



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE QUÍMICA

**EVALUACIÓN ANALÍTICA PARA LA DETERMINACIÓN DE
HIDROCARBUROS AROMÁTICOS POLICÍCLICOS EN LA FASE
GASEOSA EMITIDA POR LA COMBUSTIÓN DE DIESEL**

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

QUIMICO

PRESENTA

MARIBEL HERNÁNDEZ CAMARILLO



MÉXICO, D.F.

AÑO



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: Profesor: Ernestina Cervera Flores

VOCAL: Profesor: Omar Amador Muñoz

SECRETARIO: Profesor: José de Jesús García Valdés

1er. SUPLENTE: Profesor: Gloria García Ramírez

2° SUPLENTE: Profesor: Araceli Patricia Peña Álvarez

SITIO DONDE SE DESARROLLÓ EL TEMA:

LABORATORIO DE ESPECIACIÓN QUÍMICA DE AEROSOLIOS ORGÁNICOS ATMOSFÉRICOS Y DESARROLLO DE MÉTODOS ANALÍTICOS DE LA SECCIÓN DE MUTAGÉNESIS AMBIENTAL DEL CENTRO DE CIENCIAS DE LA ATMÓSFERA DE LA UNAM.

ASESOR DEL TEMA: DR. OMAR AMADOR MUÑOZ

SUPERVISOR TÉCNICO: M. EN C. BRENDA LÍZ VALLE HERNÁNDEZ

SUSTENTANTE (S): MARIBEL HERNÁNDEZ CAMARILLO

Símbolos y abreviaturas

°C	Grados Celsius
CG	Cromatografía de gases unidimensional
CO	Monóxido de carbono
COVs	Compuestos orgánicos volátiles
CV	Coeficiente de variación
DE	Desviación estándar
EFS	Extracción en fase sólida
EM	Espectrometría de masas
EPU	Espuma de poliuretano
FFV	Filtro de fibra de vidrio
HAP	Hidrocarburos aromáticos policíclicos
INE	Instituto Nacional de Ecología
IPCC	Intergovernmental Panel of Climate Change
MEFS	Micro extracción en fase sólida
µg	Microgramo
min	Minuto
mL	Mililitro
NO ₂	Dióxido de nitrógeno
NO ₂ -HAP	Nitro-hidrocarburos aromáticos policíclicos
O ₃	Ozono
PST	Partículas suspendidas totales
PM ₁₀	Partículas menores o iguales a 10 µm de diámetro
PM _{2.5}	Partículas menores o iguales a 2.5 µm de diámetro
rpm	Revoluciones por minuto
SO ₂	Dióxido de azufre
t _r	Tiempo de retención absoluto
t _{rr}	Tiempo de retención relativo

Índice

	Resumen	1
1.0	Introducción	3
2.0	Marco teórico	3
2.1	Aerosol atmosférico y calidad del aire	3
2.2	Compuestos orgánicos volátiles (COVs) y material particulado (PM)	4
2.3	Evaluación de la calidad del aire en la ciudad de México	6
2.4	Diesel y evaluación del impacto de su uso como combustible	7
2.5	Biodiesel	9
2.6	Hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAP)	11
2.7	Muestreo y análisis de HAP	15
2.8	Reactividad química de HAP	17
2.8.1	Reacciones en fase gaseosa	17
2.8.2	Reacciones en fase particulada	17

2.9	Cromatografía de gases	18
2.10	Cromatografía de gases-espectrometría de masas	19
2.11	Validación de un método analítico	19
2.12	Exactitud	20
2.13	Precisión	20
2.13.1	Repetibilidad	21
2.13.2	Reproducibilidad	21
2.14	Sensibilidad	21
2.15	Selectividad y especificidad	22
2.16	Linealidad	22
2.17	Límites de detección y de cuantificación	23
2.18	Intervalo lineal de trabajo	24
3.0	Objetivos	25

3.1	Objetivo general	25
3.2	Objetivos particulares	25
4.0	Hipótesis	25
5.0	Metodología	26
5.1	Acondicionamiento de las espumas de poliuretano	26
5.2	Muestreo	27
5.3	Evaluación de técnicas de extracción de HAP en EPU	28
5.4	Método de extracción de HAP en EPU empleando CEMAUF	29
5.5	Análisis por cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (CG-EM)	31
5.6	Construcción de las curvas de calibración	32
5.6.1	Preparación de las disoluciones madre	32
5.6.2	Preparación de las disoluciones de trabajo	36
5.6.3	Preparación de las disoluciones de fortificación	38
5.7	Preparación del estándar interno	39

5.7.1.	Disoluciones madre de HAP deuterados	39
5.7.2	Disoluciones de trabajo del estándar interno	42
5.8	Preparación de la curva instrumental y la curva de método	44
5.9	Tratamiento de las muestras de diesel y biodiesel	44
5.10	Análisis cualitativo	45
5.10.1	Identificación de los HAP con base en los tiempos de retención relativos al estándar interno	45
5.10.2	Identificación de los HAP con base en los espectros de masa	45
5.11	Análisis cuantitativo	46
5.11.1	Evaluación de la homoscedasticidad de las varianzas	46
5.11.2	Regresión lineal ponderada	47
5.11.3	Evaluación de la linealidad	48
5.11.3.1	Determinación del coeficiente de correlación momento producto	48
5.11.3.2	Bondad de ajuste con análisis de varianza (ANOVA)	49

5.11.4	Evaluación de la precisión	50
5.11.5	Determinación de la eficiencia del método	50
5.11.6	Cálculo de los límites de detección y cuantificación	52
6.0	Resultados y discusión	53
6.1	Análisis cualitativo	53
6.1.1	Identificación de HAP con base en los tiempos de retención relativos (t_{rr})	53
6.1.2	Identificación de HAP con bases en sus espectros de masa	54
6.2	Análisis cuantitativo	59
6.2.1	Evaluación de la homoscedasticidad de las varianzas	59
6.2.2	Regresión lineal ponderada	62
6.2.3	Evaluación de la linealidad	66
6.2.3.1	Análisis del coeficiente de correlación momento producto	66
6.2.3.2	Bondad de ajuste con análisis de varianza (ANOVA)	68
6.2.4	Evaluación de la precisión	70

6.2.5	Intervalo lineal de trabajo	73
6.2.6	Eficiencia del método	73
6.2.7	Límites de detección y cuantificación	77
6.3	Análisis de la fase gaseosa emitida de la combustión de Diesel y B10	78
7.0	Conclusiones	87
8.0	Recomendaciones	89
9.0	Referencias	90
10.0	Apéndices	
	Apéndice A. Evaluación de distintas técnicas de extracción de HAP en EPU	97
	Apéndice B. Evaluación del método de extracción	99
	Apéndice C. Verificación de la balanza	104

Índice de tablas

I	Límites máximos permitidos de contaminantes atmosféricos criterio	4
II	Características generales del diesel	8
III	Características generales del biodiesel	10
IV	Algunas propiedades de los hidrocarburos aromáticos policíclicos	14
V	Condiciones de operación del sistema CG-EM	31
VI	HAP [ng] requeridos para cada nivel de la curva de calibración en ambos intervalos de concentración	32
VII	Disolución madre de HAP $\leq 192 \text{ g mol}^{-1}$ (DM I)	35
VIII	Disolución madre de HAP $> 192 \text{ g mol}^{-1}$ (DM II)	35
IX	Disolución de trabajo de HAP $\leq 192 \text{ g mol}^{-1}$ (DT I)	37
X	Disolución de trabajo de HAP $> 192 \text{ g mol}^{-1}$ (DT II)	37
XI	Volumen requerido de DT I, DT II y DT III para la preparación de los puntos de calibración	39
XII	Disolución madre de HAP-d con masa $\leq 188 \text{ g mol}^{-1}$ (DMI-EI)	41
XIII	Disolución madre de HAP-d con masa $> 188 \text{ g mol}^{-1}$ (DMII-EI)	41

XIV	Disolución de trabajo de HAP-d con masa $\leq 188 \text{ g mol}^{-1}$ (DTI-EI)	42
XV	Disolución de trabajo de HAP-d con masa $>188 \text{ g mol}^{-1}$ (DTII-EI)	42
XVI	Preparación de la disolución de fortificación del estándar interno	43
XVII	Condiciones de operación del motor para la muestra de diesel y biodiesel	44
XVIII	Parámetros de la regresión lineal ponderada	47
XIX	Análisis de varianza de la regresión lineal simple	50
XX	Tiempos de retención absolutos (t_r), relativos (t_{rr}) e iones de fragmentación de los HAP estudiados	54
XXI	Evaluación de la homoscedasticidad de las varianzas en la curva de calibración instrumental del fenantreno ($n=3$ y $\nu=2$)	60
XXII	Valores de F de Fisher calculados para evaluar la homoscedasticidad de las varianzas en las curvas de calibración instrumentales ($p=0.05$, $n=3$ y $\nu=2$)	61
XXIII	Valores de F de Fisher calculados para evaluar la homoscedasticidad de las varianzas en las curvas de calibración del método ($p=0.05$, $n=3$ y $\nu=2$)	61
XXIV	Parámetros de la regresión lineal ponderada de la curva de calibración instrumental del fluoreno	62
XXV	Parámetros para la determinación de $S_{(y/x)_w}$ de la curva de calibración instrumental del fluoreno	64

XXVI	Pendientes, ordenadas al origen y desviaciones de las curvas de calibración instrumentales ponderadas de cada HAP	65
XXVII	Pendientes, ordenadas al origen y desviaciones de las curvas de calibración ponderadas del método para cada HAP	65
XXVIII	Datos para la determinación del coeficiente de correlación momento producto (r) de la curva de calibración instrumental del fenantreno	66
XXIX	Coefficientes de correlación (r), de determinación (r^2) y valores de t calculados para cada curva de calibración ponderada instrumental de los correspondientes HAP	67
XXX	Coefficientes de correlación (r), de determinación (r^2) y valores de t calculados para cada curva de calibración ponderada del método de los correspondientes HAP	67
XXXI	Valores de F de Fischer obtenidos para evaluar ANOVA en las curvas de calibración instrumentales y de método	69
XXXII	Parámetros para la evaluación de la precisión por nivel y total del fenantreno en la curva de calibración instrumental	70
XXXIII	Precisión expresada en función del porcentaje del coeficiente de variación para cada nivel de las curvas de calibración instrumentales de los HAP	71
XXXIV	Precisión expresada en función del porcentaje del coeficiente de variación para cada nivel de las curvas de calibración de método para cada HAP	71
XXXV	Precisión total en las curvas de calibración instrumentales y de	72

métodos para cada HAP.

XXXVI	Intervalos lineales de trabajo de las curvas instrumentales y de método.	73
XXXVII	Parámetros para la determinación del porcentaje de recobro del fluoreno en el nivel 1 de calibración.	74
XXXVIII	Valores de t calculada y t de tablas para la evaluación de la dependencia del porcentaje de recuperación con respecto a la masa	75
XXXIX	Porcentajes de recuperación promedio	75
XL	Resultados de ANOVA para la evaluación del porcentaje de recuperación con respecto a la masa	76
XLI	Porcentaje de recuperación para los HAP dependientes de la masa	76
XLII	Límites de detección (L.D) y cuantificación (L.C) ponderados de cada HAP	78
XLIII	Determinación de masa de fenantreno en el segmento 1 de la EPU-F del tren de diesel	79
XLIV	Modelos matemáticos de la distribución de HAP en cada EPU analizada en el tren de muestreo de Diesel	81
XLV	Modelos matemáticos de la distribución de HAP en cada EPU analizada en el tren de muestreo B-10	82
XLVI	Estimación de la masa total (ng) de fenantreno por cm^{-3} de EPU extraída.	83

Índice de figuras

1	Formación de HAP a partir de etano	13
2	Límite de detección	24
3	Intervalo lineal de trabajo	24
4	Tratamiento previo para las espumas de poliuretano	26
5	Sistema de muestreo y colecta de la fase gaseosa y particulada de la emisión de la combustión de diesel y biodiesel	27
6	Técnicas de extracción de HAP contenidos en EPU empleadas a los análisis preliminares a su determinación en la fase gaseosa	28
7	Celda de extracción a micro escala asistida por ultrasonido	29
8	Método de extracción de HAP en EPU	30
9	Procedimiento experimental para la preparación de las curvas de calibración	33
10	HAPs deuterados ($\leq 188 \text{ g mol}^{-1}$) empleados en la preparación de la disolución madre I de estándar interno (DMI-EI)	40
11	HAPs deuterados ($> 188 \text{ g mol}^{-1}$) empleados en la preparación de la disolución madre II (DMII-EI)	40
12	Preparación de la disolución de fortificación del estándar interno	43
13	Interpretaciones erróneas del coeficiente de correlación, r	48

14	Cromatograma de iones totales del nivel 1 de la curva de calibración del método en el que se muestran los tiempos de retención de los HAP y HAP-d (estándares internos)	53
15	Espectros de masa de los hidrocarburos aromáticos policíclicos	54
16	Curva de calibración instrumental del fenantreno, n=8	59
17	Análisis de varianza para evaluar linealidad calculando la bondad de ajuste	68
18	Masa de Fenantreno [ng] determinada en cada segmento de la EPU frontal analizada	79
19	Distribución de HAP [ng cm ⁻³] en las espumas del tren de muestreo de diesel	84
20	Porcentajes de distribución de HAP en el tren de muestreo de diesel.	84
21	Masa total de HAP [ng cm ⁻³] en el tren de muestreo de diesel.	84
22	Estimación de HAP en las espumas del tren de muestreo de B10	85
23	Masa total de HAP [ng cm ⁻³] en el tren de muestreo de biodiesel (B10)	85
24	Distribución de HAP en el tren de muestreo de biodiesel	85
25	Comparación de las emisiones de HAP obtenidas del tren de diesel y el tren de B10	86
26	Porcentaje de reducción de HAP obtenido al emplear B10	86

Resumen

La composición del aerosol atmosférico es importante ya que éste influye en el balance de la radiación global; ya sea de manera directa por la absorción o por la dispersión de la radiación solar e indirectamente por la formación o inhibición de núcleos de condensación. Además, su composición es responsable de variaciones en el clima, visibilidad y efectos en la salud. Como parte de los compuestos del aerosol destacan los hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAP), los cuales han recibido atención importante en los últimos años debido a su potencial efecto carcinogénico y mutagénico (Kallio *et al.* 2006, Kroll y Seinfeld 2008). La distribución de los HAP entre la fase gaseosa y la particulada depende de la temperatura; cuanto menor es el peso molecular y mayor la presión de vapor, más abundante es su presencia en la fase gaseosa. En general los HAP ≤ 3 anillos ($< 228 \text{ g mol}^{-1}$) predominan en la fase gas; mientras que, los HAP > 4 anillos $\text{PM} \geq 228 \text{ g mol}^{-1}$ están asociados en más del 80 % a la fase particulada (Barro *et al* 2009).

El objetivo de este estudio fue estandarizar un método analítico para la determinación y cuantificación de los HAP presentes en la fase gaseosa proveniente de la combustión incompleta de diesel y de biodiesel. Para ello se empleó como técnica de análisis la cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas. Se probaron distintas técnicas de extracción; siendo el uso de una celda de extracción a microescala asistida por ultrasonido la seleccionada para desarrollar este trabajo. Se empleó cloruro de metileno como extractante y 10 minutos para la extracción. La estandarización del método requirió la construcción de una curva instrumental y una de método con nueve niveles para cada compuesto; se analizaron un total de 12 HAP. En el caso de las curvas de método para cada nivel de adición se utilizó un décimo de espuma de poliuretano (empleadas como adsorbentes en la colecta de la emisión) debido a la complejidad de la muestra. Posteriormente se llevó a cabo la evaluación de los parámetros de validación que incluyeron precisión, linealidad, eficiencia y límites de detección y de cuantificación.

La heteroscedasticidad de las varianzas observada a través de los distintos niveles de calibración de las curvas, sugirió el empleo de una regresión lineal ponderada; se calcularon los valores de las pendientes, las ordenadas al origen, así como las desviaciones de cada una de las curvas de calibración instrumentales y de método.

La precisión en ambas curvas se evaluó a través del porcentaje del coeficiente de variación entre las réplicas de un mismo nivel de calibración, así como de aquel

obtenido entre todos los niveles de calibración. En el primer caso para las curvas de calibración instrumentales los valores oscilaron entre 0.5 % (fenantreno, nivel 1 de calibración) y 10.0 % (2 metilantraceno, nivel 9 de calibración); mientras que en las curvas de método los valores obtenidos fueron de 0.5 % (9,10-Dimetilantraceno, nivel 6) a 13.0 % (acenaftileno, nivel 8 de calibración). Los valores del coeficiente de variación entre todos los niveles en las curvas instrumentales fueron de 4.4 % (antraceno) a 18.0 % (9-metilantraceno); en la curva de método los valores oscilaron entre 2.9 % (1-metilantraceno) a 18.7 % (pireno).

La linealidad se evaluó con base en los coeficientes de determinación r mediante una t de Student, la cual indicó en todos los casos una correlación lineal entre la respuesta y la concentración, tanto en las curvas de calibración instrumentales como en las de método. Se analizó la bondad de ajuste del modelo propuesto a través de un análisis de varianza; los resultados indicaron que los datos de ambas curvas se ajustaron adecuadamente a un modelo lineal.

Los coeficientes de determinación en las curvas instrumentales oscilaron entre 0.96 (9,10-dimetilantraceno) y 1.00 (acenafteno); mientras que en las curvas de método se encontraron entre 0.85 (pireno) y 0.99 (acenaftileno).

Se determinaron los intervalos lineales de trabajo de cada compuesto en cada una de las curvas. Se evaluó la eficiencia ofrecida por el método en cada nivel de concentración de las curvas, así como el análisis del porcentaje de recuperación en función de la masa; obteniéndose un valor promedio para aquellos casos en los que este parámetro fue independiente de la masa. Los porcentajes oscilaron entre 80.6 ± 8.4 % (fenantreno) y 101.0 ± 7.5 % (1-metilantraceno) los cuales se encuentran dentro del intervalo de aceptación establecido por el método de referencia EPA TO13-A (60-120 %). Para aquellos HAP en que el porcentaje de recuperación fue dependiente de la masa se estableció el modelo que describe tal comportamiento.

Para la aplicación del método se emplearon tres espumas en las que se colectó la emisión proveniente de la combustión de diesel y tres más con la emisión de la mezcla de diesel y biodiesel (90:10). Cada espuma se dividió en 10 segmentos de los cuales únicamente se analizaron 5. Los resultados mostraron que el empleo de biodiesel con diesel en una proporción (10:90) disminuyó la masa total de los HAP bajo similares regímenes de operación del motor. Los porcentajes de reducción oscilaron entre 4 (acenafteno) y 73 % (pireno).

1.0 Introducción

La relevancia en los estudios de la composición del aerosol atmosférico subyace en el efecto que ésta tiene en fenómenos climáticos y de la salud; sin embargo la dilucidación de cada uno de los compuestos presentes en él requiere de técnicas analíticas que permitan establecer confiablemente su identificación cualitativa y/o cuantitativa.

La caracterización de los componentes del aerosol atmosférico permite inicialmente clasificarlos como especies orgánicas e inorgánicas y con base en sus características fisicoquímicas se pueden establecer algunos de los procesos implicados en su formación y transformación, determinándose de este modo si son contaminantes primarios o secundarios. La evaluación del impacto de éstos compuestos requiere no sólo de su identificación cualitativa sino también de cuantificación a fin de evaluar el establecimiento de normas para su regulación, requiriéndose así técnicas analíticas sensibles, exactas y precisas.

2.0 Marco teórico

2.1 Aerosol atmosférico y calidad del aire

La atmósfera terrestre está compuesta por N₂ (78%), O₂ (21%) y el 1% restante por gases en concentraciones traza como Argón, CO₂, Ne, He, CH₄, y ozono. Sin embargo, existen suspendidos en esta mezcla de gases una gran cantidad de compuestos químicos emitidos como resultado de procesos antrópicos y biogénicos que pueden presentarse en forma sólida o líquida, además del polvo y el polen (Wark y Warner 1992) conformando así el aerosol atmosférico.

La composición de éste dictamina si existe o no contaminación atmosférica, la cual se define de acuerdo con la Ley General de Equilibrio Ecológico y Protección al Ambiente (LGEEPA) como la adición de toda materia en cualquiera de sus estados físicos que al incorporarse o actuar en la atmósfera modifica la composición y condición natural de ésta generando un desequilibrio ecológico.

La forma en la cual se evalúa la contaminación atmosférica proviene de índices que califican la calidad de ésta tomando en consideración el tipo y concentración de los contaminantes. Éstos se denominan primarios si se emiten directamente por procesos como la combustión, la evaporación y la resuspensión de partículas; mientras que son llamados secundarios si se originaron a partir de la transformación de contaminantes

primarios debido a la reacción entre ellos o con otros compuestos. El ozono, el NO₂ y los compuestos provenientes de procesos de condensación desde la fase gaseosa hacia la particulada se incluyen en este grupo (<http://www.ine.gob.mx/calair-info-basica/524-calair-cont-aire>).

En México algunos contaminantes han sido regulados a través de normas publicadas por la secretaría de salud en las que se establecen sus límites máximos permitidos; éstos se han denominado contaminantes criterio y son indicadores de la calidad del aire y fueron seleccionados debido a sus efectos nocivos sobre la salud de la población.

En la tabla I se presentan los límites máximos permitidos para algunos de los contaminantes atmosféricos criterio, así como la norma que los regula.

Tabla I. Límites máximos permitidos de contaminantes atmosféricos criterio

Indicadores	Norma	Valor máximo permitido
PM₁₀	NOM-025-SSA1-1993	120 µg m ⁻³ en 24 h 50 µg m ⁻³ como promedio anual
PM_{2.5}	NOM-025-SSA1-1993	65 µg m ⁻³ en 24 h 15 µg m ⁻³ como promedio anual
SO₂	NOM-022-SSA1-1993	0.13 ppm en 24 h una vez al año
CO	NOM-021-SSA1-1993	11 ppm en un promedio de 8 h una vez al año
NO₂	NOM-023-SSA1-1993	0.21 ppm en 1 h una vez al año
O₃	NOM-020-SSA1-1993	0.11 ppm en 1 h una vez al año

2.2 Compuestos orgánicos volátiles (COVs) y material particulado (PM)

Además de las clasificaciones antes mencionadas para los contaminantes, se ha incorporado un nuevo grupo denominado contaminantes peligrosos del aire, los cuales pueden causar efectos irreversibles en la salud humana e incluyen compuestos cancerígenos. En este grupo destacan los compuestos orgánicos volátiles (COVs) y el material particulado (MP) (Arriaga *et al.* 2004).

El primer grupo se refiere a especies orgánicas en fase gas con presiones de vapor $\geq 10^{-2}$ kPa y que excluyen al CO, al CO₂ y al metano (Arriaga *et al.* 2004).

La Secretaría del Medio Ambiente y Recursos Naturales (SEMARNAT) a través de la NADF-011-AMBT-2007 define a los COVs como sustancias químicas constituidas principalmente por hidrocarburos que se evaporan a temperatura ambiente.

Los COVs participan en reacciones fotoquímicas a nivel troposférico en presencia de óxidos de nitrógeno ($\text{NO} + \text{NO}_2 = \text{NO}_x$) contribuyendo a la formación de ozono que es un indicador directo de la calidad del aire (Arriaga *et al.* 2004, NADF-011-AMBT-2007). El ozono y los NO_x existen en un estado de equilibrio en presencia de luz ya que el NO reacciona con O_3 para producir NO_2 , que a su vez generan ozono (Seinfeld y Pandis 1998). Sin embargo en presencia de COVs, el exceso de O_3 se produce por la remoción de NO con radicales alquilperoxi (RO_2) que son producidos por oxidación fotoquímica de COVs; por esta razón además de las mediciones de O_3 y NO_x son necesarias las mediciones de COVs y RO_2 si se desean comprender los procesos de formación de ozono (Raga *et al.* 2001).

Con la finalidad de entender la contribución de los COVs en la formación de O_3 , se han identificado sus fuentes y tomado medidas de control de disminución en su emisión. Arriaga y colaboradores (2004) desarrollaron un estudio sistemático, conducido desde 1992 hasta 2001, en el que se tomaron mediciones de COVs (de C_2 a C_{12}), de NO_x y de CO en tres sitios del Área Metropolitana de la Ciudad de México (Xalostoc, Merced y Pedregal). Los resultados mostraron una disminución de la concentración de COVs entre 15 y 25 % a pesar de un incremento del parque vehicular, de la población y del consumo energético. Lo anterior sugiere que aun cuando hubo crecimiento en transporte y otras actividades que son fuentes de emisión de COVs, éstos se estabilizaron e incluso decrecieron; por lo que el control de emisiones establecido en ésta etapa parece haber sido efectivo (Arriaga *et al.* 2004). Pese a estos resultados, las concentraciones de COVs en la ciudad de México continúan siendo altas comparadas con otras áreas urbanas y las concentraciones de ozono exceden frecuentemente la norma mexicana (Arriaga *et al.* 2004).

En este mismo periodo también se observó una disminución en la concentración de NO_x y CO ; la tendencia de este último compuesto se atribuyó a la implementación de convertidores catalíticos en los vehículos e iniciativas gubernamentales en materia de regulación de sus emisiones desde la industria y otras fuentes (Arriaga *et al.* 2004).

El segundo grupo relevante en el estudio del aerosol atmosférico concierne a las partículas suspendidas sólidas o líquidas, cuyo tamaño varía entre 0.005 y 100 μm .

Dependiendo de su origen y/o sus procesos de transformación son de distinta forma y composición. Respecto a su origen las partículas pueden ser emitidas por procesos naturales como la polinización de las plantas, procesos geológicos e incendios forestales o bien, ser de origen antrópico por actividades como la quema de combustibles o la fertilización de campos agrícolas.

Las partículas se clasifican de acuerdo con su diámetro en dos tipos, el primero corresponde aquellas con diámetro $\leq 10 \mu\text{m}$ (PM_{10}) y también son denominadas partículas gruesas o respirables. El segundo tipo corresponde a partículas finas cuyo diámetro es menor a $2.5 \mu\text{m}$ ($\text{PM}_{2.5}$) (www.epa.gov/airquality). Por su tamaño, las $\text{PM}_{2.5}$ permanecen en el aire más tiempo y se transportan distancias mayores que las PM_{10} , por lo que las fuentes de emisión de las $\text{PM}_{2.5}$ o de sus precursores pueden encontrarse lejos de los sitios en que se éstas se colectan.

La toxicidad de las partículas está determinada por sus características físicas y químicas. Se ha encontrado que la exposición prolongada a las partículas finas aumenta el riesgo de mortalidad por cáncer pulmonar y enfermedades cardiopulmonares. Además implica agravación del asma, aumento de los síntomas respiratorios como tos y respiración difícil o dolorosa, bronquitis crónica y reducción de la función pulmonar (<http://www.ine.gob.mx/calair-informacion-basica/523-calair-cont-criterio#3>).

2.3 Evaluación de la calidad del aire en la ciudad de México

Durante los pasados 15 a 20 años las investigaciones en calidad del aire de la ciudad de México se desarrollaron a través de mediciones directas; sin embargo, debido a la complejidad de los procesos físicos y químicos de la atmósfera se ha implementado el uso de modelos computacionales que ayuden a dilucidar y predecir los efectos de las emisiones antrópicas y biogénicas en la atmósfera (Atkinson 1990).

Respecto a la calidad del aire en la Zona Metropolitana del Valle de México (ZMVM), el ozono continúa siendo el principal problema de contaminación atmosférica. Sin embargo, no se han presentado episodios con concentraciones mayores a 200 puntos del índice metropolitano de la calidad ambiental (IMECA); respecto a PM_{10} y $\text{PM}_{2.5}$ existe una tendencia general a la disminución de estos contaminantes aunque se siguen rebasando las normas. Las concentraciones promedio diarias y anuales para

SO₂ se han reducido a partir del 2003. En el caso del CO se alcanzó una reducción neta del 40 % desde el 2002 al 2008 mientras que la tasa de reducción estimada para COV fue de 85,706 ton/año (PROAIRE).

Raga y colaboradores (2001) concluyeron que la calidad del aire en México se encuentra relacionada con los procesos físicos que subyacen la formación primaria y secundaria de gases y aerosoles. Los resultados muestran que la composición de la fase gaseosa del aerosol contiene 56 % de alcanos, 17 % de aromáticos, 11 % de alquenos y 4 % de alquinos. Así mismo, se encontró elevada concentración de peroxiacetil nitrato (PAN), formaldehído e isobutano; éstos dos últimos atribuidos a la introducción de MTBE (Metil terbutil éter) en gasolinas a partir de 1990 (Raga *et al.* 2001).

2.4 Diesel y evaluación del impacto de su uso como combustible

Una de las principales fuentes de emisión de contaminantes a la atmosfera proviene de procesos que involucran la quema de combustibles fósiles, tal es el caso de los sistemas energéticos en la mayoría de las economías (IPCC 2006). De acuerdo con la NOM-086-ECOL-1994 los combustibles fósiles incluyen el gas natural y los derivados del petróleo, tales como petróleo diáfano, diesel, combustóleo, gasóleo, gas L.P., butano, propano, metano, isobutano, propileno, butileno o cualquiera de sus combinaciones (www.ref.pemex.com). En la quema eficiente de estos combustibles, el carbono e hidrógeno en combinación con el oxígeno se transforman en dióxido de carbono y agua, liberando energía química en forma de calor (IPCC 2006). Sin embargo cuando existe una deficiencia de oxígeno el proceso de combustión no es completo y en consecuencia son generados algunos otros compuestos considerados como contaminantes, ejemplo de ellos son: los óxidos de nitrógeno, los óxidos de azufre, el plomo y los hidrocarburos (IPCC 2006). Lo anterior sugiere la regulación de las emisiones atmosféricas, de la eficiencia en la producción, transmisión y distribución de la energía, así como del desarrollo de fuentes energéticas renovables (Dincer2000, Kamil y Ahmet 2003).

En la zona metropolitana del valle de México la principal fuente de contaminación atmosférica proviene de las emisiones vehiculares derivadas de la combustión de la gasolina y el diesel empleados como combustibles. Al igual que la gasolina, el diesel es uno de los derivados de la destilación del petróleo crudo; y se manufactura a través de

mezclas de gasóleos con kerosina. Se consume principalmente en máquinas de combustión interna de alto aprovechamiento de energía y su uso se orienta principalmente como energético en el parque vehicular.

En México, el diesel producido en las refinerías de petróleos mexicanos (PEMEX) cumple estándares de calidad nacional e internacional. El diesel de PEMEX tiene 0.02% de azufre, 22% de compuestos aromáticos y presenta un índice de cetano de 52 a 55 (relación del tiempo que existe entre la inyección del carburante y el comienzo de su combustión), éste último parámetro indica la calidad de ignición; típicamente los motores están diseñados para un índice de cetano de 40 a 55 (Leiva y Rodríguez, www.ref.pemex.com/octanaje/24Diesel.htm); algunas propiedades generales del diesel se muestran en la tabla II.

Tabla II. Características generales del diesel

Parámetro	Valor establecido	Método de análisis
Azufre	200 ppm máximo	ASTM-D5453
Índice de cetano	46 mínimo	ASTMA-D4737
Densidad	820 a 860 Kg m ⁻³	ASTM-D1298
Contenido de HAP	11% m/m máximo	IP391
Viscosidad	2 a 4.5 mm ² s ⁻¹ a 586 °C	ASTM-D445
Ceniza	100 ppm máximo	ASTM-D482
Agua y sedimento	máximo 0.05 % en volumen	ASTM-D2709
Punto de inflamación	608 °C	ASTM-D93

ASTM "American Society for Testing of Materials"

Se estima que en la ZMVM que existen más de 4.2 millones de vehículos; un 95 % emplea gasolina, 4 % diesel y el 1 % restante utiliza gas licuado de petróleo (GLP) como combustibles, que en conjunto son las principales fuentes de contaminantes atmosféricos. En general, cuando el combustible inyectado no encuentra la cantidad de oxígeno necesario para completar la combustión en los motores ocurre la formación de mezclas complejas de compuestos orgánicos e inorgánicos que se distribuyen en las fases gaseosa y particulada de las emisiones (Zielinska 2005).

Respecto a la composición de las emisiones de diesel, los alcanos se consideran los mayores indicadores de éstas; siendo predominantes aquellos de cadenas de C_{14} a C_{16} (Zielinska 2005). Los hidrocarburos aromáticos, pueden provenir directamente del combustible, o bien, ser generados por fragmentos de compuestos parcialmente destruidos que se recombinan en la etapa de pirosíntesis; en dicho proceso los compuestos insaturados reaccionan térmicamente vía reacciones de Diels Alder para dimerizar o trimerizar derivando en la formación de anillos de 6 miembros, la deshidrogenación de estos hidrocarburos produce compuestos aromáticos de un sólo anillo, que reaccionan para dar lugar a la formación de los hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAP) (Zielinska 2005).

La emisión de cada contaminante depende del tipo de vehículo, de las condiciones de operación del motor y de la composición del combustible; sin embargo, el desarrollo tecnológico implementado en los motores a diesel que incluye el proceso de oxidación catalítica, un sistema eficiente de trampa, la recirculación de gases del escape, las modificaciones en la composición y los aditivos del combustible pueden reducir la emisión de contaminantes (Bagley *et al.* 1998, Correa y Arbilla 2006, Karavalakis *et al.* 2009 a, b).

2.5 Biodiesel

Una alternativa adicional es el empleo de combustibles de origen biológico que incluyen oxígeno en sus moléculas, tal es el caso del biodiesel.

Éste es una forma equivalente de diesel procesado a partir de fuentes biogénicas y es una alternativa de combustible para los motores de combustión interna. Es una mezcla de ésteres mono alquílicos de ácidos grasos de cadena larga (C_{14} a C_{22}) derivados de aceites vegetales, grasas animales o restos de aceite de cocina y se obtiene a través de una reacción de transesterificación (Dermibas 2009). El término biodiesel se atribuye al derivado 100% de aceites vegetales o grasas animales, mientras que petrodiesel se emplea para las mezclas de diesel y biodiesel conocidas como B XX, donde XX se refiere a las proporciones de la mezcla. En términos técnicos, el biodiesel deberá cumplir con los requerimientos de la ASTM-D6751; algunas de sus propiedades se muestran en la tabla III (Dermibas 2009).

En los Estados Unidos de América, el aceite de soja es la principal materia prima, el de canola se utiliza en Europa y el de palma juega un papel relevante en otras regiones del mundo (www.astm.org/SNEWS/SPANISH/Q207/q207aprmccwes.html). Aunque hay usuarios de biodiesel (100% o B100) como combustible, sus propiedades son diferentes a las del diesel; su uso genera el depósito de aceites en el sistema de inyección con un subsecuente tapado o baja atomización, endurecimiento de las juntas y bajas propiedades de lubricación (Carraretto *et al.* 2004, Machado y Arbilla 2006). Actualmente resulta más común utilizar el biodiesel mezclado con diesel de petróleo a niveles que van desde 2% (B2) a 20% (B20) en volumen, siendo esta última proporción la más común (Demirbas 2009).

Entre las ventajas que ofrece el biodiesel, en comparación con el petróleo y el diesel destacan: su carácter ambientalmente amigable, de fácil disponibilidad, renovable, alta eficiencia en su combustión, baja presión de vapor, bajo contenido de azufre y compuestos aromáticos. Además, los riesgos asociados con el manejo, transporte y almacenamiento son menores comparados con otros combustibles (Demirbas 2009).

Tabla III. Características generales del biodiesel

Nombre común	Biodiesel
Nombre químico	Metil ester de ácidos grasos
Intervalo de fórmula química	$C_{14}-C_{24}$ de metil ester de ó $C_{15-25} H_{28-48} O_2$
Intervalo de viscosidad cinemática	$3.3-5.2 \text{ mm}^2 \text{ s}^{-1}$ a $586 \text{ }^\circ\text{C}$
Intervalo de densidad	$860-894 \text{ kg m}^{-3}$, a $561 \text{ }^\circ\text{C}$
Intervalo del punto de ebullición	$1133-1167 \text{ }^\circ\text{C}$
Intervalo del punto de inflamación	$693-723 \text{ }^\circ\text{C}$
Solubilidad en agua	Nula
Apariencia física	Tonalidad de amarillo claro a oscuro
Biodegradabilidad	Mayor que la del petróleo o diesel
Reactividad	Estable pero deben evitarse agentes oxidantes fuertes

Como parte de las emisiones derivadas de los procesos de combustión se encuentran los hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAP), **los cuales son objeto de estudio en el presente trabajo.**

2.6 Hidrocarburos aromáticos policíclicos

Los hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAP) son contaminantes ambientales ubicuos que han recibido atención importante debido a su potencial efecto carcinogénico (IARC 2010) y mutagénico (Villalobos-Pietrini *et al.* 2007). Son componentes de la materia orgánica policíclica (MOP) presente en el aire; que incluyen nitro-HAP, oxi-HAP, alquil-HAP, además de compuestos heterocíclicos que contienen nitrógeno, azufre y oxígeno. Son moléculas orgánicas aromáticas que contienen C e H en forma de anillos fusionados (Tran *et al.* 2007). De acuerdo con la definición presentada en el método TO-13 de la Agencia de Protección al Ambiente de los Estados Unidos de América (EPA) los HAP incluyen sólo moléculas que presentan dos o más anillos fusionados (EPA 1999). Son compuestos relativamente poco solubles en agua ya que son lipofílicos. Estos pueden reaccionar en presencia de la luz ultravioleta, con ozono, óxidos de nitrógeno y dióxido de azufre, dando lugar a dionas, nitro y dinitro HAP y derivados del ácido sulfónico, respectivamente. En el suelo pueden ser degradados por algunos microorganismos (WHO 1987, ATSDR 1994).

Los HAP se emiten por fuentes naturales y/o antrópicas, en general se presentan en mezclas complejas y se pueden producir a partir de hidrocarburos saturados bajo condiciones deficientes de oxígeno a altas temperaturas. La pirólisis y la pirosíntesis son los dos mecanismos que pueden explicar su formación. La pirólisis de materiales o combustibles fósiles, incluyendo carbón y fuentes de combustión antrópica aportan aproximadamente 90 % de la concentración ambiental de éstos. En esta primer etapa los componentes orgánicos se fragmentan parcialmente en moléculas más pequeñas que son inestables a bajas temperaturas; generalmente, radicales que se recombinan para generar hidrocarburos aromáticos estables en la etapa de pirosíntesis. La mayoría de los HAP se forman entre 500 y 700 °C; y requieren estrictamente temperaturas mayores a 300 °C para generarse a través de estas rutas de síntesis (Tran *et al.* 2007, Ravindra *et al.* 2008a).

La figura 1 muestra un esquema de formación de anillos aromáticos a partir de etano; la tabla IV ilustra algunos ejemplos de HAP de 2 a 6 anillos. El orden de reactividad de los hidrocarburos para formar HAP por pirosíntesis es: aromáticos \geq ciclo olefinas \geq olefinas \geq parafinas (Manahan 1994, Ravindra *et al.* 2008a).

La mayor fuente de producción de HAP incluye procesos industriales, quema o incineración de desechos, emisiones de calefacción doméstica, humo de tabaco,

procesos de cocina (fuentes principales en interiores) y emisiones de autos. Existen sin embargo, fuentes naturales, tales como: incendios forestales, procesos hidrotérmicos y emisiones de volcanes.

Debido a que la exposición humana a los HAP puede ocurrir vía alimentos, agua, aire o por contacto directo con materiales que los contengan, y a que éstos tienen un potencial efecto carcinogénico y mutagénico han sido analizados en diversas matrices (aire, agua, sedimentos y tejidos). Típicamente las muestras ambientales contienen mezclas extremadamente complejas que incluyen estructuras isoméricas (Peltonen y Kuljukka1995). Los poliaromáticos de bajo peso molecular de 2 ó 3 anillos son comúnmente tóxicos pero no carcinógenos; caso inverso para los HAP como benzo[*a*]pireno y dibenzo[*a,h*]antraceno (Tran *et al.* 2007).

La distribución de los HAP entre la fase gaseosa y la particulada en la atmósfera se lleva a cabo de acuerdo con su volatilidad. En la fase particulada los HAP se adsorben predominantemente en la fracción respirable (PM_{2.5}) del material suspendido. Diversas técnicas se han desarrollado para el muestreo y/o colecta de HAP en interiores y exteriores. Algunos estudios en aire de interiores y de exteriores han encontrado que en los primeros dominan HAP de 2 y 3 anillos, mientras que, en el ambiente de exteriores los de 4 a 7 anillos (Barro *et al.* 2009).

El monitoreo ambiental se desarrolla comúnmente a través de la colecta de la fracción particulada en filtros utilizando equipos de muestreo de alto y bajo volumen. Para la colecta de la fase gas el uso de absorbentes sólidos es adecuado. Los métodos analíticos más frecuentes para su análisis son la cromatografía de líquidos con detección de fluorescencia y la separación por cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas; aunque, la electroforesis capilar también se ha empleado (Peltonen y Kuljukka1995).

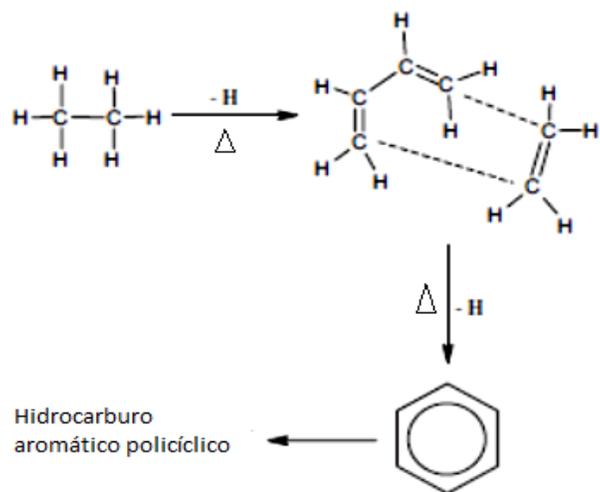
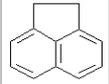
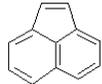
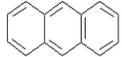
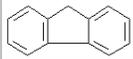
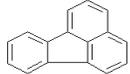
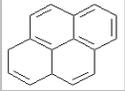
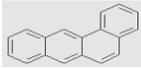
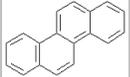
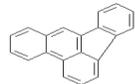
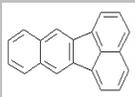
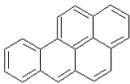
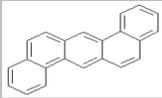
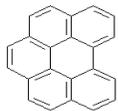
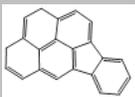


Figura 1. Formación de HAP a partir de etano

Tabla IV. Algunas propiedades de los hidrocarburos aromáticos policíclicos

<p>Naftaleno</p> 	<p>Masa molecular: 128.17 g mol⁻¹ Fórmula molecular: C₁₀H₈ P.f. 81 °C P. eb. 218 °C</p>
<p>Acenafteno</p> 	<p>Masa molecular: 154.20 g mol⁻¹ Fórmula molecular: C₁₂H₁₀ P.f. 96 °C P. eb. 271 °C</p>
<p>Acenaftileno</p> 	<p>Masa molecular: 152.19 g mol⁻¹ Fórmula molecular: C₁₂H₈ P.f. 93 °C P. eb. 270 °C</p>
<p>Fenantreno</p> 	<p>Masa molecular: 178.24 g mol⁻¹ Fórmula molecular: C₁₄H₁₀ P.f. 101 °C P. eb. 338 °C</p>
<p>Antraceno</p> 	<p>Masa molecular: 178.24 g mol⁻¹ Fórmula molecular: C₁₄H₁₀ P.f. 216 °C P. eb. 340 °C</p>
<p>Fluoreno</p> 	<p>Masa molecular: 166.22 g mol⁻¹ Fórmula molecular: C₁₃H₁₀ P.f. 117 °C P. eb. 294 °C</p>
<p>Fluoranteno</p> 	<p>Masa molecular: 202.25 g mol⁻¹ Fórmula molecular: C₁₆H₁₀ P.f. 111 °C P. eb. 383 °C</p>
<p>Pireno</p> 	<p>Masa molecular: 202.25 g mol⁻¹ Fórmula molecular: C₁₆H₁₀ P.f. 156 °C P. eb. : 393 °C</p>
<p>Benzo[a]antraceno</p> 	<p>Masa molecular: 228.23 g mol⁻¹ Fórmula molecular: C₁₈H₁₂ P.f. 162 °C P. eb. : 435 °C</p>
<p>Criseno</p> 	<p>Masa molecular: 228.28 g mol⁻¹ Fórmula molecular: C₁₈H₁₂ P.f. 228 °C P. eb. : 441 °C</p>
<p>Benzo[b]fluoranteno</p> 	<p>Masa molecular: 252.30 g mol⁻¹ Fórmula molecular: C₂₀H₁₂ P.f. 168 °C P. eb. : 481 °C</p>

<p>Benzo[k]fluoranteno</p> 	<p>Masa molecular: 252.30 g mol⁻¹ Fórmula molecular: C₂₀H₁₂ P.f. 217 °C P. eb. 481 °C</p>
<p>Benzo[a]pireno</p> 	<p>Masa molecular: 252.30 g mol⁻¹ Fórmula molecular: C₂₀H₁₂ P.f. 177 °C P. eb. 496 °C</p>
<p>Dibenzo[a,h] antraceno</p> 	<p>Masa molecular: 278.34 g mol⁻¹ Fórmula molecular: C₂₂H₁₄ P.f. 270 °C P. eb. 524 °C</p>
<p>Benzo[ghi]perileno</p> 	<p>Masa molecular: 276.33 g mol⁻¹ Fórmula molecular: C₂₂H₁₂ P.f. 278 °C P. eb. 500 °C</p>
<p>Indeno[1,2,3-cd] pireno</p> 	<p>Masa molecular: 276.33 g mol⁻¹ Fórmula molecular: C₂₂H₁₂</p>
<p>Coroneno</p> 	<p>Masa molecular: 300.35 g mol⁻¹ Fórmula molecular: C₂₄H₁₂ P.f. 439 °C P. eb. 525 °C</p>

P.f Punto de fusión P. eb Punto de ebullició

2.7 Muestreo y análisis de HAP

En general hay dos tipos de muestreo; el denominado **pasivo** basado en el transporte controlado del material o analito hacia una superficie que actúa como sorbente y en el cual la concentración inicial es cero lo que permite que exista un gradiente de concentración. (Peltonen y Kuljukka1995). Este proceso está controlado por la difusión y por las propiedades del sorbente y del analito (Finlayson y Pitts 1986). El segundo tipo de muestreo es el **activo** y se emplea para medir componentes en bajas concentraciones e involucra un bombeo de volumen definido de aire a través de un tubo empacado con un sorbente apropiado que puede ser un polímero poroso, algunas formas de carbono y en menor medida silica gel y alúmina.

Tenax es el material más común para capturar compuestos a temperatura ambiente; éste es hidrofóbico y retiene poca cantidad de agua durante el muestreo; sin embargo, reacciona con ozono, cloro y agentes nitrantes. Idealmente la colecta de la muestra podría ser selectiva para los compuestos de interés pero en realidad ésta se considera adecuada sólo si no hay una absorción significativa de los principales componentes atmosféricos. Los componentes retenidos pueden ser recuperados para el análisis por desorción térmica o extracción líquido-líquido con disolventes (Peltonen y Kuljukka1995).

Los HAP no volátiles (presión de vapor $\leq 10^8$ mm Hg) pueden ser colectados en filtros; sin embargo, existen problemas de pérdida por volatilización. Una amplia variedad de adsorbentes como Tenax, espumas de poliuretano (EPU) o dispositivos comerciales que utilizan poliestirendivinilbenceno con resina XAD-2 sola o intercalada entre dos espumas han sido empleados en el muestreo común de HAP en fase gas.

En general XAD-2 presenta mayor eficiencia en la colecta y retención de HAP volátiles principalmente de naftaleno en comparación con las EPU, sin embargo estas son fáciles de manipular y mantienen mejores características de flujo durante el muestreo. Las EPU son también adecuadas para la colecta de pesticidas organoclorados, bifenilos policlorados y p-dibenzo dioxinas. El XAD-2 no presenta pérdidas significativas de componentes de la muestra aun después de 30 días de almacenamiento a temperatura ambiente (EPA 1999).

Después de obtener la muestra, ésta se prepara para el análisis cromatográfico. En algunos casos involucra únicamente una etapa o bien una serie de etapas (extracciones múltiples), seguida de una purificación y pre concentración del extracto. El procedimiento de extracción depende de los analitos y del tipo de matriz (Tran *et al.* 2007). Los métodos por fluorescencia se han empleado para la determinación de HAP, ya que son capaces de medir cantidades de picogramos; sin embargo, no son selectivos (Barro *et al.* 2009), por lo que la cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (CG-EM) es el procedimiento más recomendado para el análisis de HAP debido a su sensibilidad y capacidad para analizar muestras complejas. Recientemente Amador-Muñoz y Marriott (2008) presentaron un método cuantitativo por cromatografía de gases bidimensional para analizar HAP en material de referencia para partículas atmosféricas.

2.8 Reactividad química de HAP

Las reacciones químicas de los hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAP) en la atmósfera pueden ser homogéneas (fase gas) o heterogéneas (fase particulada).

2.8.1. Reacciones en fase gaseosa

Las principales reacciones de HAP en fase gas incluyen: fotólisis y reacciones con radicales hidroxilo (OH) durante el periodo diurno, reacciones con ozono (O₃) durante los periodos diurno y nocturno y reacciones con radicales nitrato (NO₃) durante el periodo nocturno (Atkinson 1988, Zielinska 2005). Ésta última es importante en la formación de nitro-HAP, los cuales son considerados mutágenos directos (Zielinska *et al.* 1986, Atkinson y Arey 1994, Arey 1998). En el caso de los HAP que contienen anillos de 5 átomos de carbono fusionados, como acenafteno, acenaftileno y acefenantrileno, la reacción con radicales NO₃ resulta ser la más importante para su pérdida en la fase gas durante la noche. Se ha mostrado que en presencia de NO_x y OH la reacción con naftaleno, 1,2 metilnaftaleno, acenaftileno, bifenil, fluoranteno, pireno y acefenantrileno permiten la formación de nitroarenos (Arey *et al.* 1986, 1989, Zielinska *et al.* 1988, 1989a, Atkinson 1990, 1991, Atkinson y Arey 1994, Arey 1998, Zielinska 2005).

Los NO₂-HAP sin embargo, no sólo son producidos a través de las reacciones en fase gas de los HAP sino también por otro tipo de fuentes tales como emisiones de vehículos, humo de cigarro, calentadores de keroseno (Dimashki *et al.* 2000) y su elevada producción en la industria química, específicamente en la generación de pesticidas, medicamentos, polímeros y colorantes (Jonsson *et al.* 2007).

2.8.2 Reacciones en fase particulada

Los componentes orgánicos de alto peso molecular provenientes de las emisiones de diesel se depositan preferentemente en la fase particulada; los tiempos de vida media de estos compuestos no están bien establecidos debido principalmente a que estos mecanismos dependen directamente de la naturaleza del sustrato (Behymer y Hites 1985, 1988). Las reacciones heterogéneas se efectúan entre oxidantes atmosféricos y compuestos orgánicos adsorbidos en superficies sólidas; respecto a los HAP enlazados

a partículas se sabe que las reacciones más importantes incluyen: fotólisis, reacciones con ozono y de nitración con NO_2 , HNO_3 y N_2O_5 (Behymer y Hites 1985, 1988).

2.9 Cromatografía de gases (CG)

De acuerdo con la definición presentada por la IUPAC (International Union of Pure Applied Chemistry) la cromatografía es un método de separación física en la que los componentes a separar son distribuidos entre dos fases, una de las cuales es estacionaria mientras que la otra se mueve en una dirección definida (Mc Nair y Miller 1997).

Las técnicas cromatograficas son clasificadas con base en el estado físico de la fase móvil, teniendo así la cromatografía de líquidos (CL), la de fluidos supercríticos (CFS) y la de gases (CG), en ésta última la fase estacionaria es un líquido no volátil que recubre la pared interior de una columna o un soporte sólido.

En la cromatografía de gases las muestras son vaporizadas y llevadas por un gas acarreador (He , N_2 o H_2) a través de la columna, entonces los componentes de la muestra se distribuyen entre ambas fases de acuerdo a su propiedades y finalmente llegan al detector cuya respuesta aparece en la pantalla de un ordenador o registrador (Mc Nair y Miller 1997).

El detector de uso más común en la cromatografía es el de ionización de flama (FID), en él el efluente de la columna es mezclado con hidrógeno, posteriormente la acción de una chispa eléctrica en presencia de oxígeno piroliza los compuestos. De este proceso se producen iones que generan una corriente eléctrica. Cuando se aplica una diferencia de potencial entre el extremo del quemador y el electrodo colector por encima de la corriente, ésta es detectada y transformada en una señal cromatografica. Otros detectores utilizados son el de conductividad térmica (TCD) y el de captura de electrones (ECD) (Mc Nair y Miller 1997).

En general la cromatografía de gases es una técnica que requiere de cantidades pequeñas de muestra del orden de micro litros, es eficiente debido a la alta resolución que puede obtenerse y es sensible.

El uso de la cromatografía de gases se restringe a muestras volátiles y térmicamente no lábiles; sin embargo es una técnica no destructiva lo que permite su acoplamiento

en línea a otras técnicas como la espectrometría de masas con la cual se hace posible la identificación inequívoca de un pico cromatográfico (Mc Nair y Miller 1997).

2.10 Cromatografía de gases-espectrometría de masas

La cromatografía de gases acoplada a la espectrometría de masas se emplea comúnmente en el análisis de HAP presentes en concentraciones traza en muestras ambientales. El acoplamiento del sistema cromatográfico al espectrómetro se hace a través de una columna capilar llamada línea de transferencia por la que pasan los analitos y llegan a la fuente de iones donde las moléculas son ionizadas. Existen distintos tipos de fuentes generadoras de iones entre las que se encuentran: la de impacto de electrones (EI), ionización química (CI) e ionización por campo (FI). Posterior a la ionización las moléculas son enviadas al analizador de masas, donde de acuerdo con su relación masa/carga (m/z^+) son separadas. Respecto a los analizadores de masas se tienen: el de sector magnético, el de tiempo de vuelo, el de cuádruplo y el de trampa de iones. Finalmente un detector cuantifica los iones y genera un espectro (Mc Nair y Miller 1997, Harris 2007).

2.11 Validación de un método analítico

Un método analítico es un procedimiento que establece una serie de operaciones para la determinación de un analito en una matriz específica (AOAC 2002, FAO 2005) y que contempla las propiedades fisicoquímicas de éste y las características de la muestra. El proceso de validación de un método analítico de acuerdo con la Organización Internacional de Estándares, es la confirmación mediante un examen y provisión de evidencia objetiva para cumplir los requisitos particulares de un propósito específico (ISO 1999). El objetivo de la validación es garantizar que el método y el lugar donde se implementa son capaces de lograr resultados confiables. Los parámetros considerados en la validación del método son: exactitud, precisión, sensibilidad, selectividad, linealidad, límites de detección y de cuantificación, rango y robustez (ICH 1996).

2.12 Exactitud

La Organización Internacional de Estándares (ISO) define a este parámetro como el grado de concordancia entre el resultado de un ensayo y el valor de referencia aceptado del analito. Por lo tanto, mide el error sistemático del método analítico mediante la comparación con un método o muestras patrón. Cuando se dispone de muestras patrón de composición conocida μ y se realizan n determinaciones para obtener un valor promedio \bar{x} la exactitud está dada por:

$$\text{Exactitud} = \bar{x} - \mu \quad \text{Ecuación 1}$$

Donde las diferencias se atribuyen exclusivamente a errores indeterminados cuando la t de Student calculada es menor a la tabulada para un nivel de probabilidad específico.

$$t = \frac{\bar{x} - \mu}{s} \sqrt{n} \quad \text{Ecuación 2}$$

Donde:

μ : Medición de composición conocida

\bar{x} : Valor promedio de n mediciones

n : Número de mediciones

s : Desviación estándar

Por lo tanto, la comparación con un método patrón, consiste en contrastar el valor medio de n_p resultados obtenidos por el método patrón \bar{x}_p , con el valor medio de n resultados obtenidos con el método de ensayo, \bar{x} (Hernández y Pérez 2002).

2.13 Precisión

La precisión de un conjunto de mediciones está relacionada con la presencia de errores indeterminados (aleatorios) y se considera como una medida de la reproducibilidad y repetibilidad de los resultados. El parámetro indicador de precisión es la desviación estándar, aunque también se utiliza la varianza (cuadrado de la desviación estándar) y la desviación estándar relativa de la media también denominada coeficiente de variación (CV).

$$CV = \frac{s \cdot 100}{\bar{x}}$$

Ecuación 3

Donde:

s: Desviación estándar del conjunto de *n* mediciones

\bar{x} : Media aritmética del conjunto de *n* mediciones

2.13.1 Repetibilidad

Grado de concordancia entre mediciones sucesivas de un mismo mensurando realizadas bajo las mismas condiciones; es decir se requiere que el procedimiento, el analista, la ubicación y el instrumento sean los mismos. (NMX-CH-152-IMNC-2005).

2.13.2 Reproducibilidad

Grado de concordancia entre los resultados de mediciones del mismo mensurando realizadas en diferentes condiciones de medición.

Una declaración válida de reproducibilidad requiere que se especifiquen los cambios en las condiciones del análisis o calibración. Estos cambios pueden incluir: principio en el que se basa la medición, método, analista, instrumento, material, patrones de referencia, ubicación, condiciones de uso y tiempo (NMX-CH-152-IMNC-2005).

2.14 Sensibilidad

Corresponde a la razón de cambio entre dos niveles cualesquiera de la recta de calibrado, lo ideal es que sea constante independientemente de los niveles elegidos para su evaluación y se expresa del siguiente modo:

$$b = \frac{\Delta y}{\Delta x}$$

Ecuación 4

Si dos experimentos se efectúan bajo las mismas condiciones de análisis y la pendiente de uno de ellos es mayor con respecto a la del otro, entonces se puede establecer que el primero es más sensible; es decir el cambio en la respuesta de "y" es mayor para una misma variación en "x".

2.15 Selectividad y especificidad

Hace referencia al grado de interferencia de diversas especies sobre la identificación de otras. Un método es específico cuando ninguna sustancia interfiere y la determinación de la sustancia de interés es inequívoca (Hernández y Pérez 2002). La selectividad se representa cuantitativamente por el coeficiente de selectividad, el cual se define para una sustancia B , potencialmente interferente sobre un determinado analito A , como:

$$K_{B,A} = \frac{m_B}{m_A} \quad \text{Ecuación 5}$$

Donde m_B y m_A son las pendientes del calibrado a la concentración de interés, de B y A respectivamente. El coeficiente de selectividad puede variar de cero a valores superiores a la unidad (Hernández y Pérez 2002).

2.16 Linealidad

Capacidad de un método analítico para relacionar la concentración de un analito y la respuesta de su análisis mediante un modelo directamente proporcional obtenido de modo directo o a través de operaciones matemáticas (ICH 1996). La ecuación 6 es la expresión matemática que describe la correlación entre las variables de modo lineal.

$$y = bx + a \quad \text{Ecuación 6}$$

Donde:

b: Pendiente de la recta

x: Variable independiente

y: Variable dependiente

a: Ordenada al origen

2.17 Límites de detección y de cuantificación

El límite de detección (Figura 2) de un analito se refiere a la concentración que proporciona una señal instrumental significativamente diferente a la señal del blanco o señal de fondo. Para lo cual se realizan determinaciones del blanco de la matriz, con lo que se crean curvas de Gauss (sección A) en el que al tomar un nivel de probabilidad del 95 % se define un límite L por encima del cual se encuentran únicamente el 5 % de los resultados (región sombreada en la figura 2). Podría considerarse que éste es el límite de detección de modo que, un resultado situado por encima de L tiene únicamente un 5 % de probabilidades de pertenecer al blanco, sin embargo, una muestra con una señal media L tendrá una distribución normal (sección B), por lo que, la probabilidad de concluir que esta muestra no difiere del blanco es del 50%; de este modo resulta más adecuado considerar el valor medio M de una distribución gaussiana (sección C) tal que el 5 % de sus valores se encuentren situados por debajo del límite de detección L y el 95 % por arriba de éste.

Esto se obtiene cuando la distancia entre y_{bl} y y_m es aproximadamente 3 veces la desviación estándar del blanco, de modo que la mínima señal analítica distinguible y_m sería:

$$y_{lm} = y_{bl} + 3s_{bl} \quad \text{Ecuación 7}$$

Donde:

y_{lm} : **Límite de detección**

y_{bl} : **El valor medio correspondiente a la señal de n mediciones del blanco**

s_{bl} : **Desviación estándar de las n mediciones del blanco**

Cuando se emplea una recta de regresión $y = bx + a_{bl}$ para la calibración; en donde y es la señal medida, b es la pendiente y x la concentración, entonces la concentración mínima (x_m) de sustancia apreciable o determinable por unidad de volumen, está dada por:

$$x_m = \left[\frac{(y_{lm} - y_{bl})}{b} \right] = \frac{3s_{bl}}{b} \quad \text{Ecuación 8}$$

El límite de detección de un método se calcula con la zona de calibrado próxima al origen, para ello se utiliza tanto la pendiente como la ordenada al origen.

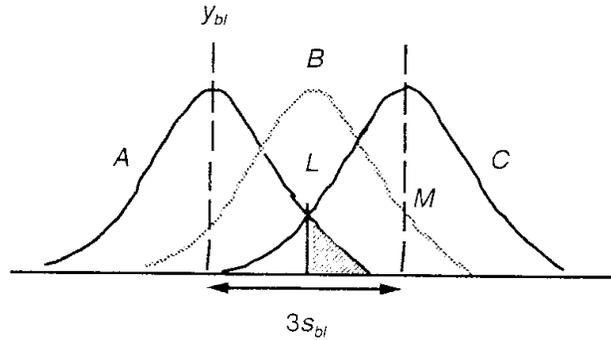


Figura 2. Límite de detección

El límite de cuantificación se define como la menor concentración o cantidad de analito que puede ser determinada con un nivel aceptable de precisión; su determinación se realiza con base en el cociente $\frac{\text{Señal}}{\text{Ruido}}$, se compara la señal obtenida de muestras de concentración conocida con las del blanco de modo que la señal de la concentración sea equivalente a 10 veces la desviación estándar del blanco ($10 \sigma_{\text{blanco}}$) (Hernández y Pérez 2002).

2.18 Intervalo lineal de trabajo

Es el comprendido entre la concentración más pequeña a la que pueden efectuarse medidas cuantitativas [límite de cuantificación (LC)] y la concentración a la que el calibrado se desvía de la linealidad (Figura 3) (Hernández y Pérez 2002).

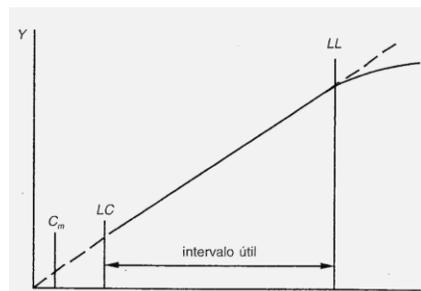


Figura 3. Intervalo lineal de trabajo

3.0 Objetivos

3.1 Objetivo general

Estandarizar un método analítico para la determinación y cuantificación de los HAP presentes en la fase gaseosa proveniente de la combustión incompleta de diesel y biodiesel.

3.2 Objetivos particulares

1. Verificar el CG-EM.
2. Establecer la eficiencia, la precisión, la linealidad y los límites de detección y de cuantificación del método analítico a diferentes niveles de concentración.
3. Determinar la distribución de los HAP en cada espuma de poliuretano (EPU).
4. Determinar la distribución de los HAP a través del tren de muestreo.
5. Comparar las concentraciones de HAP provenientes de las emisiones de diesel con respecto a las de una mezcla diesel: biodiesel (9:1), bajo condiciones similares de operación del motor.

4.0 Hipótesis

1. Considerando que la distribución de los hidrocarburos aromáticos policíclicos entre las fases gaseosa y particulada de las emisiones depende del peso molecular y de la presión de vapor de los analitos, se espera que los HAP predominantes en la fase gaseosa emitidos por una fuente primaria como lo es la combustión del diesel y el biodiesel correspondan a aquellos de menor peso molecular y similar al encontrado en aire extramuros reportado previamente por el laboratorio y por la literatura.
2. Se prevee que el mayor porcentaje de los HAP se encuentre en la primera de las tres espumas que conforman el sistema de colecta ya que la emisión pasa primero a través de ésta. Por la misma razón se espera una mayor cantidad de HAP en la parte frontal de cada espuma.
3. Se espera obtener marcadores de HAP en la fase gaseosa de la emisión similares a los reportados en la literatura para la fase particulada ya que éstos son característicos de las emisiones de la combustión a diesel.
4. Probablemente se observarán menores concentraciones de HAP en las emisiones de la mezcla con biodiesel en comparación con el diesel.

5.0 Metodología

5.1 Acondicionamiento de las espumas de poliuretano

La colecta de la fase gaseosa de las emisiones se llevó a cabo empleando espumas de poliuretano (EPU) cilíndricas de 7.0 cm de longitud x 2.5 cm de diámetro previamente tratadas de acuerdo al procedimiento descrito en la figura 4.

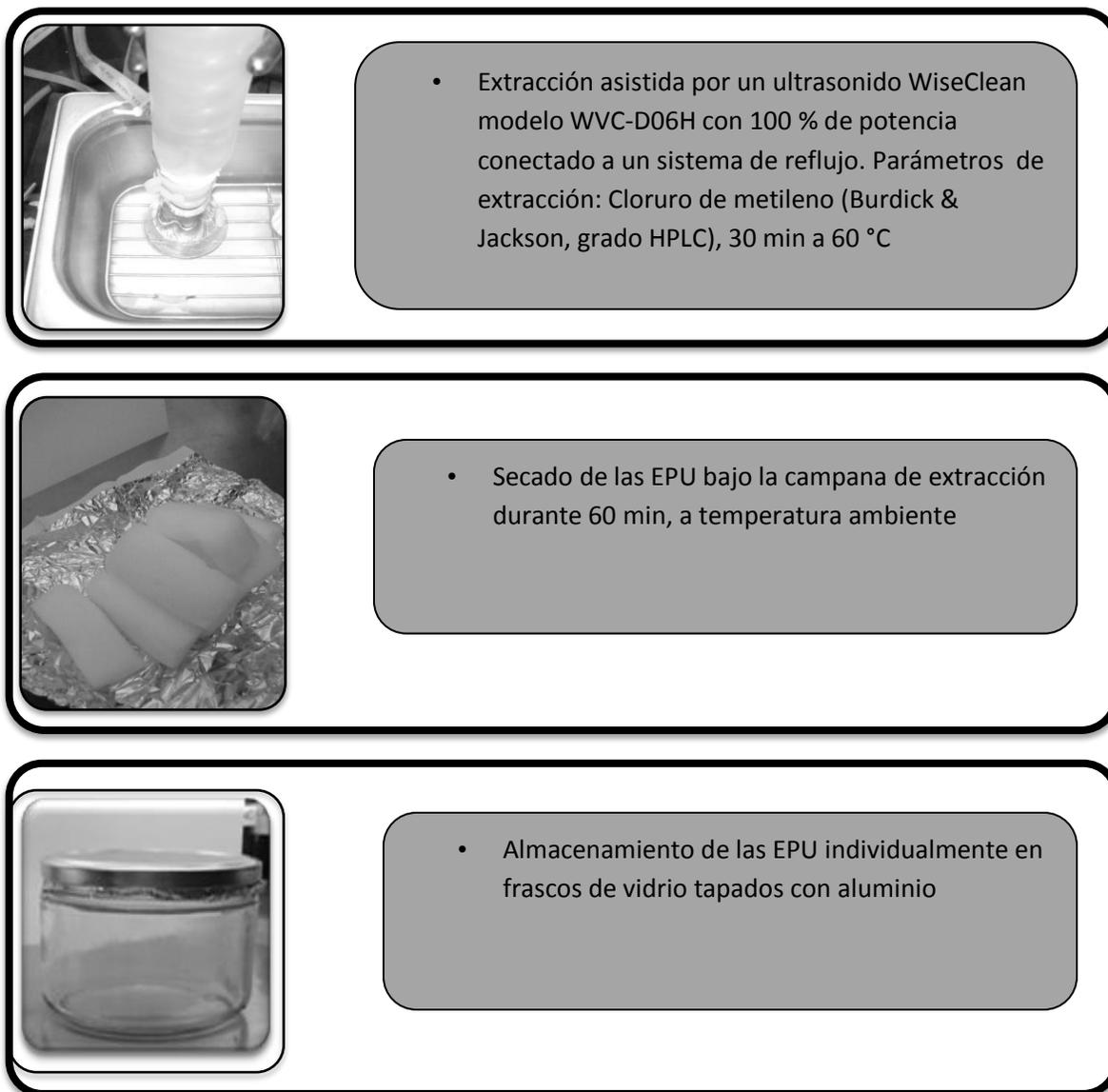


Figura 4. Tratamiento previo para las espumas de poliuretano

5.2 Muestreo

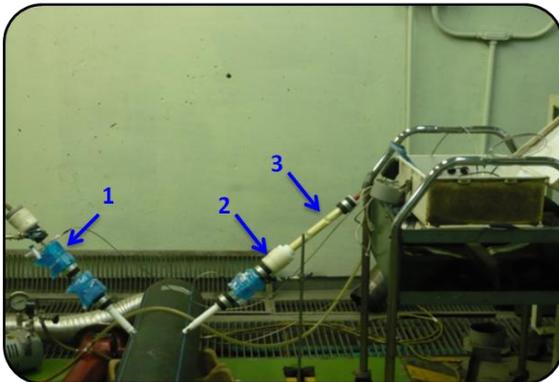
El muestreo se llevó a cabo en el Laboratorio de Control de Emisiones de la Facultad de Ingeniería de la UNAM. Una cámara de muestreo se conectó al escape del motor y en ella el muestreador para la colecta del aerosol emitido (Figura 5).



- El motor utilizado es un Mercedes Benz 1992, modelo OM366LACID364 de 5.9 L.

- Los parámetros modificados en cada medición fueron: rpm, torque y combustible utilizado (diesel y su mezcla con 10 % de biodiesel animal)

- Se empleó una cámara de muestreo de 2 m de longitud y 0.2 m de diámetro



- El sistema de colecta de la mezcla funcionó a través de la succión de una alícuota de la emisión con ayuda de una bomba de vacío.

- Los componentes de éste sistema son:

- Tubo de enfriamiento con medición de temperatura (1), dispositivo de colecta de la fase particulada con filtros de fibra de vidrio (FFV) recubiertos con teflón térmicamente tratados a 300 °C por 18 h (2) y un tubo de vidrio con tres espumas de poliuretano para coleccionar la fase gaseosa (3).

Figura 5. Sistema de muestreo y colecta de la fase gaseosa y particulada de la emisión de la combustión de diesel y biodiesel

El tiempo de muestreo fue 10 min y la temperatura se mantuvo ≤ 55 °C en todos los casos para evitar el cambio de fase particulada a fase gas de los compuestos (Westerholm 1987). Después de la colecta, los filtros se colocaron en papel aluminio y las espumas se guardaron individualmente en frascos de vidrio; ambos se almacenaron en una hielera a 4°C durante su transporte y posteriormente se mantuvieron a -20 °C hasta su análisis.

5.3 Evaluación de técnicas de extracción de HAP en EPU

Se evaluaron distintas técnicas empleando EPU fortificadas con una masa específica de HAP. La figura 6 muestra un diagrama de los ensayos preliminares a la extracción definitiva.

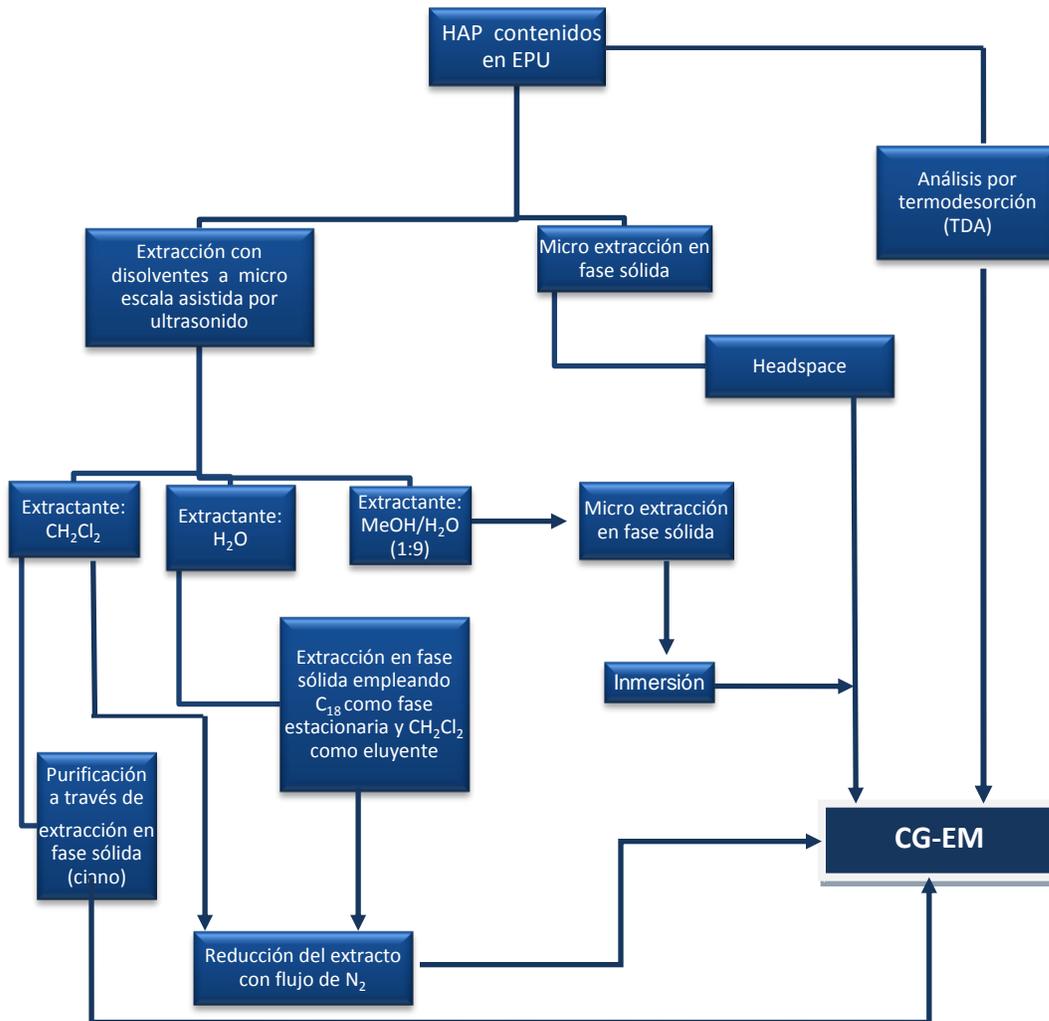


Figura 6. Técnicas de extracción de HAP en EPU empleadas en los análisis preliminares a su determinación en la fase gaseosa

Los mayores porcentajes de recobro y los menores coeficientes de variación fueron los parámetros criterio empleados para determinar la mejor técnica de extracción. La extracción con cloruro de metileno en celdas a micro escala asistida por ultrasonido con filtración en línea (CEMAUF) (Amador *et al.* 2012a) presentó porcentajes de recuperación superiores al 80% y coeficientes de variación $\leq 10\%$ (n=3), razones por

las que se seleccionó como el método de extracción de HAP en fase gaseosa colectada en las EPU.

5.4 Método de extracción de HAP en EPU empleando CEMAUF

La extracción de la materia orgánica contenida en las espumas de poliuretano se llevó a cabo empleando una celda de extracción a micro-escala asistida por ultrasonido y filtración en línea en un equipo WiseClean modelo WVC-D06H con 100% de potencia acoplada a un sistema de filtración (Figura 7).

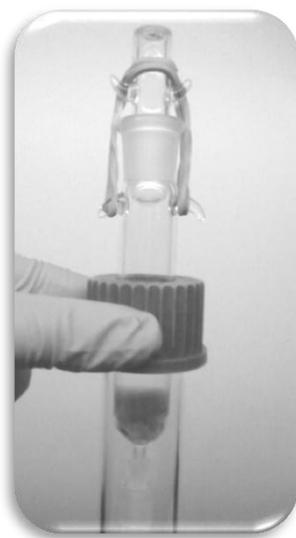


Figura 7. Celda de extracción a micro escala asistida por ultrasonido (Amador-Muñoz *et al.* 2012a)

La figura 8 muestra un esquema general de las etapas del método de extracción de HAP en EPU. Se utilizó únicamente una décima parte de la EPU (etapas 1 a 3) a fin de disminuir la complejidad de la muestra. La espuma se colocó en la celda de extracción (etapa 4) y se extrajo bajo condiciones previamente establecidas por Santos-Medina (2012): temperatura de 60 °C y 4 mL de cloruro de metileno durante 10 min (etapas 5 y 6). El extracto se filtró y se realizaron enjuagues con 3mL de cloruro de metileno (etapa 7); posteriormente la muestra se redujo (etapa 8) hasta un volumen de 500µL con un flujo suave de nitrógeno (Amador *et al.* 2012b). Se adicionaron los HAP-*d* al extracto y posteriormente se llevó al aforo de 1mL (etapas 9 y 10).

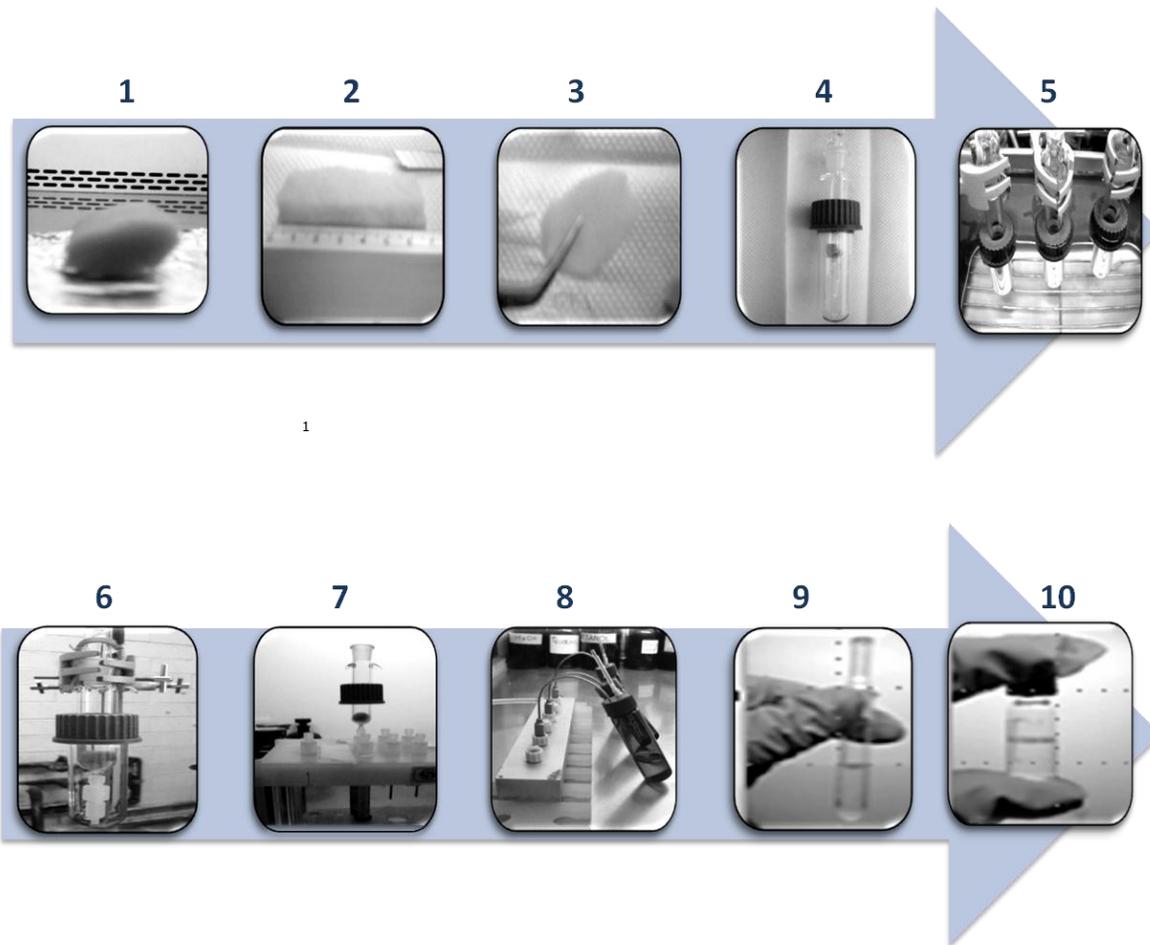


Figura 8. Método de extracción de HAPen EPU

5.5 Análisis por cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (CG-EM)

Las muestras se analizaron por cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (CG-EM); cuyas condiciones se muestran en la tabla V.

Tabla V. Condiciones de operación del sistema CG-EM

	Cromatógrafo de gases
Inyección	Inyector de vaporización con temperatura programable, PTV (Programmable Temperature Vaporization). Temperatura 310°C, volumen 1µL, modo sin división (splitless).
Columna cromatográfica	Tubo abierto DB-35MS marca J&W Scientific. Fase estacionaria 35 % fenil y 65 % polidimetil-siloxano. Dimensiones: 29 m de longitud, 0.25 mm de diámetro interno y 0.25 µm de espesor de la fase. No. Serie:USB327342H.
Fase móvil	Helio grado cromatográfico, pureza 99.998% con flujo de 1.2 mL min ⁻¹ .
Programa de temperatura	Temperatura inicial 40 °C durante 1 min, primer incremento a 110 °C con una tasa de 50 °C min ⁻¹ , segundo incremento a 303 °C con una tasa de 5 °C min ⁻¹ , incremento a 335 °C durante 10 min con una tasa de 20 °C min ⁻¹ .
Línea de transferencia	310 °C.
	Espectrómetro de masas
Fuente de ionización	Impacto electrónico 70 eV a 230 °C, afinación: autotune.
Cuadrupolo	150 °C.
Filamento	No.1 encendido a 5 min del inicio de la corrida (solvent delay).
Modo de adquisición	Monitoreo de iones seleccionados "SIM" 5 Grupos, 86 iones.

5.6 Construcción de las curvas de calibración

Se realizó una curva de calibración instrumental y una del método. El intervalo de trabajo en masa se estableció con base en los resultados de análisis preliminares de muestras reales en las que el perfil de emisión indicó que los HAP de masa molecular $\leq 192 \text{ g mol}^{-1}$ se encontraron en mayor cantidad que aquellos con masa molecular $> 192 \text{ g mol}^{-1}$ (Apéndice A). Por lo que para ambas curvas de calibración se construyeron un intervalo de alta y otro de baja concentración. Los dos intervalos de concentración se agruparon en los nueve niveles de calibración descritos en la tabla VI.

La preparación de las disoluciones que contemplan a los HAP en cada uno de los niveles de calibración requirió la preparación de disoluciones madre, de trabajo y de fortificación.

Tabla VI. HAP [ng] requeridos para cada nivel de la curva de calibración en ambos intervalos de concentración

Niveles de calibración	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Intervalo de alta concentración HAP $\leq 192 \text{ g mol}^{-1}$	500	400	300	200	100	80	60	40	20
Intervalo de baja concentración HAP $> 192 \text{ g mol}^{-1}$	30	25	20	15	10	8	6	4	2

5.6.1 Preparación de las disoluciones madre

La disolución madre I (DM I) se preparó tomando una alícuota de cada una de las disoluciones "stock" individuales de los HAP $\leq 192 \text{ g mol}^{-1}$ (Figura 9); el volumen de la alícuota se calculó con base en el factor de dilución (Ecuación 9) considerando la masa de cada HAP en su disolución "stock" y aquella requerida en la disolución madre. Las disoluciones se prepararon en tolueno ya que es poco polar y los HAP son solubles en él; además a diferencia de otros disolventes como el cloruro de metileno, el primero es menos volátil. Finalmente se adicionó tolueno para completar el volumen final de disolución. Análogamente, la disolución madre II (DM II) se preparó con los HAP $> 192 \text{ g mol}^{-1}$. Ambas disoluciones se prepararon por peso, tal y como se describe en la figura 9.



Figura 9. Procedimiento experimental para la preparación de las curvas de calibración

A continuación se muestra el cálculo para la determinación del volumen a tomar de la alícuota de la disolución "stock" del fenantreno el cual es uno de los compuestos incluidos en la disolución madre I. En el caso de la disolución madre II se tomó al fluoranteno como ejemplo.

Fenantreno: Para la disolución madre I se requirieron 50000 ng de cada uno de los HAP en un volumen final de disolución de 1000 μ L; por lo que el factor de dilución entre la disolución "stock" del fenantreno y la disolución madre I se estableció mediante la ecuación 9:

$$FD = \frac{DS_{Fen}}{DMI} \quad \text{Ecuación 9}$$

Donde:

FD = Factor de dilución

DS_{Fen} = Disolución "stock" del fenantreno, [ng]

DMI = Disolución madre I, [ng]

Las primeras dos columnas de las tablas VII y VIII muestran las masas de los HAP en sus correspondientes disoluciones "stock".

Una vez determinado el factor de dilución, el volumen de la alícuota a tomar de la disolución "stock" se obtuvo mediante la siguiente expresión:

$$V_{ali} = \frac{VDM I}{FD}$$

Ecuación 10

Donde:

V_{ali} = Volumen de la alícuota de la disolución "stock", μL

$V DM I$ = Volumen de la disolución madre I, μL

$F.D$ = Factor de dilución

Por lo tanto, si la disolución "stock" de fenantreno contiene 1 100 000 ng en 1000 μL y se requieren 50000 ng en la disolución madre I, entonces el factor de dilución y el volumen a tomar de la disolución "stock" fueron:

$$FD = \frac{1100000 \text{ ng}}{50000 \text{ ng}} = 22 \quad V_{ali} = \frac{1000 \mu L}{22} = 45.5 \mu L$$

Estos 45.5 μL pesaron 39.68 mg y contienen 49804 ng de fenantreno. Tomando en cuenta que el volumen de la disolución fue de 1001 μL con una masa total de 862.55 mg, entonces la concentración de fenantreno fue de 49754 ng mL^{-1} y 57.74 ng mg^{-1} (Tabla VII).

Similarmente para el fluoranteno, se determinó el volumen requerido de la disolución "stock" para la preparación de la disolución madre II (DM II); considerando que la disolución "stock" de fluoranteno contiene 1 300 000 ng en 1000 μL y que la masa en la DM II debe ser 7500 ng, el factor de dilución y el volumen teórico a tomar de disolución son:

$$FD = \frac{1300000 \text{ ng}}{7500 \text{ ng}} = 173 \quad V_{ali} = \frac{1000 \mu L}{173} = 5.78 \mu L$$

El volumen tomado de la disolución "stock" fue de 6.00 μL con una masa de 4.88 mg equivalentes a 7290.28 ng de fluoranteno. El volumen final de DM II fue 1004.5 mL que pesaron 861.21 mg; por lo que la concentración de fluoranteno fue 7257.62 ng mL^{-1} y 8.47 ng mg^{-1} . Los datos finales de las disoluciones madre I y II se muestran en las tablas VII y VIII.

Tabla VII. Disolución madre de HAP $\leq 192 \text{ g mol}^{-1}$ (**DM I**)

	Disolución "stock" [ng mL ⁻¹]	Disolución "stock" [ng mg ⁻¹]	Alícuota [μL]	Masa de la alícuota [mg]	HAP en DM I		
					ng	ng mg ⁻¹	ng mL ⁻¹
Acenafteno	1500000	1717.43	33.50	28.54	49016	56.83	48967
Acenaftileno	800000	913.66	62.50	54.38	49685	57.60	49635
2-metilantraceno	1200000	1389.05	43.50	37.15	51603	59.83	51552
9-metilantraceno	1300000	1501.33	38.50	33.01	49559	57.46	49509
1-metilantraceno	700000	806.64	77.00	66.12	53335	61.83	53282
Fluoreno	1000000	1141.94	50.00	42.90	48989	56.80	48940
Fenantreno	1100000	1255.13	45.50	39.68	49804	57.74	49754
Antraceno	1300000	1489.63	38.50	32.85	48934	56.73	48886
			Σ=389	Σ=334.63			
					Volumen de tolueno [μL]	612	
					Masa de tolueno [mg]	527.92	
					Volumen final de DM I [μL]	1001	
					Masa final de DM I [mg]	862.55	

Tabla VIII. Disolución madre de HAP $>192 \text{ g mol}^{-1}$ (**DM II**)

HAP	Disolución "stock" [ng mL ⁻¹]	Disolución "stock" [ng mg ⁻¹]	Alícuota [μL]	Masa de la alícuota [mg]	HAP en DM II		
					ng	ng mg ⁻¹	ng mL ⁻¹
Fluoranteno	1300000	1493.91	6.00	4.88	7290	8.47	7258
Pireno	900000	1039.86	8.50	7.06	7341	8.53	7309
Benzo[a]fluoreno	1100000	1263.64	9.00	6.65	8403	9.76	8366
Benzo[a]antraceno	1000000	1146.53	7.50	5.37	6157	7.15	6130
Criseno	900000	1032.58	8.50	6.38	6588	7.65	6558
Trifenileno	1200000	1373.47	6.25	5.06	6950	8.07	6919
Benzo[b]fluoranteno	1200000	1383.60	6.25	5.18	7167	8.32	7135
Benzo[k]fluoranteno	1100000	1268.30	7.00	5.92	7508	8.72	7475
Benzo[a]pireno	1500000	1728.71	5.00	4.04	6984	8.11	6953
Benzo[e]pireno	1000000	1151.01	7.50	6.35	7309	8.49	7276
Perileno	1300000	1498.90	6.00	4.84	7255	8.42	7222
Triptíceno	900000	1040.10	8.25	6.98	7260	8.43	7227
Dibenzo[a,c]antraceno	900000	1038.42	8.25	6.84	7103	8.25	7071
Indeno[1,2,3-cd]pireno	1000000	1151.94	7.50	6.25	7200	8.36	7167
Dibenzo[a,h]antraceno	900000	1062.45	8.25	6.87	7299	8.48	7266
Benzo[ghi]perileno	800000	923.68	9.50	8.02	7408	8.60	7375
9,10-dimetilantraceno	900000	1036.51	8.25	6.74	6986	8.11	6955
3,6-dimetilfenantreno	1000000	1155.80	7.50	6.35	7339	8.52	7307
7,12dimetilbenzo[a]antraceno	800000	924.21	9.50	7.94	7338	8.52	7305
			Σ=141.70	Σ=117.72			
					Volumen de tolueno [μL]	860	
					Masa de tolueno [mg]	743.49	
					Volumen final de DM II[μL]	1004.5	
					Masa final de DM II [mg]	861.21	

5.6.2 Preparación de las disoluciones de trabajo

Las disoluciones de trabajo I y II (DT I y DT II) se prepararon en tolueno a partir de las disoluciones madre correspondientes; el factor de dilución y el volumen de la alícuota se calcularon con las ecuaciones 11 y 12.

$$FD = \frac{m_{HAPDM}}{m_{HAPDT}} \quad \text{Ecuación 11}$$

$$V_{alí} = \frac{VDT}{FD} \quad \text{Ecuación 12}$$

Donde:

FD = Factor de dilución

m_{HAPDM} = Masa de HAP en la disolución madre, ng

m_{HAPDT} = Masa de HAP en la disolución de trabajo, ng

V_{DT} = Volumen total de la disolución de trabajo, μL

$V_{alí}$ = Volumen de la alícuota de la DT, μL

Se prepararon 1000 μL de la disolución de trabajo I con una masa de 12 000 ng de cada uno de los HAP contenidos en DM I; por lo que el factor de dilución y el volumen de la alícuota de la DMI fueron:

$$FD = \frac{50000 \text{ ng}}{12000 \text{ ng}} = 4.2 \quad V_{alí} = \frac{1000 \mu L}{4.2} = 238 \mu L$$

Se muestra al fenantreno como ejemplo del cálculo, cuya concentración en la DM I es 57.74 ng mg^{-1} de la cual se tomaron 235 μL que corresponden a una masa de 203.83 mg por lo que los ng totales de fenantreno en la disolución de trabajo fueron 11769.2 contenidos en un volumen final de 999 μL . La masa final de esta disolución fue de 866.44 mg, por lo que se tienen 13.58 ng mg^{-1} o 11780.95 ng mL^{-1} (Tabla IX).

De manera similar para la determinación de los ng de fluoranteno en la disolución de trabajo II, se consideró que hay 8.47 ng mg^{-1} de fluoranteno en DMII de la cual se tomaron 86 μL que equivalen a 74.06 mg con 626.93 ng de fluoranteno. El volumen final de la DT II fue de 1250 μL con una masa de 1079.2 mg por lo que la concentración de fluoranteno fue de 0.58 ng mg^{-1} y 501.54 ng mL^{-1} .

La masa final de cada uno de los HAP presentes en DT I y DT II se muestra en las tablas IX y X.

Tabla IX. Disolución de trabajo de HAP $\leq 192 \text{ g mol}^{-1}$ (DT I)

HAP	DM I [ng mg ⁻¹]	DM I [ng mL ⁻¹]	HAP en la alícuota [ng]	DT I [ng mg ⁻¹]	DT I [ng mL ⁻¹]
Acenafteno	56.83	48966	11583	13.37	11596
Acenaftileno	57.60	49635	11741	13.55	11753
2-metilantraceno	59.83	51552	12194	14.07	12207
9-metilantraceno	57.46	49509	11711	13.52	11723
1-metilantraceno	61.83	53282	12604	14.55	12616
Fluoreno	56.80	48940	11577	13.36	11588
Fenantreno	57.74	49754	11769	13.58	11781
Antraceno	56.73	48886	11564	13.35	11575
Alícuota DM I [μL]					235.0
Masa de la alícuota de DM I [mg]					203.83
Volumen final de DT I [μL]					999.0
Masa final de DT I [mg]					866.44

Tabla X. Disolución de trabajo de HAP $> 192 \text{ g mol}^{-1}$ (DT II)

HAP	DM II [ng mg ⁻¹]	DM II [ng mL ⁻¹]	HAP en la alícuota [ng]	DT II [ng mg ⁻¹]	DT II [ng mL ⁻¹]
Fluoranteno	8.47	7258	627	0.58	502
Pireno	8.53	7309	631	0.59	505
Benzo[a]fluoreno	9.76	8366	723	0.67	578
Benzo[a]antraceno	7.15	6129	530	0.49	424
Criseno	7.65	6558	567	0.52	453
Trifenileno	8.07	6919	598	0.55	478
Benzo[b]fluoranteno	8.32	7135	616	0.57	493
Benzo[k]fluoranteno	8.72	7475	646	0.60	517
Benzo[a]pireno	8.11	6953	601	0.56	481
Benzo[e]pireno	8.49	7276	629	0.58	503
Perileno	8.42	7222	624	0.58	499
Tripticeno	8.43	7227	624	0.58	500
Dibenzo[a,c]antraceno	8.25	7071	611	0.57	489
Indeno[1,2,3-cd]pireno	8.36	7167	619	0.57	495
Dibenzo[a,h]antraceno	8.48	7266	628	0.58	502
Benzo[ghi]perileno	8.60	7375	637	0.59	510
9,10-Dimetilantraceno	8.11	6955	601	0.56	481
3,6-Dimetilfenantreno	8.52	7307	631	0.58	505
7,12-Dimetilbenzo[a]antraceno	8.52	7305	631	0.58	505
Alícuota DM II [μL]					86.00
Masa de la alícuota de DM II [mg]					74.06
Volumen final de DT II [mg]					1250
Masa de DT II [mg]					1079.2

5.6.3 Preparación de las disoluciones de fortificación

Cada nivel de calibración de la curva contiene HAPs de bajo y alto peso molecular. Los niveles del 1 al 5 se prepararon tomando alícuotas de la DT I, la DT II y adicionando cloruro de metileno para completar el volumen final de la disolución.

Se calcularon los factores de dilución y los volúmenes a tomar de las disoluciones de trabajo para preparar 1 mL de disolución de cada nivel de fortificación (Tabla XI), excepto para el nivel 5 del cual se prepararon 3 mL ya que éste se utilizó como tercera disolución de trabajo; (DT III) a partir de la cual se obtuvieron las disoluciones de fortificación de los niveles 6 a 9.

A continuación se muestran a modo de ejemplo los cálculos empleados para la preparación del nivel 5 de la curva de calibración.

El nivel 5 de la curva requirió una masa de 100 ng de HAP $\leq 192 \text{ g mol}^{-1}$ y 10 ng de HAP $> 192 \text{ g mol}^{-1}$ por cada 200 μL de disolución. Se prepararon 3.0 mL de esta disolución por lo que la masa requerida de cada uno de los HAP $\leq 192 \text{ g mol}^{-1}$ fue 1500 ng y 150 ng para los HAP $> 192 \text{ g mol}^{-1}$.

Con base en las masas teóricas de las disoluciones de trabajo I y II y empleando las ecuaciones 11 y 12 tenemos:

$$F.D = \frac{10\,000 \text{ ng}}{500 \text{ ng}} = 20$$

$$F.D = \frac{500 \text{ ng}}{50 \text{ ng}} = 10$$

De acuerdo con los factores de dilución por cada 1000 μL de la disolución de fortificación del nivel 5 de calibración (DT III) los volúmenes teóricos a tomar de la disolución de trabajo I y II fueron:

$$Valí = \frac{1000 \mu\text{L}}{20} = 50 \mu\text{L de DT I}$$

$$Valí = \frac{1000 \mu\text{L}}{10} = 100 \mu\text{L de DT II}$$

Tabla XI. Volumen requerido de DT I, DT II y DT III para la preparación de los niveles de calibración

Nivel	Disolución de fortificación [μL]	HAP \leq 192 g mol^{-1} [ng mL^{-1}]	HAP \geq 202 g mol^{-1} [ng mL^{-1}]	Volumen de alícuota [μL]		
				DT I	DT II	DT III
1	1000	2500	150	250	265	
2	1000	2000	125	200	250	
3	1000	1500	100	150	200	
4	1000	1000	75	100	175	
5	3000	500	50	150	325	
6	1000	400	40			820
7	1000	300	30			600
8	1000	200	20			380
9	1000	100	10			180

5.7 Preparación del estándar interno

5.7.1 Disoluciones madre de HAP deuterados

A cada uno de los niveles de calibración de la curva instrumental y de método se adicionaron HAP deuterados empleados como estándares internos. Para ello se prepararon dos disoluciones madre deuteradas. La disolución madre uno (DMI-EI) se preparó pesando una alícuota de las disoluciones "stock" de los HAP $\leq 188 \text{ g mol}^{-1}$ (Figura 10) y un volumen específico de tolueno (Tabla XII); análogamente la disolución madre dos (DMII-EI) se preparó con los HAP $> 188 \text{ g mol}^{-1}$ (Figura 11, Tabla XIII).

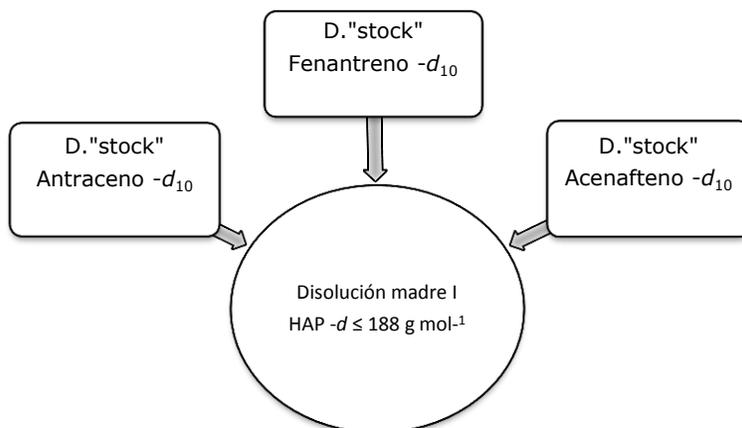


Figura 10. HAP deuterados ($\leq 188 \text{ g mol}^{-1}$) empleados en la preparación de la disolución madre I de estándar interno (DMI-EI)

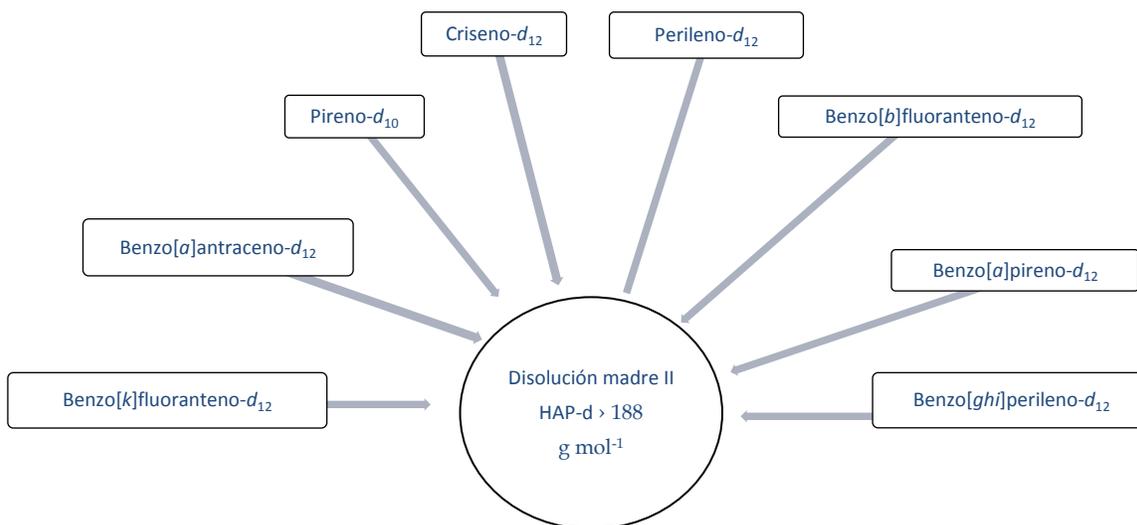


Figura 11. HAP deuterados ($> 188 \text{ g mol}^{-1}$) empleados en la preparación de la disolución madre II (DMII-EI)

Tabla XII. Disolución madre de HAP-*d* con masa $\leq 188 \text{ g mol}^{-1}$ (**DMI-EI**)

HAP	Disolución "stock"		Alícuota [μL]	Masa de la alícuota [mg]	HAP en la alícuota [ng]	DMI-EI	
	[ng mL ⁻¹]	[ng mg ⁻¹]				[ng mg ⁻¹]	[ng mL ⁻¹]
Acenafteno <i>d</i>₁₀	1400000	1621.12	26.0	22.31	361367	41.76	36183
Fenantreno <i>d</i>₁₀	900000	1044.69	40.0	34.43	35969	41.49	35985
Antraceno <i>d</i>₁₀	700000	811.03	52.5	45.36	36788	42.44	36805
			$\Sigma=118.5$	$\Sigma=102.1$			

Volumen final de DMI-EI [μL]	999.6
Masa final de DMI-EI [mg]	866.1

Tabla XIII. Disolución madre de HAP-*d* $>188 \text{ g mol}^{-1}$ (**DMII-EI**)

HAP- <i>d</i>	Disolución "stock" [ng mL ⁻¹]	Disolución "stock" [ng mg ⁻¹]	Alícuota [μL]	Masa de la alícuota [mg]	HAP en la alícuota [ng]	DMII-EI [ng mg ⁻¹]	DMII-EI [ng mL ⁻¹]
Pireno-<i>d</i>₁₀	1300000	1503.24	15.5	13.12	19723	22.52	19693
Benzo[<i>a</i>]antraceno-<i>d</i>₁₂	800000	926.68	25.0	21.47	19896	22.72	19866
Criseno-<i>d</i>₁₂	800000	929.15	25.0	21.59	20060	22.91	20030
Benzo[<i>a</i>]pireno-<i>d</i>₁₂	600000	698.89	33.5	28.99	20261	23.14	20231
Benzo[<i>k</i>]fluoranteno-<i>d</i>₁₂	600000	698.41	33.5	28.91	20191	23.10	20161
Benzo[<i>b</i>]fluoranteno-<i>d</i>₁₂	1400000	1619.43	14.5	12.60	20405	23.30	20374
Perileno-<i>d</i>₁₂	800000	929.15	25.0	23.38	21724	24.81	21691
Benzo[<i>ghi</i>]perileno-<i>d</i>₁₂	600000	698.08	33.5	29.09	20307	23.20	20277
			205.5	179.15			

Volumen final de DMII-EI [μL]	1001.5
Masa final de DMII-EI [mg]	875.8

5.7.2 Disoluciones de trabajo del estándar interno

La disolución de trabajo uno (**DTI-EI**) se preparó tomando una alícuota de 375 μL de la DMI-EI y adicionando 376 μL de tolueno; mientras que la disolución de trabajo dos (DT II-EI) requirió de 250 μL de la DMII-EI y 750 μL de tolueno. Los datos se resumen en las tablas (XIV y XV).

Tabla XIV. Disolución de trabajo de HAP- $d \leq 188 \text{ g mol}^{-1}$ (**DTI-EI**)

HAP- d	DMI-EI [ng mL ⁻¹]	DMI-EI [ng mg ⁻¹]	HAP- d en la alícuota de DMI-EI [ng]	DTI-EI [ng mg ⁻¹]	DTI-EI [ng mL ⁻¹]
Acenafteno- d_{10}	36183	41.76	13742	20.9	18323
Fenantreno- d_{10}	35985	41.53	13667	20.9	18222
Antraceno- d_{10}	36805	42.48	13978	21.4	18638
Volumen de la alícuota de DMI-EI [μL]					375
Masa de la alícuota de DMI-EI [mg]					329.1
Volumen final de DTI-EI [μL]					751
Masa final de DTI-EI [mg]					654.6

Tabla XV. Disolución de trabajo de HAP- d con masa $> 188 \text{ g mol}^{-1}$ (**DTII-EI**)

HAP- d	DMII-EI [ng mL ⁻¹]	DMII-EI [ng mg ⁻¹]	HAP- d en la alícuota de DMI-EI [ng]	DTII-EI [ng mg ⁻¹]	DTII-EI [ng mL ⁻¹]
Pireno- d_{10}	19692.9	0.032	4893	5.63	4894
Benzo[a]antraceno- d_{12}	19865.9	0.032	4936	5.68	4936
Criseno- d_{12}	20030.3	0.033	4977	5.72	4977
Benzo[a]pireno- d_{12}	20230.6	0.033	5027	5.78	5027
Benzo[k]fluoranteno- d_{12}	20160.7	0.033	5010	5.76	5010
Benzo[b]fluoranteno- d_{12}	20374.3	0.033	5063	5.82	5063
Perileno- d_{12}	21691.0	0.035	5390	6.20	5390
Benzo[ghi]perileno- d_{12}	20276.7	0.033	5039	5.79	5039
Volumen de la alícuota de DMII-EI [μL]					250
Masa de la alícuota de DMII-EI [mg]					217.3
Volumen final de DTII-EI [μL]					1000
Masa final de DTII-EI [mg]					869.6

Finalmente la tercera disolución de trabajo del estándar interno (DTIII-EI) se preparó (Figura 12) tomando una alícuota de 375 μL de la DTI-EI, 125 μL de la DTII-EI y 4500 μL de tolueno; los datos correspondientes se muestran en la tabla XVI.

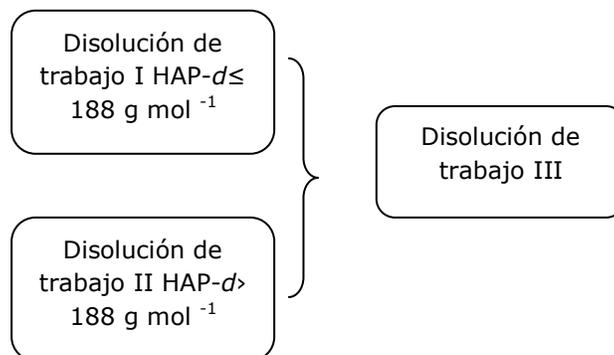


Figura 12. Preparación de la disolución de fortificación del estándar interno

Tabla XVI. Preparación de la disolución de fortificación del estándar interno

HAP-d	HAP -d [ng mL ⁻¹]	HAP -d [ng mL ⁻¹]	HAP-d en la alícuota [ng]		DT III-EI	
	DTI-EI	DTII-EI	DTI-EI	DTII-EI	[ng mg ⁻¹]	[ng mL ⁻¹]
Acenafteno-d ₁₀	18323		6430		1.02	1286
Fenantreno-d ₁₀	18222		6394		1.01	1279
Antraceno-d ₁₀	18638		6540		1.04	1308
Pireno-d ₁₀		4893		625	0.14	125
Benzo[a]antraceno-d ₁₂		4936		631	0.14	126
Criseno-d ₁₂		4977		636	0.14	127
Benzo[a]pireno-d ₁₂		5027		643	0.14	129
Benzo[k]fluoranteno-d ₁₂		5010		640	0.14	128
Benzo[b]fluoranteno-d ₁₂		5063		647	0.15	129
Perileno-d ₁₂		5390		689	0.15	139
Benzo[ghi]perileno-d ₁₂		5039		644	0.14	129
Masa total de la disolución[mg]	654.6	869.6			6315	
	Volumen de la alícuota de DTI-EI [μL]					375
	Volumen de la alícuota de DTII-EI [μL]					125
	Volumen final de DTIII-EI [μL]					5000

5.8 Preparación de la curva instrumental y la curva de método

Cada nivel de la curva instrumental se preparó tomando una alícuota de 200 μL de la disolución de fortificación y 800 μL de cloruro de metileno.

En el caso de las curvas de método, los 200 μL de la alícuota de la disolución de fortificación de cada nivel se adicionaron sobre las espumas de poliuretano extraídas mediante el proceso descrito en la sección 6.4. Este volumen fue el máximo absorbido por la EPU y garantizó que los HAP estuviesen en contacto con toda la matriz. Una vez efectuado dicho procedimiento el extracto obtenido se ajustó a 1 mL.

Finalmente se tomaron alícuotas de 360 μL de cada nivel de ambas curvas, se colocaron en viales de inyección y se les adicionó 40 μL de estándar interno.

5.9 Tratamiento de las muestras de diesel y de biodiesel

La aplicación del método en muestras reales se llevó a cabo con dos trenes de espumas que colectaron las emisiones provenientes de la combustión de diesel y su mezcla con biodiesel en un 10 % bajo condiciones similares de operación del motor (Tabla XVII).

Tabla XVII. Condiciones de operación del motor para la muestra de diesel y de biodiesel

	rpm \pm 5	torque \pm 5
Diesel	1761	105 N m
Biodiesel (10%)	1675	110 Nm

Nm: Newton metro

Para evaluar la distribución de los HAP a través de cada una de las espumas; éstas se dividieron en diez segmentos en los que el primero fue la parte frontal y el décimo la parte posterior de la espuma.

Los segmentos 1, 3, 5, 7 y 9 de cada una de las tres espumas de los trenes de muestreo se extrajeron bajo las condiciones establecidas; mientras que los segmentos 2, 4, 6 y 8 se almacenaron.

5.10 Análisis cualitativo

5.10.1 Identificación de los HAP basada en los tiempos de retención relativos (t_{rr}) al estándar interno

Del análisis de cada muestra por CG-EM bajo las condiciones establecidas en la tabla V se obtuvo un cromatograma del total de iones (Figura 14); en el que cada una de las señales corresponde a un HAP eluido a un tiempo de retención específico (t_r) que al dividirlo entre el del estándar interno proporciona el tiempo de retención relativo (t_{rr}) (Ecuación 13).

$$t_{rr} = \frac{t_{rHAP}}{t_{rHAP-d}} \quad \text{Ecuación 13}$$

t_{rr} : Tiempo de retención relativo, adimensional

t_{rHAP} : Tiempo de retención absoluto del HAP, min

t_{rHAP-d} : Tiempo de retención absoluto del estándar interno inmediato anterior, min

5.10.2 Identificación de los HAP con base en los espectros de masa

Los espectros de masa de cada HAP en modo de barrido completo "SCAN" se obtuvieron en un intervalo de 35 a 350 uma, en ellos se identificaron el pico base que corresponde al ion de calificación principal y de cuantificación, así como los iones secundarios que confirman la presencia de cada HAP; con base en estos parámetros se creó un método de monitoreo selectivo de iones "SIM"; en el que la sensibilidad de la señal incrementa al menos 10 veces a la del modo "SCAN".

5.11 Análisis cuantitativo

5.11.1 Evaluación de la homoscedasticidad de las varianzas

La determinación del comportamiento de las varianzas de las réplicas a través de la regresión en función de los distintos niveles de concentración empleados para cada HAP se obtuvo a partir del análisis "F de Fisher" (Ecuación 14).

$$F = \frac{S_a^2}{S_b^2}; \text{ con } v = n - 1 \quad \text{Ecuación 14}$$

Donde:

F : Razón entre varianzas; tal que $s_a^2 > s_b^2$

S_a^2 : Varianza del nivel a – decalibración

S_b^2 : Varianza del nivel b – decalibración

v : Grados de libertad

n : Número de elementos o mediciones de la muestra

La evaluación de este estadístico se llevó a cabo bajo las siguientes hipótesis:

H_0 : Varianzas iguales
 H_a : Varianzas diferentes

Si el valor de $F_{\text{calculado}} \geq F_{\text{tablas}}$ entonces se rechaza H_0 y las varianzas son diferentes (heteroscedasticidad). Por tanto, se debe estabilizar la varianza en los niveles de calibración a fin de utilizar el modelo de regresión lineal simple o bien emplear un modelo de regresión lineal ponderada.

5.11.2 Regresión lineal ponderada

En la regresión lineal ponderada la curva obtenida pasa preferentemente por aquellos puntos en los que la varianza es menor, razón por la cual ésta se propuso como modelo de análisis para las curvas de calibración (Miller y Miller 2002).

Los parámetros requeridos por este modelo matemático se obtuvieron a través de las ecuaciones que se muestran en la tabla XVIII.

Tabla XVIII. Parámetros de la regresión lineal ponderada

w_i	Ponderador para cada nivel de calibración en la recta	$w_i = \frac{s_i^{-2}}{\sum \frac{s_i^{-2}}{n}}$	(Ecuación 15)
\bar{x}_w	Media aritmética de x ponderada	$\bar{x}_w = \frac{\sum [w_i][x_i]}{n}$	(Ecuación 16)
\bar{y}_w	Media aritmética de y ponderada	$\bar{y}_w = \frac{\sum [w_i][y_i]}{n}$	(Ecuación 17)
b_w	Pendiente	$b_w = \frac{\sum [w_i y_i x_i - n \bar{x}_w \bar{y}_w]}{\sum [w_i x_i^2] - n \bar{x}_w^2}$	(Ecuación 18)
a_w	Ordenada al origen	$a_w = \bar{y}_w - b_w \bar{x}_w$	(Ecuación 19)
r	Coficiente de correlación momento producto	$r = \frac{\sum [(x_i - \bar{x}_w)(y_i - \bar{y}_w)]}{[\sum [(x_i - \bar{x}_w)^2][\sum [(y_i - \bar{y}_w)^2]]^{1/2}}$	(Ecuación 20)
LD_w	Límite de detección ponderado	$LD_w = \frac{\{[E \cdot I][a_w + 3S_{y/x}] - a_w\}}{b_w}$	(Ecuación 21)
LC_w	Límite de cuantificación ponderado	$LC_w = \frac{\{[E \cdot I][a_w + 10S_{y/x}] - a_w\}}{b_w}$	(Ecuación 22)
$S_{(y/x)_w}$	Desviación estándar de los residuos de "y"	$S_{(y/x)_w} = \left[\frac{\sum w_i (y_i - \hat{y}_i)^2}{n - 2} \right]$	(Ecuación 23)

5.11.3 Evaluación de la linealidad

La linealidad se evaluó con el coeficiente de correlación momento producto (Ecuación 24) a través del contraste estadístico de Pearson (Ecuación 25) evaluado a un nivel de significancia determinado.

El análisis de varianza (ANOVA) analizado a través del estadístico "F de Fisher" también se empleó para evaluar linealidad.

5.11.3.1 Determinación del coeficiente de correlación momento producto

El coeficiente de correlación momento producto (Ecuación 24) puede tomar valores de $-1 \leq r \leq 1$ donde $r=-1$ y $r=1$ indican una correlación negativa o positiva respectivamente.

$$r = \frac{\sum_i [(x_i - \bar{x})(y_i - \bar{y})]}{[\sum_i [(x_i - \bar{x})^2][\sum_i [(y_i - \bar{y})^2]]^{1/2}} \quad \text{Ecuación 24}$$

Cuando r se aproxima a 0 se establece que la relación entre las variables del fenómeno no es lineal (Figura 13a); sin embargo, las variables pueden estar relacionadas de un modo distinto. De manera análoga, un valor de r próximo a 1 podría ser una estimación equívoca como en los fenómenos descritos por curvas suaves (Figura 13b). Ambos casos se muestran en la figura 13 (Miller y Miller 2002).

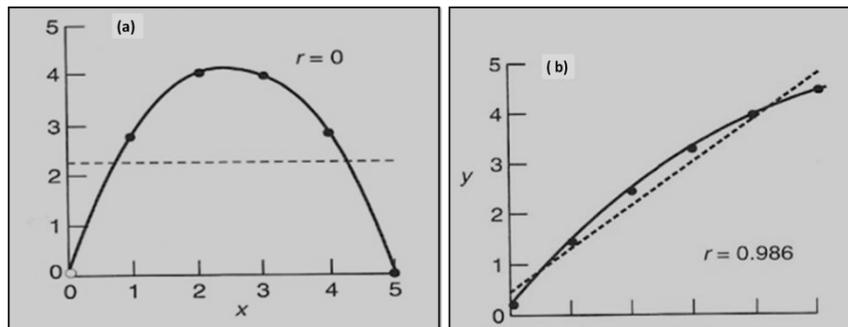


Figura 13. Interpretaciones erróneas del coeficiente de correlación, r

A fin de evitar interpretaciones subjetivas de r , se empleó el estadístico t "estadístico de Pearson" (Ecuación 25) a un nivel de significancia específico.

$$t = \frac{[r]\sqrt{n-2}}{\sqrt{1-r^2}} \quad \text{Ecuación 25}$$

Donde:

$[r]$: Valor absoluto del coeficiente de correlación momento producto

n : Niveles de calibración. En este estudio, $n = 9$

Las premisas para la evaluación del coeficiente de correlación de Pearson son:

$$\begin{aligned} H_0: & \quad \text{No existe correlación} \\ H_a: & \quad \text{Existe correlación} \end{aligned}$$

Si $t_{\text{calculado}} > t_{\text{tablas}}$ a un nivel de significancia específico en un contraste t de dos colas, entonces, se rechaza H_0 y por tanto se establece que existe una correlación significativa; es decir el modelo lineal es adecuado.

5.11.3.2 Bondad de ajuste con análisis de varianza (ANOVA)

En el análisis de varianza (ANOVA) empleado como segundo parámetro para la evaluación de la linealidad se incluye la variación debida a la regresión y el error experimental aleatorio en los valores de "y". Así, el análisis de varianza total involucra dos fuentes de variación tal como se muestra en la ecuación 26.

$$\begin{array}{l} \text{Suma de cuadrados} \\ \text{totales} \end{array} = \begin{array}{l} \text{Suma de cuadrados} \\ \text{explicada} \end{array} + \begin{array}{l} \text{Suma de cuadrados} \\ \text{no explicada} \end{array}$$

$$\sum_i [y_i - \bar{y}]^2 = \sum_i [\hat{y}_i - \bar{y}]^2 + \sum_i [y_i - \hat{y}_i]^2 \quad \text{Ecuación 26}$$

Donde:

y_i = Promedio de los valores de y_i

\hat{y}_i = Valor de y_i obtenido a partir de la recta de regresión

\bar{y}_i = Promedio de los valores de y_i

A partir de los datos experimentales es posible determinar la suma de cuadrados total. Cuando el primer término de la parte derecha de la ecuación que corresponde a la variación debida a la regresión es máximo, se obtiene la línea que mejor ajusta a los datos experimentales (Miller y Miller 2002).

La evaluación del ajuste del modelo propuesto se determinó a través del estadístico F de Fisher calculado con base a la suma de cuadrados y grados de libertad correspondientes (Tabla XIX).

Tabla XIX. Análisis de varianza de la regresión lineal simple

Fuente	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrados medios	F_{cal}
Regresión	2-1=1	$SC_{explicada}$	$CM^2_{exp} = \frac{SC_{exp}}{1}$	
Error	n-2	$SC_{no\ explicada}$	$CM^2_{no\ exp} = \frac{SC_{no\ exp}}{n-2}$	$F_{cal} = \frac{CM^2_{exp}}{CM^2_{no\ exp}}$
Total	n-1	SC_{total}		

Las hipótesis a probar son:

$$H_0: \text{El modelo no es lineal}$$

$$H_a: \text{El modelo es lineal}$$

Si para un nivel de confianza y número de grados de libertad específicos el valor de $F_{cal} > F_{tablas}$, se rechaza H_0 y se establece que el modelo lineal propuesto describe adecuadamente el comportamiento de los datos experimentales.

5.11.4 Evaluación de la precisión

La precisión se evaluó en cada nivel de calibración de las curvas a través de los valores del coeficiente de variación (% CV) de los factores de respuesta relativos y a través de la regresión entre los factores de respuesta relativos de los distintos niveles de calibración.

5.11.5 Determinación de la eficiencia del método

Para evaluar la eficiencia del método se emplearon EPU extraídas previamente y se dividieron en 10 fragmentos. El primero de ellos se empleó como blanco mientras que los nueve restantes se dividieron en grupos de tres, cada uno se fortificó con la masa

correspondiente a un nivel de calibración para obtener un triplicado de la misma concentración.

Una vez fortificados, se llevó a cabo la extracción mediante el procedimiento descrito en la sección 6.4; finalmente las muestras se analizaron por CG-EM. Con base en los resultados se determinó el área relativa promedio de cada HAP presente en el blanco así como en cada nivel de calibración mediante la ecuación 27.

$$A_r = \frac{A_{HAP}}{A_{HAP-d}} \quad \text{Ecuación 27}$$

Donde:

A_R : Área relativa de cada HAP

A_{HAP} : Área absoluta de cada HAP, cuentas

A_{HAP-d} : Área absoluta del estándar interno, cuentas

Para la determinación del porcentaje de recuperación, se requirió del área relativa promedio del estándar de referencia para cada HAP; en este caso se emplearon las áreas de la curva de calibración instrumental.

El porcentaje de recuperación (% R) de los HAP por nivel de calibración se obtuvo mediante la ecuación 28

$$\% R = \left[\left(\frac{\bar{A}_{rF} - \bar{A}_{rB}}{\bar{A}_{rREF}} \right) 100 \right] \quad \text{Ecuación 28}$$

Donde:

% R: Porcentaje de recuperación

\bar{A}_{rF} : Área relativa promedio del fortificado

\bar{A}_{rB} : Área relativa promedio del blanco

\bar{A}_{rREF} : Área relativa promedio del estándar de referencia

Una vez determinados los porcentajes de recuperación de cada analito por nivel de calibración se llevó a cabo la evaluación de su dependencia con respecto al nivel de masa adicionada empleando un modelo de regresión lineal evaluado a través del software "Statística". En aquellos casos en los que la pendiente de la regresión fuese significativamente distinta de cero se concluyó que el porcentaje era dependiente de la concentración y posteriormente se evaluó la dependencia. En el caso contrario, se empleó el promedio de recuperación para el intervalo de concentraciones analizado.

5.11.6 Cálculo de los límites de detección y de cuantificación

Con base en los parámetros de la regresión lineal ponderada se calcularon los límites de detección (Ecuación 21) y de cuantificación (Ecuación 22) de las curvas instrumentales y de método para cada uno de los HAP analizados.

$$LD_W = \frac{\{[E. I] [(a_w + 3S_{Y/X}) - a_w]\}}{b_w} \quad \text{Ecuación 21}$$

$$LC_W = \frac{\{[E. I] [(a_w + 10S_{Y/X}) - a_w]\}}{b_w} \quad \text{Ecuación 22}$$

Donde:

LD_W : Límite de detección de la recta de regresión ponderada en $ng \mu L^{-1}$ (curva instrumental) y $ng cm^{-3}$ (curva de método)

LC_W : Límite de cuantificación de la recta de regresión ponderada en $ng \mu L^{-1}$ (curva instrumental) y $ng cm^{-3}$ (curva de método)

b_w : Pendiente de la recta de regresión ponderada

a_w : Ordenada al origen de la recta de regresión ponderada

$S_{(Y/X)_w}$: Desviación estándar ponderada de los residuos de "y"

La introducción del estándar interno en las ecuaciones 21 y 22 permite expresar estos parámetros en términos de concentración.

6.0 Resultados y discusión

En las pruebas preliminares del desarrollo del método de extracción de HAP en EPU (Apéndice A) se encontró que la composición de la emisión en fase gaseosa queda restringida a los HAP $\leq 202 \text{ g mol}^{-1}$; por lo que en este estudio únicamente se muestran los resultados para dichos compuestos.

6.1 Análisis cualitativo

6.1.1 Identificación de HAP con base en los tiempos de retención relativos (t_{rr})

La figura 14 muestra un ejemplo del cromatograma de iones totales bajo las condiciones establecidas en la tabla V (pág. 31) para el nivel 1 de la curva instrumental; mientras que los tiempos de retención absolutos y relativos al EI (HAPs deuterados) anterior más cercano calculados con la ecuación 13 se muestran en la tabla XX.

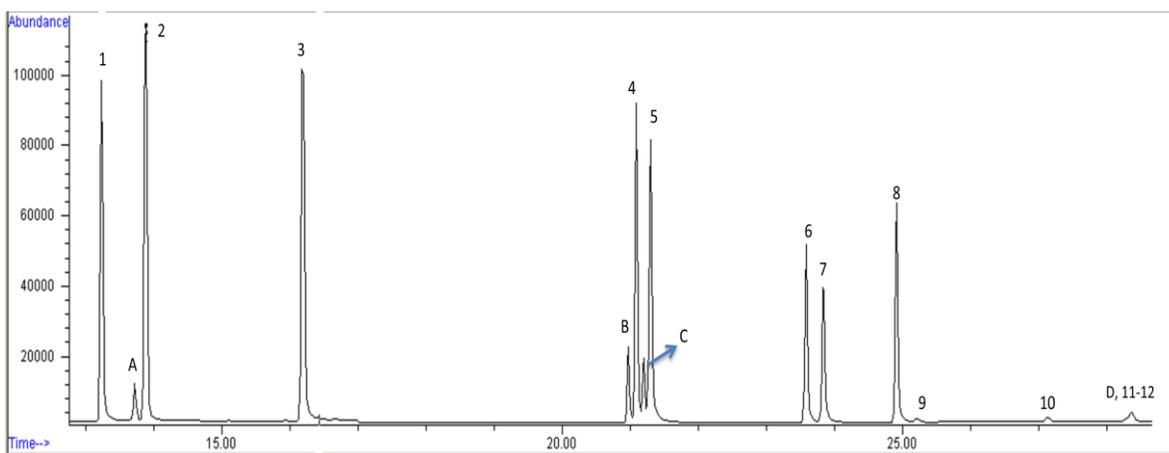


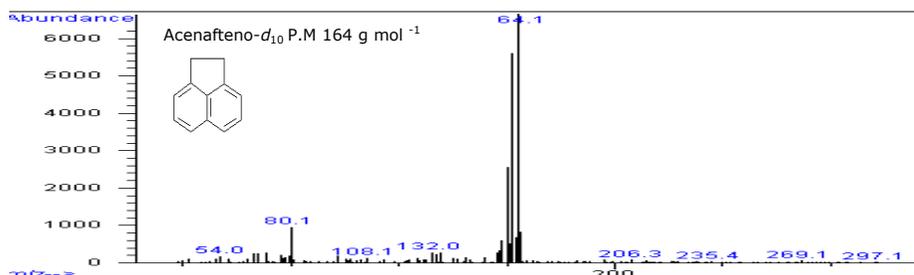
Figura 14. Cromatograma de iones totales del nivel 1 de la curva de calibración del método en el que se muestran los tiempos de retención de los HAP y HAP-*d* (estándares internos). Los nombres e iones de fragmentación se presentan en la tabla XXI.

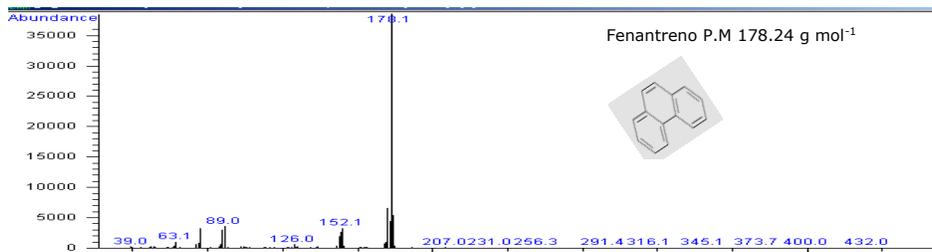
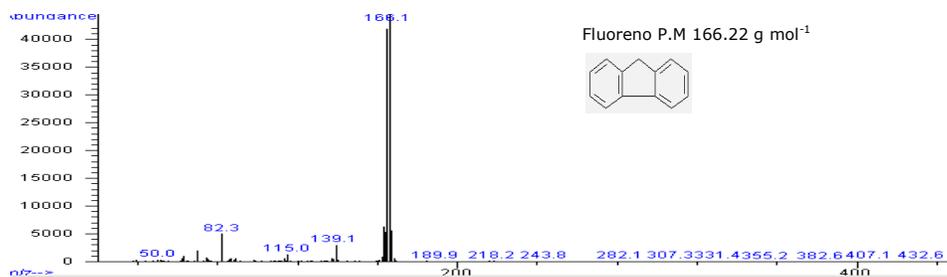
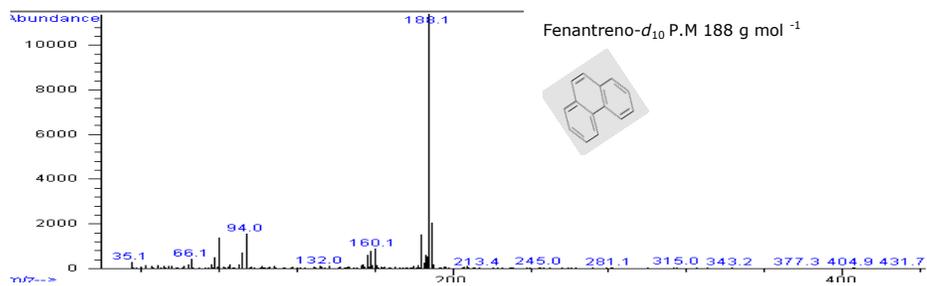
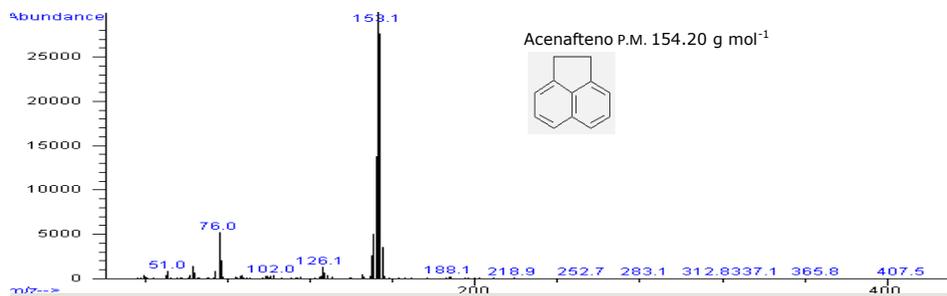
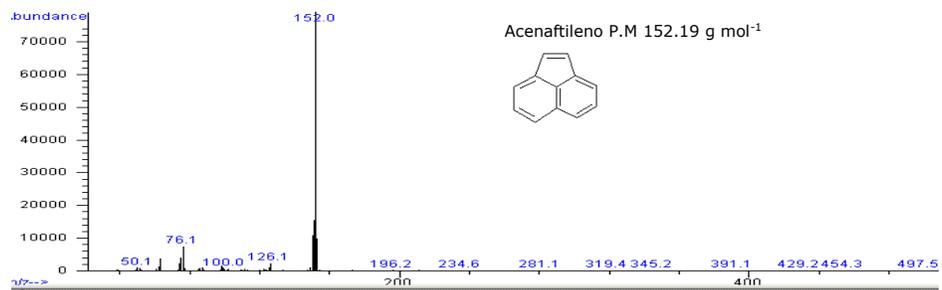
Tabla XX. Tiempos de retención absolutos (tr), relativos (trr) e iones de fragmentación de los HAP estudiados

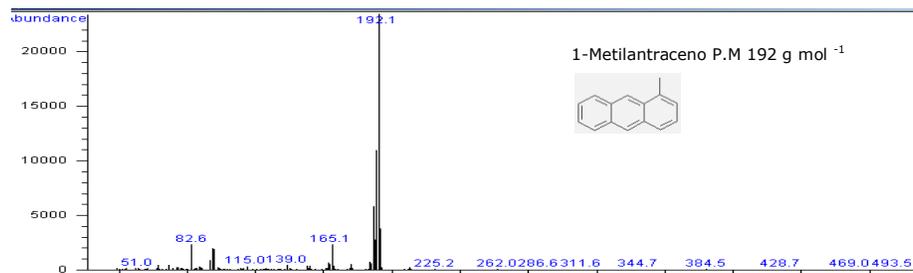
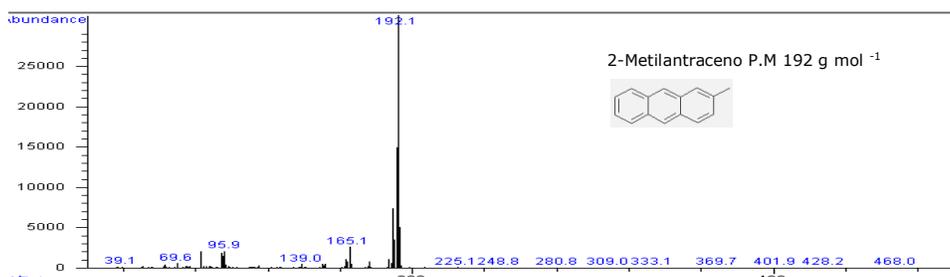
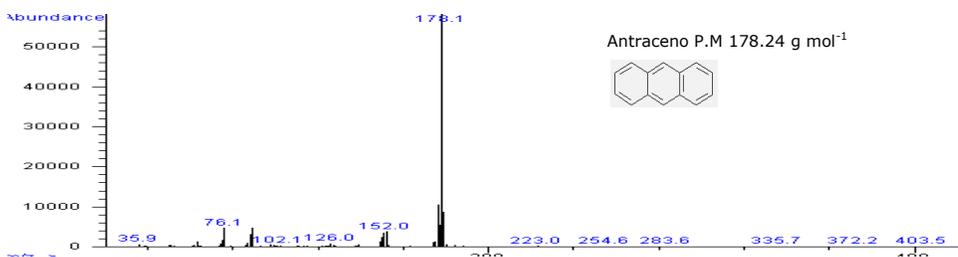
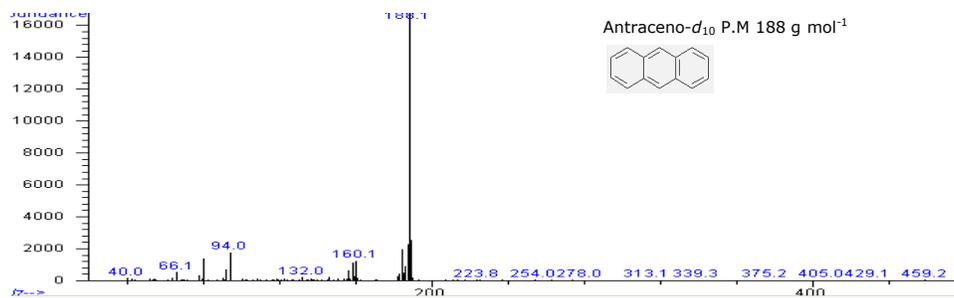
	HAP	t_{abs} [min]	t_{rr}	Ion principal [m/z ⁺]	Iones secundarios
A	Acenafteno-<i>d</i>₁₀	13.72		164	165, 82
1	Acenaftileno	13.25	0.97	152	153, 76
2	Acenafteno	13.88	1.01	154	155, 77
B	Fenantreno-<i>d</i>₁₀	20.97		188	189, 94
3	Fluoreno	16.21	0.77	166	167, 83
4	Fenantreno	21.11	1.01	178	179, 89
C	Antraceno-<i>d</i>₁₀	21.20		188	189, 94
5	Antraceno	21.31	1.01	178	179, 89
6	2-Metilantraceno	23.63	1.11	192	193, 96
7	1-Metilantraceno	23.86	1.13	192	193, 96
8	9-Metilantraceno	24.93	1.18	192	193, 96
9	3,6-Dimetilfenantreno	25.26	1.20	206	207, 103
D	Pireno-<i>d</i>₁₀	28.31		212	213, 106
10	Fluoranteno	27.20	0.96	202	203, 101
11	Pireno	28.40	1.04	202	203, 101
12	9,10-Dimetilantraceno	28.36	1.00	206	207,103

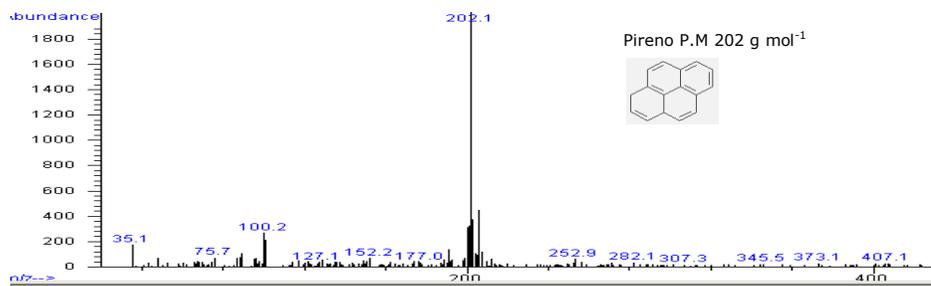
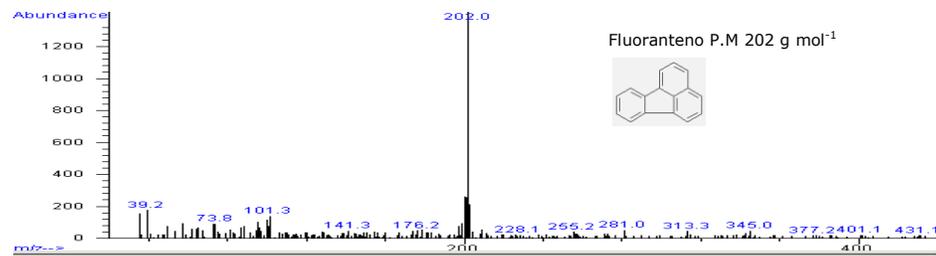
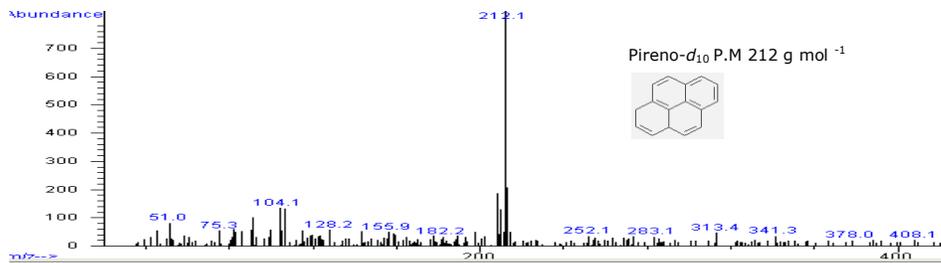
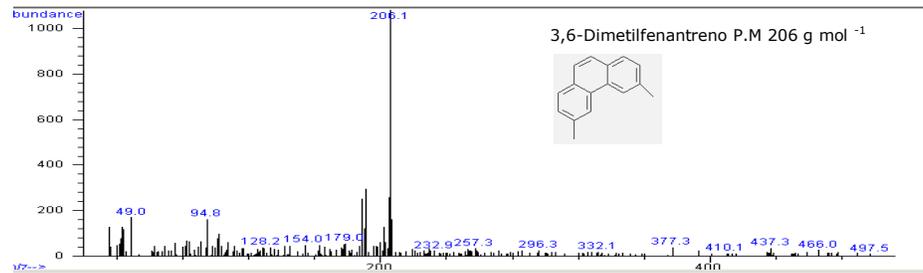
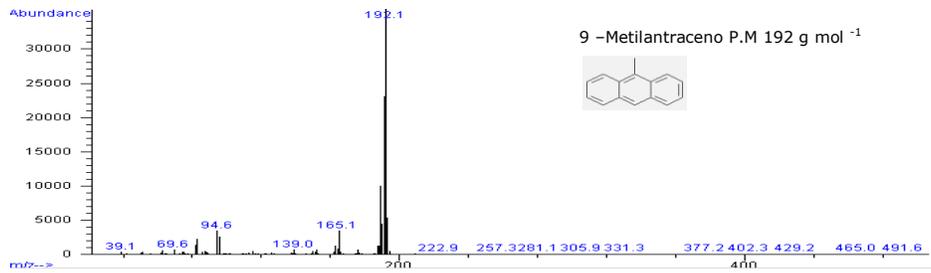
6.1.2 Identificación de HAP con base en sus espectros de masa

Los espectros de masa de cada uno de los HAP analizados se muestran en la figura 15; los iones principales y secundarios empleados para su identificación se incluyen en la tabla XX.









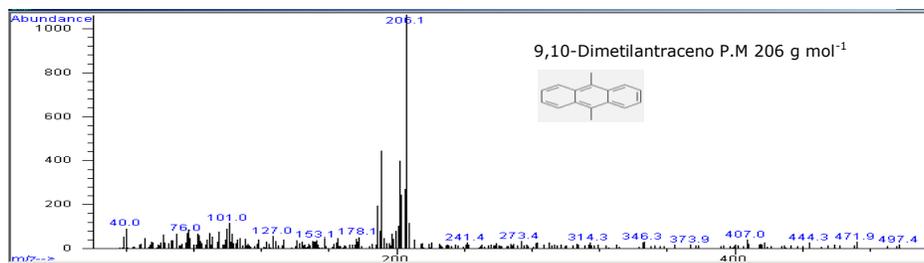


Figura 15. Espectros de masa de los hidrocarburos aromáticos policíclicos y sus deuterados.

6.2 Análisis cuantitativo

6.2.1 Determinación de la homoscedasticidad de las varianzas

Las áreas relativas de cada HAP se relacionaron con sus concentraciones en cada uno de los niveles de calibración mediante un modelo matemático de regresión lineal obtenido a través del método de mínimos cuadrados. Además, se evaluó el comportamiento de las varianzas a través de la recta de regresión.

En la figura 16 se muestra la curva de calibración instrumental del fenantreno, donde se aprecia que la desviación estándar a través de los distintos niveles de concentración no es homogénea; evaluada a través del estadístico "F de Fisher" (Ecuación 14).

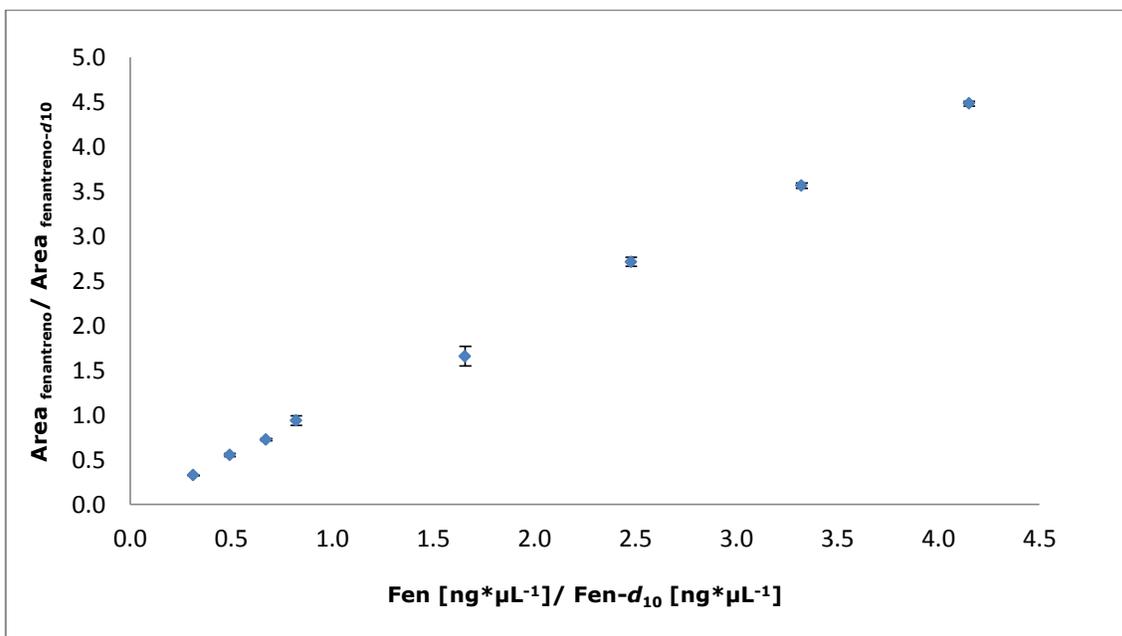


Figura 16. Curva de calibración instrumental del fenantreno, n=8

El valor de F de tablas empleando dos grados de libertad para cada uno de los términos de la ecuación fue 39 a un nivel de confianza de $p=0.05$; este valor se comparó con los resultados de F obtenidos para la curva de calibración del fenantreno (Tabla XXI), tomado como ejemplo. Dado que se obtuvo al menos un valor de $F_{calculada}$ mayor a F_{tablas} , entonces se rechazó H_0 , concluyendo que las varianzas fueron significativamente diferentes y por tanto se prefirió el uso de una regresión lineal ponderada con respecto a una simple para el tratamiento de los datos.

Tabla XXI. Evaluación de la homoscedasticidad de las varianzas en la curva de calibración instrumental del fenantreno ($n = 3, v = 2$)

#	C_R	A_R	\bar{A}_R	$DE_{\bar{A}_R}$ S_i	Varianza S_i^2	F_{cal} consecutiva	F_{cal}	F_{cal}
1	4.15	4.46 4.52 4.48	4.48	0.029	0.00086	n.c	$F_{4/1}=14.31$	$F_{1/8}=115.28$
2	3.32	3.57 3.54 3.59	3.57	0.028	0.00077	$F_{1/2}=1.11$	$F_{5/2}=3.74$	$F_{2/7}=2.34$
3	3.25	2.66 2.72 2.76	2.71	0.050	0.00245	$F_{3/2}=3.18$	$F_{3/6}=14.85$	$F_{3/6}=14.85$
4	1.66	1.72 1.72 1.53	1.66	0.111	0.01226	$F_{4/3}=5.00$	$F_{4/7}=37.09$	$F_{4/5}=4.25$
5	0.82	0.98 0.88 0.96	0.94	0.054	0.00288	$F_{4/5}=4.25$	$F_{5/8}=388.24$	n.c
6	0.67	0.73 0.72 0.71	0.72	0.013	0.00017	$F_{5/6}=17.46$	n.c	n.c
7	0.49	0.53 0.55 0.57	0.55	0.018	0.00033	$F_{7/6}=2.00$	n.c	n.c
8	0.31	0.32 0.33 0.32	0.32	0.003	0.00001	$F_{7/8}=44.48$	n.c	n.c

$$C_R = \frac{C_{Fen}}{C_{Fen-d}}$$

C_R : Concentración relativa

v : Grados de libertad

$$A_R = \frac{A_{Fen}}{A_{Fen-d}}$$

A_R : Área relativa

n : Número de réplicas por nivel

$$\bar{A}_R = \frac{\sum_1^3 A_R}{3}$$

\bar{A}_R : Área relativa promedio

n.c : No calculado

$DE_{\bar{A}_R}$

Desviación estándar [S_i] del área relativa promedio

$$F_{cal} = \left[\frac{S_a^2}{S_b^2} \right]$$

F_{CAL} : F calculada

S_a^2 : Varianza del nivel a de calibración

S_b^2 : Varianza del nivel b de calibración

Las tablas XXII y XXIII muestran los valores F de Fisher para cada una de las curvas instrumentales y de método de los HAP analizados. En el caso de las curvas instrumentales el acenafteno y el fluoreno presentaron homoscedasticidad; mientras que en las de método el acenaftileno fue el único con este comportamiento

Tabla XXII. Valores de F de Fisher calculados para evaluar la homoscedasticidad de las varianzas en las curvas de calibración instrumentales ($p=0.05$, $n = 3, v = 2$)

HAP	$F = \frac{S_a^2}{S_b^2}$	F _{cal}
Acenaftileno	$F_{1/8}$	63.24
Acenafteno	$F_{2/5}$	33.99
Fluoreno	$F_{1/8}$	18.24
Fenantreno	$F_{1/8}$	115.28
3,6-Dimetilfenantreno	$F_{4/6}$	120.65
Antraceno	$F_{1/4}$	126.29
2-Metilantraceno	$F_{1/3}$	45.28
1-Metilantraceno	$F_{1/7}$	43.11
9-Metilantraceno	$F_{6/9}$	59.96
9,10-Dimetilantraceno	$F_{1/9}$	143.01
Fluoranteno	$F_{1/9}$	56.96
Pireno	$F_{2/8}$	68.06

Tabla XXIII. Valores de F de Fisher calculados para evaluar la homoscedasticidad de las varianzas en las curvas de calibración del método ($p=0.05$, $n = 3, v = 2$)

HAP	$F = \frac{S_a^2}{S_b^2}$	F _{cal}
Acenaftileno	$F_{1/8}$	28.97
Acenafteno	$F_{1/8}$	125.81
Fluoreno	$F_{3/6}$	58.03
Fenantreno	$F_{4/7}$	56.34
3,6-Dimetilfenantreno	$F_{6/9}$	277.89
Antraceno	$F_{1/4}$	45.63
2-Metilantraceno	$F_{1/6}$	42.94
1-Metilantraceno	$F_{4/6}$	115.26
9-Metilantraceno	$F_{1/8}$	69.89
9,10-Dimetilantraceno	$F_{1/9}$	125.65
Fluoranteno	$F_{5/6}$	187.29
Pireno	$F_{6/7}$	144.26

6.2.2 Regresión lineal ponderada

De acuerdo con los resultados presentados en las tablas XXII y XXIII, la mayoría de los HAP presentaron al menos un valor de F calculado mayor al de F de tablas por lo que se empleó el modelo de regresión lineal ponderada para todas las curvas de calibración instrumentales y de método garantizando de este modo que la curva pase preferentemente por aquellos puntos en los que la varianza es menor.

Un ejemplo del cálculo de los parámetros de la regresión lineal ponderada se muestra en la tabla XXIV.

Tabla XXIV. Parámetros de la regresión lineal ponderada de la curva de calibración instrumental del fluoreno

	$ng\mu L^{-1}$	X_i	Y_i	S_i^2	$1/S_i^2$	w_i	$[Y_i][X_i]$	$[w_i][X_i]$	$[w_i][Y_i]$	$[w_i][X_i][Y_i]$	X_i^2	$[w_i][X_i^2]$
1	0.52	4.08	3.21	0.0023	432.08	0.09	13.09	0.38	0.30	1.23	16.66	1.57
2	0.42	3.27	2.43	0.0015	676.87	0.15	7.93	0.48	0.36	1.17	10.68	1.58
3	0.31	2.44	1.86	0.0001	7725.84	1.68	4.54	4.11	3.14	7.65	5.95	10.02
4	0.21	1.63	1.20	0.0003	3884.75	0.85	1.95	1.38	1.01	1.65	2.65	2.24
5	0.10	0.81	0.69	0.0003	3280.54	0.72	0.56	0.58	0.49	0.40	0.66	0.47
6	0.08	0.66	0.52	0.0001	8682.98	1.89	0.34	1.24	0.98	0.64	0.43	0.82
7	0.06	0.48	0.39	0.0002	4137.31	0.90	0.19	0.44	0.35	0.17	0.24	0.21
8	0.04	0.31	0.24	0.0001	7880.72	1.72	0.08	0.54	0.41	0.13	0.10	0.17
Σ		13.68	10.53	0.0050	36701.10	8.00	28.68	9.15	7.04	13.05	37.37	17.08
\bar{a}		1.71	1.32	0.0006	4587.64	1.00	3.59	1.14	0.88	1.63	4.67	2.14

$[X_i]$: Concentración relativa en cada nivel de calibración.

$[Y_i]$: Área relativa promedio en cada nivel de calibración.

S_i^2 : Varianza de las áreas relativas en cada nivel en la curva de calibración.

Σ : Suma de cada una de las variables analizadas.

\bar{a} : Promedio de cada una de las variables analizadas.

Una vez determinados los parámetros de la regresión lineal ponderada para las curvas de método e instrumentales de cada uno de los HAP, se determinó el centro de gravedad ponderado (\bar{x}_w, \bar{y}_w); así como la evaluación de la pendiente y la ordenada al origen de cada curva. A modo de ejemplo se presenta el cálculo de estos parámetros para la curva de calibración instrumental del fluoreno.

La determinación del centro de gravedad se obtuvo mediante las ecuaciones 16 y 17. Para la curva de calibración instrumental del fluoreno los valores fueron:

$$\bar{x}_w = \frac{\sum_i [w_i][X_i]}{n} = \frac{9.15}{8} = 1.144 \quad \bar{y}_w = \frac{\sum_i [w_i][y_i]}{n} = \frac{7.04}{8} = 0.881$$

La pendiente de la recta ponderada se obtuvo a través de la ecuación 18

$$b_w = \frac{\sum_i [w_i y_i x_i - n \bar{x}_w \bar{y}_w]}{\sum_i [w_i x_i^2] - n \bar{x}_w^2} = \frac{13.05 - [8(1.14 * 0.881)]}{17.08 - [8 * (1.144)^2]} = 0.755$$

Una vez determinados los valores de \bar{x}_w, \bar{y}_w y b_w se determinó el valor de la ordenada al origen mediante la ecuación 19

$$a_w = \bar{y}_w - b_w \bar{x}_w = [0.881 - (0.755 * 1.144)] = 0.017$$

Así la ecuación de la recta de regresión lineal ponderada (Ecuación 29) fue:

$$\bar{y}_w = b_w \bar{x}_w + a_w \equiv \bar{y}_w = 0.755 \bar{x}_w + 0.017 \quad \text{Ecuación 29}$$

Con base en las ecuaciones de la regresión lineal ponderada de las curvas instrumentales y de método de cada HAP se determinaron los valores de \hat{y} necesarios para el cálculo de $S_{(y/x)_w}$; éstos corresponden a los valores de "y" ajustados para cada "x" (nivel en la curva de calibración de cada HAP).

La tabla XXV muestra los parámetros requeridos para la determinación de $S_{(y/x)_w}$ del fluoreno.

TABLA XXV. Parámetros para la determinación de $S_{(y/x)w}$ de la curva de calibración instrumental del fluoreno

Nivel de calibración	y_i	\hat{y}_i	$[y_i - \hat{y}_i]$	$[y_i - \hat{y}_i]^2$	w_i	$w_i[y_i - \hat{y}_i]^2$
1	3.208	3.098	0.110	0.01205	0.094	0.00114
2	2.426	2.484	-0.058	0.00335	0.148	0.00049
3	1.862	1.859	0.004	0.00002	1.684	0.00003
4	1.198	1.245	-0.047	0.00223	0.847	0.00189
5	0.688	0.631	0.057	0.00330	0.715	0.00236
6	0.518	0.513	0.006	0.00003	1.893	0.00006
7	0.386	0.383	0.003	0.00001	0.902	0.00001
8	0.240	0.253	-0.013	0.00017	1.718	0.00030
Σ	10.527	10.465	0.061	0.02116		0.00627

y_i : Área relativa

\hat{y}_i : Área relativa predicha por la recta de regresión lineal ponderada

w_i : Peso dado a un nivel de calibración de la recta de regresión lineal ponderada

Por lo tanto el valor de $S_{(y/x)w}$ para la curva de calibración instrumental del fluoreno fue:

$$s_{y/x} = \left[\frac{\sum w_i (y_i - \hat{y}_i)^2}{n - 2} \right]^{1/2} = \left[\frac{0.006}{6} \right]^{1/2} = 0.032$$

Los parámetros de la regresión lineal ponderada de cada una de las curvas instrumentales y de método de los distintos HAP se resumen en las tablas XXVI y XXVII.

TABLA XXVI. Pendientes, ordenadas al origen y desviaciones de las curvas de calibración instrumentales ponderadas de cada HAP

HAP	a_w	b_w	$S_{y/x}$
Acenaftileno	-0.090	2.341	0.093
Acenafteno	-0.009	1.438	0.057
Fluoreno	0.117	0.755	0.032
Fenantreno	-0.014	1.083	0.008
3,6-Dimetilfenantreno	-0.003	0.382	0.001
Antraceno	0.001	1.187	0.037
2-Metilantraceno	-0.016	0.421	0.030
1-Metilantraceno	-0.009	0.413	0.014
9-Metilantraceno	0.005	0.594	0.033
Fluoranteno	0.004	1.109	0.048
9,10-Dimetilantraceno	0.011	0.709	0.044
Pireno	-0.035	1.378	0.059

TABLA XXVII Pendientes, ordenadas al origen y desviaciones de las curvas de calibración ponderadas del método para cada HAP

HAP	a_w	b_w	$S_{y/x}$
Acenaftileno	-0.069	2.008	0.112
Acenafteno	-0.012	1.152	0.018
Fluoreno	-0.020	0.647	0.026
Fenantreno	0.037	0.829	0.023
3,6-Dimetilfenantreno	0.001	0.417	0.001
Antraceno	-0.071	1.058	0.020
2-Metilantraceno	-0.052	0.525	0.024
1-Metilantraceno	-0.010	0.411	0.004
9-Metilantraceno	0.001	0.628	0.005
Fluoranteno	0.046	0.923	0.068
9,10-Dimetilantraceno	0.026	0.630	0.012
Pireno	0.015	1.053	0.047

6.2.3 Evaluación de la linealidad

6.2.3.1 Análisis del coeficiente de correlación momento producto

El primer parámetro determinado para la evaluación de la linealidad de cada una de las curvas fue el coeficiente de correlación momento producto (Ecuación 24); un ejemplo de los datos necesarios para su determinación se muestran en la tabla XXVIII.

Tabla XXVIII. Datos para la determinación del coeficiente de correlación momento producto (r) de la curva de calibración instrumental del fenantreno

Nivel de calibración	$[x_i - \bar{x}]$	$[y_i - \bar{y}]$	$[x_i - \bar{x}][y_i - \bar{y}]$	$[x_i - \bar{x}]^2$	$[y_i - \bar{y}]^2$
1	2.413	2.614	6.309	5.824	6.836
2	1.584	1.697	2.688	2.510	2.879
3	0.740	0.843	0.624	0.547	0.711
4	-0.081	-0.213	0.017	0.007	0.046
5	-0.918	-0.930	0.854	0.842	0.866
6	-1.066	-1.146	1.222	1.137	1.314
7	-1.246	-1.319	1.644	1.553	1.739
8	-1.426	-1.546	2.204	2.034	2.389
Σ	0.000	0.000	15.563	14.454	16.779

Así el valor de r obtenido para la curva de calibración instrumental del fenantreno fue:

$$r = \frac{\sum_i [(x_i - \bar{x})(y_i - \bar{y})]}{[\sum_i [(x_i - \bar{x})^2][\sum_i [(y_i - \bar{y})^2]]^{1/2}} = \frac{15.563}{[(14.454)(16.779)]^{1/2}} = 0.999$$

Una vez obtenidos los coeficientes de correlación de las curvas instrumentales y de método de cada HAP se llevó a cabo la evaluación de este parámetro a través del contraste estadístico de Pearson (t) (Ecuación 25) a fin de establecer si el modelo es o no lineal.

La comparación entre los valores de t de tablas y t calculada se hizo con un nivel de confianza del 95 % y 99 % con n-2 grados de libertad; los valores de t de tablas son 2.36 y 3.50 respectivamente; si el valor de t calculado era mayor a éstos, el modelo de regresión es lineal. Como ejemplo, se muestra el cálculo del valor de t de la curva de calibración instrumental del fenantreno:

$$t = \frac{[r]\sqrt{n-2}}{\sqrt{1-r^2}} = \frac{[0.999]\sqrt{8-2}}{\sqrt{1-0.998}} = 50.235$$

El análisis anterior se hizo con cada uno de los HAP tanto en las curvas instrumentales como en las de método. Los resultados se muestran en las tablas XXIX y XXX.

TABLA XXIX. Coeficientes de correlación (r), de determinación (r^2) y valores de t calculados para cada curva de calibración instrumental de los correspondientes HAP

HAP	r	r^2	$t_{calculada}$
Acenaftileno	0.998	0.996	39.038
Acenafteno	1.000	0.999	79.925
Fluoreno	0.999	0.998	50.235
Fenantreno	0.999	0.999	67.041
3,6-Dimetilfenantreno	0.997	0.994	33.698
Antraceno	0.999	0.998	60.378
2-Metilantraceno	0.978	0.989	16.355
1-Metilantraceno	0.999	0.998	53.470
9-Metilantraceno	0.997	0.994	35.457
Fluoranteno	0.992	0.985	21.141
9,10-Dimetilantraceno	0.981	0.963	13.418
Pireno	0.995	0.990	25.982

TABLA XXX. Coeficientes de correlación (r), de determinación (r^2) y valores de t calculados para cada curva de calibración del método de los correspondientes HAP

HAP	r	r^2	$t_{calculada}$
Acenaftileno	0.999	0.999	67.158
Acenafteno	1.000	0.999	83.053
Fluoreno	0.999	0.997	43.620
Fenantreno	0.993	0.986	18.579
3,6-Dimetilfenantreno	0.989	0.978	17.677
Antraceno	1.000	0.999	78.624
2-Metilantraceno	0.999	0.998	47.450
1-Metilantraceno	0.999	0.999	65.582
9-Metilantraceno	1.000	0.999	78.127
Fluoranteno	0.967	0.936	9.332
9,10-Dimetilantraceno	0.970	0.940	10.466
Pireno	0.924	0.853	5.904

Los valores de r^2 en las curvas de calibración instrumentales oscilaron entre 0.963 (9,10-Dimetilantraceno) y 0.999 (Fenantreno); mientras que el valor mínimo en las curvas de método fue 0.853 (Pireno) y el máximo de 0.999 (Acenaftileno) a un valor de $p \leq 0.05$, lo que sugiere correlación lineal entre la respuesta y la concentración en ambas curvas de calibración.

6.2.3.2 Bondad de ajuste con análisis de varianza (ANOVA)

El segundo método de evaluación de la linealidad se obtuvo del análisis de varianza (ANOVA) descrito en la sección 5.11.3.2. (pág 49) Los cálculos se llevaron a cabo utilizando el programa "STATISTICA 6.0. En el lado izquierdo de la figura 17 se muestran los valores de área y concentración de la curva de calibración instrumental del fenantreno, en el centro de la imagen se presenta una tabla con los resultados del análisis mediante el programa en los que los valores de F y p se emplearon como criterios para determinar si el modelo fue o no lineal.

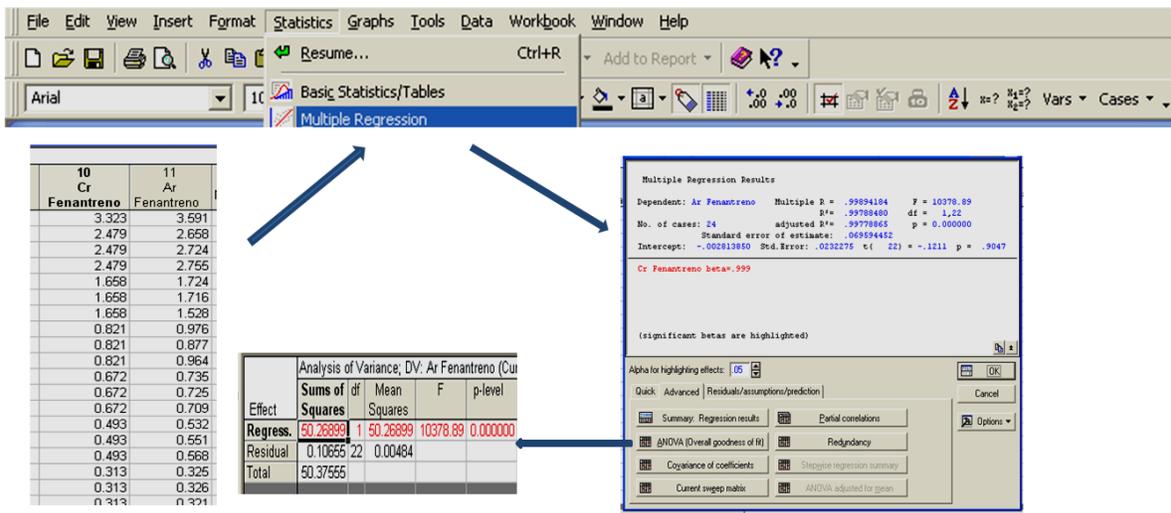


Figura 17 Análisis de varianza para evaluar linealidad calculando la bondad de ajuste

Los resultados de este análisis se muestran en la tabla XXXI.

Tabla XXXI. Valores de F de Fischer de ANOVA para evaluar linealidad en las curvas de calibración instrumentales y de método

HAP	F_{cal} Curva instrumental	F_{tab} Curva instrumental	F_{cal} Curva de método	F_{tab} Curva de método
Acenaftileno	5255.39	5.786	5561.14	5.786
Acenafteno	10874.93	5.786	2999.44	5.786
Fluoreno	7903.66	5.786	3111.11	5.922
Fenantreno	10378.89	5.786	985.89	5.922
3,6-Dimetilfenantreno	2017.64	5.696	709.26	5.696
Antraceno	5307.81	5.786	4227.05	5.786
2-Metilantraceno	872.28	5.786	4308.30	5.922
1-Metilantraceno	4902.04	5.786	2991.47	5.922
9-Metilantraceno	3707.79	5.696	5182.05	5.786
Fluoranteno	1298.99	5.696	274.77	5.786
9,10-Dimetilantraceno	572.82	5.696	370.49	5.696
Pireno	1627.66	5.696	116.62	5.786

Los resultados indicaron que los datos de ambas curvas se ajustaron adecuadamente a un modelo lineal; los valores mínimos de F en la curva instrumental fueron 872.28 y 572.82 que corresponden al 2-metilantraceno y al 9,10-dimetilantraceno respectivamente; mientras que en las curvas de método el pireno y el fluoranteno presentaron valores de 116.62 y 274.77. Estos compuestos presentaron también los menores coeficientes de determinación, lo que coincide con los resultados del estadístico de Pearson.

6.2.4 Evaluación de la precisión

La determinación de la precisión de las curvas de calibración se evaluó con los factores de respuesta relativos que corresponden al cociente entre el área relativa y la concentración relativa.

El coeficiente de variación (CV) en cada nivel de calibración expresa la precisión por nivel; mientras que la determinación del CV incluyendo todos los niveles de calibración permitió determinar la precisión total de cada HAP en toda la regresión.

Un ejemplo de los cálculos para la evaluación de la precisión del fenantreno se muestra en la tabla XXXII.

Tabla XXXII. Parámetros para la evaluación de la precisión por nivel y total del fenantreno en la curva de calibración instrumental

#	C_r	A_r	A_r	A_r	F_{rr}	F_{rr}	F_{rr}	$\overline{F_{rr}}$	DE	%CV	Precisión por nivel
1	4.15	4.46	4.52	4.48	1.07	1.09	1.09	1.08	0.006	0.53	99.47
2	3.32	3.57	3.54	3.59	1.07	1.06	1.08	1.07	0.007	0.64	99.36
3	2.48	2.66	2.72	2.76	0.82	0.84	0.85	0.84	0.012	1.49	98.51
4	1.66	1.72	1.72	1.53	1.04	1.04	0.92	1.00	0.055	5.46	94.54
5	0.82	0.98	0.88	0.96	1.19	1.07	1.17	1.14	0.053	4.67	95.33
6	0.67	0.73	0.72	0.71	1.09	1.08	1.05	1.08	0.016	1.45	98.55
7	0.49	0.53	0.55	0.57	1.08	1.12	1.15	1.12	0.030	2.70	97.30
8	0.31	0.32	0.33	0.32	1.04	1.04	1.03	1.04	0.007	0.69	99.31
								$\overline{F_{rr}}$	$DE_{\overline{F_{rr}}}$	$CV_{\overline{F_{rr}}}$	Precisión de la regresión
								1.04	0.10	9.14	90.86

C_r : Concentración relativa

A_r : Área relativa de cada réplica por nivel de calibración

F_{rr} : Factor de respuesta relativo de cada réplica por nivel de calibración

$\overline{F_{rr}}$: Promedio de los factores de respuesta relativos

DE: Desviación estándar de los F_{rr} en cada nivel de calibración

%CV: Porcentaje del coeficiente de variación de los valores de F_{rr} en cada nivel

$\overline{F_{rr}}$: Promedio de los $\overline{F_{rr}}$ en toda la regresión

$DE_{\overline{F_{rr}}}$: Desviación estándar de los $\overline{F_{rr}}$ en toda la regresión

$\%CV_{\overline{F_{rr}}}$: Porcentaje del coeficiente de variación de los $\overline{F_{rr}}$ en toda la regresión

Los valores de precisión por nivel para cada HAP en las curvas de calibración instrumental y de método se muestran en las tablas XXXIII y XXXIV; mientras que los de precisión en la curva se especifican en la tabla XXXV.

Tabla XXXIII. Precisión expresada en función del porcentaje del coeficiente de variación para cada nivel de las curvas de calibración instrumentales de los HAP

HAP	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Acenaftileno*	1.04	1.08	0.77	2.17	1.45	4.56	1.33	2.16	2.03 ^a
Acenafteno*	0.84	3.71	1.68	3.29	2.33	4.87	5.12	3.19	3.19 ^a
Fluoreno*	1.50	1.58	0.61	1.34	2.54	2.07	4.03	4.69	3.77 ^a
Fenantreno*	0.53	0.64	1.49	5.46	4.67	1.45	2.70	0.69	1.59 ^a
3,6-Dimetilfenantreno**	4.38	5.48	2.56	9.14	4.38	1.49	0.88	8.49	7.91
Antraceno*	4.90	1.22	2.95	1.14	3.29	7.69	2.90	4.89	5.38 ^a
2-Metilantraceno*	5.60	2.23	1.60	4.89	5.17	8.48	4.84	n.c	10.02
1-Metilantraceno*	3.44	2.75	1.64	8.64	5.05	4.89	4.98	8.04	n.c
9-Metilantraceno	3.49	1.57	0.90	2.93	5.84	7.12	3.68	6.51	4.64
Fluoranteno**	4.26	5.06	1.74	2.47	2.52	3.24	3.38	5.30	6.93
9,10-Dimetilantraceno**	5.10	5.19	2.96	3.36	2.35	4.17	3.69	6.90	5.36
Pireno**	3.00	6.15	4.14	5.19	1.48	7.02	4.22	4.55	6.77

*El intervalo de masa fue de 20 a 500 ng. ** El intervalo de masa fue de 2 a 30 ng. n.c, valores no determinados;

^aLos factores de respuesta relativos de estos niveles se descartaron de las curvas de calibración ya que su inclusión elevaba el CV a través de toda la regresión a valores superiores al 25 %. ^b: Valores descartados ya que el nivel anterior a éste no fue cuantificable.

Tabla XXXIV. Precisión expresada en función del porcentaje del coeficiente de variación para cada nivel de las curvas de método de cada HAP

HAP	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Acenaftileno*	3.73	1.06	3.97	7.18	7.89	4.13	9.02	13.01	13.01 ^a
Acenafteno*	5.95	2.05	5.12	6.00	8.82	0.94	6.32	8.18	6.16 ^a
Fluoreno*	3.75	1.44	6.08	3.95	8.42	3.06	7.78	18.16 ^a	6.20 ^b
Fenantreno*	5.19	4.59	4.39	3.07	4.02	2.23	1.39	n.c	3.98 ^b
3,6-Dimetilfenantreno**	5.17	4.02	2.82	9.70	9.82	5.31	19.85	17.92	1.32
Antraceno*	6.32	2.50	4.10	2.34	6.32	3.00	3.80	2.54	5.53 ^a
2-Metilantraceno*	3.07	2.04	2.78	6.26	5.17	3.30	10.52	14.64 ¹	8.47
1-Metilantraceno*	6.34	1.48	5.19	2.83	3.03	0.69	8.34	12.92 ¹	7.37 ^a
9-Metilantraceno*	5.07	2.20	4.10	4.97	2.48	1.60	3.17	8.33	4.73 ^a
Fluoranteno**	3.69	3.38	5.30	2.65	19.86	1.67	11.74	n.c	8.02
9,10-Dimetilantraceno**	9.19	7.75	7.5	6.20	6.51	0.47	6.17	10.9	6.76
Pireno**	5.55	6.00	9.52	3.87	7.05	1.56	21.06	n.c	3.48

**El intervalo de masa fue de 20 a 500 ng. ** El intervalo de masa fue de 2 a 30 ng. n.c, valores no determinados;

^aLos factores de respuesta relativos de estos niveles se descartaron de las curvas de calibración ya que su inclusión elevaba el CV a través de toda la regresión a valores superiores al 25 %. ^b: Valores descartados ya que el nivel anterior a éste no fue cuantificable.

Los coeficientes de variación de las curvas del método fueron mayores a los de las instrumentales, ya que en éste último únicamente se contempla la variación en el proceso de inyección, mientras que, en el primer caso también se incluyó la variación generada del proceso de extracción. Sin embargo, en casi todos los casos el coeficiente de variación no fue mayor al 10 % con excepción de algunos HAP en los niveles de calibración de menor concentración.

Tabla XXXV. Precisión de los F_{RR} en toda la regresión de las curvas de calibración instrumentales y de método.

HAP	% CV	
	Curva instrumental	Curva de método
Acenaftileno	7.40	11.50
Acenafteno	5.37	5.92
Fluoreno	4.49	5.93
Fenantreno	9.14	6.54
3,6-Dimetilfenantreno	12.93	16.97
Antraceno	4.40	7.74
2-Metilantraceno	23.32	6.33
1-Metilantraceno	4.47	2.94
9-Metilfenantreno	17.97	3.54
Fluoranteno	7.84	13.03
9,10-Dimetilantraceno	12.90	15.29
Pireno	7.35	18.72

I

6.2.5 Intervalo lineal de trabajo

Los intervalos lineales de trabajo fueron determinados con base en el límite superior e inferior de las curvas de calibración e incluyen únicamente aquellos niveles en que los coeficientes de variación de los factores de respuesta relativos no excedieron el 20%.

La tabla XXXVI muestra los intervalos lineales de trabajo de cada uno de los HAP analizados.

Tabla XXXVI Intervalos lineales de trabajo de las curvas instrumentales y de método

HAP	Curva instrumental			Curva de método		
	Límite inferior [ng]	Límite superior [ng]	Rango [ng]	Límite inferior [ng]	Límite superior [ng]	Rango [ng]
Acenaftileno	40	530	490	40	530	490
Acenafteno	40	523	483	40	523	483
Fluoreno	40	522	482	62	522	460
Fenantreno	40	531	491	63	531	468
3,6-Dimetilfenantreno	15	188	172	4	24	20
Antraceno	40	522	482	40	522	482
2-Metilantraceno	11	550	539	65	550	485
1-Metilantraceno	43	569	526	67	569	502
9-Metilfenantreno	11	528	517	40	528	488
Fluoranteno	2	24	22	2	24	22
9,10-Dimetilantraceno	2	23	21	2	23	21
Pireno	2	24	22	2	24	22

6.2.6 Eficiencia del método

La eficiencia del método se determinó con base en los porcentajes de recuperación de los distintos niveles de calibración para cada uno de los HAP analizados mediante el procedimiento descrito en la sección 5.4 y 5.5 (pág 29 y 30). A continuación se muestra un ejemplo para el cálculo del recobro a partir de los datos del estándar de referencia, el blanco de la muestra y los resultados del nivel 1 de calibración del método para el fluoreno (tabla XXXVII).

Tabla XXXVII. Parámetros para la determinación del porcentaje de recobro del fluoreno en el nivel 1 de calibración

Estándar de referencia correspondiente al nivel 1 de calibración del fluoreno						
	1ª inyección	2ª inyección	3ª inyección	Promedio		
Áreas relativas	3.17	3.26	3.19	3.21		
Áreas absolutas y relativas del fluoreno determinado en el blanco de la muestra						
	1ª Inyección, réplica A			2ª Inyección, réplica A		
Área absoluta (fluoreno)	815			989		
Área absoluta (fenantreno- d_{10})	60771			71247		
Área relativa	0.01			0.01		
Área relativa promedio				0.01		
Áreas absolutas y relativas del fluoreno en cada extracción del nivel 1 de calibración						
	1ª Inyección réplica A	2ª Inyección réplica A	1ª Inyección réplica B	2ª Inyección réplica B	1ª Inyección réplica C	2ª Inyección réplica C
Fluoreno	209457	204174	178401	188647	82927	196024
Fenantreno- d_{10}	77417	73430	65452	71864	29192	67228
Área relativa	2.70	2.78	2.73	2.63	2.84	2.92
	Réplica A		Réplica B		Réplica C	
Promedio de áreas relativas	2.74		2.68		2.88	

Así, el porcentaje de recuperación por réplica se obtuvo mediante la ecuación 31

$$\% R_{RÉPLICA A} = \left[\left(\frac{2.74 - 0.01}{3.21} \right) 100 \right] = 85.05$$

$$\% R_{RÉPLICA B} = \left[\left(\frac{2.68 - 0.01}{3.21} \right) 100 \right] = 83.18$$

$$\% R_{RÉPLICA C} = \left[\left(\frac{2.88 - 0.01}{3.21} \right) 100 \right] = 89.41$$

Los porcentajes de recuperación para cada uno de los HAP fueron superiores al 80 % en todos los niveles de concentración; sin embargo se observaron problemas de selectividad para 3,6-Dimetilfenantreno, 2-Metilantraceno y 9-Metilantraceno quienes presentaron valores mayores al 120 % que es el valor límite establecido en la norma TO-13 A de la EPA para HAP en el aerosol atmosférico.

Para aquellos HAP que no presentaron problemas de selectividad, se evaluó la dependencia del porcentaje de recuperación con respecto a la masa mediante una “t de Student”; los resultados se muestran en la tabla XXXVIII.

Tabla XXXVIII. Valores absolutos de t calculada y t de tablas para la evaluación de la dependencia del porcentaje de recuperación con respecto a la masa.

HAP	t _{tab}	t _{cal}
Acenaftileno	2.07	0.26
Acenafteno	2.07	3.06
Fluoreno	2.09	2.93
Fenantreno	2.07	1.10
Antraceno	2.06	1.67
1-Metilantraceno	2.07	0.43
Fluoranteno	2.07	1.49
9,10-Dimetilantraceno	2.06	4.00
Pireno	2.07	2.45

Aquellos HAP con t calculada menor a t tablas presentaron independencia del porcentaje de recuperación en función de la masa en el intervalo de trabajo establecido. Los resultados se presentan en la tabla XXXIX.

Tabla XXXIX. Porcentajes de recuperación promedio

HAP	Recuperación promedio [%]	DE	CV
Acenaftileno	87.6	10.0	11.4
Fenantreno	80.6	6.8	8.4
Antraceno	81.8	6.8	8.3
1-Metilantraceno	101.0	7.6	7.5
Fluoranteno	87.9	11.9	13.6

Para los HAP que presentaron porcentajes de recuperación dependientes de la masa adicionada se propuso un modelo de regresión lineal simple correlación evaluado mediante el análisis de varianza descrito en la sección 5.11.3.2 (pág 49).

Tabla XL. Resultados de ANOVA para la evaluación del porcentaje de recuperación con respecto a la masa.

HAP	F _{cal}	F _{tab}
Acenafteno	9.37	5.79
Fluoreno	8.61	5.92
9,10-Dimetilantraceno	15.97	5.69
Pireno	6.02	5.79

En todos los casos el valor de F_{cal} fue superior al de F_{tab} (Tabla XL) validando que los porcentajes de recuperación fueron función lineal de la masa adicionada en las espumas de poliuretano. (Tabla XLI)

Tabla XLI. Porcentaje de recuperación para los HAP dependientes de la masa

HAP	Recuperación [%]
Acenafteno	$\% R = 0.022[ng] + 72.484$
Fluoreno	$\% R = 0.026[ng] + 72.512$
9,10-Dimetilantraceno	$\% R = -0.970[ng] + 111.750$
Pireno	$\% R = -0.822[ng] + 95.967$

6.2.7 Límites de detección y de cuantificación

Con base en los resultados de $S_{(y/x)w}$, b_w y a_w se determinaron los límites de detección (Ecuación 21) y de cuantificación (Ecuación 22) de cada uno de los HAP en las curvas instrumentales y del método. Como ejemplo se muestra el cálculo de estos parámetros para el fenantreno en la curva de calibración instrumental.

$$LD_w = \frac{\{[E.I][a_w + 3S_{(y/x)}] - a_w\}}{b_w} = \frac{\{[0.128][(-0.014 + 3 * 0.008) - (-0.014)]\}}{1.083} = 0.0029 \text{ ng } \mu\text{L}^{-1}$$

$$LC_w = \frac{\{[E.I][a_w + 10S_{(y/x)}] - a_w\}}{b_w} = \frac{\{[0.128][(-0.014 + 10 * 0.008) - (-0.014)]\}}{1.083} = 0.0097 \text{ ng } \mu\text{L}^{-1}$$

Sin embargo los límites de detección y de cuantificación de las curvas de método se expresaron en términos de ng de HAP por cm^3 de espuma extraída, éstos se corrigieron considerando el volumen de aforo del extracto obtenido, estableciéndose la masa total requerida en un décimo de EPU (cm^3) para identificar y cuantificar a cada HAP. En todos los casos el volumen de la espuma extraída fue 3.44 cm^3 y el de aforo del extracto de 1mL.

Un ejemplo del cálculo se presenta para el fenantreno; los valores de los límites de detección (Ecuación 21) y cuantificación (Ecuación 22) fueron: 0.0108 y 0.0360 $\text{ng } \mu\text{L}^{-1}$ respectivamente.

La corrección por volumen de aforo fue:

$$L.D = 0.0108 \frac{\text{ng}}{\mu\text{L}} * 1000 \mu\text{L} = 10.8 \text{ ng}$$

$$L.C = 0.0360 \frac{\text{ng}}{\mu\text{L}} * 1000 \mu\text{L} = 36.0 \text{ ng}$$

Finalmente al realizar la corrección por volumen de EPU analizada se obtuvo:

$$L.D = \frac{10.8 \text{ ng}}{3.44 \text{ cm}^3} = 3.1 \text{ ng cm}^{-3}$$

$$L.C = \frac{36.0 \text{ ng}}{3.44 \text{ cm}^3} = 10.5 \text{ ng cm}^{-3}$$

Los valores de los límites de cuantificación y de detección obtenidos en las curvas de método e instrumentales para los HAP se muestran en la tabla XLII; se excluyeron aquellos que presentaron problemas de selectividad.

TABLA XLII Límites de detección (L.D) y de cuantificación (L.C) ponderados de cada HAP

HAP	E.I [ng μ L ⁻¹]	L.D	L.C	L.D	L.C
		instrumental [ng μ L ⁻¹]	instrumental [ng μ L ⁻¹]	método [ngcm ⁻³]	método [ngcm ⁻³]
Acenaftileno	0.129	0.0153	0.0509	6.25	20.81
Acenafteno	0.129	0.0152	0.0507	1.80	5.99
Fluoreno	0.128	0.0164	0.0548	4.54	15.12
Fenantreno	0.128	0.0029	0.0097	3.14	10.47
Antraceno	0.131	0.0122	0.0405	2.21	7.36
1-Metilantraceno	0.131	0.0131	0.0437	1.16	3.84
Fluoranteno	0.013	0.0017	0.0058	0.84	2.76
9,10-Dimetilantraceno	0.013	0.0024	0.0080	0.20	0.73
Pireno	0.013	0.0017	0.0055	0.49	1.69

6.3 Análisis de la fase gaseosa emitida de la combustión de Diesel y B10

Se analizaron dos trenes de muestreo en fase gaseosa, uno asociado con la combustión de diesel y el otro en una mezcla de éste con 10 % de biodiesel de origen animal, obtenidos bajo similares regímenes de operación del motor (Valle *et al* 2013). El tratamiento de cada muestra se llevó a cabo con base en lo descrito en las secciones 5.4 (pág 44) y 5.9 (pág 45) y la cuantificación de los HAP se determinó empleando las curvas de calibración del método.

El análisis de los extractos orgánicos se llevó a cabo por duplicado mediante CG-EM, empleando 1 μ L de la muestra en cada caso. La tabla XLIII muestra como ejemplo el cálculo de la masa de fenantreno en un segmento de EPU.

Tabla XLIII. Determinación de masa de fenantreno en el segmento 1 de la EPU-F del tren de diesel

$C_r = \left(\frac{\bar{A}_r - a_w}{b_w} \right) (C_{EI})(V)((V_{EPU})^{-1})$	Ecuación 32
<p>Donde:</p> <p>C_r: Concentración relativa, A_r: Área relativa promedio de las réplicas, a_w: Ordenada al origen de la recta de regresión ponderada del método b_w: Pendiente de la recta de regresión ponderada del método, C_{EI}: Concentración del estándar interno, ng μL⁻¹ V: Volumen de aforo del extracto, 1000 μL en todos los casos y V_{EPU}: Volumen de EPU extraído = 3.44 cm³ en todos casos</p>	
<p>Cálculo para fenantreno:</p> $C_r = \left(\frac{11.513 - 0.037}{0.829} \right) (0.128)(1000)(3.44)^{-1} = 427 \text{ ng cm}^{-3}$	

Del mismo modo que en el ejemplo anterior se determinaron los ng de HAP presentes por centímetro cúbico de espuma extraída para los compuestos restantes.

Una vez determinados los ng cm⁻³ de HAP en los cinco segmentos analizados, se procedió a realizar un gráfico de dispersión por cada EPU analizada tal y como se muestra en la figura18.

Cabe señalar que hubo fragmentos de EPU en los que los HAP únicamente se detectaron pero no se cuantificaron por ser inferiores a los valores del LC de las curvas de calibración del método.

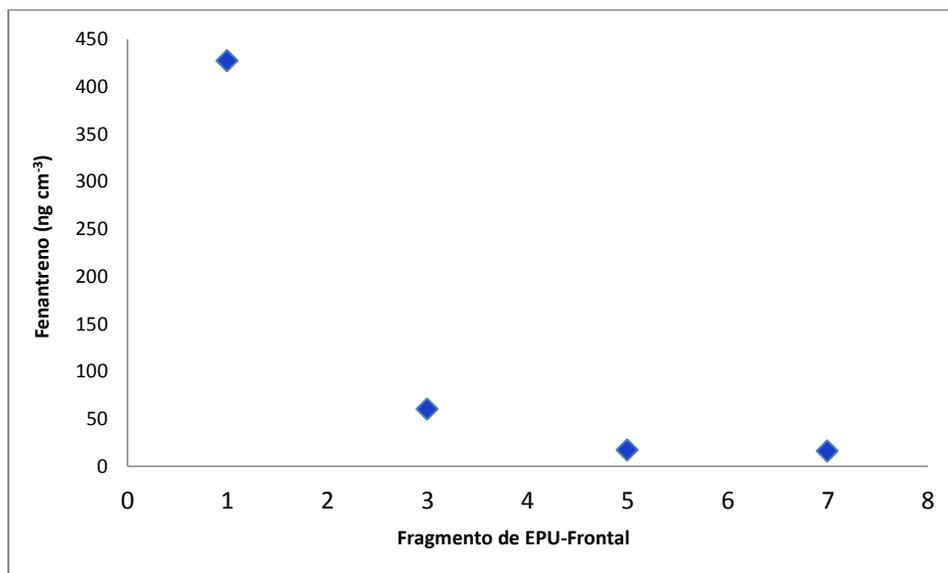


Figura18 Masa de fenantreno [ng*cm⁻³] en los segmentos de la EPU frontal del tren de Diesel.

Con los gráficos de dispersión se ajustaron distintos modelos de correlación a fin de obtener aquel que mejor describiese la distribución de la masa a través de las espumas. El coeficiente de determinación de cada modelo fue el parámetro utilizado como criterio de selección.

La tabla XLIV presenta las ecuaciones de los modelos seleccionados para cada HAP contenido en cada una de las espumas del tren de colecta de la emisión de Diesel; así como los valores de los coeficientes de determinación. Los resultados para la mezcla B10 se resumen en la tabla XLV.

Tabla XLIV. Modelos matemáticos de la distribución de HAP en cada EPU analizada en el tren de muestreo de Diesel

HAP		Ecuación de distribución (Diesel)	n	r ²	L.D ng cm ⁻³	L.C ng cm ⁻³
Acenaftileno	EPU frontal	$y = -0.62x^3 + 11.23x^2 - 61.88x + 187.75$	5	0.87	6.25	20.81
	EPU medio	$y = -1.08x^3 + 16.14x^2 - 82.29x + 190.12$	4	1.00		
	EPU posterior	Segmentos (1, 3, 5, 7 y 9) <L.C				
Acenafteno	EPU frontal	$y = -1.06x^3 + 14.22x^2 - 58.04x + 120.86$	4	1.00	1.80	5.99
	EPU medio	$y = -0.62x^3 + 9.26x^2 - 46.87x + 108.62$	4	1.00		
	EPU posterior	Segmentos (1, 3, 5, 7 y 9) <L.C				
Fluoreno	EPU frontal	$y = 1.86x^2 - 16.67x + 55.78$ Segmentos (7 y 9) <L.C	3	1	4.54	15.12
	EPU medio	Segmentos (3, 5, 7 y 9) <L.C; Segmento 1 = 15.5 ng cm ⁻³				
	EPU posterior	Segmentos (1, 3, 5, 7 y 9) <L.C				
Fenantreno	EPU frontal	$y = -5.90x^3 + 93.62x^2 - 481.23x + 820.28$; Segmentos 9 <L.C	4	1.00	3.14	10.47
	EPU medio	Segmentos (3, 5, 7, 9) <L.C; Segmento 1 = 12.1 ng cm ⁻³				
	EPU posterior	Segmentos (1, 3, 5, 7, 9) <L.C				
Antraceno	EPU frontal	$y = -36.15x + 123.23$; (Segmentos 5, 7 y 9 <L.C)	2	1.00	2.21	7.36
	EPU medio	Segmentos (3, 5, 7, 9) <L.C; Segmento 1 = 5.2 ng cm ⁻³				
	EPU posterior	Segmentos (1, 3, 5, 7 y 9) <L.C				
1-Metilantraceno	EPU frontal	L.C < Segmentos (1, 3, 5, 7, 9)			1.16	3.84
	EPU medio	Segmentos (3, 5, 7, 9) <L.C; Segmento 1 = 2.2 ng cm ⁻³				
	EPU posterior	Segmentos (1, 3, 5, 7 y 9) <L.C				
Fluoranteno	EPU frontal	$y = -42.07x + 132.57$; (Segmentos 5, 7 y 9 <L.C)	2	1	0.84	2.76
	EPU medio	Segmentos (1, 3, 5, 7 y 9) <L.C				
	EPU posterior	Segmentos (1, 3, 5, 7 y 9) <L.C				
Pireno	EPU frontal	$y = -11.88x^3 + 185.67x^2 - 925.3x + 1477$; Segmentos 9 <L.C	4	1.00	0.49	1.69
	EPU medio	Segmentos (3, 5, 7 y 9) <L.C; Segmento 1 = 0.9 ng cm ⁻³				
	EPU posterior	Segmentos (1, 3, 5, 7 y 9) <L.C				

Tabla XLV. Modelos matemáticos de la distribución de HAP en cada EPU analizada en el tren de muestreo B-10

HAP		Ecuación de distribución (B10)	n	r ²	L.D ng cm ⁻³	L.C ng cm ⁻³
Acenaftileno	EPU frontal	$y=5.15x^2-44.94x+165$; Segmentos (7 y 9) <L.C	3	1.00	6.25	20.81
	EPU medio	$y=-0.09x^3+5.40x^2-64.88x+288$	5	0.96		
	EPU posterior	Segmentos (1, 7 y 9)=27, 10 y 9 ng cm ⁻³ Sgts 3 y 5 <L.C				
Acenafteno	EPU frontal	$y=2.10x^2-18.02x+57.66$	3	1.00	1.80	5.99
	EPU medio	$y=-0.42x^3+7.70x^2-46.01x+133.40$; Segmentos (7 y 9,) <L.C	5	0.99		
	EPU posterior	Segmentos (3, 5, 7 y 9) <L.C; Segmento 1=12.4 ng cm ⁻³				
Fluoreno	EPU frontal	$y=-4.64x+30.30$ (Segmentos 5, 7 y 9<L.C)	2	1.00	4.54	15.12
	EPU medio	Segmentos (3, 5, 7 y 9) <L.C Segmento 1=:35.5 ng cm ⁻³	2	1.00		
	EPU posterior	Segmentos (1, 3, 5, 7, 9) <L.C				
Fenantreno	EPU frontal	$y=-129.66+443.27$; (Segmentos 5, 7 y 9<L.C)	2	1.00	3.14	10.47
	EPU medio	Segmentos (3,5,7,9) <L.C; Segmento 1=31.5 ng cm ⁻³				
	EPU posterior	Segmentos (1, 3, 5, 7 y 9) <L.C				
Antraceno	EPU frontal	$y=-26.46x+93.36$; (Segmentos 5, 7 y 9<L.C)	2	1.00	2.21	7.36
	EPU medio	Segmentos (3,5,7,9) <L.C; Segmento 1= 9.3 ng cm ⁻³				
	EPU posterior	Segmentos (1, 3, 5, 7 y 9) <L.C				
1-Metilantraceno	EPU frontal	Segmentos (1, 3, 5, 7 y 9) <LC			1.16	3.84
	EPU medio	Segmentos (1, 3, 5, 7 y 9) <L.C				
	EPU posterior	Segmentos (3, 5, 7 y 9) <L.C; Segmento 1=17.3 ng cm ⁻³				
Fluoranteno	EPU frontal	Segmentos (3, 5, 7 y 9) <L.C; Segmentos 1=79.4 ng cm ⁻³			0.84	2.76
	EPU medio	Segmentos (1, 3, 5, 7 y 9) <L.C				
	EPU posterior	Segmentos (1, 3, 5, 7 y 9) <L.C				
Pireno	EPU frontal	$y=-94.49+287.73$; (Segmentos 5, 7 y 9<L.C)	2	1.00	0.49	1.69
	EPU medio	Segmentos (3, 5, 7 y 9) <L.D; Segmento 1=2.3 ng cm ⁻³				
	EPU posterior	<L.C				

Con base en los modelos de regresión que describen el comportamiento de la concentración de los HAP a través de las EPU, se determinó la masa de los segmentos no analizados para estimar el valor de la masa total de cada HAP contenidos en ellas. La tabla XLVI presenta los valores de masa determinados para el fenantreno a partir de la extracción de los segmentos 1, 3, 5, 7 y 9; así como aquellos calculados con el modelo matemático (segmentos 2, 4 y 6) descrito en la tabla XLIV para la espuma frontal del tren de colecta de emisión del diesel. Los fragmentos 8 y 10 no se determinaron ya que el modelo incluyo únicamente los datos obtenidos hasta el fragmento 7 ya que la masa en el fragmento nueve fue menor al LC.

Tabla XLVI. Estimación de la masa total (ng) de fenantreno por cm^{-3} de EPU extraída

HAP	Segmento de EPU frontal									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Fenantreno [ng*cm ⁻³]	427	185	60	16	17	29	16	n.d	< L.C	n.d
Masa total de Fenantreno en EPU frontal [ng*cm ⁻³]										750

Similarmente se determinó la masa total del resto de los HAP en las espumas de los trenes de muestreo. De este modo fue posible hacer un análisis de la distribución de los HAP a través del tren de muestreo. La figura 19 muestra la masa estimada de cada uno de los analitos en las distintas espumas del tren de muestreo a Diesel, su distribución en términos de porcentaje se ilustra en la figura 20; mientras que la masa total de cada HAP estimada en el tren se presenta en la figura 21.

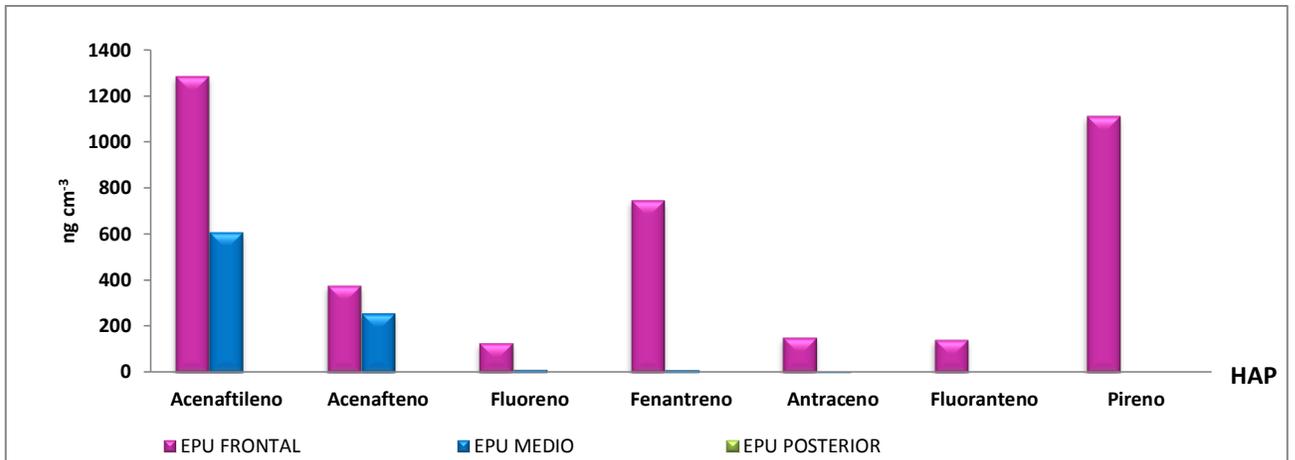


Figura 19 Distribución de los HAP [ng cm⁻³] en las espumas del tren de muestreo de diesel

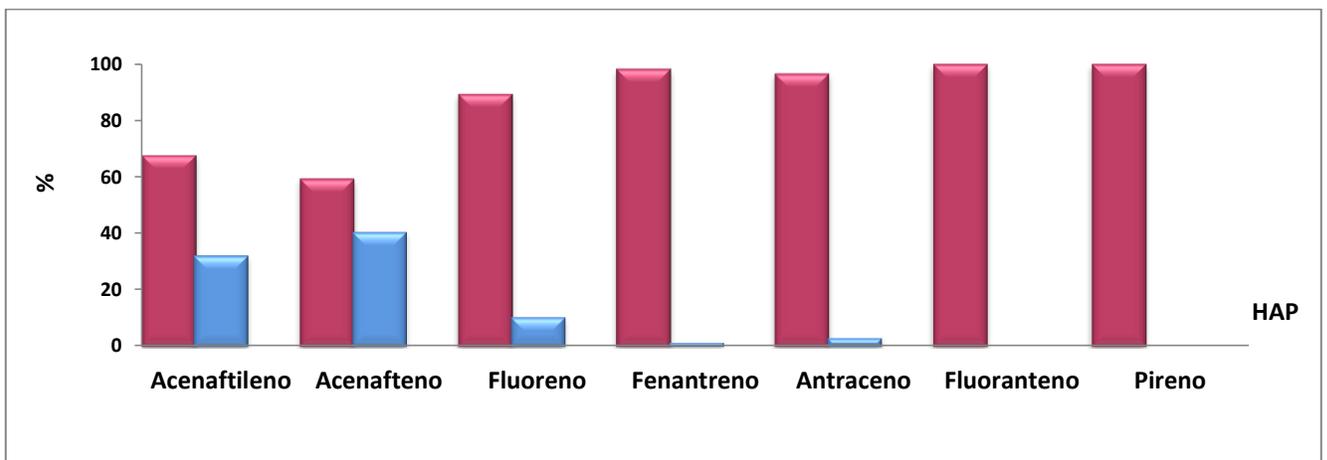


Figura 20 Porcentajes de distribución de HAP en el tren de muestreo de diesel

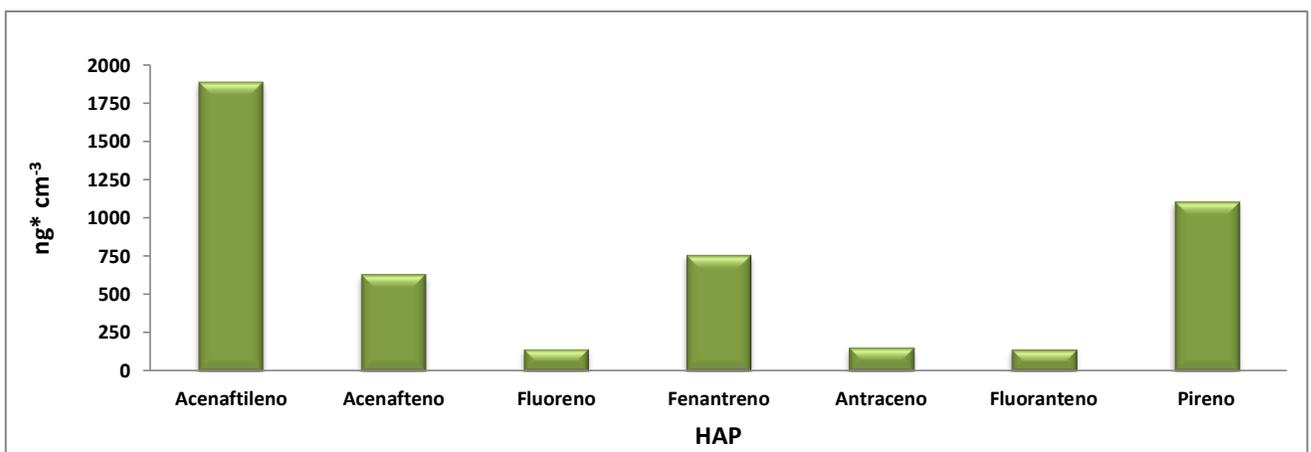


Figura 21 Masa total de HAP [ng cm⁻³] en el tren de muestreo de diesel

Los resultados para la mezcla B10 se muestran en las figuras 22, 23 y 24.

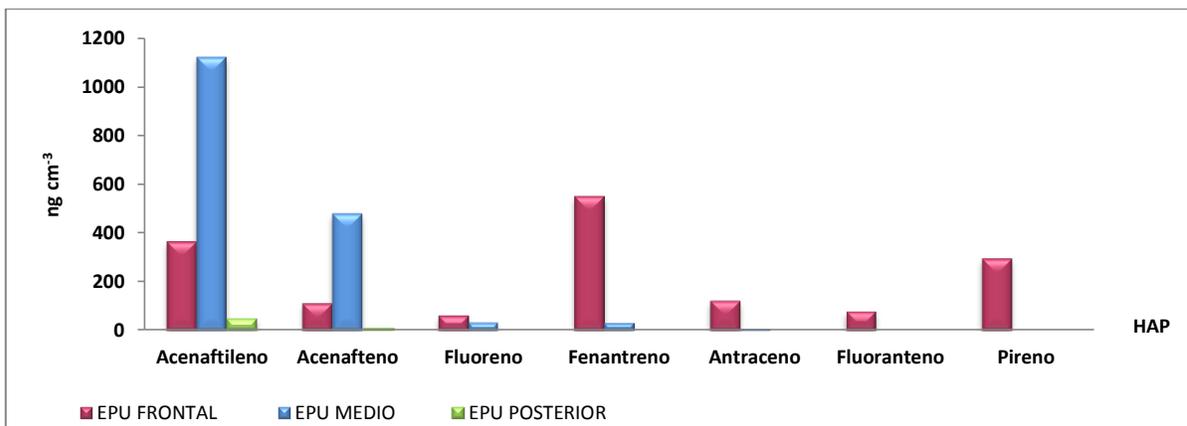


Figura 22 Estimación de HAP [ng cm⁻³] en las espumas del tren de muestreo de B10

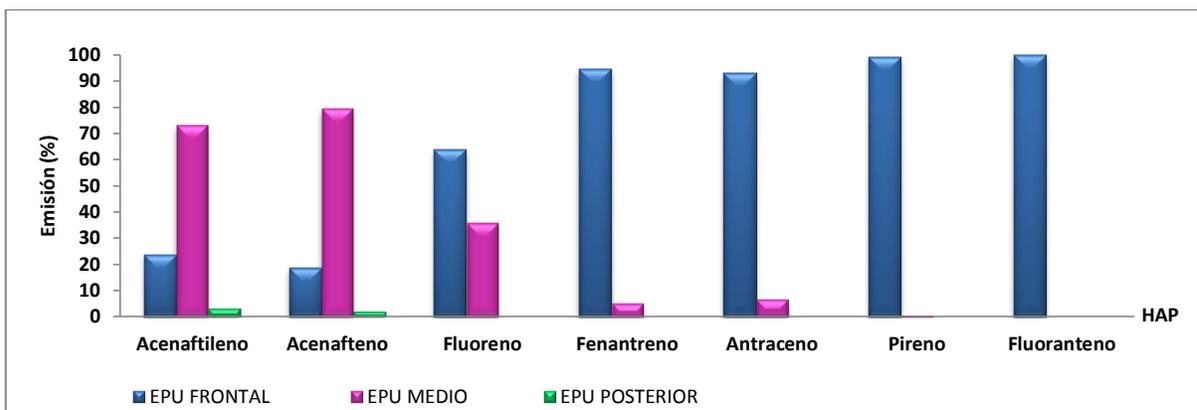


Figura 23 Porcentajes de distribución en el tren de muestreo de B10

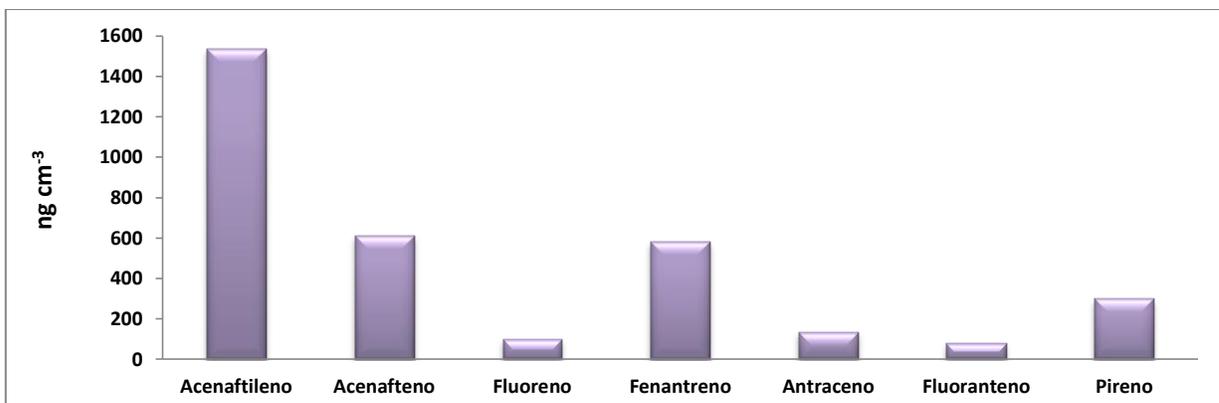


Figura 24 Masa total de HAP [ng cm⁻³] en el tren de muestreo de B10

La comparación de la cantidad de HAP presente en las emisiones de diesel y B10 bajo regímenes similares de operación del motor presentadas en las figura 25 muestra una disminución en la concentración total estimada de los HAP al combinar el diesel con un 10 % de biodiesel. El porcentaje de reducción de cada HAP obtenido al emplear el combustible alternativo se muestra en la figura 26.

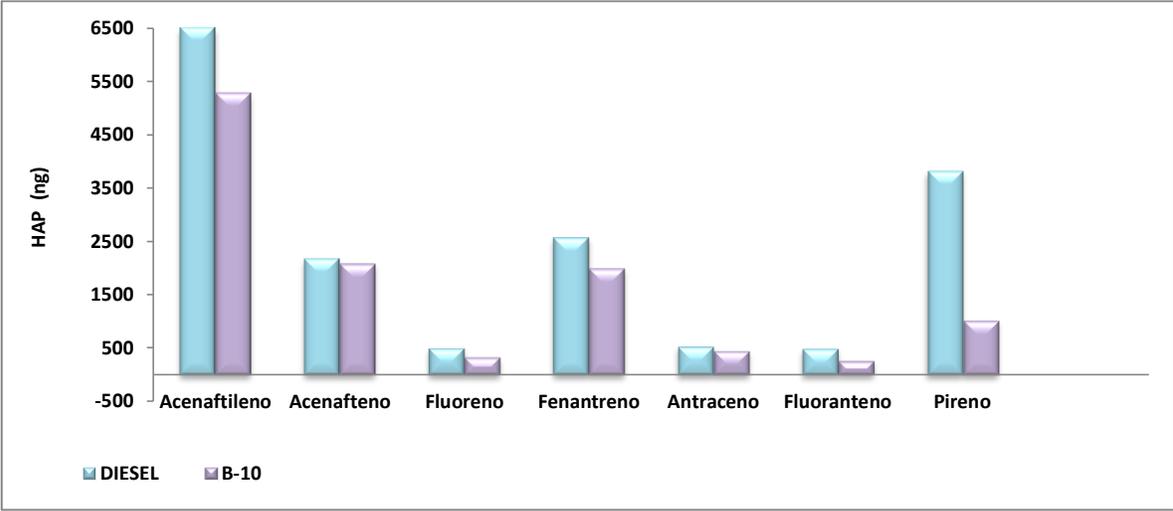


Figura 25 Comparación de las emisiones de HAP obtenidas del tren de diesel y el tren de B10

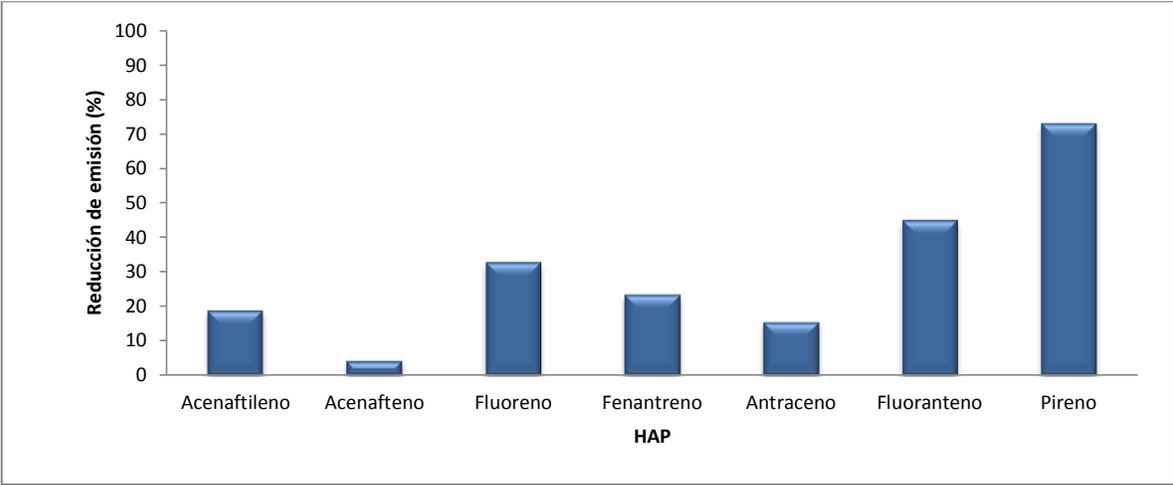


Figura 26 Porcentaje de reducción de HAP obtenido al emplear B10

7.0 Conclusiones

Se llevó a cabo la evaluación de distintas metodologías analíticas para la extracción de hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAP) en la fase gaseosa emitida de la combustión de diesel y la mezcla de éste con biodiesel en una proporción 90:10. La técnica en celdas de extracción a micro escala asistida por ultrasonido acoplada a un sistema de filtración (CEMAUF), con un periodo de extracción de 10 min a 60 °C empleando cloruro de metileno como extractante ofreció resultados óptimos en términos de porcentajes de recuperación y selectividad por lo cual fue elegida como la técnica de extracción en este estudio.

La precisión de los factores de respuesta relativos (F_{RR}) por cada nivel en la curva de calibración del método oscilaron entre 0.5 % (9,10-dimetilantraceno, nivel 6) y 13.0% (acenaftileno, nivel 8 de calibración); mientras que los valores en todo el intervalo de calibración se encontraron entre 2.9 % (1-metilantraceno) y 18.7 % (pireno).

Los intervalos lineales de trabajo se delimitaron conservando únicamente aquellos niveles de calibración cuyo coeficiente de variación de los F_{RR} fue menor al 20 %. Se observó heteroscedasticidad en las varianzas entre los distintos niveles de calibración por lo que se empleó un modelo de regresión lineal ponderada cuyos parámetros (pendiente, ordenada al origen y desviación) fueron determinados.

La evaluación de la linealidad de las curvas de método a través del coeficiente de determinación r^2 y ANOVA indicaron que las concentraciones de los distintos HAP y la respuesta (área) asociada a éstas se ajustaron de manera adecuada a un modelo de regresión lineal. Los valores de r^2 en las curvas de método oscilaron entre 0.85 (pireno) y 0.99 (acenaftileno).

Los límites de detección de las curvas de calibración instrumentales oscilaron entre 1.7 $\text{pg } \mu\text{L}^{-1}$ (pireno) y 16.4 $\text{pg } \mu\text{L}^{-1}$ (fluoreno); mientras que los de cuantificación estuvieron entre 5.5 $\text{pg } \mu\text{L}^{-1}$ (pireno) y 54.8 $\text{ng } \mu\text{L}^{-1}$ (fluoreno). En el caso de las curvas de método, los límites de detección fueron de 0.2 ng cm^{-3} (9,10 dimetilantraceno) a 6.3 ng cm^{-3} (acenaftileno); mientras que los de cuantificación oscilaron entre 0.7 ng cm^{-3} (9,10 dimetilantraceno) y 20.8 ng cm^{-3} (acenaftileno).

Respecto a la eficiencia del método, algunos de los HAP analizados presentaron un porcentaje de recuperación dependiente de la masa; esta relación fue descrita a través de modelos de regresión lineal. En los casos en que el porcentaje de recuperación no

fue dependiente de la masa, se consideraron los valores promedio, calculados entre 80.6 ± 8.4 % (fenantreno) y 101.0 ± 7.5 % (1-metilantraceno) que se encuentran dentro del intervalo establecido por la EPA-TO13A para que un método sea capaz de determinar HAPs en el aerosol atmosférico.

Las emisiones de la combustión de diesel y de biodiesel (B10) se colectaron en dos trenes de muestreo compuestos cada uno por tres espumas de poliuretano. Los experimentos se llevaron a cabo bajo similares regímenes de operación del motor

Cada espuma se dividió en 10 segmentos de los cuales se extrajeron únicamente 5. De acuerdo con los resultados, en algunos de los segmentos analizados únicamente se pudo llevar a cabo la identificación de los HAP ya que las masas fueron menores al límite de cuantificación; en el caso contrario, los valores de masa de cada segmento se emplearon para establecer modelos de regresión para cada analito en cada una de las EPU. En la mayoría de los casos, los modelos de regresión polinomial de orden tres presentaron coeficientes de determinación (r^2) próximos a 1, con ellos se realizó una estimación de la masa total de HAP por espuma y por tren de muestreo.

La comparación de la masa total estimada por espuma en el tren de muestreo de diesel mostró que los HAP se retienen entre 63 y 100 % en la primer espuma; ésta tendencia también se encontró en el tren de biodiesel, exceptuando al acenaftileno y acenafteno.

La cantidad total de HAP en el tren de diesel osciló entre 145 ng cm^{-3} (Fluoranteno) y 1371 ng cm^{-3} (Acenaftileno); mientras que para B10 los valores fueron 17 ng cm^{-3} (1-Metilantraceno) y 1457 ng cm^{-3} (Acenaftileno). Respecto al fenantreno que es un marcador de las emisiones de diesel el valor obtenido en el tren de diesel fue de 762 ng cm^{-3} ; mientras que en B10 obtuvo un valor de 583 ng cm^{-3} .

El uso de la mezcla de Diesel con Biodiesel en una proporción (90:10) disminuyó la masa total de la mayoría de los HAP emitidos bajo similares regímenes de operación del motor; los porcentajes de reducción oscilaron entre 15 y 100 %, en el caso del fenantreno la emisión se redujo en 23 %.

7.1 Recomendaciones

Extraer una mayor cantidad de muestra a fin de hacer posible la cuantificación de los HAP que en este estudio únicamente pudieron ser identificados; además de extraer en estudios futuros los segmentos de EPU no analizados para verificar los modelos propuestos.

Realizar un estudio con un mayor número de muestras, para tener un esquema de comparación en las emisiones más completo. Los valores de los coeficientes de variación obtenidos a través de todo el intervalo pueden ser empleados como criterios de aceptación de análisis posteriores.

Considerar a la CGxCG o a la cromatografía preparativa como métodos para incrementar la selectividad de los HAP que presentaron interferentes provenientes de la matriz.

Referencias

AOAC. (2002). Guidelines for Single Laboratory Validation of Chemicals Methods of Dietary Supplements and Botanicals. Disponible en [www.AOAC.ORG/AOAC e-CAM.pdf](http://www.AOAC.ORG/AOAC_e-CAM.pdf).

Amador M. y Marriott P. (2008). Quantification in comprehensive two dimensional gas chromatography and a model of quantification based on selected summed modeled peaks. *Journal of Chromatography A* 1184, 323-340.

Amador M., Santos M., Jazcilevich D. y Valle.H. (2012a). Patente en trámite de "Celda de extracción a microescala asistida por ultrasonido, con y sin reflujo, acoplada a un sistema de filtración". Número de expediente Mx/a/2012/000790.

Amador M., Vázquez S., Jazcilevich D., Santos M. y Valle.H.B.L. (2012b). Patente en trámite de "Dispositivo integrado por múltiples deflexiones para la recuperación de compuestos orgánicos debido a la evaporación de disolventes orgánicos por arrastre de vapor". Número de expediente Mx/a/2012/000791.

Arey J. (1998). Atmospheric reactions of PAHs including formation of nitroarenes. Neilson AH, editor. The handbook of environmental chemistry, PAHs and related compounds, Vol.3 (Part I). Berlin/Heidelberg, Germany: Springer, 347-385.

Arey J., Zielinska B., Atkinson R. y Aschmann S. (1989). Nitroarene products from the gas-phase reactions of volatile polycyclic aromatic hydrocarbons with OH radical and N₂O₅. *International Journal Chemical Kinetics* 21, 775-799.

Arey J., Zielinska B., Atkinson R., Winer A., Ramdahl T. y Pitts Jr. J. (1986). The formation of nitro-PAH from the gas-phase reactions of fluoranthene and pyrene with the OH radical in the presence of NO_x. *Atmospheric Environment* 20, 2339-2345.

Arriaga C., Jason W., Sosa G., Escalona S., Ordúñez R. y Cervantes A. (2004). Measurements of VOCs in Mexico City (1992-2001) and evaluation of VOCs and CO in the emissions inventory. *Atmospheric Environment* 38, 2523-2533.

Atkinson R. (1990). Gas phase tropospheric chemistry of organic compounds: a review. *Atmospheric Environment* 24 A, 1-41.

Atkinson R. y Arey J. (1994). Atmospheric chemistry of gas-phase polycyclic aromatic hydrocarbons: formation of atmospheric mutagens. *Environmental Health Perspectives* 102 (S4), 117-126.

ATSDR. (Agency for Toxic Substances and Disease Registry). (1994). Toxicological profile for aromatic hydrocarbons (PAH). *Department of Health and Human Services, Public Health Services*.

Bagley S., Gratz L., Johnson J. y Mc Donald J. (1998). Effects of an oxidation catalytic converter and a biodiesel fuel on the chemical, mutagenic and particle size characteristics of emissions from a diesel engine. *Environmental Science Technology* 32, 1183-1191.

Barro R., Regueiro J., Llompart M. y Garcia C. (2009). Analysis of industrial contaminants in indoor air: Part 1. Volatile organic compounds, carbonyl compounds, polycyclic aromatic hydrocarbons and polychlorinated biphenyls. *Journal of Chromatography A* 1216, 540-566.

Behymer T. y Hites R. (1985) Photolysis of polycyclic aromatic hydrocarbons adsorbed on simulated atmospheric particulates. *Environment Science Technology* 19: 1004-1006.

Behymer T. y Hites R. (1988) Photolysis of polycyclic aromatic hydrocarbons adsorbed on fly ash. *Environment Science Technology* 22: 1311-1319.

Cahill T., Morales R. y Miranda J. (1996). Comparative aerosol studies of Pacific Rim cities: Santiago, Chile 1987; Mexico City, Mexico (1987-1990) and Los Angeles, USA (1973 and 1987). *Atmospheric Environment* 30, 747-749.

Carraretto C., Macor A., Mirandola A., Stoppato A. y Tonon S. (2004). Biodiesel as alternative fuel: experimental analysis and energetic evaluations. *Energy* 29, 2195-2211.

Correa S. y Arbilla G. (2006). Aromatic hydrocarbons emissions in diesel and biodiesel exhaust. *Atmospheric Environment* 40, 6821-6826.

Dermibas A (2009). Progress and recent trends in biodiesel fuels. *Energy Conversion and Management* 50, 14-34.

Dimashki M., Harrad S. y Harrison R. (2000). Measurements of nitro-PAH in the atmospheres of two cities. *Atmospheric Environment* 34, 2459-2469.

Dincer I. (2000). Renew Energy and sustainable development: A crucial review *Renewable & Sustainable Energy Reviews*: 4, 157-175.

EPA(United States Environmental Protection Agency).(2006). National Ambient Air Quality Standards (NAAQS). *Particle Pollution*. Disponible en www.epa.gov/airquality.

EPA TO-13 A. (1999). Compendium of Methods for Determination of Toxic Organic Compounds in Ambient Air. 2nd. Ed. Compendium Method TO-13^a, determination of polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs) in Ambient Air Using Gas Chromatography / Mass Spectrometry (GC/MS).

FAO. (Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación). (2005). Desarrollo de un sistema integral de aseguramiento de la calidad para laboratorios de análisis de alimentos en América del Sur. Proyecto TCP/PRLA/3013(A). Colombia. 19.

Finlayson P. y Pitts Jr. J. (1986). Atmospheric Chemistry: fundamentals and experimental techniques. John Wiley and Sons, New York. p. 889-894.

Harris D. (2007). Análisis químico cuantitativo. Editorial Reverté, tercera edición, España. pp 578-598.

Hernández y Pérez. (2002). Introducción al análisis instrumental 1^a ed. Ed. Ariel, Barcelona. pp: 24-31.

IARC. (International Agency For Research on cancer). (2010). Some non-heterocyclic polycyclic aromatic hydrocarbons and some related exposures. IARC Monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans 32, 774-807. Disponible en <http://monographs.iarc.fr/ENG/Monographs/vol92/mono92.pdf>.

INE. (2003). Programa para mejorar la calidad del aire de ZMVM 2002-2010, Instituto Nacional de Ecología. Disponible www.ine.gob.mx.

INE. (Instituto Nacional de Ecología). (2003). *Programa para mejorar la calidad del aire de ZMVM 2002-2010*. Disponible en www.ine.gob.mx.

INE. (Instituto Nacional de Ecología). Contaminantes Criterio Disponible en <http://www.ine.gob.mx/calair-informacion-basica/523-calair-cont-criterio#3>.

IPCC (Intergovernmental Panel on Climate Change). (2006). Guidelines for National Greenhouse Gas Inventories. Volume 2.

ICH. (International Conference on Harmonisation). (1996). Text on validation of analytical procedures: Methodology. U.S. Department of Health and Human Services Food and Drug Administration. Disponible en <http://fda.gov/cder/guidance/ich2a.pdf>.

ISO. (International Standar Organization). (1999). Requisitos generales relativos a la competencia de los laboratorios de ensayo y calibración. ISO/IEC Guide 25. Disponible en <http://www.quimica.urv.es/quimico>.

Jonsson S., Gustavsson L. y Van Bavel B. (2007). Analysis of nitroaromatic compounds in complex samples using solid-phase microextraction and isotope dilution quantification gas chromatography–electron-capture negative ionisation mass spectrometry. *Journal of Chromatography A* 1164, 65–73.

Kallio M., Jussila A., Rissanen T., Anttila P., Hartonen K., Reissell A., Vrelus R., Adahchour M. y Hyotylainen T. (2006). Comprehensive two-dimensional gas chromatography coupled to time-of-flight mass spectrometry in the identification of organic compounds in atmospheric aerosols from coniferous forest. *Journal of chromatography A* 1125, 234-243.

Kamil K y Ahmet S. (2003). Renewable energy potential and utilization in Turkey. *Energy Conversion and Management* 44, 459–478.

Karavalakis G., Fontaras G., Ampatzoglou D., Kousoulidou M., Stournas S., Samaras Z. y Bakeas E. (2010). Effect of low concentration biodiesel blends application on modern passenger cars. Part 3: Impact on PAH, nitro-PAH, and oxy-PAH emissions. *Environmental Pollution* 158, 1584–1594.

Karavalakis G., Stournas S. y Bakeas E. (2009a). Effects of diesel/biodiesel blends on regulated and unregulated pollutants from a passenger vehicle operated over the European and the Athens driving cycles. *Atmospheric Environment* 43, 1745-1752.

Karavalakis G., Stournas S. y Bakeas E. (2009a). Effects of diesel/biodiesel blends on regulated and unregulated pollutants from a passenger vehicle operated over the European and the Athens driving cycles. *Atmospheric Environment* 43, 1745-1752.

Kroll J. y Seinfeld J. (2008). Chemistry of secondary organic aerosol: Formation and evolution of low-volatility organics in the atmosphere. *Atmospheric Environment* 42, 3593–3624.

Leiva M. y Rodriguez N. El diesel. Disponible en www.ref.pemex.com/octanaje/24Diesel.html.

Machado C. y Arbilla G. (2006). Aromatic hydrocarbons emissions in diesel and biodiesel exhaust. *Atmospheric Environment* 40, 6821–6826.

McNair H. y Miller J.M. (1997). Basic gas chromatography. Wiley-Interscience Publication JOHN WILEY & SONS INC., United States of American.

Miller J. y Miller J. (2002). Estadística y quimiometría para química analítica. Pearson, España. 111-143.

NADF-011-AMBT-2007. Norma ambiental para el distrito federal, que establece los límites máximos permisibles de emisiones de compuestos orgánicos volátiles en fuentes fijas de jurisdicción del distrito federal que utilizan solventes orgánicos o productos que los contienen.

NOM-086-ECOL-1994. Norma Oficial Mexicana. Contaminación atmosférica-especificaciones sobre protección ambiental que deben reunir los combustibles fósiles, líquidos y gaseosos que se usan en fuentes fijas y móviles.

NMX-CH-152-IMNC-2005. Norma mexicana. Metrología en química-vocabulario.

NOM-020-SSA1-1993. Norma oficial mexicana. Salud ambiental. Criterio para evaluar la calidad del aire, con respecto al ozono (O_3). Valor normado para la concentración de ozono en el aire ambiente, como medida de protección a la salud de la población.

NOM—025-SSA1-1993. Norma oficial mexicana. Salud ambiental. Criterios para evaluar el valor límite permisible para la concentración de material particulado. Valor límite permisible para la concentración de partículas suspendidas totales PST, partículas menores de 10 micrómetros PM_{10} y partículas menores de 2.5 micrómetros $PM_{2.5}$ de la calidad del aire ambiente. Criterios para evaluar la calidad del aire.

NOM-022-SSA1-1993. Norma oficial mexicana. Salud ambiental. Criterio para evaluar la calidad del aire ambiente, con respecto al bióxido de azufre (SO_2). Valor normado para la concentración de bióxido de azufre (SO_2) en el aire ambiente, como medida de protección a la salud de la población.

NOM-023-SSA1-1993. Norma oficial mexicana. Salud ambiental. Criterio para evaluar la calidad del aire ambiente, con respecto al bióxido de nitrógeno (NO_2). Valor normado para la concentración de bióxido de nitrógeno (NO_2) en el aire ambiente, como medida de protección a la salud de la población.

NOM-021-SSA1-1993. Norma oficial mexicana. Salud ambiental. Criterio para evaluar la calidad del aire ambiente, con respecto al monóxido de carbono (CO). Valor permisible para la concentración de monóxido de carbono (CO) en el aire ambiente, como medida de protección a la salud de la población.

Peltonen y Kuljukka. (1995). Air sampling and analysis of polycyclic aromatic hydrocarbons. *Journal of Chromatography A* 710, 93-108.

PROAIRE. (Programa para mejorar el aire en la zona metropolitana del valle de México). (2011-2020). Disponible en http://www.sma.df.gob.mx/proaire2011_2020/index.php?opcion=2

Raga G., Baumgardner D., Castro T., Martínez A. y Navarr R. (2001). Mexico City air quality: a qualitative review of gas and aerosol measurements (1960–2000). *Atmospheric Environment* 35, 4041–4058.

Ravindraa K., Sokhi R. y Van Grieken R. (2008a). Atmospheric polycyclic aromatic hydrocarbons: Source attribution, emission factors and regulation. *Atmospheric Environment* 42, 2895–2921.

Santos M. (2012). Estandarización de un método de extracción a microescala empleando una celda asistida por ultrasonido para la determinación de hidrocarburos aromáticos policíclicos en partículas emitidas por la combustión de diesel y biodiesel. Facultad de Química, UNAM, México.

Seinfeld J. y Pandis S. (1998). *Atmospheric Chemistry and Physics: From Air Pollution to Climate Change*. John Wiley and Sons, New York.

Tran T., Amador M., Purcaro G., y Marriott P. (2007). Gas Chromatographic analysis of polyaromatic hydrocarbons. *Research Signpost*, 2-22.

Valle H., Amador M., Jazcilevich D., Hernández L. y Villalobos P. (2013). Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Particulate Matter Emitted by the Combustion of Diesel and Biodiesel. *Combustion Science. Technology. In Press*, DOI: 10.1080/00102202.2012.726665

Villalobos P., Hernández M., Amador M., Munive C., Bravo C., Gómez A., Frías V., Waliszewski S., Ramirez P. y Ortiz M. (2007) Biodirected mutagenic chemical assay of PM 10 extractable organic matter in Southwest Mexico City. *Mutation Research. Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 634, 192-204.

Wark K. y Warner C. (1992). *Contaminación del aire origen y control*. Limusa, México 27-29.

Westerholm R., Stenberg U., Alsberg T. (1987). Some aspects of the distribution of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH) between particles and gas phase from diluted gasoline exhausts generated with the use of dilution tunnel and its validity for measurement in ambient air. *Atmospheric Environmental* 22, 1005-1010.

WHO (World Health Organization-Regional Office for Europe). (1987). *Air quality guidelines for Europe Copenhagen*. Polynuclear Aromatic Hydrocarbons (PAH).

Zielinska B. (2005). Atmospheric transformation of diesel emissions *Experimental and Toxicologic Pathology* 57, 31-42.

Zielinska B., Arey J., Mc Elroy P. (1988). Nitration of acephenanthrylene under simulated atmospheric conditions and in solution and the presence of nitroacephenanthrylene in ambiente particles. *Environmental Science Technology* 22, 1044-1048.

Zielinska B., Arey J., Mc Elroy P. (1989a) Formation of methylnitronaphthalenes from the gas phase reactions of and 2 methylnaphtalene with OH radical and N_2O_5 and their occurrence in ambient air. *Environmental Science Technology* 23, 723-729.

Apéndice A: Evaluación de distintas técnicas de extracción de HAP en EPU

Microextracción en fase sólida

Headspace

Se desarrollaron experimentos de microextracción en fase sólida por headspace; para ello se empleó 1/5 de EPU fortificada con 100 ng de HAP y una fibra de polidimetil siloxano (PDMS) de 30µm de espesor. La técnica consistió en colocar la muestra en un vial cerrado para desorber los analitos a una temperatura (T_{ac}) y tiempo de acondicionamiento (t_{ac}) en el que se alcanza el equilibrio entre los analitos presentes en la fase gas y la EPU; posteriormente la fibra se introdujo en el sistema cerrado a fin de que los analitos se adsorbieran en esta a condiciones de temperatura (T_{ad}) y tiempo específicos (t_{ad}). Finalmente la fibra se colocó en el inyector de cromatógrafo de gases para la desorción y análisis de los analitos.

Distintas temperaturas (30 a 130 °C) y tiempos (30 A 60 min) fueron evaluados; sin embargo los HAP no se recuperaron eficientemente bajo ninguna de las condiciones probadas.

Inmersión

La microextracción en fase sólida mediante inmersión se probó colocando 100 ng de HAP contenidos en 300 µL de cloruro de metileno en un vial al que se adicionaron también 2.7 mL de una disolución de NaCl (5%). Posteriormente el cloruro de metileno se evaporó con flujo suave de nitrógeno y se adicionaron 35 µL de MeOH a fin de mejorar la solubilidad de los HAP. Finalmente una fibra de PDMS de 30 µm de espesor se sumergió durante 15 min a 25 °C. Las condiciones de desorción en el cromatógrafo fueron 10 min a 250 °C.

La microextracción en fase sólida por inmersión fue mejor que la técnica en headspace sin embargo los porcentajes de recuperación fueron menores al 10%.

Extracción con disolventes asistida por ultrasonido

Con la finalidad de desarrollar un método de extracción amigable ambientalmente, se propuso el uso de agua y una disolución de MeOH al 10 % como extractantes. Para estas series de experimentos se utilizó una celda de extracción a microescala asistida por un baño de ultrasonido en la que se colocó 1/10 de EPU enriquecido con 200 ng de HAP y 4 mL del disolvente. La temperatura de extracción fue 60 °C y el tiempo de

extracción 30 min. El extracto acuoso se pasó a través de un cartucho de C₁₈ en el cual se retuvieron los HAP y los cuales se eluyeron posteriormente con cloruro de metileno. El extracto orgánico se redujo con un flujo suave de nitrógeno y se analizó por CG-EM. Bajo estas condiciones los HAP no fueron recuperados eficientemente.

Con base en los resultados obtenidos anteriormente se extrajo con cloruro de metileno. En este caso se extrajo la mitad de una espuma enriquecida con 500 ng de HAP empleando la celda de extracción a microescala asistida por ultrasonido a 60 °C durante dos periodos de 10 minutos. Los extractos orgánicos se redujeron empleando un flujo suave de nitrógeno hasta alcanzar un volumen de 500 µL, posteriormente se llevaron a un volumen final de 1 mL y se analizaron mediante CG-EM.

Los porcentajes de recuperación durante la extracción fueron superiores al 80%, sin embargo se identificaron problemas de selectividad debido a la complejidad de la muestra; por lo que se decidió llevar a cabo una purificación de los extractos mediante extracción en fase sólida, para ello una alícuota de 640 µL del extracto fue tomada y reducida a un volumen de 200 µL. Porcentajes de recuperación del 30 % se obtuvieron en esta etapa; sin embargo no se resolvieron los problemas de selectividad para algunos de los HAP de bajo peso molecular que son los de interés en este estudio.

Finalmente, con base en los resultados obtenidos se decidió llevar a cabo un último experimento bajo las mismas condiciones de extracción descritas en el proceso anterior a reserva de utilizar únicamente un 1/10 de la EPU a fin de disminuir la complejidad de la muestra. Una descripción detallada y los resultados obtenidos mediante este procedimiento se muestran en el apéndice B.

Apéndice B Evaluación del método de extracción

Una décima parte de cada una de las espumas del tren de muestreo se colocó en una celda de extracción a micro escala y se enriqueció con 100µL de una disolución de 16 HAP presentes en un intervalo de masa de 70 a 395 ng, posteriormente se adicionaron 4 mL de cloruro de metileno y se extrajeron en ultrasonido.

B.1 Determinación del número de extracciones

Para cada una de las espumas se llevaron a cabo tres extracciones empleando un baño de ultrasonido Wise Clean modelo WVC-D06H con 100% de potencia a una temperatura de 60 °C durante un periodo de 10 minutos. Posteriormente el extracto obtenido se filtró, se redujo con un flujo suave de nitrógeno hasta un volumen de 500 µL y se le adicionaron HAP-*d* empleados como estándares internos. Finalmente se analizaron por CG-EM.

En las figuras B1, B2 y B3 se muestran los porcentajes de recuperación obtenidos en cada una de las extracciones de las espumas del tren fortificadas.

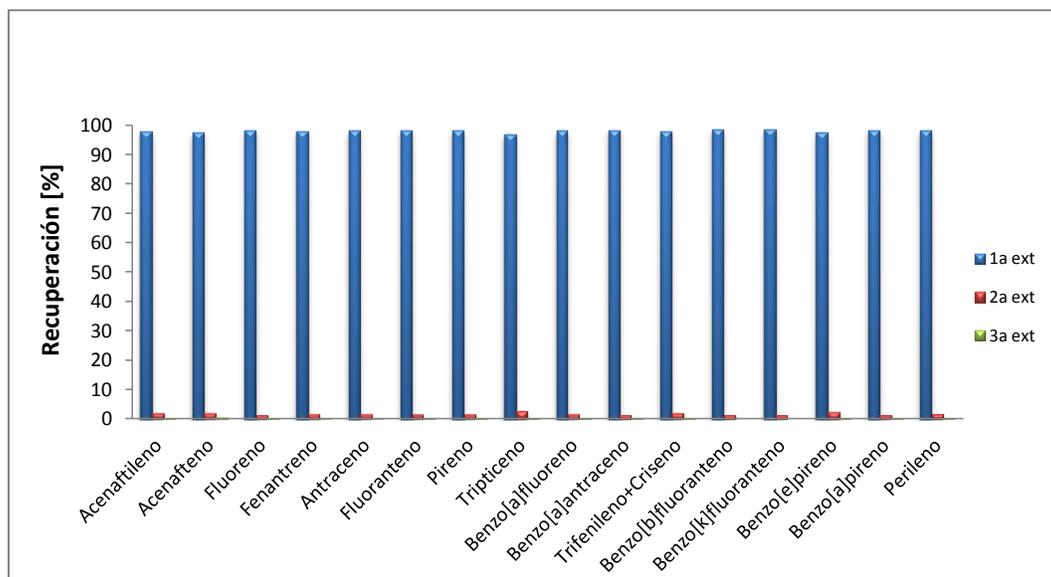


Figura B1 Recuperación [%] de 16 HAP en cada extracción de la espuma frontal del tren de muestreo

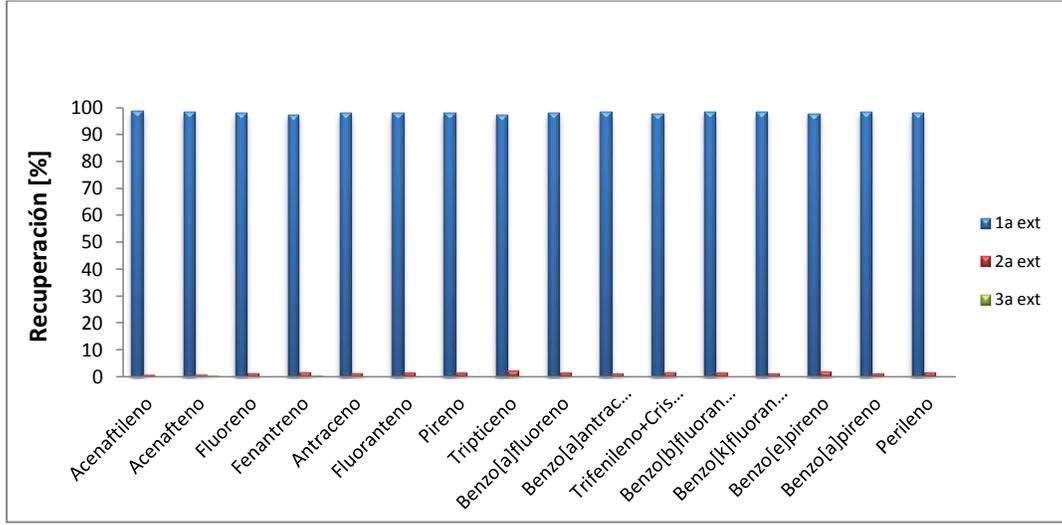


Figura B2 Recuperación [%] de 16 HAP en cada extracción de la espuma intermedia del tren de muestreo

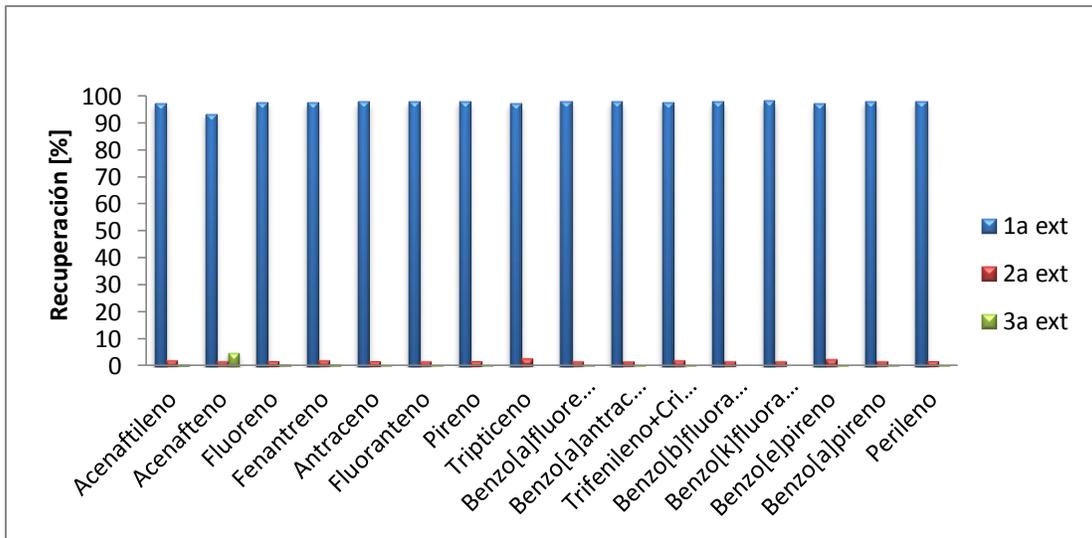


Figura B3 Recuperación [%] de 16 HAP en cada extracción en la espuma posterior del tren de muestreo

Con base en los resultados se decidió realizar únicamente una extracción ya que se obtuvieron porcentajes de recuperación superiores al 95 % en todos los casos.

B.2 Evaluación de los porcentajes de recuperación del método

La determinación del coeficiente de variación de los porcentajes de recuperación obtenidos en la primera extracción de cada una de las tres espumas se empleó como criterio para evaluar la precisión de la eficiencia del método. Los resultados mostraron coeficientes de variación menores al 10 % en la mayoría de los HAP analizados, excepto acenafteno y acenaftileno que presentaron valores superiores debido a problemas de selectividad.

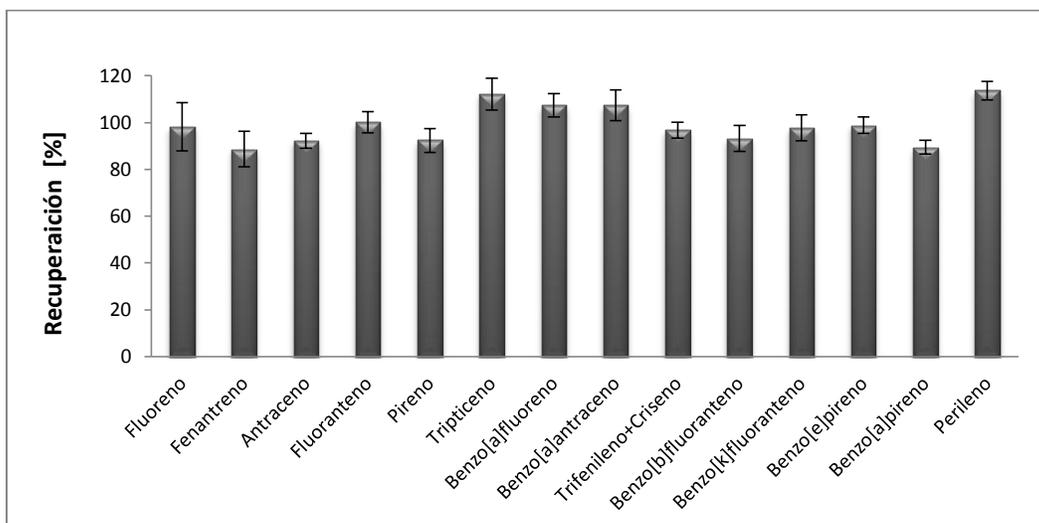


Figura B4 Porcentaje de recuperación promedio (n=3)

B.3 Evaluación de los ng de HAP presentes en cada una de las espumas en el tren de muestreo

La decima parte de cada espuma de dos trenes de muestreo (A y B) empleados en la colecta de la emisión de la combustión de diesel sin enriquecer se extrajeron bajo las condiciones establecidas previamente; en estas muestras **únicamente se encontraron HAP de masa molecular $\leq 228 \text{ g mol}^{-1}$** con una tendencia de disminución de la masa en la espuma frontal a la posterior, como se muestra en las figuras B5 y B6.

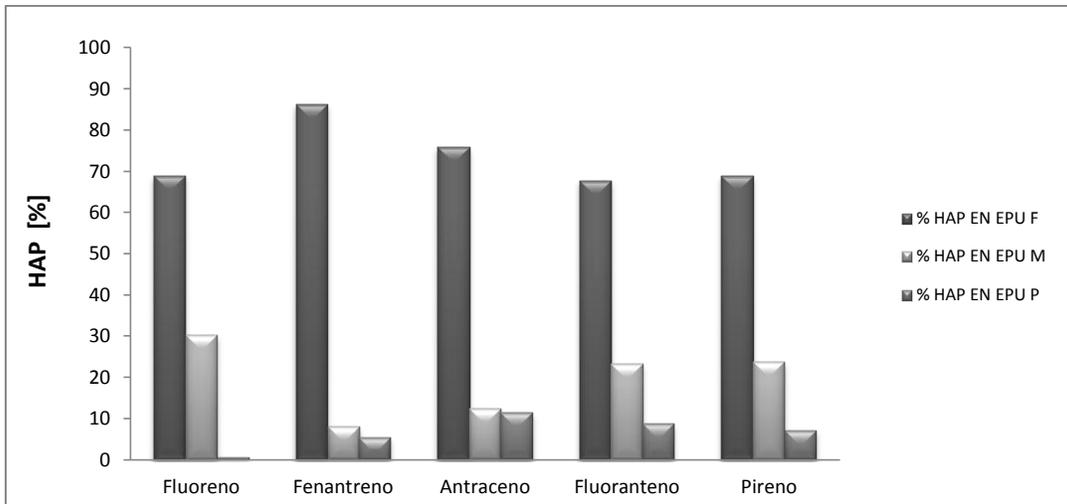


Figura B5 Distribución de HAP en el tren de muestreo A

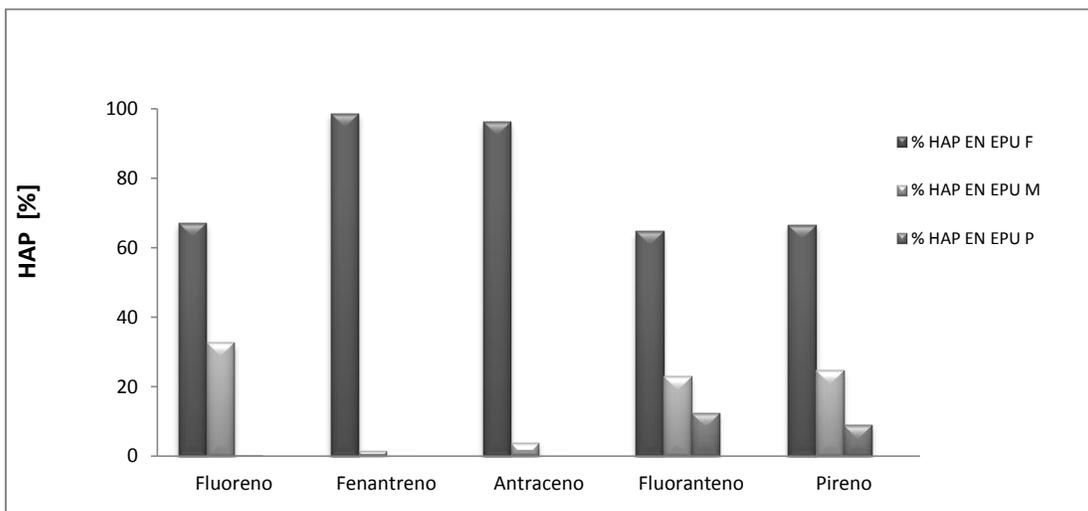


Figura B6 Distribución de HAP en el tren de muestreo B10

A fin de establecer los intervalos de concentración en las curvas de calibración se determinaron los ng de HAP presentes en cada una de las EPU de los dos trenes de muestreo analizados. Los resultados se muestran en las figuras B7 y B8.

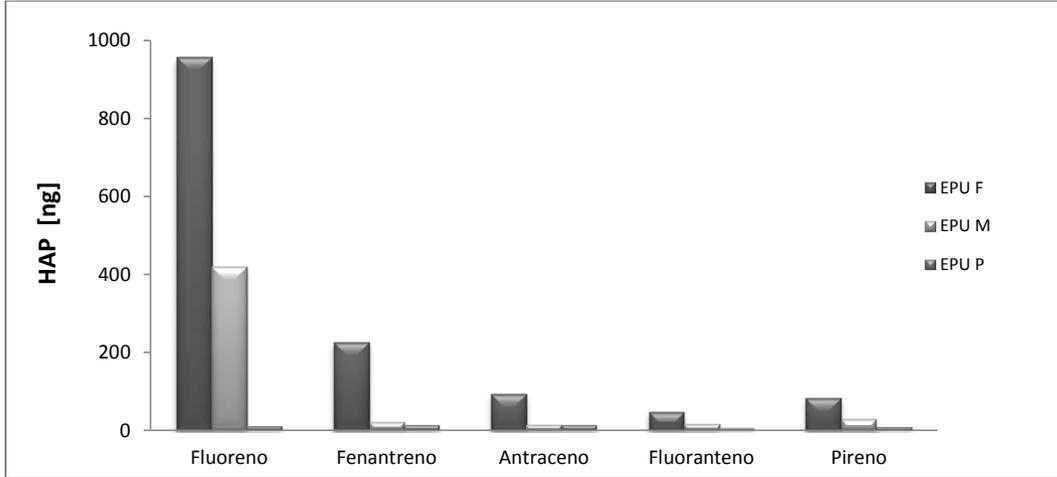


Figura B7 HAP [ng] en el tren A de EPU

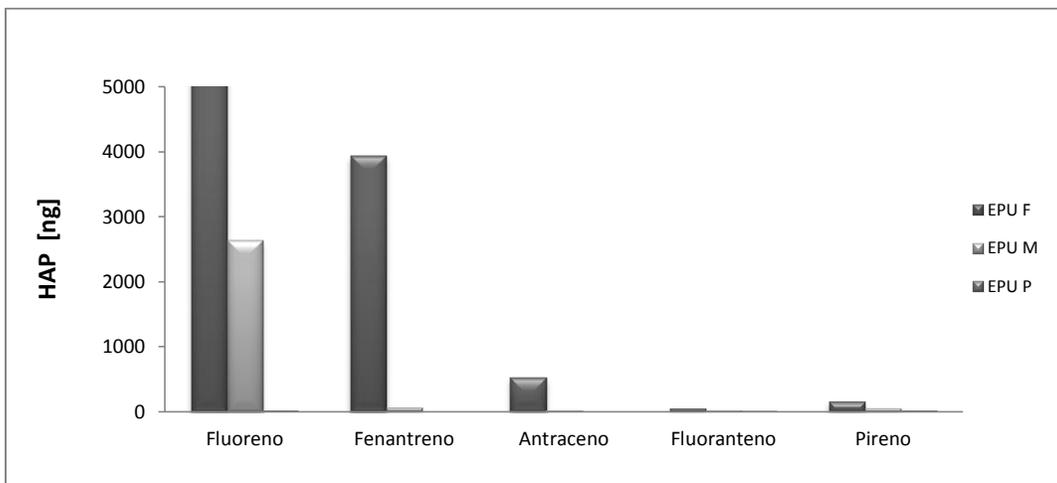


Figura B8 HAP [ng] en el tren B de EPU

Con base en los resultados se plantearon dos intervalos de concentración con nueve niveles de calibración cada uno. Los datos se muestran en la tabla VI en la sección 5.6 de la metodología.

Apéndice C Verificación de la balanza

La verificación de la balanza (Sartorius Modelo BP 211, sensibilidad 0.1 mg) se llevó a cabo a través de la determinación de la masa de dos pesas E2 de 20 y 1 mg. Los resultados obtenidos se muestran en las tablas C1 y C2.

Tabla C1. Verificación de la balanza previa a la preparación de las soluciones madre y de fortificación de HAP

Masa [mg]	Pesa de 1 mg	Pesa de 20 mg
1	0.98	19.97
2	0.99	19.97
3	0.99	19.98

Tabla C2 Verificación de la balanza previa a la preparación de las soluciones madre y de fortificación de HAP-*d*

Masa [mg]	Pesa de 1 mg	Pesa de 20 mg
1	1.00	19.98
2	1.00	19.97
3	0.99	19.99