due to cardiopulmonary symptoms and lung cancer [2]. The organic chemical composition of PM_{2.5} is implicated in these health effects [3], in part, due to the potentially carcinogenic [4] and genotoxic [5] polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH). However, some of their derivatives, such as oxy-PAH and nitro-PAH, have been reported to be more toxic than their parents' PAH because these have a direct mutagenic potency [6–8].

PAH are mainly emitted from incomplete combustion and pyrolysis of carbonaceous materials and are associated with fossil fuel processes [9]. While oxy-PAH are emitted during combustion processes or are formed in the atmosphere by photochemical reactions between PAH and oxygenated atmospheric oxidants (OH· and O₃) [10]; they can be found in both gas and particulate phases (PM_{2.5}) of the atmospheric aerosol [11]. PAH and oxy-PAH are

constituents of highly complex mixtures of polycyclic organic matter (POM) [12]. POM is part of the solvent extractable organic matter (SEOM) sorbed onto airborne particulate matter and which constitute several classes of organic compounds [13–16]. *n*-Alkanes represent one of the most abundant SEOM families [17], and although there are no reported adverse effects on human health, they are used as anthropogenic and biogenic emission markers [18–20]. *n*-Alkanes with fewer carbons than pentacosane (C₂₅) are generated from human activities, whereas alkanes with >25 carbons arise from biogenic emissions [21].

The complex composition of organic matter in airborne particulates and their constituents' concentrations range over several orders of magnitude can increase the probability of misidentification and quantification errors of target compounds [22, 23]. This can be minimized through fractionation and clean-up methods, including open-column chromatography [24] and liquid chromatography techniques [25], thereby providing better selectivity and more detailed chemical and biological characterization of target compounds [26]. It follows that, organic compounds with genotoxic effects tested on several bioassays, elicit special interest when they are significant due to a possible effect on human health [27]. Solid-phase extraction (SPE) in an open glass column [28] or syringe barrel or cartridge [29] is a simple, inexpensive and efficient purification method, most commonly using silica as the solid stationary phase material to efficiently separate non-polar and polar organic classes in environmental samples [30]. However, irreversible organic adsorption and poor recoveries have been observed when silica alone has been employed with atmospheric samples [31]. Conversely, the less polar chemically bonded cyanopropyl-silica stationary phase has been shown to offer greater organic mass recoveries in SEOM from airborne particles [32]. However, the evidence found for the irreversible adsorption of polar components or about their degradation is still incomplete or has been rarely described for cyanopropyl-silica solid-phase extraction [33]. Although separations

with those normal phases have often been applied to organic mixtures in airborne particles, few studies have optimized the separation and the recovery efficiency to determine oxy-PAH found in ppb or ppt ambient levels [34] in individual samples of PM_{2.5}.

The aim of this work was to develop an efficient, rapid and simple fractionation method based on SPE to selectively separate oxy-PAH from *n*-alkanes and from PAH contained in the organic matter extracted from PM_{2.5}. The influence of several variables over the separation and recovery efficiency based on both pure standards, and by using authentic spiked real samples, was evaluated. The final protocol is based on a systematic evaluation of a series of schemes selected to progressively improve the overall class-separation of the target compounds. However, to the best of our knowledge, the final optimization was only realized with spiked real samples instead of standard solutions, as it is conventionally done by using three amounts of spiked real samples instead of one. The influence of tested variables is not frequently reported in studies on SPE fractionation methods, related to organic matter from atmospheric origin. With this procedure, different amounts of SEOM, within the range evaluated, could then be charged to a SPE column without having a significant influence on separation efficiency among chemical classes. Therefore, this will be a reliable method to evaluate both the genotoxic effects of organic matter in individual samples of PM_{2.5} on bioassay studies as well as human health risks, based on exposure in polluted areas such as Mexico City. This methodology can be employed as routine analysis and be automated in the future.

Experimental

Chemicals, Standard Solutions and Materials

Even carbon number *n*-alkanes from C₁₄ to C₄₀ were obtained from Chem Service (West Chester, PA, USA). PAH included: naphthalene, acenaphthylene, acenaphthene, fluorene, phenanthrene,

anthracene, fluoranthene, pyrene, benzo[*a*]anthracene, chrysene, benzo[*b*]fluoranthene, benzo[*k*]fluoranthene, benzo[*a*]pyrene, indeno[1,2,3-*cd*]pyrene, dibenzo[*a,h*]anthracene and benzo[*ghi*]perylene and oxy-PAH (prepared from powder) included: 1*H*-phenalen-1-one, 7*H*-benz[*de*]anthracen-7-one, benz[*a*]anthracene-7,12-quinone, and 9,10-dihydrobenzo[*a*]pyren-7(8*H*)one from Chiron (Trondheim, Norway); 1,8-naphthalic anhydride, 1,4-naphthoquinone and 9,10-anthraquinone were from Fluka (Steinheim, Germany); and benzophenone, 1,2-benzopyrone, 9*H*-fluoren-9-one, 9(10*H*)-anthracenone, xanthone, 2-methylanthraquinone, 1-pyrenecarboxaldehyde and 5,12-naphthacenequinone were from Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, USA). The internal standards included: squalene (used to quantify *n*-alkanes) from Chem Service (West Chester, PA, USA). Triphenylethylene (for quantifying PAH) and 1,2,3,4,5,6,7,8-octahydroanthracene (for oxy-PAH) were from Supelco (Bellefonte, PA, USA). The organic solvents of HPLC grade included *n*-hexane, methylene chloride, methanol, and acetone from Burdick & Jackson (Muskegon, MI, USA). A pure multistandard mixture solution containing: 14 *n*-alkanes (non polar), 16 PAH (intermediate polarity) and 15 oxy-PAH (polar) was prepared to be used as a working solution and for either to put directly on solid phase extraction column or to be spiked in the solvent extracted organic matter (SEOM). The selected concentrations and mass for each organic compound class evoked a response over three times the mass detector noise and were according to mass concentrations found in airborne samples [35].

The SPE sorbents (with particle size and pore diameter in parentheses) for normal phase mode were, silica (60 Å, 50 μm) and cyanopropyl-endcapped (60 Å, 50 μm), labeled as cyano-EA, packed in syringe barrels, were obtained from Alltech (Illinois, USA). Two cyanopropyl-unendcapped sorbents with two different specifications (60 Å, 35–60 μm and 60–87 Å, 47–60 μm), in bulk format, used in packing the glass column were obtained from Grace (Illinois, USA) and Varian (CA, USA),

and labeled as cyano-UG and cyano-UV, respectively. The sorbents with reversed-phase mode, octadecyl bonded-silica (62 Å, 58 µm) and phenyl bonded-silica (60 Å, 50 µm) in a syringe barrel packet, were from Supelco (Bellefonte, PA, USA) and Alltech (Illinois, USA), respectively. The sorbents were conditioned, before the fractionation procedure, in order to remove the air present in the column and fill the void spaces with solvent and also to remove any impurities that might be present in the packing material or tubes and glass column. Normal phases were conditioned with acetone followed by methylene chloride and finally *n*-hexane. Reversed phases employed methanol and then acetone. Both solid phase types were kept wet with this last solvent to solvate the functional groups of the sorbent. The sample aliquots, put on column, were dissolved in the same solvent employed as a solvate and their volumes were adjusted approximately to 150 µL in the final procedure. This amount allows the formation of a narrow band at the top of the column and avoids a quick breakdown of interactions between organic compounds and active sites in cyano or silica phases by excess of methylene chloride. Therefore, sample aliquots were not allowed to dry. This would increase separation efficiency between the classes of compounds and would diminish losses by volatilization.

Fractionation Procedure Development with Pure Standard Mixture Solution (No Atmospheric Matrix Effect)

Fractionation is a modification to the conventional manner used to employ SPE. Generally target species are retained in the solid phase and then eluted with the appropriate solvent. However, in this work, this was done by using another concept. Here, one sample aliquot was placed on top of the solid phase and sequentially eluted through by decreasing or increasing the polarity with an individual organic solvent or a mixture of solvents to realize a selective separation of several classes of compounds. The

initial stage evaluated four types of phases with two modes: normal phase (silica and cyano-EA) and reversed phase (octadecyl and phenyl) to determine the most appropriate stationary phase material. A pure standard mixture solution containing 14 *n*-alkanes (7.6 µg mL⁻¹), 16 PAH (1 µg mL⁻¹) and 15 oxy-PAH (1.01–1.12 µg mL⁻¹), was used, which was dissolved in *n*-hexane when normal phase sorbents were tested, while acetone was used for the reversed-phase. The pure standard mixture solutions (1 mL) were fractionated under several proposed schemes in order to determine the best conditions to be subsequently applied to the complex organic mixtures extracted from particulate material (PM_{2.5}). Each collected fraction was adjusted to 1 mL. The procedure was tested using several elution sequences or schemes, with different mixtures of organic solvents, namely: Scheme 1 (2 mL of *n*-hexane, 4 mL of *n*-hexane: methylene chloride, 4:1 v/v; 4 mL of *n*-hexane: methylene chloride, 1:1 v/v; 4 mL of methylene chloride and 4 mL of methanol), Scheme 2 (4 mL of acetone, 4 mL of methylene chloride, 4 mL of *n*-hexane: methylene chloride, 1:1 v/v; 4 mL of *n*-hexane: methylene chloride, 4:1 v/v; and 2 mL of *n*-hexane) and Scheme 3 (8 mL of acetone, 8 mL of methylene chloride, 8 mL of *n*-hexane: methylene chloride, 1:1 v/v; 8 mL of *n*-hexane: methylene chloride, 4:1 v/v; and 4 mL of *n*-hexane). Scheme 1 on silica and cyano-EA phases was a modification from a previous work [32], while Schemes 2 and 3 used eluting solvents trending from polar to non-polar applied on phenyl and octadecyl phases, respectively. Acetone was introduced in Schemes 2 and 3 instead of methanol to reduce the evaporation temperature.

The multivariate optimization of the separation process comprised the second stage but was applied only to silica and cyano-EA, since the normal phase mode offered better results. The same pure-standard mixture solution as in the previous stage was employed. The separation efficiency was evaluated by increasing the phase amounts from 0.5 to 1 g and 2 g for silica, and from 0.5 to 2 g for cyano-EA packed into open glass columns. Volumes of mobile phase were

increased and adjusted proportionally to amount of solid phase. In addition, a more polar elution profile for Scheme 4 (4 mL of *n*-hexane, 8 mL of methylene chloride, 8 mL acetone: methylene chloride, 1:1 v/v; 8 mL acetone: methylene chloride, 4:1 v/v; and 8 mL of acetone) and Scheme 5 (8 mL of *n*-hexane, 16 mL of methylene chloride, 16 mL acetone: methylene chloride, 1:1 v/v; 16 mL acetone: methylene chloride, 4:1 v/v; and 16 mL of acetone) was applied, with respect to Scheme 1. The elution was conducted under gravity flow conditions. Although separation with cyano-EA and silica were similar, there was inconsistency in the recovery on silica as shown in previous works [26, 36, 37]. Therefore, optimization conditions were only applied to cyano-EA packed into a glass column, as described in Scheme 6 (8 mL of *n*-hexane, followed by 16 mL of each one *n*-hexane: methylene chloride, 4:1; 3:2 and 1:1 v/v; methylene chloride, methylene chloride: acetone, 1:1 v/v; and acetone) where the constant flow was carried out at ~0.4 and ~2.5 mL min⁻¹, while Scheme 7 was at ~1 mL min⁻¹. Scheme 6 was decreased in the eluent polarity trend with respect to Scheme 5, while Scheme 7 illustrates sub-aliquots for various fractions (8 mL of *n*-hexane, followed by two subtractions of 8 mL of each one: *n*-hexane: methylene chloride, 4:1; 3:2 and 1:1 v/v; methylene chloride, methylene chloride: acetone, 1:1 v/v; and acetone) with respect to Scheme 6, which produced an optimized separation among target compounds as shown further. Flow was estimated by measuring the solvent volume with respect to time.

Fractionation Procedure Development with SEOM Spiked with Pure Standard Mixture Solution (Atmospheric Matrix Effect)

In the third stage, known amounts of SEOM mass, determined as described elsewhere [38], dissolved in a volume of sample (150 µL) and spiked with a pure standard mixture solution were fractionated by means of three different schemes. Then, 2.8 mg of SEOM spiked

Table 1. Elution schemes with SEOM spiked with pure standard mixture on cyano phases (1 g) packed into open glass columns

Fraction and sub-fractions	Scheme 8 ^a		Fraction	Scheme 9 ^b		Scheme 10 ^c	
	Solvents	V (mL)		Solvents	V (mL)	Solvents	V (mL)
1	Hex	1.0	1	Hex	1.0	Hex	0.5
2.1	Hex–MC (9:1)	0.5	2	Hex–MC (9:1)	2.0	Hex–MC (9:1)	2.0
2.2	Hex–MC (9:1)	0.5	3	Hex–MC (6.5:3.5)	4.0	MC	10.0
2.3	Hex–MC (9:1)	0.5	4	MC	8.0	Ace	10.0
2.4	Hex–MC (9:1)	0.5	5	Ace	10.0		
3.1	Hex–MC (6.5:3.5)	1.0					
3.2	Hex–MC (6.5:3.5)	3.0					
4	MC	6.0					
5	Ace	10.0					

Hex *n*-hexane, MC methylene chloride, Met methanol, Ace acetone

^acyano-EA, cyano-UG and cyano-UV: the elution flow was under gravity conditions

^bcyano-EA: the elution flow was under gravity conditions (Fractions 1,2,3) and with controlled flow of nitrogen at 1 mL min⁻¹ (Fractions 4,5)

with 14 *n*-alkanes (2 µg), 16 PAH (0.225 µg) and 15 oxy-PAH (0.225 µg) was applied to the top of each one of three cyano-type sorbents packed into open glass columns (cyano-EA, cyano-UG and cyano-UV) and was then fractionated under Scheme 8 (Table 1). Taking into account Scheme 7, the polarity of the elution scheme was again decreased to delay PAH and oxy-PAH to better differentiate and improve resolution between the three compound classes. Elution volumes shown in Scheme 8 were further modified, by accumulating the various sub-fractions into single fractions as described in Scheme 9 (Table 1), and applied to the fractionation of 2.8 mg of SEOM spiked with 14 *n*-alkanes (3.0 µg), 16 PAH (2.0 µg) and 15 oxy-PAH (2.0–2.3 µg). Subsequently, the volume of the first fraction was reduced, and the fraction comprising *n*-hexane and methylene chloride mixture (6.5:3.5) was changed to methylene chloride only (Scheme 10) (Table 1). Both SEOM samples were obtained from southwest of Mexico City. Briefly, the sampling was carried out for 72 h, using high volume samplers for PM_{2.5}. The samples were collected on 8 × 10 inch glass fiber filters covered with Teflon (TIGF), previously heated to 170 °C overnight. The filters with particulate material were extracted at

55–60 °C in a sonication bath with methylene chloride.

The performance of the separation process as well as the recovery efficiency was verified by applying Scheme 10 to three different amounts (2.6, 5.6 and 8.5 mg) of homogenized and spiked SEOM. In this case, SEOM extracts were pooled from PM_{2.5} sampled during 24 h in a similar manner to that described in a previous campaign carried out at five sampling sites around Mexico Valley during 2006 [39]. The pooled SEOM (55.1 mg) in methylene chloride was adjusted to a final volume of 2 mL. From this volume, three different aliquots were taken, containing a SEOM mass of 8.6, 18.2 and 28.3 mg, respectively. Each aliquot was mixed with a pure standard solution containing 14 *n*-alkanes (10 µg), 16 PAH (6.6 µg) and 15 oxy-PAH (6.6–7.6 µg). Each one of the three spiked SEOM solutions was adjusted to a final volume of 500 µL by evaporation and addition of solvent. The SEOM range included the one found in Mexico Valley in 2006 at five sampling sites (northwest, northeast, downtown, southwest and southeast), from 3.4 to 16.5 mg with an annual median of 7.7 mg [39], while the pure standard concentrations and mass for spiking were estimated based on the same study. From each solution an aliquot of 150 µL

was taken as reference, then mixed with three internal standards, adjusted to a final volume of 2 mL and analyzed by GC–MS. Each aliquot of 150 µL contained 2.6, 5.6 and 8.5 mg of SEOM and their respective spiked quantity of *n*-alkanes (3.0 µg), PAH (2.0 µg) and oxy-PAH (2.0–2.3 µg).

Chemical Analysis

Each collected fraction was analyzed in quadruplicate using a gas chromatograph/mass spectrometer (6890/5973N) (Agilent Technologies, USA) with a quadrupole mass filter and a model 7683 autosampler. One microliter volume was injected in splitless mode at 300 °C. A 30 m DB35-MS capillary column (J&W, USA) (0.25 mm i.d., 0.25 µm film thickness) was used. The oven temperature program was from 40 °C (hold for 1 min), then programmed at 50 °C min⁻¹ to 110 °C (hold 0 min), then at 5 °C min⁻¹ to 303 °C (hold 0 min), and finally at 20 °C min⁻¹ to 335 °C (hold 6 min). High purity helium (Infra, Mexico) was used as carrier gas at a constant flow rate of 1.2 mL min⁻¹. The mass spectrometer was operated in electron ionization mode (70 eV) and scan range of 35–500 *m/z* at a frequency of 0.83 scan s⁻¹. The identification was based on compound relative retention times combined with target and secondary (confirmation) ions, while the quantification was calculated based on relative response factors of the target ion with respect to that of their respective internal standards.

Results and Discussion

Pure Standard Solution without Atmospheric Matrix Effect

Selection of Stationary Phase

Silica normal phase is widely used to separate non-polar from polar compounds [40]. However, polar compounds on silica can be irreversibly adsorbed,

resulting in poor organic mass recoveries and modification of the sample composition [36, 37, 41]. Cyanopropyl-bonded silica is a less polar stationary phase that would reduce these problems [42]. Both normal phases were compared to two reversed-phase materials.

Schemes 2 and 3 developed a reversed-phase polarity elution train compared to Scheme 1. The introduction of acetone instead of methanol decreased the temperature and time for solvent evaporation. Experimental results for the four stationary phases suggested that silica and cyano-EA were better packing supports than the phenyl and octadecyl phases to separate oxy-PAH from *n*-alkanes and PAH. This is because, *n*-alkanes are separated from oxy-PAH by normal phases, while the reversed-phases media had almost no class-separation. Although *n*-alkanes and PAH still eluted together on the normal phase media, subsequent experiments were developed to improve upon the normal phase method.

Normal Stationary Phase Amounts

The separation efficiency was evaluated by increasing phase amounts from 0.5 to 1 g (under Scheme 4) and 2 g for silica (under Scheme 5), and from 0.5 to 2 g (under Scheme 5) for cyano-EA packed into open glass columns. The resolution efficiency among three chemical classes on silica with 1 g and with 2 g with respect to 0.5 g was not improved, nor was it with 2 g of cyano-EA with respect to 0.5 g. Oxy-PAH was separated from *n*-alkanes, while PAH co-eluted with *n*-alkanes and oxy-PAH. This behavior was attributed to an excess of solvent volume and more polar elution schemes with respect to Scheme 1. Since a similar distribution was observed with silica and cyano-EA, and based on studies describing poor recoveries and the effects on composition of the sample with silica as mentioned above, subsequent experiments focused on the use of cyanopropyl-media.

Flow Variation, Polarity Elution Schemes and Solvent Volumes

The pure standard solution mixture was eluted through 2 g of cyano-EA by

adjusting the elution flow of organic solvents to 0.4 and 2.5 mL min⁻¹ following Scheme 6, and to 1 mL min⁻¹ under Scheme 7. Both schemes were of lower polarity than Scheme 5. In Scheme 5, *n*-alkanes were 100% distributed in the non-polar fraction; and PAH co-eluted with *n*-alkanes ranging from 59 to 80% and with oxy-PAH ranging from 20 to 41%. Oxy-PAH appeared in the more-polar fractions when the flow decreased. An additional experiment was carried out using Scheme 7, in which the volumes were subdivided in each fraction. This achieved a separation of 86% of oxy-PAH from PAH, and 100% of oxy-PAH from *n*-alkanes. These results were applied to optimize the method for real samples, using Scheme 7 as a guide to optimize the elution volumes for each organic class.

Standard Solution with Atmospheric Matrix Effect

Comparison among Three Types of Cyano Phases

Proportionally increasing the solvent volumes to stationary phase amounts did not produce efficient resolution between the chemical classes. When the fraction volumes were sub-fractionated (Scheme 7), better separation was attained and the result showed the clearest class distribution. This suggests that lower volumes of solvent could be employed, and therefore the stationary phase amount could also be reduced. Besides, to accomplish an adequate concentration of target compounds with minimal sample treatment, it is desirable to recover analytes in a small solvent volume [43]. Therefore, the amount of cyano-EA was reduced from 2 to 1 g, for their comparison with cyano-UG and cyano-UV. Then, the polarity of elution solvent (Scheme 8 in Table 1) was decreased, compared with Scheme 7, that delayed both PAH and oxy-PAH elution. The Scheme 8 was applied in order to evaluate the separation efficiency on cyano-EA, cyano-UG and cyano-UV.

For all cyano phases types, PAH and *n*-alkanes were completely separated

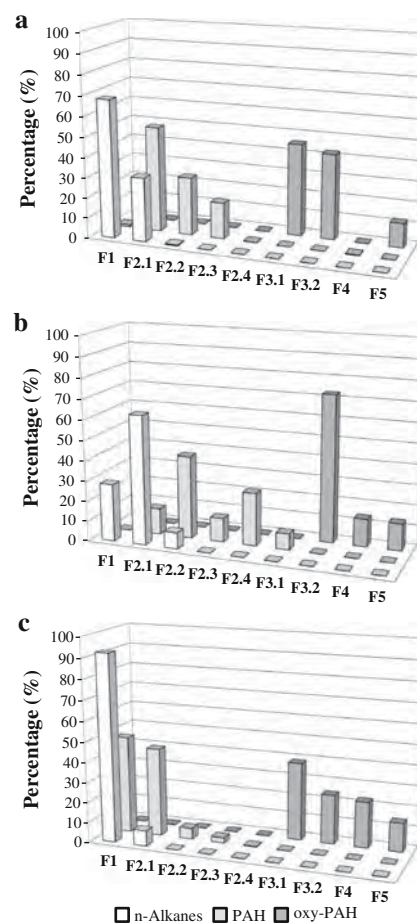


Fig. 1. Percentage distributions (mass per fraction) of organic classes on three types of cyano phases **a** cyano-EA, **b** cyano-UG, **c** cyano-UV (1 g) by Scheme 8 for their comparison

from oxy-PAH (Fig. 1), which eluted in more polar fractions with respect to elution using Schemes 6 and 7. However, PAH and *n*-alkanes were not completely separated. Thirty-two percent of total *n*-alkanes overlapped with 52% of PAH in cyano-EA (F2.1 in Fig. 1a), 72% of total *n*-alkanes with 54% of PAH in cyano-UG (F2.1 + F2.2 in Fig 1b) and 100% of total *n*-alkanes with 92% of PAH in cyano-UV (F1 + F2.1 in Fig. 1c). Since the overlap of *n*-alkanes-PAH was to a lesser extent with cyano-EA compared to cyano-UG and cyano-UV, cyano-EA was selected for the next experiments. This was probably due to the fact that the particle diameter of the cyano-EA was more homogeneous than for cyano-UG and cyano-UV, causing less flow anisotropy and channeling [44].

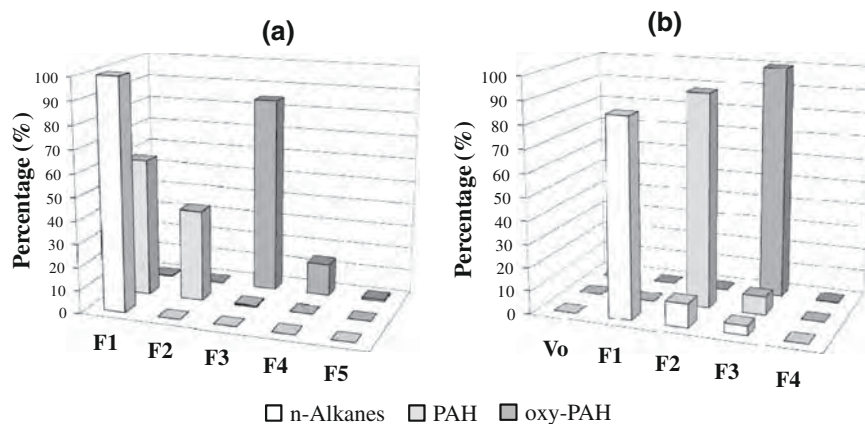


Fig. 2. Percentage distributions (mass per fraction) of organic classes by optimized elution schemes on cyano-EA (1 g); under **a** Scheme 9 and **b** Scheme 10

In addition, higher packing density for cyano-EA (0.728 g cm^{-3}) would produce a higher plate number and an expected improved separation quality than cyano-UG, which had a lower density (0.637 g cm^{-3}) [44], exhibiting less overlap between *n*-alkanes and PAH. Although cyano-UV had the highest packing density (0.784 g cm^{-3}), the extent of co-elution between *n*-alkanes and PAH could be due to higher polarity caused by non-end capping effects [45] producing poor selectivity for both chemical classes and decreasing the resolution between them (Fig. 1c).

Optimized Elution Scheme

Selecting cyano-EA, sub-fractions containing the same chemical class were combined and the fraction volume using only methylene chloride was increased (2 mL) to retain oxy-PAH until the acetone fraction (Scheme 9 in Table 1). Under these new conditions, 55% of PAH still co-eluted with *n*-alkanes (Fig. 2a); however, the volume of Fraction 1 was further reduced to 0.5 mL (Scheme 10 in Table 1). This reduction produced <10% co-elution between *n*-alkanes and PAH, and <5% of PAH with oxy-PAH (Fig. 2b). An efficient separation is required between *n*-alkanes and PAH as shown in a previous work [5] in which we have described interferences of *n*-alkanes to genotoxic response of PAH present in the same eluted fraction, with silica as the stationary phase. Similar fractionation procedures have

been employed to evaluate the genotoxic properties of different classes of organic compounds in complex environmental mixtures [46, 47]. The oxy-PAH was eluted in methylene chloride (Scheme 10) alone instead of *n*-hexane: methylene chloride (6.5:3.5) allowing gentler conditions for evaporation of methylene chloride by decreasing the evaporation temperature to 30 °C and vacuum pressure at 5 mm Hg. These conditions increased the recoveries of oxy-PAH from 19–72% (5,12-naphthacenequinone-1-pyrenecarboxaldehyde) to 59–87% (5,12-naphthacenequinone-benzophenone).

Assessment of Separation Procedure on Different SEOM Amounts Spiked with Pure Standard Solution

Scheme 10 was applied to three different amounts of extracted organic matter spiked with standard solution. The separation and recovery efficiencies were assessed as a function of solvent extracted organic matter mass. Three different amounts of real samples of SEOM were tested (2.6, 5.6, 8.5 mg). Figure 3a, is a duplicate of Fig. 2b, and as is shown, the distribution of chemical classes is reproducible. At three levels of SEOM, oxy-PAH were eluted in Fraction 3 and coeluted with <8% of PAH. *n*-Alkanes were distributed between Fractions 1 and 2, and coeluted with PAH in Fraction 2 by up to 17% in the 2.6 mg SEOM (Fig. 3a), up to 30% in

5.6 mg SEOM (Fig. 3b), and up to 32% in 8.5 mg SEOM (Fig. 3c). This was attributed to an excess of *n*-alkanes in the real samples as is shown later (Table 3). SEOM mass was not the main influence on separation efficiency among classes, but the analyte mass was. This effect was observed with PAH and oxy-PAH, in which their distribution was the same when SEOM mass increased. Although their mass also increased, it was not enough to overload the capacity of the phase. This indicates that samples with a high content of analytes, but with low SEOM mass, could affect the resolution with other classes, as in the case of *n*-alkanes (Fig. 4a, b). By contrast, in samples with high SEOM content and low analyte mass, resolution could be unaffected, as in the case of PAH and oxy-PAH.

PAH and oxy-PAH were quantitatively retained by cyano-EA up to the point that the sample volume exceeded the retention capacity of the stationary phase. This was not true for *n*-alkanes and eventually their concentrations entering and exiting the column became identical, due to stationary phase overload.

Assessment of Recovery Efficiency on Different SEOM Amounts Spiked with Pure Standard Solution

The optimized fractionation procedure was applied to three SEOMs mass that were adjusted to be similar to real samples and spiked with three different classes of target compounds. Those distinct masses were employed to test the SEOM load amount and atmospheric matrix effect on the recovery efficiency of the procedure. As was mentioned earlier, two aliquots of 150 μL from each SEOM mass (2.6, 5.6 and 8.5 mg) were taken and eluted through 1 g of cyano-EA, and a third aliquot was taken as a reference. Recoveries are shown in Table 2, which indicates the average recovery \pm confidence intervals (95%) obtained for 24 observations. The recoveries for *n*-alkanes ranged from 53 ± 17 to $101 \pm 11\%$; for PAH from 58 ± 5 to $85 \pm 9\%$; and for oxy-PAH

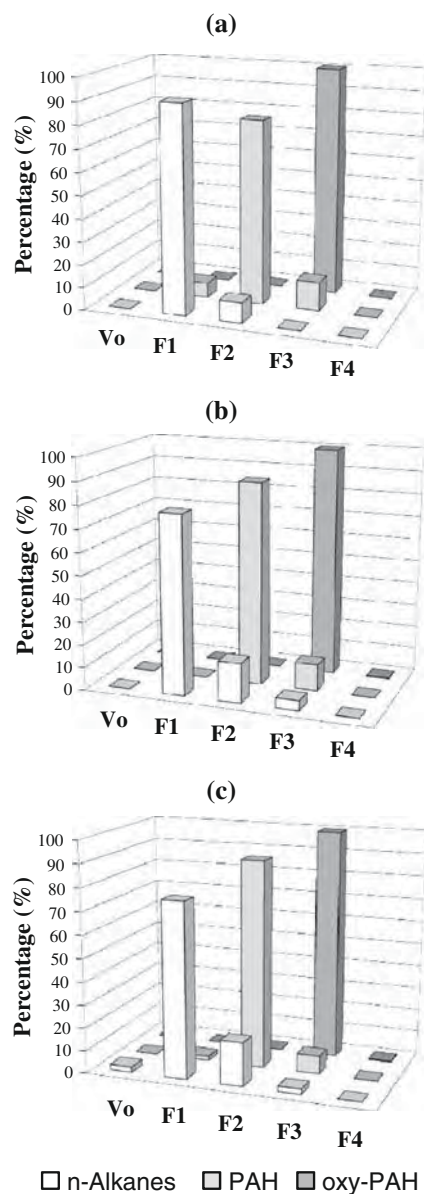


Fig. 3. Percentage distributions (mass per fraction) of organic classes in a real sample by applying different SEOM pooled masses: **a** 2.6 mg, **b** 5.6 mg, and **c** 8.5 mg; for assessment of fractionation procedure on cyano-EA (1 g) (under Scheme 10)

from 68 ± 12 to $108 \pm 9\%$. The recoveries for heavier compounds were greater than for lighter ones in all classes in accordance with their vapor pressure at room conditions. Although low efficiencies were found for some compounds, these results include all stages of sample treatment in the fractionation procedure, with three different masses within the range found in real samples. Also, the results are considering the complex

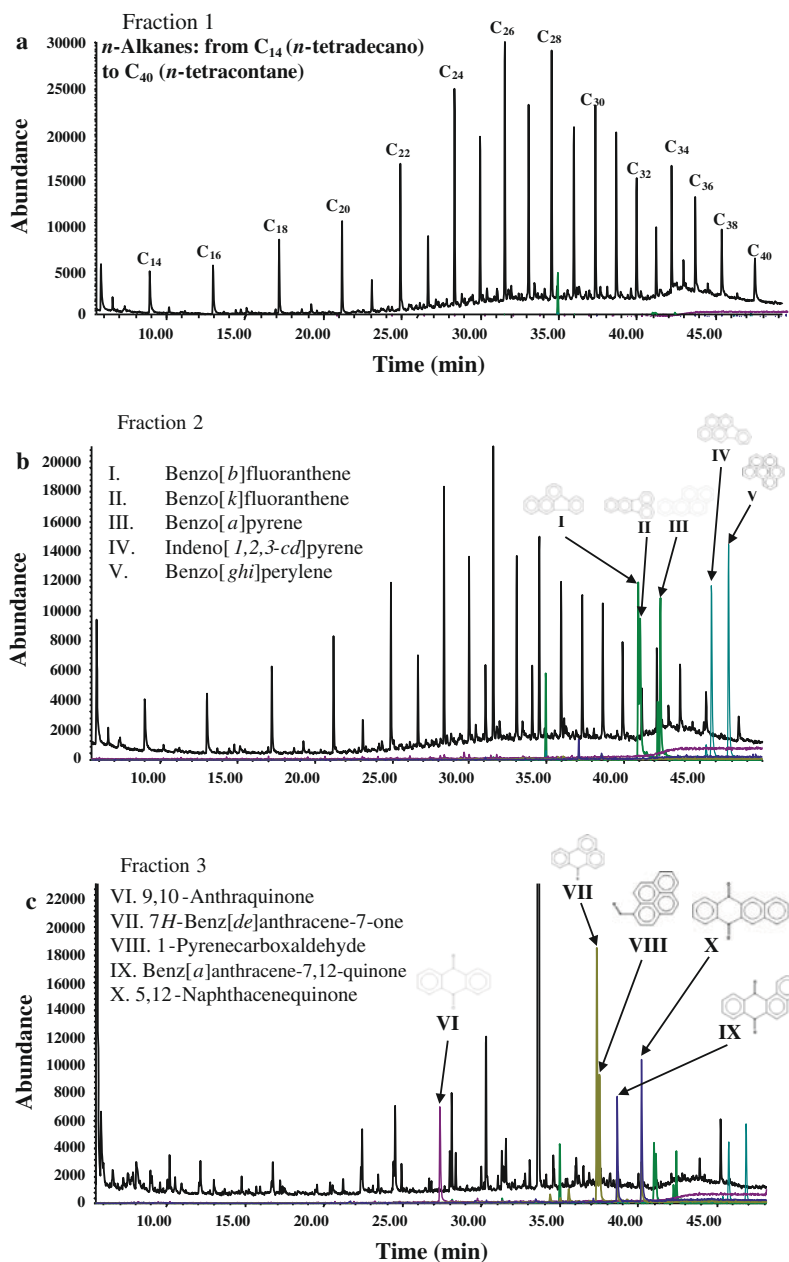


Fig. 4. Representative ions extracted from the chromatograms: *n*-Alkanes (57 *m/z*—peaks C₁₄–C₄₀ on Fraction 1 and 2), PAH (252 *m/z*—peaks I, II and III; 276 *m/z*—peaks IV and V) and oxy-PAH (208 *m/z*—peak VI; 230 *m/z*—peaks VII and VIII; and 258 *m/z*—peaks IX and X) in fractions by Scheme 10 and some organic compounds structures. Where, **a** *n*-hexane (0.5 mL), **b** *n*-hexane-methylene chloride (9:1) (2 mL) and **c** methylene chloride (10 mL)

composition of the pooled or individual SEOM from PM_{2.5} collected from several sites around Mexico Valley containing *n*-alkanes, PAH and oxy-PAH and other organic classes that result from natural and/or anthropogenic sources, which increase the probability of misidentification and estimation error. Therefore, this application would be

very reliable for SEOM and could help to diminish the determination uncertainty.

Load Capacity of the Cyano Phase

Load capacity was evaluated taking into account the total mass of *n*-alkanes and PAH based on the spiked standard

Table 2. Selected ion mass and recovery percentages ($n = 24$) of n -alkanes, PAH and oxy-PAH on SEOM spiked by final fractionation conditions (Scheme 10)

Class	Compounds	Target ion	Secondary ion	Average (%)	\pm CI (95%)
n -Alkanes ^a	n -Tetradecane	57	43, 71	64	10 (54–74)
	n -Hexadecane	57	43, 71	64	10 (54–74)
	n -Octadecane	57	43, 71	71	9 (62–80)
	n -Eicosane	57	43, 71	77	9 (68–86)
	n -Docosane	57	43, 71	84	11 (73–95)
	n -Tetracosane	57	43, 71	99	12 (87–111)
	n -Hexacosane	57	43, 71	101	11 (90–112)
	n -Octacosane	57	43, 71	97	11 (86–108)
	n -Triacontane	57	43, 71	91	11 (80–102)
	n -Dotriacontane	57	43, 71	84	12 (72–96)
	n -Tetraacontane	57	43, 71	79	14 (65–93)
	n -Hexacontane	57	43, 71	76	18 (58–94)
	n -Octacontane	57	43, 71	62	18 (44–80)
	n -Tetracontane	57	43, 71	53	17 (36–70)
PAH ^b	Naphthalene	128	129, 64	69	8 (61–77)
	Acenaphthylene	152	153, 76	69	7 (62–76)
	Acenaphthene	154	155, 77	81	8 (73–89)
	Fluorene	166	167, 83	67	6 (61–73)
	Phenanthrene	178	179, 89	58	5 (53–63)
	Anthracene	178	179, 89	70	6 (64–76)
	Fluoranthene	202	203, 101	76	8 (68–84)
	Pyrene	202	203, 101	81	7 (74–88)
	Benzo[<i>a</i>]anthracene	228	229, 114	60	7 (53–67)
	Chrysene	228	229, 114	82	9 (73–91)
	Benzo[<i>b</i>]fluoranthene	252	253, 126	63	8 (55–68)
	Benzo[<i>k</i>]fluoranthene	252	253, 126	85	9 (76–94)
	Benzo[<i>a</i>]pyrene	252	253, 126	72	10 (62–82)
	Indeno[1,2,3- <i>cd</i>]pyrene	276	277, 138	66	11 (55–77)
	Dibenzo[<i>a,h</i>]anthracene	278	279, 139	58	11 (47–69)
	Benzo[<i>ghi</i>]perylene	276	277, 138	73	11 (62–84)
oxy-PAH ^{c,d}	1,4-Naphthoquinone	158	102, 130	96	11 (85–107)
	1,2-Benzopyrone	118	146, 89	108	9 (99–117)
	Benzophenone	105	77, 182	104	8 (96–112)
	9 <i>H</i> -Fluoren-9-one	180	152, 76	95	8 (87–103)
	Xanthone	198	168, 139	94	9 (85–103)
	1 <i>H</i> -Phenalen-1-one	152	180, 76	79	12 (67–91)
	9,10-Anthraquinone	208	180, 152	78	12 (66–90)
	1,8-Naphthalic Anhydride	154	126, 198	106	12 (94–118)
	2-Methylanthraquinone	222	194, 166	84	11 (73–95)
	7 <i>H</i> -Benz[<i>de</i>]anthracen-7-one	230	202, 101	83	13 (70–96)
	1-Pyrenecarboxaldehyde	230	202, 100	99	14 (85–113)
	Benz[<i>a</i>]anthracene-7,12-quinone	258	202, 230	77	12 (65–89)
	5,12-Naphthacenequinone	258	202, 230	80	11 (69–91)
	9,10-Dihydrobenzo[<i>a</i>]pyren-7(8 <i>H</i>)one	270	214, 239	68	12 (56–80)

Confidence interval (CI) at 95% level

^a Quantified by squalene

^b Quantified by triphenylethylene

^c Quantified by 1,2,3,4,5,6,7,8-octahydroanthracene

^d 9(10*H*)-Anthracenone, was not considered due to inconsistency of recoveries

Table 3. Total estimated analyte mass in pooled SEOM fractionated under Scheme 10

Organic class (μg)	Pooled SEOM (mg)		
	2.6	5.6	8.5
$\sum 14$ n -alkanes ^a	59.5	80.3	101.3
$\sum 16$ PAH	35.0	38.7	42.1

^a The sum involves 14 n -alkanes spiked to SEOM plus 15 n -alkanes ($\text{C}_{19}\text{H}_{40}$ – $\text{C}_{33}\text{H}_{68}$) quantified according to study by [39] (Amador-Muñoz et al., submitted)

solution and the mass contained in the pooled SEOM as has been determined in an earlier work [39]. Table 3 summarizes the amount of analytes in each SEOM mass.

Table 3 indicates that 1 g of cyano-EA was overloaded when the mass of n -alkanes was around 59.5 μg , showing a coelution of 17% with PAH. However, for the case of PAH with a mass ≤ 42.1 μg , the elution in Fraction 2 contained from 89 to 95% of total PAH, and less than 10% was distributed between Fractions 1 and 3. Another study [39] showed an annual median range from 5.0 to 9.2 μg for 16 PAH and from 43.2 to 70.9 μg for C_{19} – C_{33} in a 24 h sampling period for $\text{PM}_{2.5}$ at five sites around the Metropolitan Zone of the Mexico Valley (MZMV). However the n -alkanes mass range in MZMV is found to be lower than 80.3 μg in 5.6 mg of SEOM, and this should lead to <30% co-elution with PAH under current conditions, but further optimization should be done. In the case of PAH, the range found previously is lower than the mass accounted for in this study. No oxy-PAH amounts have been reported in Mexico, however, concentrations in other cities [48, 49] indicate similar or lower concentrations of PAH, and therefore, the proposed separation method is a reliable option to be applied to samples in Mexico City and elsewhere.

Conclusions

The method proposed in this study is suitable as a preparative technique to efficiently separate oxy-PAH from n -alkanes and PAH contained in extracted organic matter from atmospheric particles ≤ 2.5 μm . The method was applied to $\text{PM}_{2.5}$ collected in a 24 h sampling period carried out using high volume samplers in Mexico City. This method considered different amounts of solvent extracted organic material, although SEOM mass did not have a significant influence on separation efficiency among chemical classes. In contrast, the analytes' mass contained in the SEOM did affect efficiency, at least for n -alkanes. Recoveries were calculated employing standard addition on real samples. The

present method considered the matrix effect and not only for pure standards, making it more reliable for quantification of these compounds in the complex atmospheric matrix.

Acknowledgments

The authors wish to acknowledge the Programa de Maestría y Doctorado en Ciencias Químicas, Coordinación de Estudios de Posgrado of the Universidad Nacional Autónoma de México for a scholarship given to doctorate student Mario Alfonso Murillo Tovar. Projects PAPIIT IN230307 and IN116810-3 are thanked for financial support. Special thanks are extended to Dana Erickson and Winston Smith of the Peace Corps for the revision of this paper, to Leonel Hernández Mena, Edgar Antonio Pineda Arellano, Francisco Estrada Porrúa, Wilfrido Gutiérrez López, Manuel García-Espinoza, Josué Vázquez-Téllez, María de la Luz Medina Valtierra, Brenda Valle Hernández, Martha Elena Díaz Murillo and Apolinar Ibañez García for their technical assistance. Claudio Amescua and Pietro Villalobos for their writing assistance. R-VP and O-AM wishes to acknowledge the support of Varian-México, to Manuel Valencia of Alltech-GRACE Discovery Science-México for SPE consumables, to Manuel Muñoz and Alejandro Salazar of Agilent Technologies-México and Carlos Frago, Elizabeth Nariñan and Lino Gómez of ABC Instrumentación Analítica for facilities support.

References

1. Dagher Z, Garçon G, Billet S, Gosset P, Ledoux F, Courcot D, Aboukais A, Shirali P (2006) *Toxicology* 225:12–24. doi:10.1016/j.tox.2006.04.038
2. Pope CA III, Burnett RT, Thun MJ, Calle EE, Krewski D, Ito K, Thurston GD (2002) *JAMA* 287:1132–1141
3. de Kok TM, Driessche HA, Hogervorst JG, Briedé JJ (2006) *Mutat Res* 613:103–122. doi:10.1016/j.mrrev.2006.07.001
4. IARC (1987) Monographs on the evaluation of the carcinogenic risk of chemical to humans 46:41–367
5. Villalobos-Pietrini R, Hernández-Mena L, Amador-Muñoz O, Munive-Colin Z, Bravo-Cabrera JL, Gómez-Arroyo S,

- Frias-Villegas A, Waliszewski S, Ramírez-Pulido J, Ortiz-Muñoz R (2007) *Mutat Res* 634:192–204. doi:10.1016/j.mrgentox.2007.07.004
6. Lewtas J, Chuang J, Nishioka M, Peterson B (1990) *Int J Environ Anal Chem* 39:245–254
7. Durant JL, Busby WF, Lafleur AL, Penman BW, Crespi CL (1996) *Mutat Res* 371:123–157
8. Enya T, Suzuki H, Watanabe T, Hirayama T, Hisamatsu Y (1997) *Environ Sci Technol* 31:2772–2776
9. Howsam M, Jones KC (1998) Sources of PAHs in the environment. In: Neilson AH (eds) *The handbook of environmental chemistry. Anthropogenic compounds, Part I. PAHs and related compounds*, vol 3. Springer, Berlin, pp 137–174
10. Allen JO, Dookeran N, Taghizadeh K, Lafleur AL, Smith KA, Sarofim AF (1997) *Environ Sci Technol* 31:2064–2070
11. Albinet A, Leoz-Garziandia E, Budzinski H, Villenave E (2006) *J Chromatogr A* 1121:106–113. doi:10.1016/j.chroma.2006.04.043
12. Clean Air Act Amendments (1990) In: Conference report to accompany S. 1630, Report No. 101-952, Washington, DC, USA pp 139–162
13. Mazurek MA, Cass GR, Simoneit BRT (1989) *Aerosol Sci Technol* 10:408–420
14. Rogge WF, Mazurek MA, Hildemann LJ, Cass GR, Simoneit BRT (1993) *Atmos Environ* 27:1309–1330
15. Saxena P, Hildemann LJ (1996) *J Atmos Chem* 24:57–109
16. Welthagen W, Schnelle-Kreis J, Zimmermann R (2003) *J Chromatogr A* 1019: 233–249. doi:10.1016/j.chroma.2003.08.053
17. Feng J, Guo Z, Chan CK, Fang M (2007) *Atmos Environ* 41:1924–1935. doi: 10.1016/j.atmosenv.2006.10.064
18. Simoneit BRT (1984) *Atmos Environ* 18:51–67
19. Kavouras IG, Lawrence J, Koutrakis P, Stephanou EG, Oyola P (1999) *Atmos Environ* 33:4977–4986
20. Wang G, Huang L, Zhao X, Niu H, Dai Z (2006) *Atmos Res* 81:54–66
21. Abas MRB, Simoneit BRT (1996) *Atmos Environ* 30:2779–2793
22. König J, Balfanz E, Funcke W, Romanowski T (1983) *Anal Chem* 55:599–603
23. Kallio M, Hyötyläinen T, Lehtonen M, Jussila M, Hartonen K, Shimmo M, Riekkola ML (2003) *J Chromatogr A* 1019:251–260. doi:10.1016/S0021-9673(03)01238-X
24. Letzel T, Rosenberg E, Wissiack R, Grasserbauer A, Niessner R (1999) *J Chromatogr A* 855:501–514
25. Arey J, Harger WP, Helmig D, Atkinson R (1992) *Mutat Res* 281:67–76
26. Marvin C, Hewitt LM (2007) *Mutat Res* 636:4–35. doi:10.1016/j.mrrev.2006.05.001
27. Lewtas J (2007) *Mutat Res* 636:95–133. doi:10.1016/j.mrrev.2007.08.003
28. Piñeiro-Iglesias M, Miñones-Vásquez M, Vázquez-Blanco E, Muniategui-Lorenzo S, López-Mahía P, Prada-Rodríguez D (2002) *Chromatographia* 56:483–488

29. Meloan CE (1999) In: *Chemical separations: principles, techniques and experiments: a combined text, laboratory manual, and reference*. Wiley, New York
30. Alsberg T, Stenberg U, Westerholm R, Strandell M, Rannug U, Sundvall A, Romert L, Bernson V, Petterson B, Tof-tård R, Franzén B, Jansson M, Gustafsson JA, Egeback KE, Tejle G (1985) *Environ Sci Technol* 19:43–50
31. DeMarini DM, Williams RW, Brooks LR, Taylor MS (1992) *Int J Anal Chem* 48:187–199
32. Saldarriaga H, Villalobos R, Solano G, Amador O, Gaspariano R, Palma R, Munive Z (2008) *Polycyclic Aromat Compd* 28:578–597
33. Gundel LA, Mahanama KRR, Daisey JM (1993) *J Chromatogr A* 629:75–82
34. Delhomme O, Millet M, Herches P (2008) *Talanta* 74:703–710. doi:10.1016/j.talanta.2007.06.037
35. Oda J, Nomura S, Yasuhara A, Shibamoto T (2001) *Atmos Environ* 35:4819–4827
36. Lafleur AL, Braun AG, Monchamp PA, Plummer EF (1986) *Anal Chem* 58:568–572
37. Sicherer-Roetman A, Ramal M, Voogd CE, Bloemen HJ (1988) *Atmos Environ* 22:2803–2808
38. Villalobos-Pietrini R, Amador-Muñoz O, Waliszewski S, Hernández-Mena L, Munive-Colin Z, Gómez-Arroyo S, Bravo-Cabrera JL, Frias-Villegas A (2006) *Atmos Environ* 40:5845–5857. doi: 10.1016/j.atmosenv.2006.05.009
39. Amador-Muñoz O, Villalobos-Pietrini R, Miranda J, Vera-Avila LE, Arey J (2010) Spatial and temporal variability of organic matter and specific chemical organic compounds in PM_{2.5} in Mexico Valley. *Sci Total Environ*
40. König J, Balfanz E, Funcke W, Romanowski T (1983) *Anal Chem* 55:599–603
41. Finlayson-Pitts JB, Pitts NJ Jr (2000) In: *Chemistry of the upper and lower atmosphere: theory, experiments, and applications*, Academic Press, San Diego
42. Pedersen DU, Durant JL, Penman BW, Crespi CL, Hemond HF, Lafleur AL, Cass GR (2004) *Environ Sci Technol* 38:682–689
43. Poole CF, Gunatilleka AD, Sethuraman RJ (2000) *J Chromatogr A* 885:17–39
44. Poole CF, Poole SK, Seibert DS, Chapman CM (1997) *J Chromatogr B* 689:245–259
45. Thurman EM, Mills MS (1998) Solid-phase extraction: principles and practice. In: Winefordner JD (ed) *A series of monographs on analytical chemistry and its applications*, vol 147. Wiley, New York
46. Schuetzle D, Lewtas J (1986) *Anal Chem* 58:1060A–1075A
47. Casellas M, Fernández P, Bayona JM, Solanast AM (1995) *Chemosphere* 30:725–740
48. Oda J, Nomura S, Yasuhara A, Shibamoto T (2001) *Atmos Environ* 35:4819–4827
49. Leotz-Gartziandia E, Tatro V, Carlier P (2000) *Polycyclic Aromat Compd* 20:245–258

ENV23**Selective separation of n-alkanes, PAHs and oxy-PAHs in complex organic mixtures extracted from airborne particulate matter $\leq 2.5 \mu\text{m}$**

Murillo-Tovar, M., México City/ MEX, Amador-Muñoz, O., México City/ MEX, Villalobos-Pietrini, R.*, México City/ MEX, Marriott P. J., Melbourne/AUS

Grupo de Mutagénesis Ambiental, Centro de Ciencias de la Atmósfera, Universidad Nacional Autónoma de México, 04510, Distrito Federal, México, * - rvp@atmosfera.unam.mx

The solvent extracted organic matter (SEOM) sorbed onto airborne particulate matter constitute a complex mixture of several classes of organic compounds^[1], which increases the probability of misidentification and quantification errors of target compounds. In order to minimize these drawbacks, chromatographic techniques including high performance liquid chromatography^[2] and open column liquid chromatography^[3] have been employed as efficient clean-up methods to separate the organic compound families from the underlying matrix prior to other quantitative analytical techniques such as gas chromatography and HPLC.

A fast and simple clean up method was optimized to selectively separate polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs), oxy-PAHs and n-alkanes contained in solvent extracted organic matter (SEOM) from atmospheric particles less than $2.5 \mu\text{m}$ ($\text{PM}_{2.5}$) in México City air. Multivariate parameters were adjusted on pure standards without SEOM (no matrix effect) and on SEOM spiked with pure standard solutions (with matrix effect) and included: type and amount of phase; packing densities; type, proportion and volumes of solvents; and mobile phase elution flow rates. These were tested under several elution schemes. Cyanopropyl-bonded silica was the selected stationary phase. The separation method was applied on real samples at three concentration levels of SEOM (2.6, 5.6 and 8.5 mg) spiked with n-alkanes, PAHs and oxy-PAHs. n-Alkanes overlapped with PAHs due to an excess of the n-alkanes which overloaded the capacity of the stationary phase. The extent of co-elution was found to be less than 10% between n-alkanes with PAHs, and less than 5% between PAHs with oxy-PAHs. Mean recoveries ($\pm 95\%$ confidence interval) for n-alkanes ranged from $53\pm 17\%$ (n-tetracontane) to $101\pm 11\%$ (n-hexacosane), for PAHs from $58\pm 5\%$ (phenanthrene) to $85\pm 9\%$ (benzo[k]fluoranthene) and for oxy-PAHs from $68\pm 11\%$ (9,10-Dihydrobenzo[a]pyren-7(8H)one) to $108\pm 9\%$ (1,2-Benzopyrone). This method is an efficient separation procedure to be applied to oxy-PAHs, PAHs and n-alkanes in complex organic mixtures extracted from $\text{PM}_{2.5}$ over different seasons and sites of México City.

Literature: [1] Welthagen, W., et al. *J. Chromatogr. A* **2003**, 1019, 233-249. [2] Letzel, T., et al. *J. Chromatogr. A* **1999**, 855, 501-514. [3] Villalobos-Pietrini, R., et al. *Mutat. Res.* **2007**, 634, 192-204.

Acknowledgments: Project PAPIIT IN230307 for financial support and UNAM for scholarship given to doctorate student Mario Alfonso Murillo Tovar.



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE TLAXCALA
Academia Nacional de Ciencias Ambientales
VIII CONGRESO INTERNACIONAL DE CIENCIAS AMBIENTALES
XIV CONGRESO NACIONAL DE CIENCIAS AMBIENTALES
3ER CONGRESO DE MEDIO AMBIENTE



Ciencias
Ambientales

SANTA CRUZ TLAXCALA, MÉXICO, 1-5 DE JUNIO DE 2009

CA 556-O

SEPARACIÓN SELECTIVA Y EFICIENTE DE OXI-HAP EN EXTRACTOS ORGÁNICOS DEL MATERIAL PARTICULADO $\leq 2.5 \mu\text{M}$ ($\text{PM}_{2.5}$)

Mario Alfonso Murillo-Tovar¹, Omar Amador-Muñoz¹, Rafael Villalobos- Pietrini¹, Philip J. Marriott²

¹Centro de Ciencias de la Atmósfera, Universidad Nacional Autónoma de México, circuito exterior s/n, Ciudad Universitaria, 04510, México D.F. Fax: 56160789, *mario@atmosfera.unam.mx ²Australian Centre for Research on Separation Science, School of Applied Sciences, RMIT, University

Área: Contaminación Ambiental
Modalidad: Oral

Palabras clave: oxi-HAP, extracción en fase sólida, $\text{PM}_{2.5}$

La materia orgánica extraída (MOE) de las partículas es una mezcla compleja constituida por diversas clases de compuestos (1) que incrementan la probabilidad de errores en la identificación y la cuantificación de los analitos de interés, para minimizarlos se han aplicado técnicas cromatográficas (2, 3) que separan las familias orgánicas y purifican el extracto orgánico de la muestra.

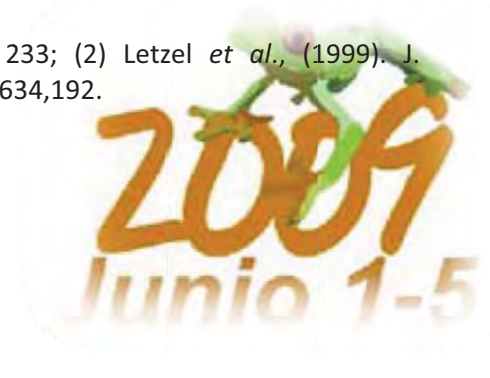
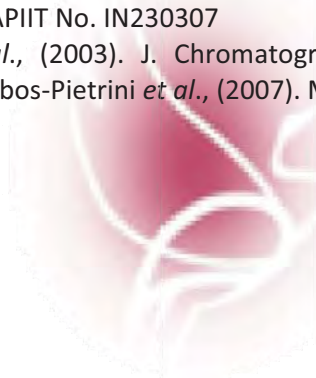
El objetivo fue encontrar las condiciones óptimas para separar los oxi-HAP de HAP y n-alcenos en la MOE de las $\text{PM}_{2.5}$ en la Zona Metropolitana del Valle de México (ZMVM).

Los parámetros se ajustaron mediante ensayos con soluciones de estándares puros (sin efecto matriz) y material orgánico extraído adicionado con estándares puros (con efecto matriz) colocados sobre la fase estacionaria y eluidos con varios esquemas para probar múltiples variables: tipo y cantidad de fase estacionaria; densidad del empaque; proporción, clase y volumen del disolvente; y flujo de la fase móvil.

El método de purificación se optimizó para separar selectivamente oxi-HAP de n-alcenos y HAP con cianopropil-silica y se aplicó a muestras reales en tres masas de material orgánico extraído (2.6, 5.6 y 8.5 mg) adicionadas con estos compuestos. Los n-alcenos coeluyeron con los HAP por un exceso de n-alcenos que superó la capacidad de la fase estacionaria. Los oxi-HAP se separaron totalmente de los n-alcenos y de los HAP. Se encontraron rangos de recuperación promedio \pm intervalos de confianza (95%) para n-alcenos de $53 \pm 17\%$ (n-tetracontano) a $101 \pm 11\%$ (n-hexacosano), para HAP de $58 \pm 5\%$ (fenantreno) a $85 \pm 9\%$ (benzo[k]fluoranteno) y para oxi-HAP de $68 \pm 11\%$ (9,10-Dihidrobenzo[a]piren-7(8H)ona) a $108 \pm 9\%$ (1,2-Benzopirona). El método es una opción confiable para aplicarlo en extractos orgánicos de $\text{PM}_{2.5}$ en diferentes sitios y épocas en la ZMVM.

Agradecimientos: El apoyo técnico de María de la Luz Medina, Martha Elena Díaz, Apolinar Ibáñez y Brenda Valle. Financiamiento: Proyecto PAPIIT No. IN230307

Referencias. (1) Welthagen *et al.*, (2003). J. Chromatogr. A 1019, 233; (2) Letzel *et al.*, (1999). J. Chromatogr. A 855, 501; (3) Villalobos-Pietrini *et al.*, (2007). Mutat. Res. 634,192.



Separación selectiva de oxi-HAPs en la materia orgánica extraída de partículas atmosféricas $\leq 2.5 \mu\text{m}$ (PM_{2.5})

M. A. Murillo-Tovar, O. Amador-Muñoz, M. Medina-Valtierra, M. A. Ibañez García, R. Villalobos-Pietrini*

Grupo de Mutagénesis Ambiental, Centro de Ciencias de la Atmósfera, UNAM. Circuito Exterior s/n, Ciudad Universitaria, 04510, México D.F., Tel. 56224077, Fax. 56160789, *rvp@atmosfera.unam.mx

Introducción. Los derivados oxigenados de los hidrocarburos aromáticos policíclicos (oxi-HAPs) se emiten por procesos de combustión o se forman en la atmósfera por foto-oxidación entre los HAPs y los oxidantes atmosféricos (OH^{*} y O₃)^{1,2}. Los oxi-HAPs representan un riesgo a la salud humana por sus conocidas propiedades mutagénicas³, sus concentraciones traza en el material orgánico extraído de las partículas y la compleja composición de éstas, son un reto analítico para su correcta identificación y cuantificación. Este estudio propone un método para el análisis de oxi-HAPs, haciendo énfasis en su pre-separación de la mezcla de compuestos en los extractos orgánicos de las PM_{2.5} por cromatografía líquido-sólido (CLS).

Objetivos. Encontrar las condiciones óptimas de purificación para la separación selectiva de los oxi-HAPs en los extractos orgánicos de las PM_{2.5}.

Metodología. Experimentos preliminares delinearon el proceso de purificación de los oxi-HAPs sin considerar los efectos de la matriz, optimizando variables como: cantidad, altura y tipo de fase estacionaria (cianopropilo y sílica -fases normales- y en C₁₈ y fenilo -fases reversas-); volumen, proporción y flujo de disolventes; así como el proceso de reducción de los eluyentes. Resultados diferentes fueron observados al aplicar dichas condiciones para purificar oxi-HAPs en extractos orgánicos fortificados con 17 n-alcenos, 16 HAPs, 16 nitro-HAPs y 15 oxi-HAPs. Para ajustar dichas variables, dicho extracto se ensayó sobre cianopropilo y sílica, porque ofrecieron las mejores separaciones. La elusión se hizo con diferentes proporciones de disolventes orgánicos de polaridad creciente. El análisis se realizó por cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas en "scan" de 35 a 300 u, en impacto electrónico.

Resultados. Separación. La fase estacionaria de cianopropilo ofreció mayores recuperaciones (~10 %) con respecto a sílica, por lo que fue seleccionada para separar a los oxi-HAPs fortificados sobre 2.6, 5.6 y 8.4 mg de materia orgánica (intervalo de masa en muestreos de 24 h de PM_{2.5}⁴) eluidos con las proporciones ajustadas de los disolventes: n-hexano, n-hexano:cloruro de metileno, cloruro de metileno y metanol. Con este esquema, los n-alcenos eluyeron entre la fracción 1 y la 2, los HAPs en la 2 y los oxi-HAPs en la 3.

Recuperación. Valores promedio entre 51 y 103 % fueron observados (n=5) (Figura 1). Las eficiencias son aceptables considerando la complejidad de los extractos orgánicos⁵, las concentraciones de los oxi-HAPs en el orden de ppb a ppm y el efecto matriz en el intervalo de trabajo especificado.

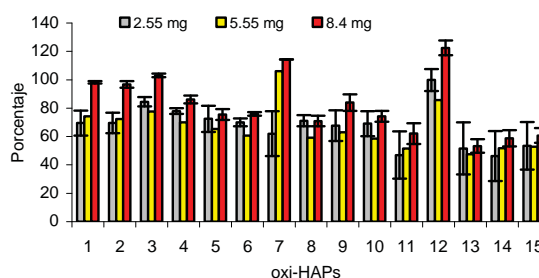


Figura 1. Porcentajes de recuperación en la purificación de 15 oxi-HAPs por CLS con cianopropilo empleando tres cantidades de material orgánico. 1,4-Naftoquinona (1), 1,2-Benzopirona (2), Benzofenona (3), 9-Fluorenona (4), Xantona (5), Perinaftenona (6), 9(10H)-Antracena (7), 9,10-Antracenediona (8), Anhidrido-1,8-Naftálico (9), 2-Metilantracenediona (10), Benzantrenona (11), 1-Pirenocarboxialdehído (12), Benzantrenoquinona (13), 5,12-Naftacenoquinona (14), 9,10-Dihidrobenzo[a]piren3(4H)ona (15).

Conclusiones. El método de purificación propuesto es selectivo y reproducible para la separación de los oxi-HAPs. Recuperaciones aceptables fueron observadas independientemente de la cantidad masa del extracto orgánico fraccionado. Este método permitirá analizar los oxi-HAPs en diversos puntos de la Ciudad de México, para conocer el grado de exposición de la población

Agradecimientos

Dirección General de Estudios de Posgrado de la UNAM por la beca de doctorado de M. A. Murillo Tovar. Proyecto PAPIIT No. IN230307 por el financiamiento de este estudio.

Referencias

1. Barbas y col. (1996). *Environ. Sci. Technol.* 30, p. 1776.
2. Allen y col. (1997). *Environ. Sci. Technol.* 31, p. 2064.
3. Hannigan y col. (1998). *Environ. Sci. Technol.* 32, p. 3502.
4. Amador-Muñoz y Villalobos-Pietrini (Comunicación personal).
5. Welthagen y col. (2003). *J. Chromatogr. A*, 1019, p. 233.