



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE QUÍMICA

DETECCIÓN DE ESPECIES PARAMAGNÉTICAS Y
MEDICIÓN DE SU POTENCIAL OXIDATIVO, EN PM_{10} Y
 $PM_{2.5}$ DE LA CIUDAD DE MÉXICO POR MEDIO DE
RESONANCIA PARAMAGNÉTICA ELECTRÓNICA.

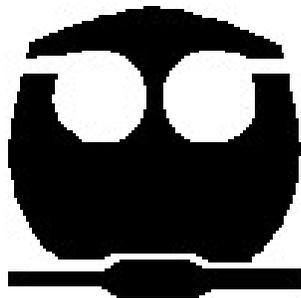
TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

INGENIERO QUÍMICO

PRESENTA

RAUL OMAR QUINTANA BELMARES



MÉXICO, D.F.

2006



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

JURADO ASIGNADO:

PRESIDENTE	PROF. JOSEFINA ELIZALDE TORRES
VOCAL	PROF. JAVIER MIRANDA MARTÍN DEL CAMPO
SECRETARIO	PROF. ERNESTO ALFARO MORENO
1^{ER.} SUPLENTE	PROF. ALFONSO DURAN MORENO
2^{DO.} SUPLENTE	PROF. MANUEL DE JESÚS SALMÓN SALAZAR

SITIO DONDE SE DESARROLLÓ EL TEMA:
INSTITUTO NACIONAL DE CANCEROLOGÍA (INCAN)
INSTITUTO DE QUÍMICA, UNAM (IQ-UNAM)

ASESOR DEL TEMA:

PROF. ERNESTO ALFARO MORENO _____

SUPERVISOR TÉCNICO:

PROF. VIRGINIA GÓMEZ VIDALES _____

SUSTENTANTE:

RAUL OMAR QUINTANA BELMARES _____

DEDICATORIAS

A María Luisa, por todo tu amor y porque todos tus esfuerzos no fueron en vano, mi gratitud y agradecimiento siempre, misión cumplida. Te quiero mucho madre.

A mi hermano Saúl, por ser quien eres, te quiero y respeto.

A Fabiola, de forma especial con mucho cariño, por tu aliento y comprensión, por compartirlo todo, se que lo vamos a lograr. Te Amo.

A la Familia Tello Castilla, en especial a Paty. Por la educación que me dieron y como agradecimiento por los sacrificios que hicieron para que llegara hasta aquí.

A doña Luisita, por ser ese pilar tan importante en mi familia, cómo pagarle abuela.

A mis tías Sara Elia y Elsa, por su apoyo incondicional en todo momento.

A Alfredo Benítez, por todas tus recomendaciones y enseñanzas.

A la Barda, Alejandro, Bárbara, Brenda, Christian, Fabiola, Francisco, Gabriel, Israel, Jonathan, Joel, Juvenal, Luis, Melissa, Nayeli, Oscar, Oswaldo, Quetzalcoatl, Sandra, Valter, Verónica, Yebel, Zaida, por los innumerables buenos momentos y los que nos faltan. Los quiero mucho son parte de mi familia. Muchas Gracias por todo.

A mi Gloriosa UNAM, por ser la mejor institución de México.

A la Familia Montaignac y a todos mis alumnos, por sus grandes experiencias, he aprendido mucho de ustedes.

A la memoria de mi AMIGO el M en C Javier Vera Escamilla, por su gran hermandad, su ejemplo y todos sus recuerdos. Se te extraña.

AGRADECIMIENTOS

Quisiera agradecer a mi amigo el Dr. Ernesto Alfaro Moreno por haberme acercado a la investigación y estimulado para dar este gran paso después de tanto tiempo. Seguimos adelante, triunfando y abriendo caminos.

Agradezco en especial a la M en C Virginia Gómez Vidales por su entrega, dedicación, tiempo y por compartir sus conocimientos. He aprendido mucho de ti Viky, gracias.

A la Biol. Exp. Geraldine Flores Rojas por tu gran ayuda en todo momento y aliento para no dejarme vencer, además de tus valiosas aportaciones, gracias amiga.

Deseo expresar mi agradecimiento al grupo de trabajo del INCAN, Dra. Claudia García Cuellar, M en C Yesennia Sánchez, M en C Víctor Torres, M en C Flor Martínez, Biol. Yazmín Segura, QFB Inés Vázquez, Biol. Graciela Yescas y al Dr. Enrique Pérez Cárdenas, por sus recomendaciones y apoyo en todo momento.

Al Dr. Álvaro Osornio Vargas por brindarme toda tu confianza y apoyo para salir adelante, y por compartir tu conocimiento.

A la Dra. Irma Rosas Pérez, por apoyo desinteresado para realizar este trabajo. Al Dr. Manuel Salmón Salazar quien con su valiosa ayuda nos abrió las puertas del Instituto de Química de la UNAM.

Al Dr. Javier Miranda y a la M en C Josefina Elizalde, por sus valiosas aportaciones durante el desarrollo de esta tesis, sinceramente gracias.

Al M en C Valter Armando Barrera, por tu ayuda para desarrollar este trabajo.

A la M en C Imelda Velázquez Montes, por sus consejos y ayuda para terminar mis proyectos.

A la UNAM y a la Facultad de Química por dejarme ser parte de su historia.

Este trabajo se llevó a cabo en los laboratorios de la Subdirección de Investigación Básica del Instituto Nacional de Cancerología SSA y en el Laboratorio de Resonancia Paramagnética Electrónica del Instituto de Química de la UNAM, bajo la dirección del Dr. Ernesto Alfaro Moreno y de la M en C Virginia Gómez Vidales.

El desarrollo de este trabajo fue posible gracias al apoyo financiero recibido por el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología en los proyectos CONACYT 34547-M y CONACYT 43138-M, CONSERVA-2001 del Gobierno del D.F. y CAM-MILAGRO 2006.

ÍNDICE

1) Abreviaturas.	7
2) Resumen.	8
3) Introducción.	10
a. Contaminación del aire.	10
b. PM ₁₀ y PM _{2.5} .	12
c. Características de la ZMCM.	14
d. Resonancia paramagnética electrónica.	17
e. Justificación.	20
4) Hipótesis.	21
5) Objetivos.	21
6) Material y métodos.	22
a. Muestreo y recuperación de partículas.	22
b. Determinación de la concentración de especies paramagnéticas en PMs de los años 1991, 2002 y 2003.	24
c. Generación del radical hidroxilo para la evaluación de la actividad Pro-oxidante de las PMs por el método de RPE.	25
d. Inhibición de la capacidad oxidante de las PMs.	26
e. Cálculo de la concentración de SPIN de las PMs.	26
f. Análisis estadístico.	27
7) Resultados.	28
a. Determinación de la concentración de especies paramagnéticas en PMs de los años 1991, 2002 y 2003.	28
b. Curvas de concentración.	29
c. Concentración de especies paramagnéticas en PM ₁₀ y PM _{2.5} de los años 1991, 2002 y 2003.	30
d. Generación del radical hidroxilo para la evaluación de la actividad Pro-oxidante de las PMs por el método de RPE.	32
e. Inhibición de la capacidad oxidante de las PMs.	33
8) Discusión.	37
a. Concentración de especies paramagnéticas.	38
b. Evaluación del potencial oxidante de las PMs.	39
c. El usos de la RPE como herramienta de monitoreo.	41
9) Propuesta.	43
10) Conclusiones.	44
11) Bibliografía.	45
12) Bibliografía complementaria.	49

ABREVIATURAS

Aeropartículas	PMs
Aeropartículas con diámetro aerodinámico promedio menor o igual a 10 µm	PM ₁₀
Aeropartículas con diámetro aerodinámico promedio menor o igual a 2.5 µm	PM _{2.5}
Aeropartículas con diámetro aerodinámico promedio menor o igual a 0.1 µm	PM _{0.1}
Aeropartículas suspendidas totales	PST
Resonancia paramagnética electrónica	RPE
Zona metropolitana de la ciudad de México	ZMCM
5,5-Dimetil-1-pirrolina-N-óxido	DMPO
Lipoproteínas de baja densidad	LDL
Solución amortiguadora de fosfato	PBS
Deferoxamine mesylate salt	DFOM
4-hydroxy-2,2,6,6-tetramethylpiperidine-N-oxyl	TEMPOL
2,2,6,6-tetramethyl-1-piperidinyloxy	TEMPO
Análisis estadístico de varianza	ANOVA

RESUMEN

Estudios epidemiológicos y experimentales han demostrado que las partículas atmosféricas (PMs) contaminantes, se relacionan con incrementos en la mortandad y visitas a salas de emergencia causados por enfermedades vasculares y respiratorias, además de producir efectos de tipo biológico como daño al DNA, lipoperoxidación y oxidación de LDL. Algunos estudios sugieren que estos daños podrían deberse a efectos relacionados con la capacidad oxidante de las partículas, además de generar radicales libres por medio de especies reactivas de oxígeno.

Dentro de los múltiples componentes presentes y probables responsables del comportamiento pro-oxidante de las PMs se encuentran metales de transición y algunos componentes orgánicos. Por esto se ha utilizado a la Resonancia Paramagnética Electrónica (RPE), que es una herramienta muy poderosa para detectar e identificar especies con electrones desapareados. Esto, acoplado al uso de atrapadores de espín como el DMPO (5,5-dimetil-1-pirrolina-N-óxido), permite medir el efecto pro-oxidante de diversas sustancias.

En este estudio se presenta un análisis por medio de RPE para evaluar la concentración de especies paramagnéticas, y el potencial oxidante de las PMs utilizando un atrapador de radicales libres de oxígeno DMPO, para conocer las partículas con mayor actividad pro-oxidante.

Se utilizaron PM₁₀ y PM_{2.5} de tres zonas (industrial, comercial y residencial) de la Ciudad de México de los años 1991, 2002 y 2003. La detección de especies paramagnéticas se hizo con 3 mg de PMs utilizando un equipo de RPE (JEOL J TE-300) y las concentraciones [SPIN/mg] fueron calculadas mediante el estándar TEMPOL usando el software ESPRIT 382 serie V1.916. En la generación de OH• como evaluación de la actividad pro-oxidante se utilizaron 0.3 mg de PMs en 100 µL de PBS, con DMPO (0.2 M) y H₂O₂ (0.05 M) y se usó deferoxamina (0.05 M) como inhibidor de metales en la producción de OH•.

Las partículas del norte en el año de 1991 presentan una mayor concentración de especies paramagnéticas en comparación con todas las partículas de las diferentes zonas y años de muestreo (p=0.001). Esta concentración de especies paramagnéticas

en las partículas ha disminuido de 1991 a 2003. El comportamiento de las PMs del 2002 es intermedio entre las muestras de 1991 y 2003.

En la evaluación del potencial oxidante con DMPO, las partículas 2003 son las más pro-oxidantes ($p=0.067$).

Las $PM_{2.5}$ tienen una concentración de especies paramagnéticas baja en comparación con las PM_{10} , el potencial oxidante que presentan las $PM_{2.5}$ es mayor para las partículas del sur en 2002 y centro en 2003.

El efecto de la Deferoxamina como antioxidante se observó en las partículas, disminuyendo la actividad oxidante para las partículas PM_{10} del norte ($p=0.000$) y con una disminución discreta para las del centro y sur. Para las $PM_{2.5}$ no hubo disminución del potencial oxidante para los años 2002 y 2003.

En conclusión, las PMs presentan diferencias significativas en la concentración de especies paramagnéticas y en el potencial oxidante, dependiendo del tamaño, zona y año en que fueron colectadas. Quedará por evaluar la relación que existe entre el potencial oxidante y los efectos biológicos.

INTRODUCCIÓN

Existen diversos factores que afectan constantemente al ambiente, alterando las propiedades físicas y químicas de los sistemas naturales (agua, aire y suelo) debido a la presencia de sustancias químicas y componentes biológicos ajenas al medio y que influyen de manera perjudicial a los seres vivos que lo habitan; a esto se le denomina contaminación.

La contaminación puede deberse a factores naturales y/o antropogénicos. Como contaminantes naturales tenemos cenizas producidas por erupciones volcánicas, incendios forestales, suelo erosionado por vientos que arrastran partículas, etc.

Por otra parte, antropogénicamente existen factores que han provocado un aumento en los contaminantes, por ejemplo los óxidos de nitrógeno y azufre, como consecuencia de los gases que arroja el sector industrial, combustión de gasolinas usadas en vehículos que pueden liberar hidrocarburos al ambiente, la sobreexplotación de recursos naturales, depósitos de desechos al aire libre, desarrollos urbanos extensos, heces fecales de animales domésticos, entre otros (Miranda 2004).

CONTAMINACIÓN DE AIRE.

La contaminación del aire es un asunto preocupante por el simple hecho de que respiramos, podríamos no beber agua algunos días y sobrevivir, pero no podemos dejar de respirar por el simple hecho de que moriríamos. Además, nuestra salud se ve afectada si existen contaminantes en el aire. Dichos contaminantes son una mezcla compleja de partículas y gases, compuestos de azufre, nitrógeno, compuestos orgánicos, compuestos halogenados y ozono, entre otros. Tanto los hidrocarburos como los óxidos de nitrógeno son precursores del ozono, por lo que al ozono se le

considera un contaminante secundario de alto riesgo por su carácter fuertemente oxidante.

Los hidrocarburos son contaminantes atmosféricos altamente tóxicos. En especial, los subproductos de la combustión como el formaldehído, los hidrocarburos aromáticos, benceno y tolueno, por su reconocido potencial cancerígeno (Saxon A 2000). Si bien se ha eliminado el plomo de las gasolinas, existen estudios que relacionan el aumento en la concentración de formaldehído en la Ciudad de México debido al uso del aditivo éter metil terbutílico (MTBE por sus siglas en inglés) en las gasolinas para oxigenarlas y así aumentar su octanaje (Bravo 2002).

Dentro de los principales contaminantes del aire están las partículas suspendidas totales (PST) en las cuales encontramos a las PM_{10} y $PM_{2.5}$, y en donde las empresas cementeras, metalúrgicas, vidrieras, químicas, automotrices, papeleras y de pinturas son emisores importantes. También encontramos compuestos químicos como óxidos de carbono (CO_x), azufre (SO_x), nitrógeno (NO_x) e hidrocarburos policíclicos aromáticos (HPA), contaminantes fotoquímicos como el ozono O_3 y subproductos que se forman por combinaciones de estas especies (O_3 , NO_x , SO_x , CO_x) en presencia de luz solar. A estos contaminantes se les ha denominado como “contaminantes criterio” que sirven para establecer una referencia en cuanto a la forma de medir niveles de contaminación (Munguía 2003).

Las partículas contaminantes (PM) representan una mezcla compleja en la que su tamaño aerodinámico juega un papel importante por su capacidad de penetrar al organismo a través del aparato respiratorio. Las partículas contaminantes se dividen en PM_{10} (aquéllas con diámetros aerodinámicos promedio igual o menor que $10 \mu m$);

partículas gruesas o $PM_{10-2.5}$ (que tienen diámetros aerodinámicos promedio entre 10 y $2.5 \mu m$), las cuales se depositan en vías aéreas profundas como bronquios y bronquiólos; partículas finas o $PM_{2.5}$ (presentando diámetros aerodinámicos promedio iguales o menores que $2.5 \mu m$) que pueden llegar hasta alvéolos; finalmente las partículas ultrafinas o $PM_{0.1}$ (con diámetros aerodinámicos promedio iguales o menores que 100 nm) que incluso pueden penetrar y pasar al torrente sanguíneo (Pope 2002, Alfaro-Moreno 2004).

Sin embargo, las partículas ambientales no solo varían en tamaño, sino también en composición. Estas variables dependen de las fuentes de emisión, de los combustibles usados y de las características geográficas de la región. Sin embargo, a la fecha las características de las PM que se registran rutinariamente en las ciudades, son masa y tamaño.

Dentro de las principales fuentes de emisión de partículas a la atmósfera se encuentran las antropogénicas fijas (industrias, casas) y móviles, ligadas al transporte privado y público (destacando las emisiones de los vehículos que utilizan diesel o gasolina). Además de las de origen geológico, como erosión del suelo por viento, suspensión de partículas provenientes de las zonas agrícolas, calles sin pavimentar y terrenos baldíos. Estas últimas pueden contribuir del orden de 70% a 90% a las emisiones de PM_{10} y con un 50% a 80% de $PM_{2.5}$ (Chow 2002).

EPIDEMIOLOGÍA RELACIONADA CON PM_{10} Y $PM_{2.5}$.

Diversos estudios epidemiológicos, clínicos y experimentales han demostrado que las partículas contaminantes atmosféricas producen daños de tipo biológico (Becker

1996, Borja-Aburto 1998). Las PMs pueden ingresar y depositarse en partes profundas del aparato respiratorio como lo son bronquios y bronquiolos, causando daños que pueden predisponer a enfermedades tales como bronquitis, asma, enfisema pulmonar, cáncer de pulmón, entre otras (Beeson 1998). Estudios ambientales en diferentes ciudades del mundo muestran una asociación directa entre el aumento de las concentraciones de PMs y el incremento de visitas a salas de emergencias de hospitales debidas a agravamientos de afecciones pulmonares y cardiovasculares preexistentes, y causando la muerte en personas que padecen esas afecciones (Pope 1999).

Otros estudios sugieren un incremento de enfermedades infecciosas durante episodios con altas concentraciones de partículas en niños y adultos. En niños estas infecciones pueden tener consecuencias a largo plazo (Schwartz 2001).

Los mecanismos por los que las partículas ejercen efectos adversos no se conocen. Algunos estudios experimentales han sugerido que estos daños biológicos podrían deberse a efectos relacionados con las partículas, ya que se sabe que éstas tienen la capacidad de inducir muerte celular por necrosis y apoptosis, además de tener efectos tóxicos sobre el material genético y de generar procesos oxidantes (Becker 1996, Jiménez 2000). La capacidad oxidante de las partículas puede inhibirse por agentes tales como la deferoxamina (que es un agente quelante preferentemente de hierro y cobre) o el manitol (que es un atrapador de OH^{\bullet}). Dentro de los múltiples componentes presentes en las partículas, se ha considerado que los metales de transición y algunos componentes orgánicos podrían ser los responsables de la actividad oxidante de las partículas (García-Cuéllar 2002, Becker 2005).

CARACTERÍSTICAS DE LA ZONA METROPOLITANA DE LA CIUDAD DE MÉXICO.

Las emisiones a la atmósfera emitidas de grandes zonas urbanas e industriales, junto con la influencia de características geográficas y climáticas, determinan la problemática de la contaminación atmosférica en diversas ciudades y zonas del país. La contaminación es uno de los problemas más grandes que ha enfrentado la Zona Metropolitana de la Ciudad de México (ZMCM) en los últimos tiempos.

En la ZMCM se presentan frecuentemente condiciones meteorológicas adversas, tales como vientos escasos para la dispersión de los contaminantes que emiten a la atmósfera las fuentes fijas y móviles existentes. Debido a esto, nuestra ciudad es reconocida mundialmente por sus problemas de contaminación atmosférica.

La ZMCM, cubre una superficie de poco más de 3,500 km², incluye las 16 delegaciones del Distrito Federal (1,486 km²) y 18 municipios conurbados del Estado de México (2,054 km²). Se localiza en la región central de la República Mexicana, a una altura promedio de 2,240 m sobre el nivel del mar; forma parte de una cuenca cerrada de 9,560 km². Se encuentra rodeada por una cadena montañosa formada por las sierras del Ajusco y Chichinautzin (al sur), Nevada (al oriente), las Cruces (al poniente), Guadalupe y Santa Catarina (al norte) (CAM 2004).

Debido a su altitud, la baja concentración de oxígeno hace que la combustión de carbón, gasolina, diesel, etc. sea menos eficiente que a nivel del mar; la intensa radiación solar que recibe acelera la formación fotoquímica de contaminantes atmosféricos; los vientos débiles en la superficie provocan la estabilidad y fijación de contaminantes en su atmósfera que traen como consecuencia cierta dificultad en la dispersión de contaminantes.

La ubicación geográfica de la ZMCM, en una zona predominantemente tropical y asociada a condiciones meteorológicas y climáticas específicas, permiten reconocer una estación húmeda (lluvias) y una estación de secas, la cual se divide en secas frías (termomenguante), en donde se favorece la inversión térmica agravando el problema de contaminación; y estación de secas calientes (termocreciente) donde existe una humedad relativa baja, evitando que los contaminantes precipiten y de esta manera se mantienen en la atmósfera (Alfaro-Moreno 2004).

Las PM_{10} son contaminantes criterio de gran importancia en la ZMCM, debido a que durante la temporada de sequía se excede frecuentemente su norma de $150 \mu\text{g}/\text{m}^3$ promedio en 24 horas, existen técnicas de monitoreo que nos permiten identificar cuándo se rebasa la norma. Estas técnicas de monitoreo consisten en recolectar partículas por medio de muestreadores y comparando la cantidad de partículas obtenidas en distintas épocas del año. El procedimiento más frecuente para la captación y muestreo de contaminantes sólidos es la retención de partículas por inercia y gravedad sobre una membrana porosa.

Algunos de los principales componentes que se encuentran en las partículas de la Ciudad de México son: sulfatos (Osornio 1996), hidrocarburos (Villalobos 1995), metales de transición como Ti, V, Cr, Mn, Fe, Ni, Cu, Zn, Sr, Pb (Osornio 2003, Bonner 1998), partículas provenientes del suelo, asbesto y fibras (Arenas 1994), bacterias, polen, esporas, proteínas de origen animal como la albúmina de perro y de rata (Rosas 1994), entre muchos otros.

Por estudios previos se ha visto que las PMs de la Ciudad de México tienen un potencial oxidante importante, debido en gran parte a la cantidad de metales totales que contienen, que pudiendo producir radicales libres (García-Cuéllar 2002).

Debido a la compleja y variable composición de las partículas, es difícil poder señalar con exactitud cuales de los compuestos que las forman están involucrados en los diferentes efectos tóxicos que producen, además que las técnicas de recolección de PMs existentes no nos permiten establecer criterios para evaluar sus efectos nocivos específicos.

El uso de la Resonancia Paramagnética Electrónica como una herramienta para el análisis cualitativo de la PMs fue propuesto en primera instancia por Borm y colaboradores, evaluando por medio de esta el potencial oxidante y sugiriendo así la posibilidad de identificar algunos compuestos que forman a las partículas (Knaapen 2000, Shi 2003).

En el presente estudio se utilizó como herramienta a la RPE, para hacer un análisis cuantitativo de las especies paramagnéticas y del potencial oxidante existentes en las PMs, para ello se utilizó un atrapador de estas especies (DMPO), el cual al atrapar radicales hidroxilo muestran una señal del aducto característico que nos permite determinar su potencial oxidante. También se utilizó la deferoxamina, que es un quelante de metales, preferentemente para Fe y Cu. Con esto se podría saber si el efecto es atribuible a los metales presentes en las PMs o si existen algunos otros compuestos que puedan provocar oxidación.

RESONANCIA PARAMAGNÉTICA ELECTRÓNICA.

La Resonancia Paramagnética Electrónica (RPE) es una técnica que se aplica a moléculas, iones o átomos que poseen electrones desapareados, por lo que resulta particularmente útil para el estudio de los compuestos con iones metálicos de transición (Cr, Fe, Mn, Co, Ni, Cu, V). El espín del electrón paramagnético y su momento magnético asociado son la base de la espectroscopia de la RPE (Ramírez 1994).

La RPE es una técnica espectroscópica que por medio del efecto Zeeman (Figura 1) nos permite identificar radicales libres, caracterizar de manera magnética todo tipo de compuestos con metales de transición, y en general cualquier compuesto paramagnético, es decir, que tenga al menos un electrón desapareado (Wertz 1986).

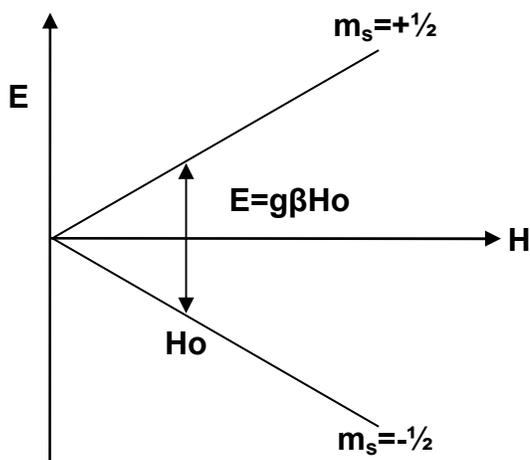


Figura 1. Efecto Zeeman. Transición dipolar magnética de un electrón libre en un campo magnético H. E (Energía), H y H_0 (Campo magnético), g (Valor de Larmor), β (Constante de Boltzman), m_s (espín magnético)

Una gran ventaja de la RPE es que las muestras pueden medirse en cualquier estado físico de la materia, utilizando cantidades relativamente pequeñas (~ 1 mg) y es una técnica no destructiva, además que puede abordar problemas de control del medio

ambiente, gracias a su sensibilidad y gran capacidad analítica, detectando productos como radicales libres, metales de transición y compuestos orgánicos del aire urbano (Shi 2003).

Los espectros de RPE consisten en líneas provenientes de diferentes transiciones electrónicas, las cuales en algunos casos pueden dividirse en subgrupos debido a la interacción con el momento magnético nuclear del ion paramagnético.

La RPE se basa en la interacción entre el campo magnético externo aplicado y el momento magnético intrínseco que el electrón posee (Abragam 1970). Para ello se utilizan en algunas situaciones atrapadores de espín para conocer las especies paramagnéticas a estudiar.

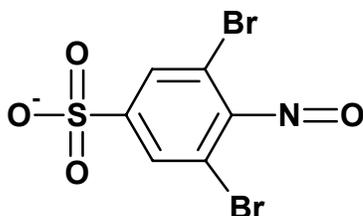
El método de atrapadores de espín permite identificar radicales libres de vida media corta, ya que no siempre es posible obtener una concentración detectable de los mismos y los atrapadores de espín permiten tener el tiempo suficiente para su detección (Shi 2003).

Este método se basa en la utilización de compuestos diamagnéticos invisibles a la RPE. Cuando el radical libre se adiciona al atrapador de espín, se genera un aducto radical estable que en condiciones normales, genera una señal con valores de g y constantes de acoplamiento hiperfino característicos para el radical atrapado.

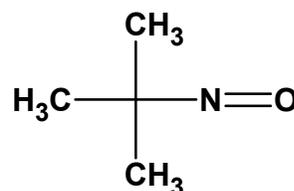
El uso de atrapadores de radicales libres en la RPE, como el DMPO, permite la detección de especies reactivas de oxígeno (OH^\bullet ; OOH^\bullet ; $^\bullet\text{O}_2$) por la reacción de tipo Fenton (Figura 2) que permite evidenciar el potencial oxidante de las partículas PMs (Uchida 1999). (Schurath 1998)

Existen dos tipos principales de atrapadores de espín con base en su estructura (Rosen 1989):

- a) Los compuestos nitrosos como el DBNBS (3,5-dibromo-4-nitrosobenzenesulfonate) y el 2-metil-2-nitrosopropano, los cuales atrapan al radical en el nitrógeno.



3,5-dibromo-4-nitrosobencenosulfonato

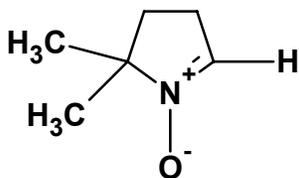


2-metil-2-nitrosopropano

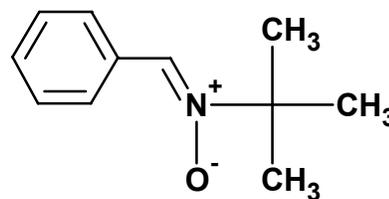


X = OH[•]; OOH[•]; ⁻O₂[•]; CH₃[•]; OOtBu

- b) Las nitronas que atrapan al radical libre adicionándolo al carbono alfa en relación al nitrógeno, por ejemplo el DMPO y PBN.



5,5-dimetil-1-pirrolina-N-oxido



N-ter-butil- α -fenilnitrona

X = OH[•]; OOH[•]; ⁻O₂[•]; CH₃[•]; OOtBu

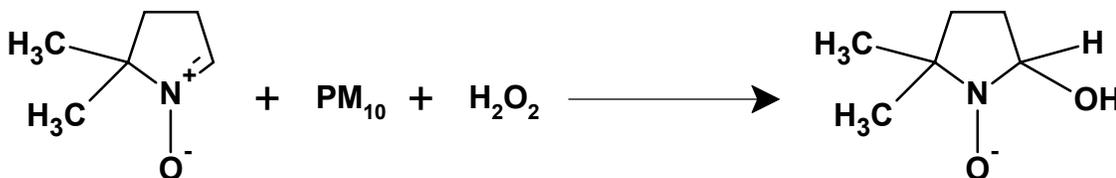


Figura 2. Reacción tipo Fenton. Se muestra la participación de las PMs en la reacción Fenton.

Los radicales libres que se encuentran en la atmósfera son principalmente producidos por partículas provenientes de la combustión y dentro de estos radicales están los OH^* , principales responsables del potencial oxidante y formación de superóxidos al combinarse con iones metálicos como el Fe^{+2} (Shi 2003).

JUSTIFICACIÓN

Con base en lo expuesto es importante hacer un análisis de las características y capacidad oxidante de las PMs por medio de la RPE. Los resultados que se obtienen de las mediciones nos permiten hacer un análisis efectivo en la caracterización y calcular el potencial oxidante de las partículas.

Este estudio se realizó utilizando PM_{10} y $\text{PM}_{2.5}$ de la Ciudad de México; se dividió en tres zonas debido a sus características urbanas.

La zona norte (estación Xalostoc), principal concentración de industrias y afluencia vehicular como fuente de emisión de contaminantes.

La zona centro (estación Merced), que predominantemente es una zona comercial por la que circulan una gran cantidad de automóviles y camiones.

La zona sur (estación CU), en la cual predomina la circulación de vehículos, es una zona con bosques, considerada residencial.

Debido a estas características, se espera una diferencia en la composición de las PMs y diferencia de su potencial oxidante.

HIPÓTESIS

Debido a que las partículas urbanas presentan diferencias en la composición dependiendo de la zona del muestreo, estas diferencias estarán relacionadas con la magnitud del potencial oxidante de las partículas.

Debido a la composición de las partículas, el potencial oxidante variará dependiendo del año y la zona en la que fueron muestreadas las partículas.

OBJETIVOS

Evaluar la concentración de especies paramagnéticas de las partículas y el potencial oxidante de partículas en suspensión de origen urbano colectadas en tres diferentes regiones de la Ciudad de México (Norte, Centro y Sur), utilizando la técnica de Resonancia Paramagnética Electrónica (RPE) bajo las siguientes condiciones:

- Tamaños aerodinámicos distintos (PM_{10} y $PM_{2.5}$).
- En diferentes años de muestreo 1991, 2002 y 2003.

Analizar partículas provenientes de diferentes zonas, tamaños y campañas de muestreo, para determinar si existen variaciones en el potencial oxidante asociadas a estas tres variables.

Observar el potencial oxidante cuando se usa un quelante (deferroxamina) de iones metálicos (Fe y Cu, preferentemente).

MATERIALES Y MÉTODO

1. MUESTREO Y RECUPERACIÓN DE PARTÍCULAS.

Se utilizaron muestras PM_{10} del año 1991, PM_{10} y $PM_{2.5}$ de los años 2002 y 2003, las cuales fueron colectadas en tres zonas distintas de la Ciudad de México, clasificadas así por sus diferentes características relacionadas con la actividad humana (Figura 3) (Alfaro-Moreno 2002).

Para las muestras de 1991, el muestreo se realizó en Instituto Mexicano del Petróleo (Norte), en la Merced (Centro) y en la Ciudad Universitaria (Sur); en el 2002, las PMs se muestrearon en Norte (Xalostoc), Centro (Merced) y Sur (Pedregal) y para el 2003 las zonas muestreadas fueron Norte (Xalostoc), Centro (Merced) y Sur (Ciudad Universitaria).

Los muestreos se hicieron para obtener partículas con un diámetro aerodinámico promedio menor o igual a $10\ \mu\text{m}$ ó $2.5\ \mu\text{m}$, utilizando muestreadores de altos volúmenes con un flujo de $1.13\ \text{m}^3/\text{min}$ durante 24 horas (Sierra Andersen/GMW Modelo 1200 VFC HVPM10 sampler). Los muestreos se realizaron 4 días de la semana todo el año, utilizando filtros de fibra de vidrio (tipo A/E glass 61638; Gelman Sciences, Ann Arbor, MI, USA) para el año 1991 (Bonner 1998) y de membrana de nitrocelulosa con poro nominal de $3\ \mu\text{m}$ (Sartorius) modificados para los años 2002 y 2003. Estas modificaciones en los filtros fueron hacerle perforaciones con ayuda de una máquina de coser y aguja, para mejorar el flujo de aire, evitando así que la membrana se tapara y dañara el motor del muestreador.

Esto se realizó en la época de secas debido a su baja humedad relativa, ya que esto favorece una mayor concentración de partículas.

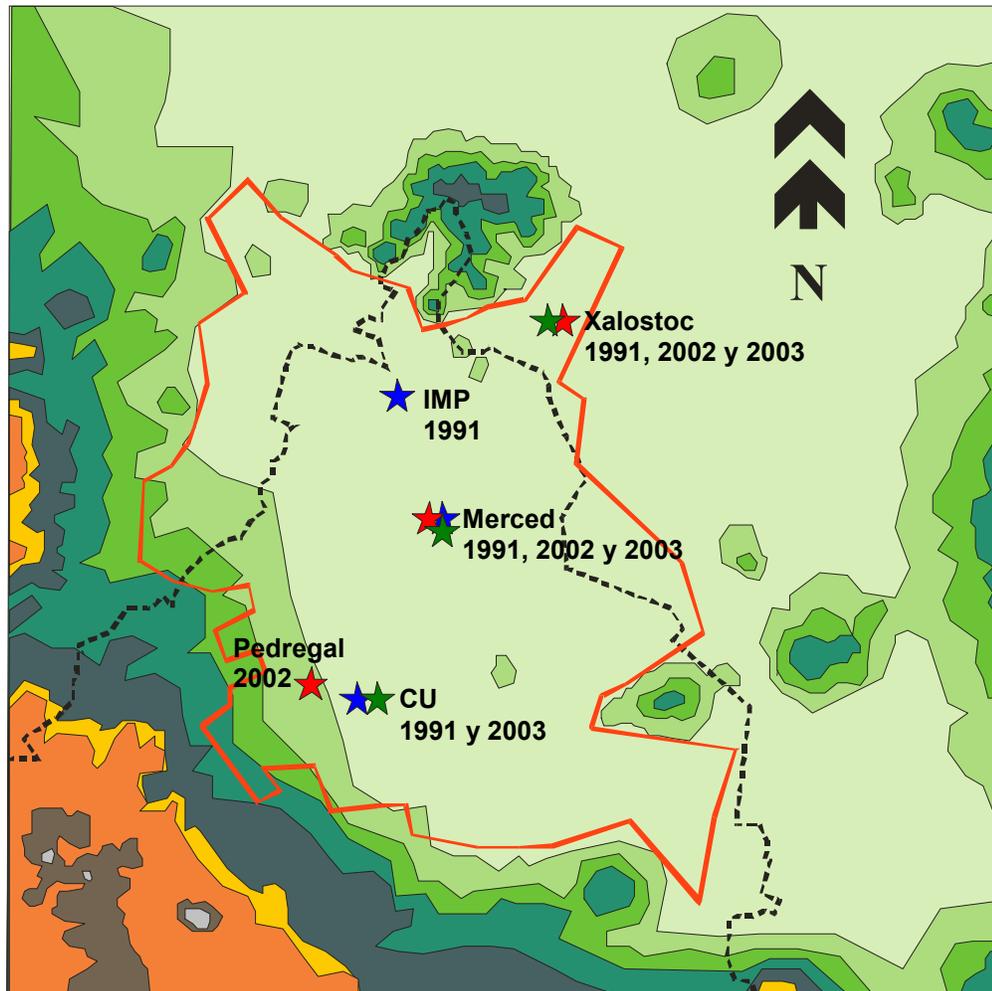


Figura 3. Ubicación de las zonas de la Ciudad de México en que se colectaron las PMs utilizadas en este estudio (Norte = Xalostoc o IMP; Centro = Merced; Sur = Ciudad Universitaria o Pedregal).

Para la recuperación de las partículas se sonicó cada filtro en seco durante una hora, después se bajaron las partículas por medio de un barrido suave con un pincel para evitar al máximo el desprendimiento de fragmentos de los filtros (Alfaro-Moreno 1999). Las PMs recuperadas de cada zona se mezclaron y almacenaron en viales de vidrio libres de endotoxinas previamente horneados a 200°C y se guardan en un desecador a 4°C hasta su uso.

Los filtros utilizados en los años 2002 y 2003, fueron de material de nitrocelulosa (Sartorius), y se hizo una modificación en el barrido. Este se realizó con un bisturí,

pasándolo suavemente sobre la superficie de la membrana. Las partículas recuperadas se guardaron de la misma manera que las PMs del año 1991 (Alfaro-Moreno 2002).

2. DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN DE ESPECIES PARAMAGNÉTICAS EN PMS DE LOS AÑOS 1991, 2002 Y 2003.

a) Curvas de concentración de SPIN vs masa de PMs.

Se realizaron curvas para determinar la concentración de especies paramagnéticas [SPIN/mg] por medio de RPE, en las PMs utilizando 1 mg a 5 mg de partículas pesadas y colocadas para su evaluación en un tubo de cuarzo (Cuarzo sintético suprasil. DE 4 mm; DI 2.4 mm; L 250 mm. Wilmad).

La medición se realizó en el espectrómetro de RPE Jeol JES TE-300, con los siguientes parámetros: centro de campo magnético 335 mT, frecuencia 9.4 GHz, potencia 1 mW, sweep width +/- 4 mT, sweep time 2 min, mode width 0.16 mT, amplitud 63, constante de tiempo 0.3 s. Una acumulación.

Estas curvas se realizaron únicamente con las PM₁₀ del Norte, Centro y Sur del 2003, debido a que se contaba con una mayor cantidad de estas muestras para realizar la medición.

b) Determinación de la concentración [SPIN/mg] en PMs.

En un tubo de cuarzo se colocaron 3 mg de partículas, para determinar el espectro de RPE. Se realizaron 2 mediciones independientes para cada muestra de partículas de las diferentes zonas de muestreo.

Para el análisis de las partículas restantes, la medición se realizó con los mismos parámetros utilizados en la determinación de especies paramagnéticas de las curvas de SPIN.

3. GENERACIÓN DEL RADICAL HIDROXILO OH^\bullet PARA LA EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD PRO-OXIDANTE DE LAS PMS POR EL MÉTODO DE RPE.

En un tubo Eppendorf se colocó 1 mg de PMS con 0.33 mL de PBS y se resuspendió para obtener una concentración de 3 mg/mL.

Se tomó una alícuota de 100 μL de la suspensión de partículas, se añadieron 200 μL de DMPO (0.2 M en agua desionizada. Dojindo) y 100 μL de H_2O_2 (0.5 M en PBS. Fluka), y la muestra se incubó a 37°C durante 15 minutos con agitación continua. Después de este tiempo la mezcla se pasó por un filtro de 0.2 μm (Sartorius. Minisart-RC Syringe). El filtrado se colocó en un tubo capilar de cuarzo (Wilmad. Cuarzo sintético suprasil para EPR. DE 1.8 mm; DI 1.5 mm; L 100 mm), el cual se selló con resina epóxica (Clay Adams Parsippany).

La medición se realizó en el espectrómetro de RPE Jeol JES TE-300, con los siguientes parámetros: centro de campo magnético 335 mT, frecuencia 9.4 GHz, potencia 1 mW, sweep width +/- 5 mT, sep time 0.5 min, mode width 0.04 mT, amplitud 100, constante de tiempo 0.1 s. Tres acumulaciones.

Como blanco se utilizó una mezcla con 100 μL de PBS, 200 μL de DMPO (0.2 M en agua) y 100 μL de H_2O_2 (0.5 M en PBS), la cual se utilizó como control negativo del experimento. La medición se realizó con los mismos parámetros (Knaapen 2000, Shi 2003).

4. INHIBICIÓN DE LA CAPACIDAD OXIDANTE DE LAS PMS.

Se realizaron experimentos bajo las mismas condiciones experimentales que los descritos, en la sección 3. En este caso se adicionó deferoxamina (SIGMA. D 9533) como agente quelante preferentemente para hierro (Fe) y cobre (Cu).

Se tomaron 100 μ L de la suspensión de partículas en PBS, a la cual se agregaron 100 μ L de DFOM (5 mM en agua desionizada). Se incubó durante 3 h con agitación continua.

Las muestras se analizaron utilizando la metodología descrita previamente para la evaluación de la actividad pro-oxidante.

5. CÁLCULO DE LA CONCENTRACIÓN DE SPIN DE LAS PMS.

Las concentraciones de [SPIN/mg] se obtuvieron comparando los datos obtenidos con el estándar TEMPOL, del cual se sabe su concentración (1×10^{-5}) SPIN. Para realizar las comparaciones con las PMS y obtener la cantidad [SPIN/mg], se utilizó el programa ESPRIT 382 series V 1.916 conectado en línea con el espectro de RPE.

Para las curvas de referencia, se realizó una correlación lineal por mínimos cuadrados para determinar el valor del coeficiente de correlación múltiple (r) para cada una de las zonas de muestreo. Este análisis se hizo para saber si existía correlación entre las muestras de partículas estudiadas.

Se tomó la pendiente de las curvas para ajustar las concentraciones de las PMS de cada zona y año de muestreo, reportando los resultados en la concentración requerida.

Los experimentos de la determinación de las especies paramagnéticas de las PMS secas se efectuaron al menos por duplicado.

La intensidad del efecto del potencial oxidante de las actividades pro-oxidante y anti-oxidante, se calculó mediante la ecuación $I = K \times h \times W^2$. Donde I es la intensidad de la señal; K es una constante estándar para el equipo Jeol JES TE-300, con la cual podemos determinar la concentración de SPIN, que es igual a 6.5×10^{-10} ; h es la altura de la señal; W es el ancho de la señal.

Primero se calculó la intensidad con el estándar TEMPOL, y posteriormente se hicieron los cálculos para cada una de las muestras de PMs. Se obtuvieron las intensidades de las PMs analizadas por medio de un factor de equivalencia entre el estándar y cada muestra.

Los análisis de la evaluación de la actividad pro-oxidante e inhibición de la capacidad oxidante se realizaron al menos por triplicado para cada muestra de partículas de las diferentes zonas y años de muestreo.

6. ANÁLISIS ESTADÍSTICO.

Se realizaron curvas de concentración de SPIN vs masa de PMs, por medio de una regresión lineal para calcular la concentración de especies paramagnéticas.

Una vez calculadas las concentraciones de especies paramagnéticas, los datos se agruparon por zonas, años y tamaños. Luego se hizo un análisis estadístico de ANOVA seguido de Bonferroni en el programa STATA 7.0 para Windows, considerando una diferencia estadísticamente significativa para valores de p iguales o menores que 0.05.

En la determinación de la intensidad del potencial oxidante, se realizó el mismo análisis estadístico que para la concentración de especies paramagnéticas.

RESULTADOS

DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN DE ESPECIES PARAMAGNÉTICAS EN PMS DE LOS AÑOS 1991, 2002 Y 2003.

Al realizar el análisis de las PMS en el espectro de RPE, se obtiene una señal característica atribuible a metales que tiene la mezcla de PMS (Figura 4), en la cual se encontró una concentración alta de metales, como Fe, Cu, Cr, V, para todas las zonas (Miranda 1998). A partir de esta señal se calculó la concentración de especies paramagnéticas en cada muestra de PMS.

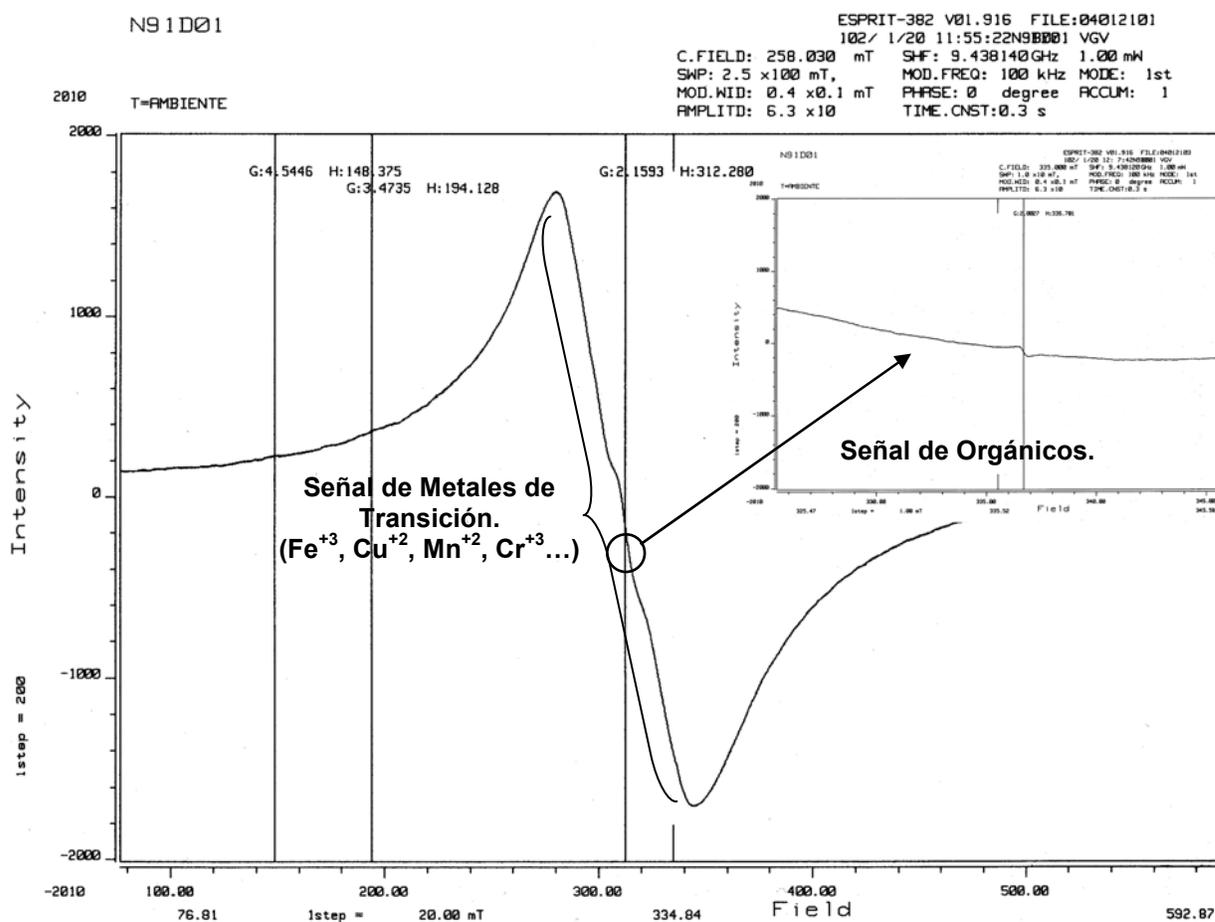


Figura 4. Señal característica del espectro de PMS secas en RPE.

CURVAS DE CONCENTRACIÓN.

Al evaluar las PMs para obtener las curvas de concentración se encontró que existe una relación entre la cantidad de muestra y la concentración de SPIN de las especies paramagnéticas existentes en cada muestra para las tres zonas evaluadas (Figura 5), siendo lineal con un valor de $r \geq 99.8\%$.

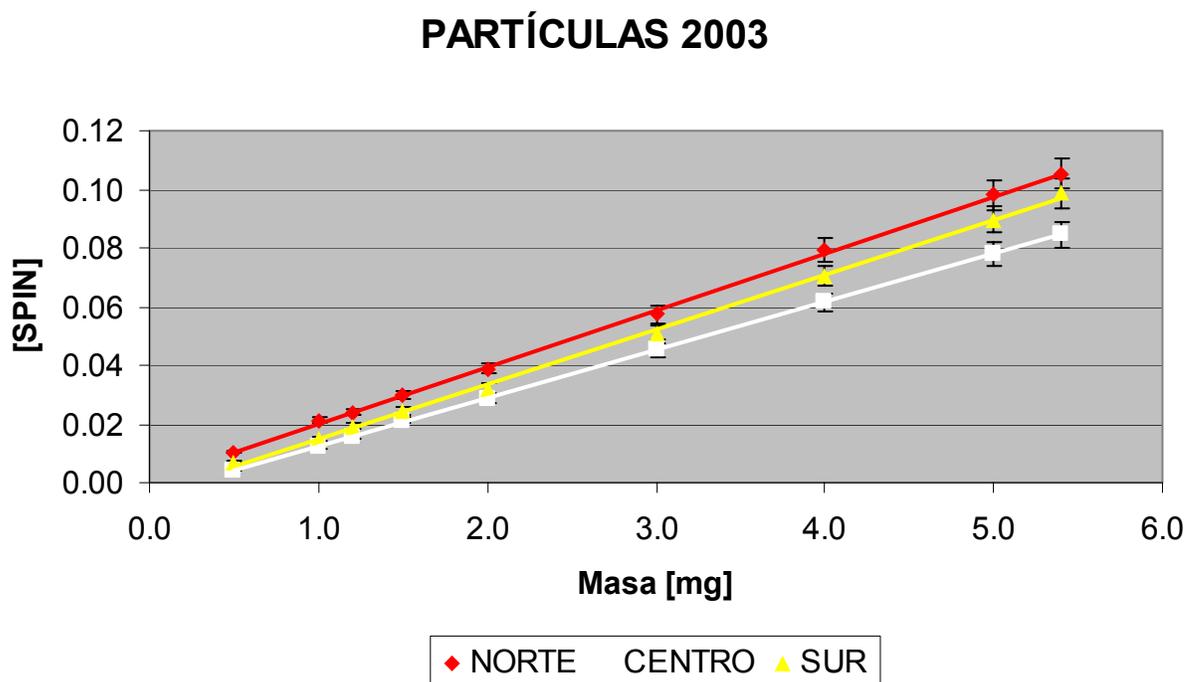


Figura 5. Curvas de concentración de PM₁₀ en las zonas Norte, Centro y Sur del año 2003.

ZONA	ECUACIÓN DE LA RECTA	CORRELACIÓN
PM ₁₀ NORTE 2003	$[SPIN] = 8 \times 10^{-4} + 1.94 \times 10^{-2} [mg]$	99.9%
PM ₁₀ CENTRO 2003	$[SPIN] = -4 \times 10^{-3} + 1.64 \times 10^{-2} [mg]$	99.8%
PM ₁₀ SUR 2003	$[SPIN] = -3.8 \times 10^{-3} + 1.87 \times 10^{-2} [mg]$	99.9%

Cuadro 1. Ecuaciones de las rectas con correlación para la estandarización de PM₁₀ (2003) en las 3 zonas de la Ciudad de México.

Como se observa en la cuadro 1, las pendientes obtenidas indican que las PM_{10} del norte 2003 tiene una concentración mayor de [SPIN/mg], mientras que la pendiente menor es presentada por las PM_{10} del centro.

CONCENTRACIÓN DE ESPECIES PARAMAGNÉTICAS EN PM_{10} Y $PM_{2.5}$ DE LOS AÑOS 1991, 2002 Y 2003.

Al evaluar los resultados de las especies paramagnéticas se encontraron diferencias significativas entre años, zonas y tamaño de las partículas ($p=0.0004$). Se encontró que las PM_{10} (1991) del Norte presentan una mayor concentración de [SPIN/mg] en comparación al centro y ésta a su vez es mayor que la concentración del sur. La diferencia entre las partículas del norte con las del sur es significativa ($p=0.001$) (Figura 6).

Se observa que la concentración de [SPIN/mg] de PM_{10} del 2002 es mayor en el Norte, y menor en el sur, presentando el mismo patrón de comportamiento que las muestras de 1991, pero en magnitud diferente.

También muestra que la concentración de [SPIN/mg] en muestras PM_{10} del 2003 es igual (dentro de las incertidumbres) en el norte y sur, los que a su vez presentan una mayor concentración que el centro.

Se presentó una diferencia marginal entre las concentraciones de los años 1991 y 2003 ($p=0.067$).

Al analizar las $PM_{2.5}$ de los años 2002 y 2003 se encontró que la concentración de [SPIN/mg] fue mayor para la muestra del norte 2002, por arriba de las muestras del sur 2002, norte 2003 y centro 2003 que presentaron concentraciones iguales (Figura 7).

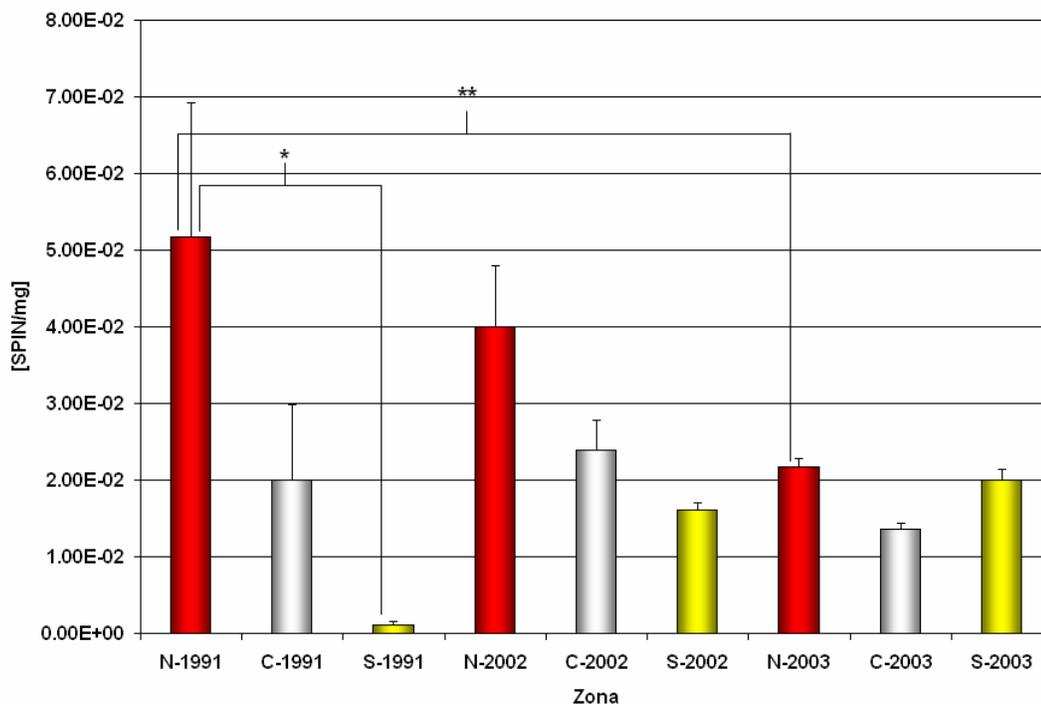


Figura 6. Concentración de especies paramagnéticas presentes en muestras de PM₁₀ del Norte, Centro y Sur de la Ciudad de México de los años 1991, 2002 y 2003. Los resultados se muestran en promedio \pm error estándar (DE/\sqrt{n}). Los asteriscos indican diferencias significativas *($p=0.001$) **($p=0.067$).

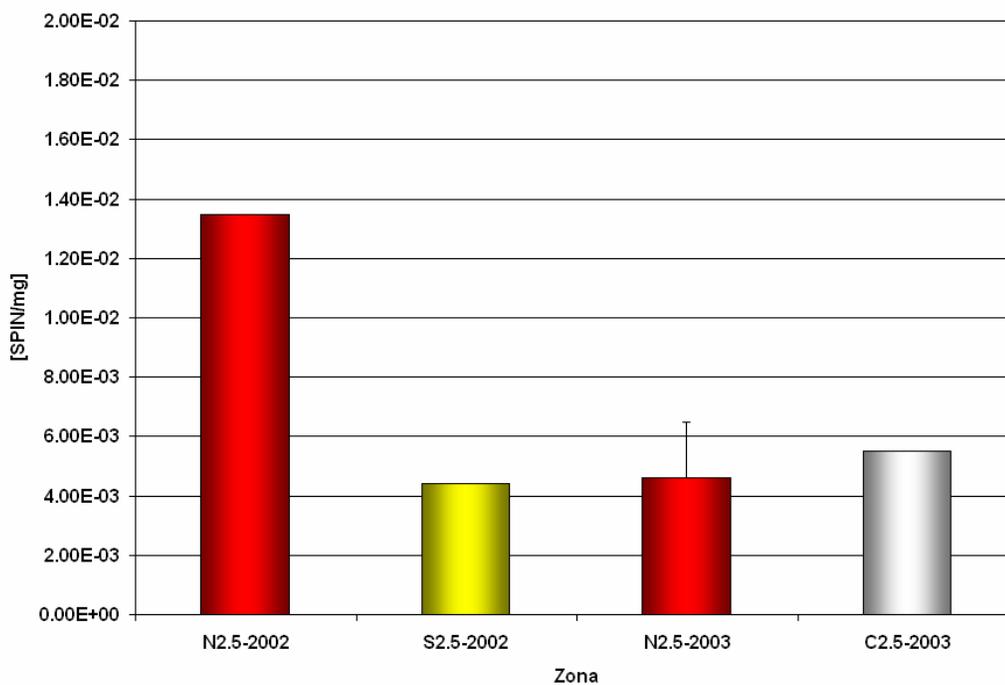


Figura 7. Concentración de especies paramagnéticas presentes en muestras de PM_{2.5} del Norte y Sur de 2002, Norte y Centro de 2003 de la Ciudad de México. Los resultados se muestran en promedio \pm error estándar. (La escala es diferente con respecto a la figura 6).

GENERACIÓN DEL RADICAL HIDROXILO OH^\bullet PARA LA EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD PRO-OXIDANTE DE LAS PMS POR EL MÉTODO DE RPE.

Se encontraron diferencias en la evaluación de la actividad pro-oxidante en cuanto a las zonas, años y tamaños de muestreo ($p=0.000$).

En el espectro de RPE se observó la formación del aducto DMPO-OH, atribuible a una reacción tipo Fenton, expresado como una señal cuádruple, con constantes de acoplamiento (definidas tanto para hidrógeno como para nitrógeno) con valor de 1.5 mT (Figura 8).

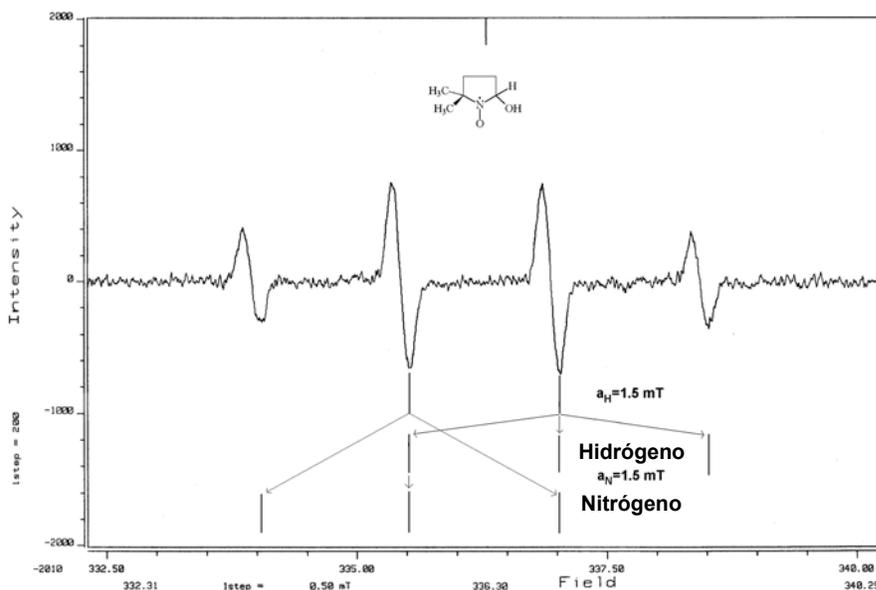


Figura 8. Espectro de RPE para el aducto de DMPO-OH.

Las PM_{10} del norte del año 2003 muestran un incremento significativo, en la intensidad del potencial oxidante con respecto a las del año 1991 ($p=0.012$) y mostrando una diferencia significativa para las partículas del norte del año 2002 $p=0.000$. También hay una diferencia significativa en las PM_{10} del 2003 norte contra centro ($p=0.047$) y sur ($p=0.025$). La intensidad del potencial oxidante en la zona centro es similar en ambos años. Mientras que el sur muestra una tendencia a aumentar su

potencial oxidante de 1991 al 2003, sin mostrar diferencias significativas. La zona norte en el año 2003 tiene el mayor potencial oxidante de las 6 muestras (Figura 9).

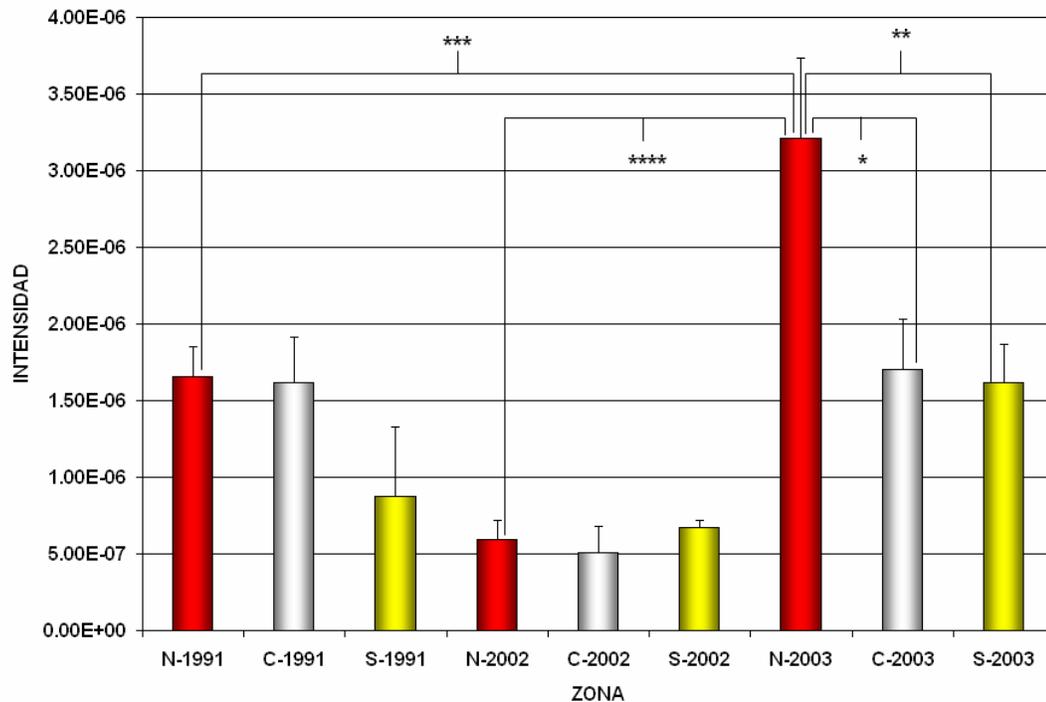


Figura 9. Intensidad del potencial oxidante de PM_{10} en los años 1991, 2002 y 2003, de 3 zonas de la Ciudad de México (norte, centro y sur). Los resultados se muestran en promedio \pm error estándar. Los asteriscos indican diferencias significativas *($p=0.047$), **($p=0.025$), ***($p=0.012$), ****($p=0.000$).

INHIBICIÓN DE LA CAPACIDAD OXIDANTE DE LAS PMS.

Al incubar con DFOM las PM_{10} recolectadas en 1991, se pudo observar que el potencial oxidante fue inhibido totalmente en el Norte, parcialmente en el centro y con una ligera disminución para el sur (Figura 10).

Cuando se utilizó el DFOM para las partículas del 2002, la disminución en el potencial oxidante es mayor para la zona norte, mientras que para el centro y sur. Aquí la disminución no es tan notoria.

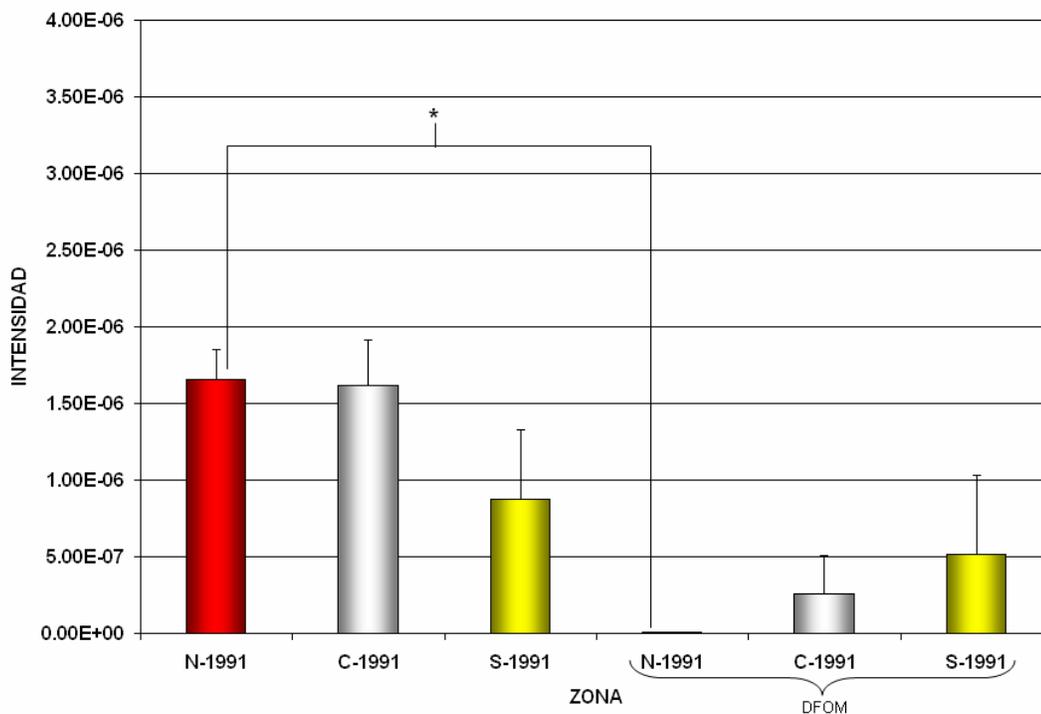


Figura 10. Intensidad del potencial oxidante en PM_{10} de 1991 incubadas con y sin DFOM (5 mM). Los resultados se muestran en promedio \pm error estándar. Los asteriscos indican diferencias significativas $*(p=0.000)$.

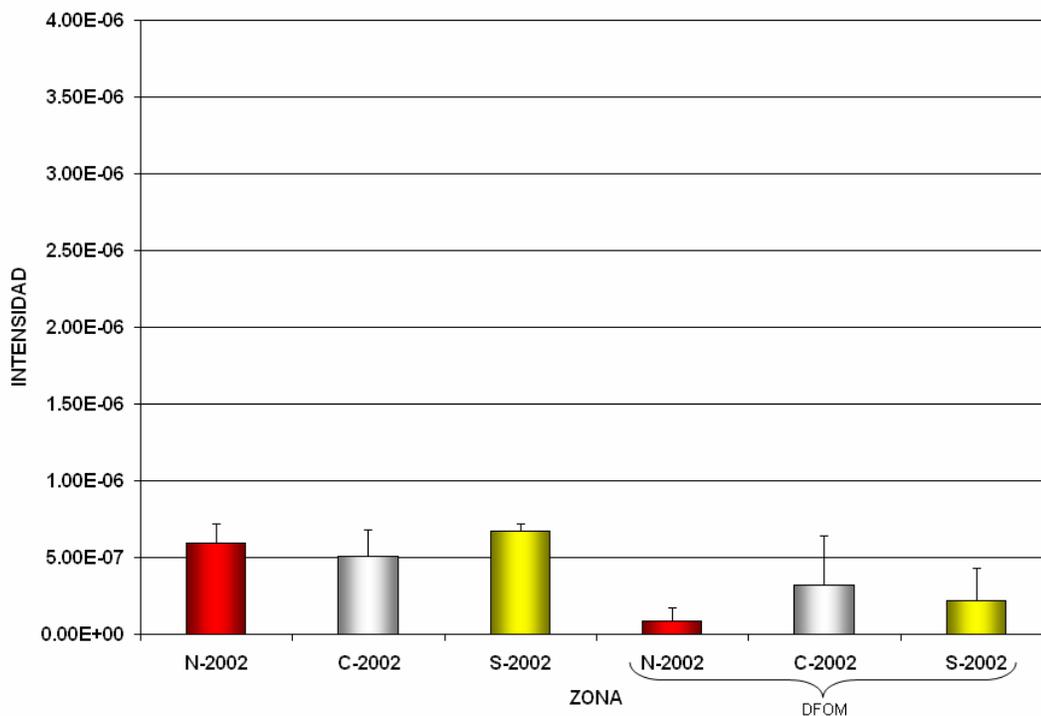


Figura 11. Intensidad del potencial oxidante en PM_{10} de 2002 incubadas con y sin DFOM (5 mM). Los resultados se muestran en promedio \pm error estándar.

Mientras que al incubar con DFOM las PM₁₀ de 2003 se encontró una disminución casi total en la muestra del Norte, una discreta disminución en el centro y un decremento mayor en el sur.

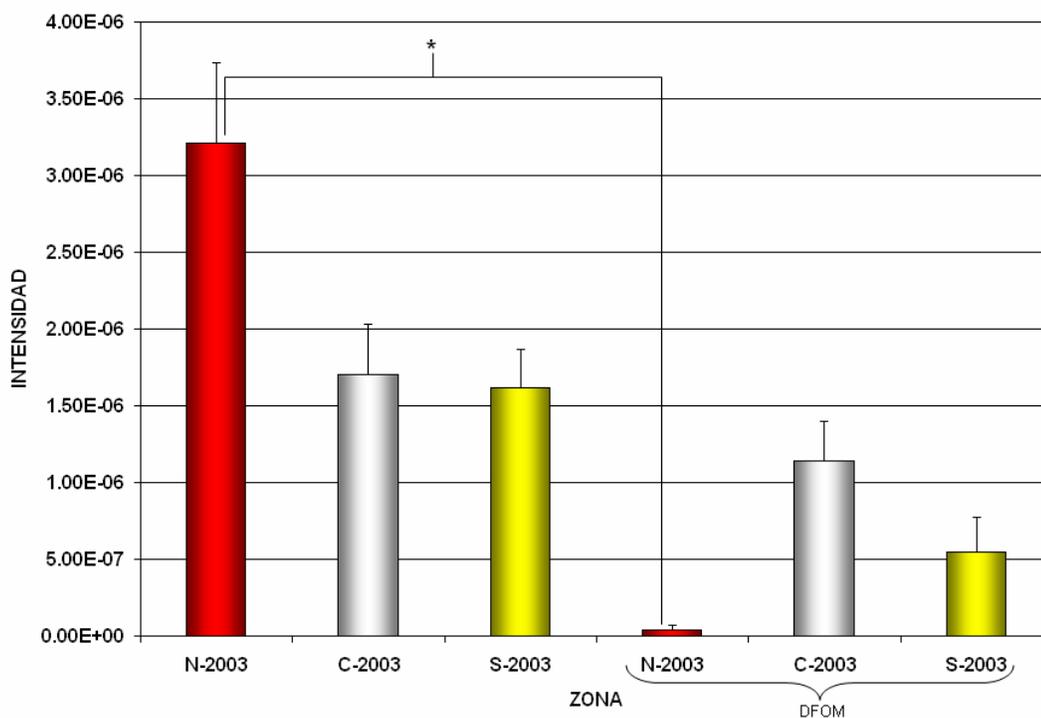


Figura 12. Intensidad del potencial oxidante en PM₁₀ de 2003 incubadas con y sin DFOM (5 mM). Los resultados se muestran en promedio ± error estándar. Los asteriscos indican diferencias significativas *(p=0.004).

Incubando las PM_{2.5} del 2002 y 2003 con DFOM no se observó ningún cambio significativo en la intensidad del potencial oxidante (Figuras 13 y 14).

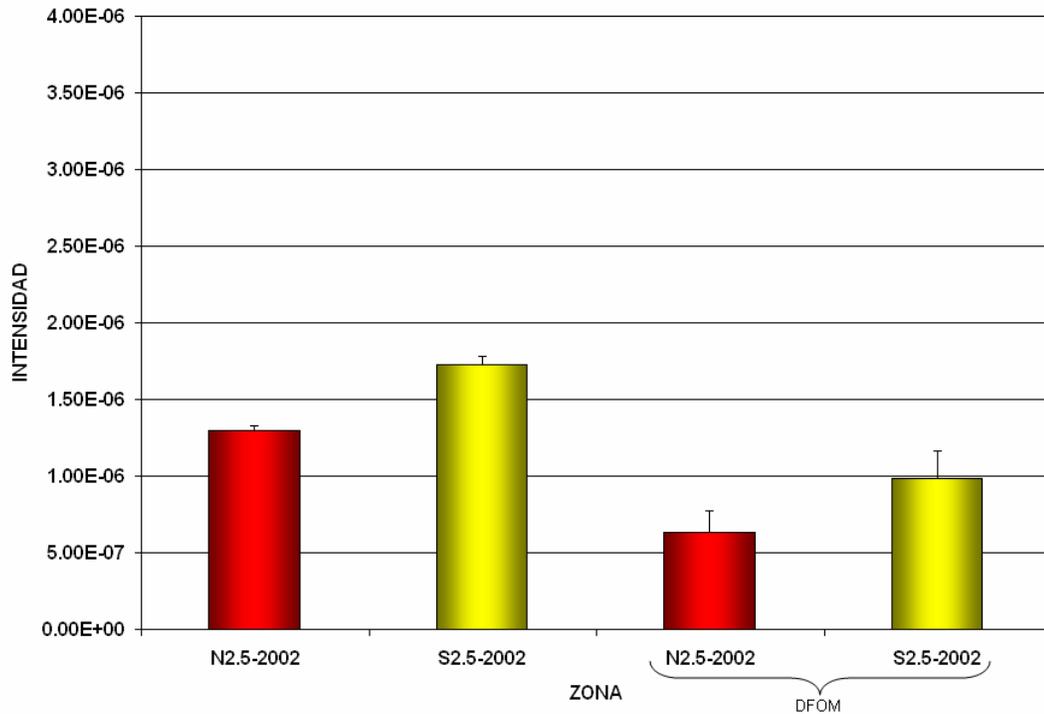


Figura 13. Intensidad del potencial oxidante en $PM_{2.5}$ de 2002 incubadas con y sin DFOM (5 mM). Los resultados se muestran en promedio \pm error estándar.

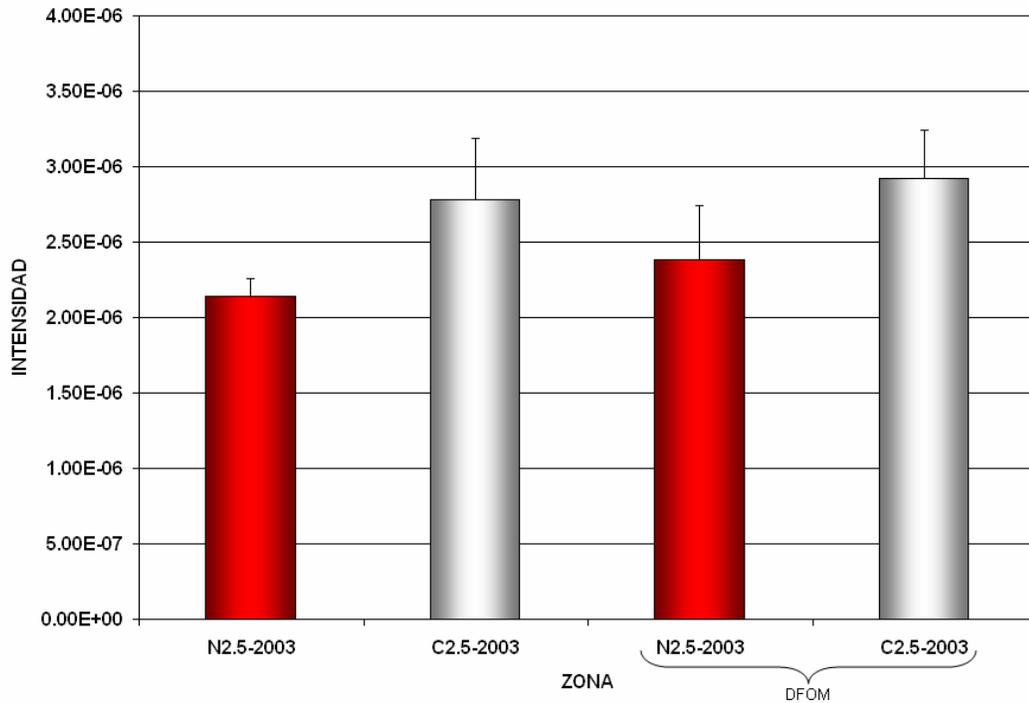


Figura 14. Intensidad del potencial oxidante en $PM_{2.5}$ de 2003 incubadas con y sin DFOM (5 mM). Los resultados se muestran en promedio \pm error estándar.

DISCUSIÓN

El presente estudio se realizó con el objetivo de evaluar la concentración de especies paramagnéticas libres y el potencial oxidante de partículas PM_{10} y $PM_{2.5}$ de diferentes zonas de la Ciudad de México y distintos años de muestreo, por medio de la técnica de RPE. Los resultados obtenidos mostraron diferencias significativas en las concentraciones de especies paramagnéticas libres y en el potencial oxidante, para las diferentes partículas PM_{10} y $PM_{2.5}$ evaluadas de los años 1991, 2002, 2003.

Al comparar los resultados de la concentración de especies paramagnéticas se encontraron diferencias entre las zonas de muestreo, siendo mayor esta concentración de especies paramagnéticas para las partículas de la zona norte de 1991 ($p=0.001$), seguida de la zona centro para 1991 y 2002, y de la zona sur en 2003. La zona norte disminuyó su concentración de 1991 a 2003 ($p=0.067$), la zona centro se mantuvo en los tres años de estudio y la zona sur mostró un aumento de 1991 a 2003 (Figura 6).

Las partículas $PM_{2.5}$ tuvieron una menor concentración de especies paramagnéticas en comparación con las mismas zonas analizadas para las PM_{10} de los años 2002 y 2003, sin mostrar una diferencia significativa entre ellas (Figura 7).

En cuanto a la capacidad oxidante se pudo observar que la mayor concentración del potencial oxidante fue para las PM_{10} de la zona norte de 2003, para la zona centro se observó que se mantuvo su capacidad oxidante en los tres años de muestreo, finalmente la zona sur mostró un incremento de 1991 a 2003 (Figura 9). Se empleó la DFOM como inhibidor de metales y existió una disminución en el potencial oxidante de las PM_{10} de 1991, siendo significativa esta disminución para el norte 1991 ($p=0.000$) (Figura 10). Para las PM_{10} del 2002 utilizando la DFOM también existió una pequeña

disminución (Figura 11). Finalmente en las PM_{10} de 2003 el uso de la DFOM hizo que el potencial oxidante disminuyera en las 3 zonas, siendo significativo para norte 2003 ($p=0.004$), seguido de sur y centro respectivamente. Estas últimas no muestran diferencias significativas (Figura 12).

Para las $PM_{2.5}$ la capacidad oxidante es mayor para las $PM_{2.5}$ 2003 en comparación con las del 2002 y al utilizar la deferoxamina como inhibidor se pudo ver que para las $PM_{2.5}$ el uso de este inhibidor no tuvo ningún efecto en la producción del potencial oxidante (Figuras 13 y 14).

CONCENTRACIÓN DE ESPECIES PARAMAGNÉTICAS.

Se necesitaba saber si la cantidad de muestra analizada influía en la concentración final de especies paramagnéticas, por lo que se decidió hacer curvas de concentración con las muestras de PM_{10} 2003. Al analizar las curvas se encontró que sí influye la cantidad de muestra analizada por RPE, arrojando una correlación $\geq 99.8\%$, por lo que se infirió que el comportamiento en cuanto a la cantidad de partículas analizadas y la concentración de espín será igual para todos los años, zonas y tamaños de partículas (Figura 5).

Considerando estos aspectos, podemos decir que la RPE es una técnica confiable debido a la linealidad de los resultados obtenidos en el análisis de especies paramagnéticas.

Todos los resultados obtenidos de estos análisis se pudieron estandarizar para lograr dar una concentración de [SPIN/mg] de partícula analizada. De esta forma se pudieron hacer las comparaciones entre zonas y años diferentes.

En este estudio se analizaron las PM_{10} de 1991, 2002 y 2003, así como $PM_{2.5}$ 2002 y 2003 para obtener la concentración de especies paramagnéticas, los resultados obtenidos indican que existen diferencias significativas ($p=0.004$), entre las zonas, años y tamaños de las partículas analizadas. La intensidad de la señal nos indica que existen especies paramagnéticas, principalmente metales como el Fe^{3+} y el Cu^{2+} (Figura 4).

Las señales con mayor intensidad, representando una mayor concentración, fueron la zona norte de cada año 1991, 2002 y 2003. Esta relación es lógica, ya que la mayor cantidad de metales se encuentran en dicha zona, principalmente hierro y cobre (Alfaro-Moreno 2004).

Para la zona centro no se encontraron diferencias en las concentraciones de especies paramagnéticas en los diferentes años de muestreo.

En la zona sur se observó que en 1991 la concentración de especies paramagnéticas era menor que para los años 2002 y 2003, donde no hubo diferencias entre ellas, sugiriendo que ha aumentado la cantidad de metales provenientes de esta zona (Munguía 2003).

EVALUACIÓN DEL POTENCIAL OXIDANTE DE LAS PMS.

Al realizar las mediciones por medio de RPE se pueden observar señales características para cada especie. Dependiendo de la constante de acoplamiento de estas especies obtendremos la señal característica de ella, demostrando así su presencia en la muestra analizada. Cuando se utilizó DMPO se observó que atrapa especies reactivas de oxígeno como peróxidos, superóxidos e hidroxilos y algún radical orgánico, dando para cada uno de ellos una señal diferente.

En este trabajo se evaluó el potencial oxidante de las PMs por medio de la reacción tipo Fenton (Figura 2), se consiguió al producirse el radical OH^\bullet y la señal fue un aducto DMPO-OH (Figura 8).

Por esto se utilizó DMPO, ya que estudios anteriores lo muestran como un buen atrapador de radicales libres. Además, se puede identificar qué radical se obtiene, haciendo las comparaciones pertinentes con los patrones reportados (Knaapen 2000, Shi 2003).

La capacidad oxidante mayor se encontró nuevamente para una zona del norte, esta vez del 2003, y para cada año de muestreo la zona norte predominó con su capacidad oxidante sobre el centro y sur, aunque no de forma significativa. Esto reafirma la hipótesis de que la alta cantidad de metales contenida en la zona norte es la causante del alto potencial oxidante (Figura 9).

Al utilizar deferoxamina como inhibidor los resultados sugieren que efectivamente en la zona norte los metales son los causantes de su potencial oxidante. Mientras que para la zona centro y sur la posible existencia de otras sustancias podría ser la causa del efecto oxidante, entre los probables responsables están los compuestos orgánicos o metales diferentes a hierro y cobre.

No así en las $\text{PM}_{2.5}$, que no mostraron disminución al utilizar deferoxamina. Esto se debe a que la composición de las $\text{PM}_{2.5}$ en su mayor parte son especies orgánicas.

Esta asociación de resultados indica que la zona norte de la ZMCM ha sido la más afectada en cuanto a contaminación, pues la alta concentración de metales hace que pueda presentar un mayor riesgo a personas que vivan en esa zona. No obstante, la zona sur ha incrementado fuertemente su concentración de PMs y esto tiene su origen

en la explotación de dicha zona, aunque se considera una zona residencial (Vega 2002). La zona centro por su parte ha logrado resistir esos cambios y mantiene sus concentraciones habituales de contaminantes (CAM 2004).

EL USO DE LA RPE COMO HERRAMIENTA DE MONITOREO.

Sabemos que la exposición a partículas está relacionada con enfermedades respiratorias y cardiovasculares, debido a que las partículas pueden penetrar fácilmente en las vías respiratorias (Beeson 1998, Bonner 1998, Borja-Aburto 1998). Las partículas también están relacionadas con daño al DNA y a la muerte celular (García-Cuéllar 2002). Esta capacidad de daño puede relacionarse estrechamente con el potencial oxidante de las partículas, ya que se han hecho estudios sobre de lipoperoxidación, donde los resultados indican que las partículas están relacionadas con dichos daños.

Existen diversos grupos que trabajan con partículas. Para ello ocupan distintos tipos de análisis, para conocer la concentración o el tipo de compuestos que contienen las partículas. Algunos de estos son la gravimetría, composición elemental por PIXE, fluorescencia de rayos X, UV (Miranda 2004). Estos métodos nos permiten conocer algunos componentes que se encuentran en las PMs. Sin embargo con ellos no es posible conocer el daño que puedan ocasionar. La RPE es una técnica que permite analizar las partículas para conocer la cantidad de especies paramagnéticas, evaluar el potencial oxidante y relacionarlo con el efecto toxicológico.

Se ha mencionado que dentro de los componentes de las partículas encontramos metales de transición como V, Cr, Mn, Fe, Ni, Cu, Zn, Sr, Pb (Miranda 1992, Bonner 1998, Osornio 2003), asbestos y fibras (Arenas 1994), albúmina de perro y rata (Rosas 1994), entre otros. Si bien no conocemos con precisión qué componentes de las

partículas están mayormente relacionados con el potencial oxidante y con el daño celular, podemos suponer que la concentración de metales es un factor que incide en la concentración de especies paramagnéticas, así como en el potencial oxidante de las partículas. La RPE, sin ser una herramienta toxicológica, nos permite relacionar los resultados del análisis de las partículas con efectos que estas provocan en seres vivos, además de lograr experimentación *in vitro*.

La importancia de las partículas en la contaminación del aire, es que estas partículas se obtienen monitoreando zonas específicas de las Ciudad de México clasificadas en este estudio como Norte, Centro y Sur. El monitoreo de PMs es una herramienta de gran utilidad, ya que permite realizar investigaciones en el área química, médica y biológica en diferentes niveles. Sin embargo, una limitante es la obtención de cantidades pequeñas de PMs. También es importante recalcar que hay diferentes muestreadores dependiendo del tamaño de las partículas (PM_{10} , $PM_{2.5}$ y $PM_{0.1}$) lo cual también es un factor determinante en la obtención de PMs. Aunado a esto tenemos las épocas de secas y húmedas de muestreo, las cuales establecen la cantidad de PMs que se pueden recolectar. Si bien la cantidad de partículas es una limitante para su estudio, la RPE nos permite realizar análisis y obtener resultados confiables con pequeñas cantidades de muestras de alrededor de 1 mg. Además, las partículas se pueden recuperar, debido a que es una técnica no destructiva.

PROPUESTA

Una propuesta para el futuro es construir un muestreador de partículas con un dispositivo de RPE para que nos dé la información en tiempo real de la toxicidad de las partículas muestreadas en ese momento y no tener que esperar hasta hacer un análisis posterior. Esto nos ahorraría tiempo en la toma de decisiones.

Se propone realizar una campaña de muestreo que informe en tiempo real sobre las condiciones ambientales por medio de la medición del potencial oxidante utilizando la técnica de RPE.

Sería necesario establecer una metodología para determinar que instrumentos se utilizarían en la implementación del muestreo de partículas y la medición de su potencial oxidante. Sería necesario contar algún equipo que colecte partículas acoplado a una balanza del tipo TEOM, el cual permite saber la cantidad de partículas que se tienen en cada instante

El equipo de muestreo se acopla por medio de un equipo robotizado, a un instrumento portátil de RPE del tipo MiniScope MS100 Magnatech, donde las partículas se colocarían en un tubo de cuarzo, sabiendo su cantidad. Posteriormente, se agregarían los reactivos como son el PBS, el H_2O_2 , realizando ahí mismo la incubación. Por último, se añadiría el DMPO.

Una vez realizada la medición, el software de evaluación del propio equipo de RPE daría el resultado del análisis para su interpretación en tiempo real y poder ocupar ese análisis para dar parámetros sobre la contaminación con partículas.

Con esto se podría agregar una herramienta más al sistema de monitoreo diario de ciudades contaminadas.

CONCLUSIONES

Las PMs presentan diferencias en las concentraciones de especies paramagnéticas y en el potencial oxidante, dependiendo de la zona y el año que fueron colectadas.

La concentración de especies paramagnéticas en las partículas ha disminuido del año 1991 al año 2003.

Se propone a la RPE como una herramienta de monitoreo ambiental, o introduciendo equipos anticontaminantes que controlen las emisiones ayudados por la RPE.

Queda por evaluar el potencial oxidante de las partículas sin H_2O_2 para saber la producción intrínseca de OH^\bullet .

BIBLIOGRAFÍA

1. Abragam A. & Bleaney B. Electron paramagnetic resonance of transition ions. Oxford, England: Oxford University. 1970; 700 p.
2. Alfaro-Moreno E, Martínez L, García-Cuéllar C, Murray JC, Bonner JC, Ponce de Leon S, Rosas I, Osornio-Vargas A. Biological effects induced in vitro by PM₁₀ from three different zones of Mexico City. Environmental Health Perspectives. Environ Health Perspectives 2002; 110: 715-720.
3. Alfaro-Moreno Ernesto, Caracterización toxicológica de partículas (PM₁₀) provenientes de tres zonas de la Ciudad de México. Tesis de Maestría. Facultad de Medicina, UNAM, México 1999.
4. Alfaro-Moreno Ernesto, Efectos biológicos inducidos por aeropartículas (PM₁₀) de tres diferentes zonas de la Ciudad de México. Tesis de Doctorado. Facultad de Medicina, UNAM, México 2004.
5. Arenas-Huertero F. J., Salazar-Flores M., Osornio-Vargas A. R., Ferruginous biddies as markers of environmental exposure to inorganic particles: experience with 270 autopsy cases in Mexico. Environ Res 1994; 64: 10-17.
6. Becker S, Dailey LA, Soukup JM, Grambow SC, Devlin RB, Huang YC. Seasonal variations in air pollution particle-induced inflammatory mediator release and oxidative stress. Environ Health Perspect 2005;113(8):1032-8.
7. Becker S, Soukup JM, Gilmour MI, Devlin RB. Stimulation of human and alveolar macrophages by urban air particulates: effects of oxidant radical generation and cytokine production. Toxicol Appl Pharmacol 1996; 141: 637-648.
8. Beeson W, Lawrence Abbey DE, Knutsen SF. Long term concentrations of ambient air pollutants and incident lung cancer in California adults. Results from the AHSMOG study. Environ Health Perspect 1998; 106: 813-823.
9. Bonner JC, Rice AB, Lindroos PM, O'brian PO, Dreher KL, Alfaro Moreno E, Rosas I, Osornio Vargas AR. Induction of the lung myofibroblast PDGF receptor system

by urban ambient particles from Mexico City. *Am J Respir Cell Mol Biol* 1998; 19: 672-680.

10. Borja-Aburto VH, Castillejos M, Gold DR, Bierzwinsky S, Loomis D. Mortality and ambient fine particles in south-west Mexico City, 1993-1995. *Environ Health Perspect* 1998; 106:849-855.

11. Bravo, A. H., Sosa, E. R., Sanchez, A. P., Jaimes, P. M., and Saavedra, R. M. I.: Impact of wildfires on the air quality of Mexico City, 1992–1999, *Environ. Poll.*, 2002; 117, 243–253.

12. CAM (Comisión Ambiental Metropolitana): Inventario de Emisiones 2002 de la Zona Metropolitana del Valle México, Mexico, 2004.

13. Chow JC, Watson JG, Edgerton SA, Vega E. Chemical composition of PM_{2.5} and PM₁₀ in Mexico City during winter 1997. *Sci Total Environ* 2002; 287:177-201.

14. Drago, Russell S. *Physical methods for chemistry*. Ed. Saunders Collage. 1992; 750 p.

15. García-Cuéllar C, Alfaro-Moreno E, Martínez-Romero F, Ponce de León Rosales S, Rosas I, Pérez-Cárdenas E, Osornio-Vargas AR. DNA damage induced by PM₁₀ from different zones of Mexico City. *Annals of Occupational Hygiene*, 2002; 46(1): 425-428.

16. Jiménez L.A., Thompson J., Brown A., Rahman I., Antonicelli F., Duffin R., Drost E.M., Hay R.T., Donaldson K., MacNee W. Activation of NF-κB by PM₁₀ occurs via an iron-mediated mechanism in the absence of IκB degradation. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 2000; 166: 101-110.

17. Knaapen A, Dunemann L, Borm P, Ambient Particulate Matter Induces oxidative DNA Damage in lung Epithelial cells. *Inhalation Toxicology* 2000; 12:125-132.

18. Miranda J, Alfaro-Moreno E, García-Cuellar C, Osornio-Vargas A.R, Barrera V, Espinosa A, Galindo O.S, Meinguer J., PIXE analysis of atmospheric aerosols in Mexico City related to their cytotoxic and genotoxic effects, X International Conference on PIXE and its Analytical Applications, 2004, 502/1-502/4.

19. Miranda J, López-Suárez A, Paredes-Gutiérrez R, González S, de Lucio OG, Andrade E, et al. A study on atmospheric aerosols from five sites in Mexico City using PIXE. *Nuclear Instruments and Methods in Physical Research B* 1998; 136(138): 970-974.
20. Miranda J, Morales JR, Cahill T, Aldape F, Flores J. A study of elemental contents in atmospheric aerosols in Mexico City. *Atmósfera* 1992; 5: 95-108.
21. Miranda, J., Barrera, V. A., Espinosa, A. A., Galindo, O. S., Núñez-Orosco, Montesinos, R. C., Leal-Castro, A., and Meinguer, J.: PIXE analysis of atmospheric aerosols from three sites in Mexico City, *Nucl. Instr. and Meth. B*, 219–220, 157–160, 2004.
22. Munguía Castro Martha Elena y Pérez Neria José. La contaminación atmosférica en el sur de la Zona Metropolitana del Valle de México. *Rev Inst Nal Enf Resp Mex.* 2003; 16(1) 48-53.
23. Osornio-Vargas AR, Alfaro Moreno E, Rosas I, Lindroos PM, Badget A, Dreher K, Bonner JC. The *in vitro* toxicity of ambient PM₁₀ particles from the southern, central and northern regions of Mexico City to lung fibroblasts is related to transition metal content. *Am J Resp Dis Crit Care Med* 1996; 153(4): 15.
24. Osornio-Vargas AR, Bonner JC, Alfaro-Moreno E, Martínez L, García-Cuéllar C, Ponce de Leon S, Miranda J, Rosas I. Proinflammatory and cytotoxic effects of Mexico City air pollution particulate matter in vitro are dependent on particle size and composition. Submitted to *Environ Health Perspect* 2003; 111: 1189-1193.
25. Pope A, Verrier R, Lovett E, Larson A, Raizenne M, Kanner R, Schwartz J, Gold D, Douglas WD. Heart rate variability associated with particulate air pollution. *Am Heart J* 1999; 138: 890-899.
26. Pope CA, Burnett RT, Thun MJ, Calle EE, Krewski D, Ito K, Thurston GD. Lung cancer, cardiopulmonary mortality, and long-term exposure to fine particulate air pollution. *JAMA* 2002; 287: 1132-1141.
27. Ramírez Rosales Daniel, Resonancia de espín electrónica del compuesto (Mn(Pdieno)(H₂O₂)₂)Cl₂ 4H₂O. Tesis de Licenciatura. ESFM, IPN, México 1994.

28. Rosas I, Yela A, Santos-Burgoa C. Occurrence of airborne enteric bacteria in Mexico City. *Eur J Aerobiol: Aerobiología* 1994; 10:39-46.
29. Rosen, Gerald M, Britigan, Bradley E, Halpern, Howard J, Pou, Sovitj. *Free Radicals: Biology and Detection by Spin Trapping*. Oxford University. 1999; Cap 5.
30. Saxon A, Díaz-Sánchez D. Diesel exhaust as a model xenobiotic in allergic inflammation. *Immunopharmacology* 2000; 48: 325-327.
31. Schurath, U. and Naumann, K. H.: Heterogeneous processes involving atmospheric particulate matter, *Pure Appl. Chem.*, 70, 1353–1361, 1998.
32. Schwartz DA. Does inhalation of endotoxin cause asthma? *Am J Respir Crit Care Med* 2001; 163: 305-313.
33. Shi Tingming, Schins Roel P. F., Knaapen Ad M. Hydroxyl radical generation by electrón paramagnetic resonante as a new method to monitor ambient particulate matter composition. *The royal society of chemistry* 2003. JEM.
34. Uchida M. and Ono M., Determination of Hydrogen Peroxide in Beer and Its Role in Beer Oxidation. *J. Am. Soc. Brew. Chem.* 1999; 57(4):145-150.
35. Vega E, Reyes E, Sánchez G, Ortiz E, Ruiz M Chow J, Watson J, Edgerton S. Basic statistics of PM_{2.5} and PM₁₀ in the atmosphere of Mexico City. *Tot Sci Environ* 2002; 287: 167-176.
36. Villalobos R, Blanco S, Gómez S. Mutagenicity assessment of airborne particles in Mexico City. *Atmospheric Environ* 1995; 29: 517-524.
37. Wertz J. E. and Bolton J. R. *Electron Spin Resonance. Elementary Theory and Practical Applications*. Ed. Chapman and Hall. New York, USA 1986.

BIBLIOGRAFÍA COMPLEMENTARIA

1. Alfaro-Moreno E, García-Cuéllar C, Dueñas-González A. Métodos de detección de apoptosis, aplicaciones y limitaciones. *Rev Inst Nal Cancerol* 2000; 46: 275-280.
2. Barrera López Valter Armando, Desarrollo de un equipo de muestreo de aerosoles atmosféricos para análisis elemental con Pixe. Tesis de Licenciatura. Facultad de Química, UNAM, México 2002.
3. Bravo, Humberto et al. Analysis of the change in the atmospheric urban formaldehyde and photochemistry activity as a result of using Methyl-t-Butyl-Ether (MTBE) as an additive in gasolines of the metropolitan area of Mexico City. *Atmospheric Environment* 1991; 25(2): 285-288.
4. Martínez L. Evaluación de la toxicidad y potencial pro-inflamatorio de las aeropartículas de la Ciudad de México. Tesis de Maestría. Facultad de Ciencias, UNAM, México, 2001.
5. Osornio-Vargas AR, Martínez L, García C, Alfaro-Moreno E, Rosas I, Torres V, Pérez-Cárdenas E. Cellular effects induced by PM_{2.5} and PM₁₀ from two zones of Mexico city (MC). *Am J Respir Dis Crit Care Med* 2002; 165 (8): 213.
6. Osornio-Vargas AR., Alfaro-Moreno E., García-Cuéllar C., Rosas-Pérez I. ¿Tienen las PM₁₀ de la Ciudad de México el mismo potencial tóxico? Reporte técnico del Consejo de estudios para la restauración y valoración ambiental. Gobierno del Distrito Federal. 1999.
7. Ponciano Rodríguez Guadalupe, Rosas Pérez Irma, Alfaro Moreno Ernesto. Contaminación atmosférica por partículas y salud en la Ciudad de México. *Ciencia y desarrollo* 2000; 152: 19-25.
8. Rosas Irma, Belmont Raul and Jauregui Ernesto. Seasonal variation of atmospheric lead levels in three sites in Mexico City. *Atmósfera* 1995; 8: 157-168.