



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE QUÍMICA

“VALIDACIÓN DE UN MÉTODO ANALÍTICO PARA LA DETERMINACIÓN DE HIDROCARBUROS AROMÁTICOS POLICÍCLICOS EN PARTÍCULAS ATMOSFÉRICAS EMITIDAS POR LA COMBUSTIÓN DE DIESEL Y DE BIODIESEL POR DESORCIÓN TÉRMICA”

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

QUÍMICO

PRESENTA

ALFONSO ENRIQUE HERNÁNDEZ LÓPEZ



MÉXICO, D.F.

2012



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: María Antonia Dosal Gómez

VOCAL: Irma Cruz Gavilán García

SECRETARIO: Omar Amador Muñoz

1er. SUPLENTE: Araceli Patricia Peña Álvarez

2° SUPLENTE: Silvia Citlalli Gama González

SITIO DONDE SE DESARROLLÓ EL TEMA:

Laboratorio de Cromatografía de Gases y Espectrometría de Masas, Centro de Ciencias de la Atmósfera, UNAM.

ASESOR DEL TEMA: Omar Amador Muñoz

SUPERVISOR TÉCNICO: Brenda Liz Valle Hernández

SUSTENTANTE: Alfonso Enrique Hernández López

AGRADECIMIENTOS TÉCNICOS

Al Instituto de Ciencia y Tecnología del Distrito Federal a través de su proyecto PICS08-31 por la beca otorgada.

A los proyectos 23600 de CONACYT-SEMARNAT, PAPIIT IN116810-3 de la UNAM por el financiamiento para el desarrollo de la investigación.

Al Dr. Omar Amador por la dirección de la tesis, el asesoramiento en el funcionamiento de los equipos y en el análisis estadístico.

Al Dr. Arón Jazcilevich Diamant por la oportunidad de formar parte del proyecto.

Al Dr. Rafael De Jesús Villalobos y Pietrini por la oportunidad de realizar esta tesis en la Sección de Mutagénesis Ambiental.

A la M. en C. Brenda Líz Valle Hernández por la colaboración, supervisión y asesoría durante el desarrollo de la tesis.

A las profesoras María Antonia Dosal Gómez e Irma Cruz Gavilán García por la revisión del presente escrito y por sus acertadas recomendaciones.

A los químicos: Jairo Vázquez S., Graciela Santos M., Maribel Hernández C. y Yessica Flores A. por su apoyo en el análisis instrumental y manejo del software utilizado.

A las tesisas: Marisol Romero M., Griselda Maya M., Estela Flores O., Geraldine González R. y Guadalupe Zitlalpopoca H. por su apoyo en la recolección y tratamiento de las muestras.

*A mis padres Lulú y Enrique
y mis hermanos Claudia y Luis.*

*Para Marie Ann, sin tu apoyo y amor
no lo habría logrado. Espero te guste.*

CONTENIDO

RESUMEN	11
1. MARCO TEÓRICO.....	13
1.1 CONTAMINACIÓN Y CONTAMINANTES	13
1.2 CONTAMINANTES ATMOSFÉRICOS	13
1.3 MATERIAL PARTICULADO ATMOSFÉRICO	13
1.4 MORFOLOGÍA DE LAS PARTÍCULAS ATMOSFÉRICAS	15
1.5 EFECTOS DE LAS PARTÍCULAS ATMOSFÉRICAS SOBRE EL CLIMA	16
1.6 DEPOSITACIÓN DE LAS PARTÍCULAS ATMOSFÉRICAS EN EL TRACTO RESPIRATORIO	17
1.7 EFECTOS DE LAS PARTÍCULAS ATMOSFÉRICAS EN LA SALUD	18
1.8 COMPOSICIÓN DE LAS PARTÍCULAS ATMOSFÉRICAS	20
1.9 DISTRIBUCIÓN DE LAS ESPECIES INORGÁNICAS EN EL MATERIAL PARTICULADO	21
1.10 COMPONENTES ORGÁNICOS DE LAS PARTÍCULAS ATMOSFÉRICAS	22
1.11 HIDROCARBUROS AROMÁTICOS POLICÍCLICOS (HAP)	23
1.12 FORMACIÓN DE HAP	25
1.13 FUENTES DE HAP	26
1.14 REACCIONES ATMOSFÉRICAS DE HAP	27
1.15 EFECTOS DE LOS HAP SOBRE LA SALUD	28
1.16 LOS HAP Y LA CALIDAD DEL AIRE	31
1.17 DIESEL	31
1.18 EMISIONES POR COMBUSTIÓN DE DIESEL	32
1.19 BIODIESEL	33
1.20 PRODUCCIÓN DE BIODIESEL	34
1.21 VENTAJAS DEL BIODIESEL COMO COMBUSTIBLE ALTERNATIVO AL DIESEL	35
1.22 DESVENTAJAS DEL BIODIESEL COMO COMBUSTIBLE ALTERNATIVO AL DIESEL	35
1.23 EMISIONES POR COMBUSTIÓN DE BIODIESEL	36
1.24 VALIDACIÓN DE UN MÉTODO ANALÍTICO	37
1.24 PARÁMETROS DE VALIDACIÓN DE UN MÉTODO ANALÍTICO	39
1.25 TÉCNICA DE ANÁLISIS: DESORCIÓN TÉRMICA – CROMATOGRAFÍA DE GASES – ESPECTROMETRÍA DE MASAS	45
1.26 DESORCIÓN TÉRMICA.....	46
2. OBJETIVOS.....	48
2.1 OBJETIVO GENERAL.....	48
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	48
3. DESARROLLO EXPERIMENTAL.....	49
3.1 DISEÑO EXPERIMENTAL	49
3.2 OPTIMIZACIÓN DE LAS CONDICIONES DE DESORCIÓN DE HAP EN LAS PARTÍCULAS ATMOSFÉRICAS.....	49
3.2.1 ELECCIÓN DEL SORBENTE ADECUADO	50
3.2.3 TIEMPO DE PURGA DEL TUBO MUESTRA	53
3.2.4 TEMPERATURA DE DESORCIÓN PRIMARIA	54
3.2.5 TEMPERATURA DE LA TRAMPA DURANTE LA DESORCIÓN PRIMARIA	55
3.2.6 TIEMPO DE DESORCIÓN PRIMARIA	56
3.2.7 FLUJO DE HELIO EN LA DESORCIÓN PRIMARIA	57
3.2.8 TEMPERATURA DE DESORCIÓN SECUNDARIA (TRAMPA CON LOS ANALITOS).....	58

3.2.9	TIEMPO DE DESORCIÓN SECUNDARIA	59
3.2.10	FLUJO DE HELIO EN LA DESORCIÓN SECUNDARIA. USO DEL "SPLIT" DEL TD	60
3.3	MUESTREO DE PARTÍCULAS EMITIDAS POR LA COMBUSTIÓN DE DIESEL Y DE BIODIESEL	63
3.3.1	ACONDICIONAMIENTO DE LOS FILTROS	63
3.3.2	COLECTA DE PARTÍCULAS DE EMISIÓN DE DIESEL Y BIODIESEL	63
3.3.3	EXTRACCIÓN DE LOS FILTROS CON PARTÍCULAS	65
3.4	PREPARACIÓN DE LA CURVA DE CALIBRACIÓN DEL MÉTODO ANALÍTICO	66
3.4.1	PREPARACIÓN DE LAS SOLUCIONES STOCK DE HAP INDIVIDUALES	67
3.4.2	PREPARACIÓN DE LAS SOLUCIONES MADRE	68
3.4.3	PREPARACIÓN DE LAS SOLUCIONES DE TRABAJO	72
3.4.4	PREPARACIÓN DE LAS SOLUCIONES DE ESTÁNDAR INTERNO (E.I.)	75
3.4.5	PREPARACIÓN DE LOS NIVELES DE LA CURVA DE CALIBRACIÓN DEL MÉTODO ANALÍTICO	76
3.4.6	RELACIÓN ENTRE LA MASA INYECTADA DE HAP Y LA MASA QUE LLEGA AL DETECTOR	79
3.5	ANÁLISIS CUALITATIVO POR TD-CG-EM/IE	81
3.5.1	IDENTIFICACIÓN DE LOS HAP	81
3.6	ANÁLISIS CUANTITATIVO POR TD-CG-EM/IE	81
3.6.1	EVALUACIÓN DE LOS FACTORES DE RESPUESTA RELATIVOS (F_{RR})	81
3.6.2	EVALUACIÓN DE LA HOMOSCEDASTICIDAD DE LAS VARIANZAS	82
3.6.3	CÁLCULO DE LOS PARÁMETROS DE LA REGRESIÓN LINEAL PONDERADA	82
3.6.4	EVALUACIÓN DE LA LINEALIDAD	83
3.6.5	LÍMITES DE DETECCIÓN (LD) Y CUANTIFICACIÓN (LC) DEL MÉTODO	84
3.6.6	EVALUACIÓN DE LA PRECISIÓN DEL MÉTODO ANALÍTICO	85
3.6.7	EFICIENCIA	86
3.6.9	EVALUACIÓN DE HAP EN PARTÍCULAS EMITIDAS POR LA COMBUSTIÓN DE DIESEL Y DE BIODIESEL	86
4	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	88
4.1	ANÁLISIS CUALITATIVO	88
4.2	ANÁLISIS CUANTITATIVO	102
4.2.1	FACTORES DE RESPUESTA RELATIVOS (F_{RR})	102
4.2.2	HOMOSCEDASTICIDAD DE LAS VARIANZAS	106
4.2.3	PARÁMETROS DE LA CURVA DE CALIBRACIÓN PONDERADA	108
4.2.4	LINEALIDAD	109
4.2.5	LÍMITES DE DETECCIÓN Y DE CUANTIFICACIÓN DEL MÉTODO ANALÍTICO	112
4.2.6	EVALUACIÓN DE LA PRECISIÓN DEL MÉTODO ANALÍTICO	114
4.2.7	EFICIENCIA	116
4.2.8	HAP EN PARTÍCULAS EMITIDAS POR LA COMBUSTIÓN DE DIESEL Y DE BIODIESEL	119
5	CONCLUSIONES	122
6	RECOMENDACIONES	124
APÉNDICE A.		125
	VERIFICACIÓN DE LA BALANZA SARTORIUS MODELO BA210S CON MASAS PATRÓN MARCA OHAUS	125
7	BIBLIOGRAFÍA.....	126

ÍNDICE DE TABLAS

I. Composición y fuentes de emisión de las partículas atmosféricas	14
II. Morfología de las partículas atmosféricas.....	16
III. Diámetros aerodinámicos de masa media de partículas atmosféricas (DAMM)	21
IV. Algunos compuestos orgánicos presentes en partículas atmosféricas emitidos por procesos biogénicos	22
V. Diferentes compuestos orgánicos derivados del petróleo identificados en el aerosol atmosférico	23
VI. Estructura de los hidrocarburos aromáticos policíclicos.....	24
VII. Coeficientes de partición (K_{ow}) y coeficientes de reparto estimados entre las fases particulada y gaseosa (C_{PM}/C_{gas}) de diferentes HAP basada en datos colectados en Osaka, Japón.).....	25
VIII. Escala de reactividad para reacciones electrofílicas de HAP.	28
IX. Ejemplos de HAP no tumorigénicos y tumorigénicos.....	29
X. Potencia cancerígena relativa de HAP comparados con el B[a]P.....	30
XI. Características de los diferentes tipos de diesel.....	32
XII. Relaciones entre las características del combustible diesel y el rendimiento del motor.....	33
XIII. Porcentajes de biodegradación de combustibles fósiles y biocombustibles.....	35
XIV. Algunas ventajas y desventajas del uso de biodiesel como combustible alternativo al diesel.....	36
XV. ANOVA para evaluar el modelo de regresión lineal	42
XVI. Características de algunos sorbentes utilizados en desorción térmica.....	51
XVII. Condiciones de desorción para la optimización de la temperatura de la trampa durante la desorción primaria	56
XVIII. Flujos totales en el procedimiento de desorción y cálculo del split en la división simple y doble:..	61
XIX. Comparación de los parámetros de desorción optimizados en el laboratorio y los obtenidos por Bates et al. (2008)	62
XX. Condiciones del muestreo de partículas emitidas por la combustión de diesel a alto RPM.....	64
XXI. Soluciones "Stock" preparadas a 23 °C.....	67
XXII. Preparación de la solución SM1 _{HAP bajo PM} a 22 °C	69
XXIII. Preparación de la solución SM1 _{HAP alto PM} a 23 °C.....	70
XXIV. Preparación de la solución SM2 _{HAP bajo PM} a 23 °C.....	71
XXV. Preparación de la solución SMHAP-d _{bajo PM} a 21 °C.....	71
XXVI. Preparación de la solución SMHAP-d _{alto PM} a 21 °C.....	72
XXVII. Concentración de HAP en las soluciones de trabajo para compuestos de bajo PM.....	73
XXVIII. Concentración de HAP en las soluciones de trabajo para compuestos de alto PM	74
XXIX. Concentración de HAP deuterados en las soluciones de E.I.	75
XXX. Preparación de los niveles de concentración de la curva de calibración del método	76
XXXI. Concentración de los HAP y HAP-d en la curva de calibración.	77
XXXII. Condiciones de desorción y cromatográficas para la curva de calibración del método.....	78
XXXIII. Orden de análisis de la curva de calibración	79
XXXIV. Masa de HAP (ng), de los puntos de la curva de calibración, que llega al detector	80
XXXV. Condiciones del muestreo para evaluar muestras reales	87
XXXVI. Tiempos de retención absolutos (t_r), relativos al EI inmediato anterior ($t_{r,r}$) e iones de los HAP analizados.....	88
XXXVII. Ejemplo del cálculo de F_{RR} y %CV usando la curva de calibración del pireno.	103
XXXVIII. Valores de FRR y de % CVFRR para los 11 niveles de concentración de la curva de calibración de cada HAP analizado.	103

XXXIX. Evaluación de la homoscedasticidad de las varianzas en la curva de calibración del método del 2-metilantraceno ($n = 2$ ó 3) para cada punto de la curva, grados de libertad $gl = 1$ ó 2	107
XL. Valor de "F de Fischer" a la cual $F_{cal} > F_{tab}$ para determinar la homoscedasticidad de las varianzas en las curvas de calibración del método	107
XLI. Ejemplo para calcular los parámetros de la regresión ponderada de la curva de calibración del pireno	108
XLII. Parámetros de la regresión ponderada de la curva de calibración del pireno.....	108
XLIII. Cálculos para la obtención de $SYXW$ de la regresión ponderada del pireno	109
XLIV. Ejemplo de cálculos previos a la obtención de r en el caso de la curva de calibración del pireno	109
XLV. Coeficientes de correlación (r) y de determinación (r^2) de la curva de calibración del método analítico y t_{cal} y t_{tab} a p_i 0.01 para los HAP analizados en el estudio. $gl = 16, 27$ ó 13	110
XLVI. Cálculos previos para obtener F_{cal} para la curva de calibración del pireno	111
XLVII. Tabla de análisis estadístico ANOVA.....	111
XLVIII. Valores de F_{cal} y F_{tab} para el resto de los HAP analizados	112
XLIX. Pendiente (b_W), ordenada al origen (a_W), desviación estándar ($S_{(Y/X)_W}$) ponderadas para los HAP estudiados así como sus límites de detección (LD_W) y cuantificación (LC_W) con intervalos de confianza al 99%.....	113
L. Cálculos para evaluar la precisión del método para el pireno	115
LI. Precisión del método para los HAP analizados.....	115
LII. Cálculo de la eficiencia del fenantreno para SRM1649A (polvo urbano) y 2975 (material particulado diesel)	117
LIII. Eficiencia de los demás HAP presentes en el material de referencia y el método analítico	117
LIV. Concentraciones de HAP en $ng/mg_{particula}$ emitidas por la combustión de biodiesel (B10) y de diesel	120

ÍNDICE DE FIGURAS

1. Distribución de las partículas atmosféricas.....	15
2. Depositación de las partículas según su tamaño en el sistema respiratorio humano	18
3. Vías hipotéticas de los problemas cardiovasculares producidos por la depositación de las partículas respirables en los pulmones.	19
4. Pirosíntesis de HAP a partir de etano	26
5. Reacción de transesterificación de aceites vegetales.....	34
6. Concentración total de HAP en ng mg^{-1} de partículas de emisión de un motor Renault en marcha (ralenti) utilizando diesel bajo en azufre y biodiesel de canola (B5)	37
7. Esquema de la desorción térmica en dos pasos.	47
8. Diagrama del desarrollo experimental.	49
9. Evaluación de sorbentes para la desorción de HAP.....	52
10. Efecto del tiempo de purga sobre las masas del disolvente y del analito.	54
11. Intensidad de la señal de los HAP debido a la temperatura de desorción (100 ng HAP).....	55
12. Intensidad de la señal de los HAP en función de la temperatura de la trampa durante la desorción primaria.....	56
13. Intensidad de la señal de HAP en función del tiempo de la desorción primaria	57
14. Intensidad de la señal de los HAP en función del flujo de helio en el tubo de desorción.....	58
15. Intensidad de la señal de los HAP en función de la temperatura de desorción secundaria	59
16. Intensidad de la señal de los HAP debido al tiempo de desorción de la trampa	60
17. Esquema de la división del flujo de helio en la desorción.....	60
18. Optimización de la desorción de HAP (6 ng en el detector) de la trampa.....	62
19. Motor utilizado en el muestreo.	63
20. Túnel de dilución.....	64
21. Portafiltros	64
22. Filtros antes y después del muestreo.	65
23. Proceso de extracción y partición de los filtros con partículas.	65
24. Comparación de la concentración de HAP presentes en partículas de emisión de diesel.	66
25. Soluciones elaboradas para preparar la curva de calibración del método analítico.	76
26. Cromatograma total de iones a 200 ng (HAP de bajo PM) y 16 ng (HAP alto PM) correspondiente al nivel 2	89
27. Espectros de masa de los HAP analizados y HAP-d usados como EI.....	102
29. Curva de calibración del método para el 2-metilantraceno	106
30. Gráfica de los límites de cuantificación ponderados (LCw) vs pendientes ponderada.....	114
31. Eficiencias del método obtenidas por la comparación con el SRM2975 y SRM1649A de NIST	118
32. Concentración de HAP en partículas de emisión de biodiesel (B10) y de diesel analizadas mediante el método TD-CG/EM.	121

RESUMEN

Los hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAP), presentes en las partículas atmosféricas generadas por la combustión de combustibles fósiles y no fósiles, están asociados con el aumento en la incidencia de diversos tipos de padecimientos en el hombre. Algunos son carcinogénicos, mutagénicos y posibles modificadores endócrinos, por lo que su determinación en muestras ambientales es importante para su control y minimización ante su exposición (Mastandrea *et al.* 2005).

Los múltiples pasos en los procedimientos analíticos tradicionales para la identificación de HAP aumentan el tiempo de trabajo y el riesgo de perder parte de la muestra, generando baja eficiencia, uso excesivo de disolventes y un aumento en el costo del análisis. Con el fin de optimizar dichos métodos, se han desarrollado técnicas ambientalmente amigables, como la desorción térmica (DT) acoplada a la cromatografía de gases – espectrometría de masas (CG-EM), que permite extraer compuestos de matrices sólidas sin usar disolventes. Esta técnica no requiere extracción previa al análisis, ni grandes cantidades de muestra y ofrece alta sensibilidad y resolución en la detección de los analitos (Waterman *et al.* 2000, Gil-Moltó *et al.* 2009).

El objetivo de este trabajo fue validar un método analítico para la determinación de HAP en partículas emitidas por la combustión de diesel y biodiesel empleando tecnologías libres de disolventes. Para ello se empleó un termodesorbedor “Markes International” acoplado a un CG-EM “Agilent Technologies”. Se optimizaron las condiciones de desorción, cromatográficas y másicas para el análisis de 16 HAP. Éstos se adicionaron sobre filtros de teflón con partículas emitidas de diesel (libre de orgánicos) a siete niveles de concentración. Se evaluaron los parámetros de validación que involucra linealidad, límites de detección y de cuantificación, eficiencia, exactitud, precisión y selectividad.

Se obtuvieron coeficientes de correlación entre 0.973 (criseno) y 0.999 (1-metilantraceno), límites de detección entre 0.3 ng (acenaftileno) y 6.8 ng (fluoreno) en la muestra y de cuantificación entre 1.1 (acenaftileno) y 22.6 (fluoreno) ng en la muestra. El método presentó una precisión en función del % CV entre 81.3 % (fluoreno) y 99.6 % (acenafteno) y de 83.2 % (trifenileno) y 95.3 % (naftaleno) en función del % CV_{FR}. Las eficiencias evaluadas con el material de referencia para diesel, SRM2975, oscilaron entre el 95 ± 6 % (fenantreno) y el 113 ± 24 % (pireno).

Los resultados mostraron que el método es rápido, eficiente, sensible y específico para HAP en partículas emitidas de diesel y biodiesel, por lo que es una alternativa ambientalmente amigable para su determinación.

1. MARCO TEÓRICO

1.1 Contaminación y contaminantes

La Ley General de Equilibrio Ecológico y Protección al Ambiente (2010) define contaminación como “la presencia en el ambiente de uno o más contaminantes o de cualquier combinación de ellos que cause desequilibrio ecológico” y el término contaminante queda definido como “toda materia o energía en cualesquiera de sus estados físicos y formas, que al incorporarse o actuar en la atmósfera, agua, suelo, flora, fauna o cualquier elemento natural, altere o modifique su composición y condición natural” (LGEEPA 2010).

1.2 Contaminantes atmosféricos

Se clasifican por su origen en primarios y secundarios. Los primeros se definen como aquellos que se emiten directamente a la atmósfera, como SO₂, NO, CO, Pb, carbono elemental, compuestos orgánicos policíclicos y material particulado producto de la combustión. Sus fuentes pueden ser antrópicas, biogénicas, geogénicas o cualquier combinación de éstas. Los contaminantes secundarios como el O₃, NO₂ y H₂SO₄ se forman en el seno de la atmósfera a través de procesos químicos y fotoquímicos -como la oxidación y la fotólisis- donde intervienen los contaminantes primarios (Finlayson-Pitts y Pitts 2000).

1.3 Material particulado atmosférico

El aerosol atmosférico se define como la mezcla de partículas sólidas y/o líquidas que, con excepción del agua pura, están suspendidas en la atmósfera (Götz 1991, Friedlander 2000). Las partículas atmosféricas no son una especie única, sino una mezcla de distintas especies químicas. De acuerdo a su mecanismo de producción pueden ser primarias (generadas directamente a la atmósfera) o secundarias (producidas por reacciones químicas o procesos físicos), de origen natural o antrópico.

El diámetro aerodinámico es uno de los parámetros más importantes para clasificar las partículas atmosféricas por su tamaño, Götz (1991) lo define como “el diámetro de una esfera con densidad de 1 g cm⁻³ con la misma velocidad de sedimentación que la partícula en cuestión independientemente de su forma, tamaño o densidad y cuyo depósito se debe a la fuerza

gravitacional, con el aire en calma y bajo las mismas condiciones de presión, temperatura y humedad relativa. El tamaño de las partículas varía desde 0,001 μm hasta aproximadamente 100 μm . Por sus diferencias en sus mecanismos de formación, composición química, fuentes y tiempo de vida se dividen en ultrafinas, finas y gruesas (**tabla I**) (EPA 1996).

Las partículas ultrafinas se forman por la nucleación de especies en fase gas y crecen por coagulación (combinación de varias partículas) o por la condensación de gases formando partículas finas más estables. Las partículas gruesas, en cambio, se forman mayoritariamente por la abrasión de superficies como la erosión, el desgaste de materiales por fricción y la resuspensión de polvos del suelo. Su incorporación a la atmósfera se debe a la acción del viento o por diferentes actividades humanas como la minería o la agricultura. Las esporas de hongos, el polen, y diversos fragmentos de plantas e insectos son ejemplos de bioaerosoles naturales de partículas gruesas (EPA 1996, Finlayson-Pitts y Pitts 2000).

Tabla I. Composición y fuentes de emisión de las partículas atmosféricas (EPA 1996)

Partículas	Finas	Gruesas
Procesos de formación	Combustión, procesos a altas temperaturas y reacciones atmosféricas.	Abrasión de superficies.
Fuentes	Combustión de carbón, gasolina, diesel, madera, SO_2 , NO_x y algunos compuestos orgánicos incluyendo biogénicos, procesos a alta temperatura.	Resuspensión de polvo industrial, caminos pavimentados, no pavimentado, zonas mineras, agrícolas. Combustión incompleta de carbón y aceite; brisa marina y otras fuentes biológicas.
Tiempo de residencia	Días a semanas.	Minutos a horas.
Distancia de transportación	Cientos a miles de kilómetros.	Menor a 10 kilómetros.
Composición	Sulfatos, nitratos, amonio, carbono elemental, compuestos orgánicos, metales, agua.	Polvo resuspendido. Cenizas de la combustión de carbón, aceite, madera. Nitratos, cloruros y sulfatos de reacciones con HNO_3 , HCl , y SO_2 . Óxidos de Si, Al, Fe. Carbonatos, cloruros y sales marinas. Polen, hongos y esporas, fragmentos de plantas y animales.

Las partículas atmosféricas también se pueden dividir por su diámetro en función del tipo de colector y del tipo de corte de su cabezal en PST (partículas suspendidas totales), PM_{10} y $\text{PM}_{2.5}$ (del inglés particulate matter, material particulado); las primeras tienen un diámetro aerodinámico

$\leq 40 \mu\text{m}$, las segundas $\leq 10 \mu\text{m}$ y las últimas $\leq 2.5 \mu\text{m}$. Las PST y las PM_{10} contienen a las partículas gruesas y a las finas, mientras que las $\text{PM}_{2.5}$ solo a las finas. La **figura 1** muestra esta clasificación.

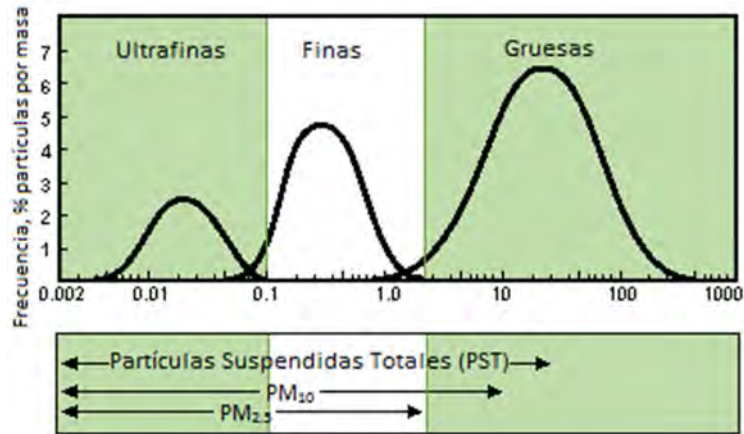


Figura 1. Distribución de las partículas atmosféricas. Modificado de EPA (2010).

1.4 Morfología de las partículas atmosféricas

En general, las partículas sólidas están presentes en diferentes formas (rectangular, fibrilar, amorfa, etc.) a diferencia de la mayoría de los líquidos que presentan formas más bien esféricas. En el caso particular de las partículas atmosféricas, su morfología está estrechamente ligada a la composición, y para su estudio suelen dividirse en cinco grupos como lo muestra la **tabla II** (Bernabé y Carretero 2003, Umbría *et al.* 2004).

Tabla II. Morfología de las partículas atmosféricas (Bernabé y Carretero 2003, Umbría et al. 2004, Aragón-Piña et al. 2006, Grass et al. 2010)

Morfología	Características	
Esféricas Suaves	Producidas en su mayor parte por combustión. Con una matriz a base de carbono y alto contenido en azufre, dependiendo del tamaño pueden contener metales pesados en concentraciones traza.	 <p>Partícula de residuos de la quema de combustóleo de carbón-azufre con trazas de vanadio y níquel (Aragón-Piña et al. 2006).</p>
Esférica rugosa	Se originan de la fundición del metal. Compuestas por una gran variedad de óxidos metálicos.	 <p>Partícula de ferrita colectada en el Centro Universitario de Investigaciones en Ciencias del Ambiente, Colima (Campos-Ramos et al. 2009).</p>
Amorfas	Formadas por agregados de unidades más pequeñas de composición variada dependiendo de su origen.	 <p>Partículas colectadas en la estación Times Square, Nueva York originadas por la abrasión de superficies metálicas (Grass et al. 2010).</p>
Cristalinas	Partículas naturales o artificiales formadas por sales disueltas en medio acuoso, con estructura regular y simetría definida.	 <p>Partícula de trióxido de arsénico y antimonio colectada en la zona industrial, San Luis Potosí producto de la emisión en una refinería de cobre (Aragón-Piña et al. 2006).</p>
Biológicas	Partículas de origen vegetal o animal, de estructura compleja y textura variada.	 <p>Partículas atmosféricas de granos de polen colectadas en la estación Parque Tangamanga, San Luis Potosí (Aragón-Piña et al. 2006).</p>

1.5 Efectos de las partículas atmosféricas sobre el clima

Desde un punto de vista teórico, la atmósfera es un sistema de fluido térmico que actúa como un motor, convirtiendo continuamente el calor del sol en energía mecánica, que se convierte de nuevo en calor por efectos de disipación y fricción. El material particulado suspendido en la atmósfera tiene un papel significativo en el control del clima debido a que afecta el balance de la

radiación del sistema directa e indirectamente de diversas formas (Götz 1991). El efecto directo se debe al hecho de que las partículas atmosféricas dispersan y absorben la radiación solar entrante y la emitida del suelo. Este proceso redistribuye la energía proveniente de la radiación solar y terrestre en la atmósfera, causando un calentamiento o enfriamiento atmosférico dependiendo de las propiedades ópticas, y de la composición y distribución espacial de las partículas atmosféricas (Götz 1991, Friedlander 2000). El efecto indirecto más importante del material particulado sobre el clima es el que tiene sobre las nubes, pues forma núcleos de condensación afectando también el tiempo de vida media y sus propiedades ópticas (Friedlander 2000).

1.6 Depósito de las partículas atmosféricas en el tracto respiratorio

El sistema respiratorio constituye la entrada principal del material particulado al organismo y de acuerdo con su capacidad de penetración se clasifican en inhalables, torácicas y respirables. Las primeras entran sólo al tracto respiratorio superior, las segundas penetran en la región traqueobronquial y las últimas pueden alcanzar la cavidad alveolar provocando mayores afecciones (Finlayson-Pitts y Pitts 2000).

La evidente razón por la que es importante el estudio de las partículas atmosféricas de menor diámetro se muestra en la **figura 2**. Las partículas grandes ($>10 \mu\text{m}$) se inhalan y remueven en la nariz o en la parte superior del tracto respiratorio. Desde esta región y hasta la traqueobronquial, el sistema está cubierto por una capa de mucosa que asciende continuamente por el movimiento de pequeñas vellosidades llamadas cilios. De este modo, partículas como las PM_{10} se depositan en la mucosa y se llevan hacia el tracto digestivo.

Por otro lado, las partículas provenientes de la combustión de combustibles fósiles son generalmente de diámetro más pequeño ($<2.5 \mu\text{m}$) y caen en la clasificación de respirables. Estas partículas pueden alcanzar la región alveolar donde ocurre el intercambio de gases. Esta zona no está protegida con mucosa por lo que el depósito de las partículas es mayor que en cualquier otro punto del sistema respiratorio, haciendo que los efectos a la salud se magnifiquen (Finlayson-Pitts y Pitts 2000).

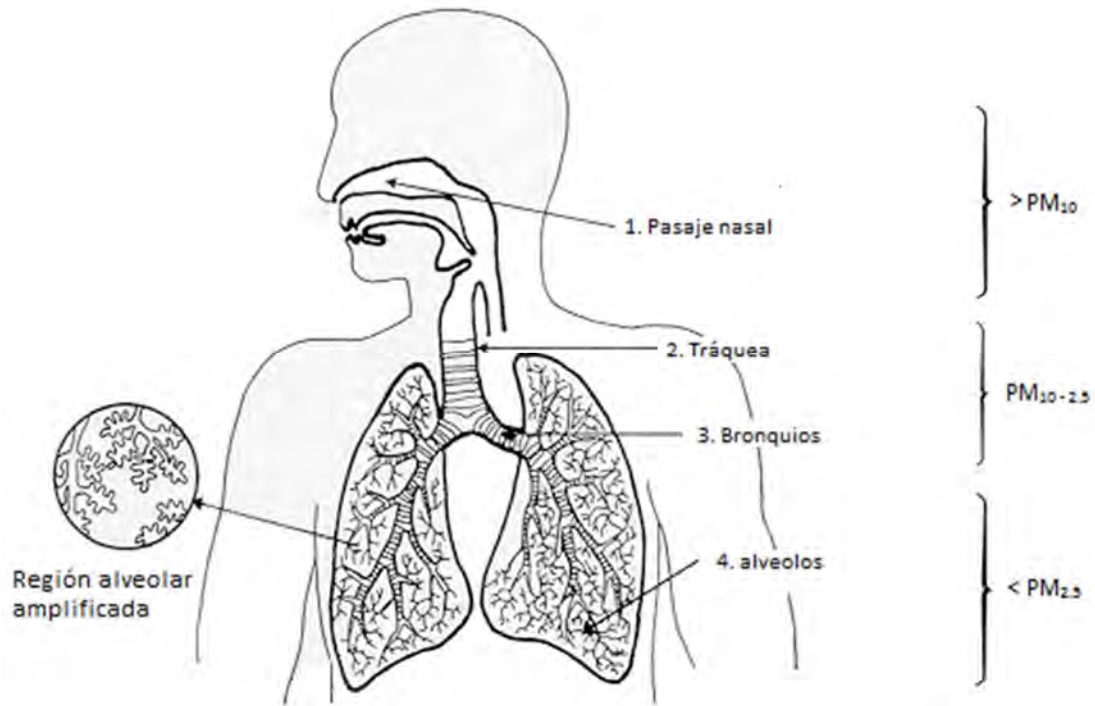


Figura 2. Depósito de las partículas según su tamaño en el sistema respiratorio humano. Modificado de Hinds (1982).

1.7 Efectos de las partículas atmosféricas en la salud

Los efectos en la salud por el material particulado dependen de algunas propiedades como su masa, tamaño, composición, número, área superficial, etc. Estudios epidemiológicos y toxicológicos realizados desde hace algunas décadas en diversos lugares del mundo, incluida la Ciudad de México, han demostrado que algunos grupos poblacionales son más vulnerables a la exposición del aerosol atmosférico, como niños, ancianos y personas con enfermedades pulmonares y cardiopatías (Borja-Aburto 2000, Rosales-Castillo *et al.* 2001). La inflamación en los pulmones causada por la depósito de partículas respirables puede verse como un proceso clave en la generación de efectos adversos al sistema cardiovascular (Finlayson-Pitts y Pitts 2000). La **figura 3** ilustra tres vías que ligan la exposición a partículas ambientales y la inflamación pulmonar con la mortalidad o la hospitalización por causas cardiovasculares (Donaldson *et al.* 2005).

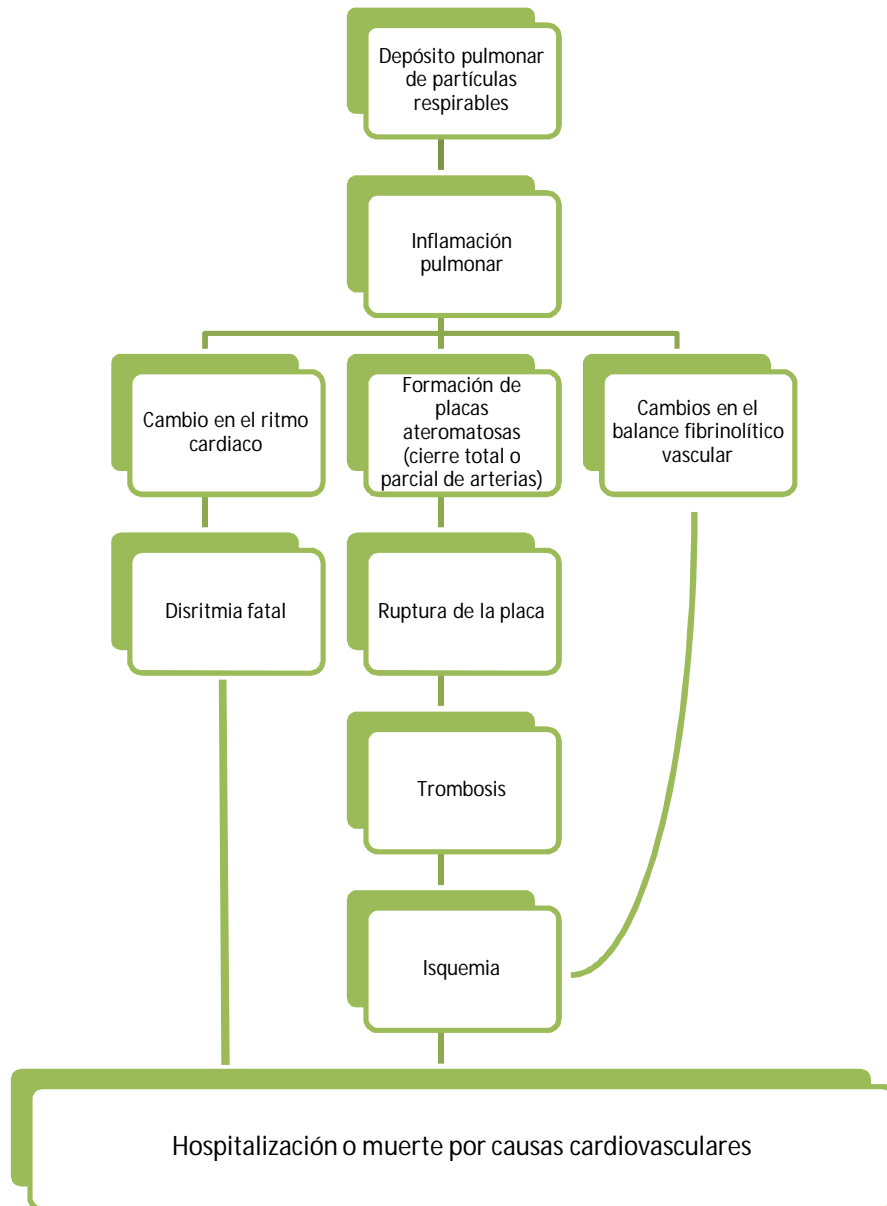


Figura 3. Vías hipotéticas de los problemas cardiovasculares producidos por el depósito de las partículas respirables en los pulmones, modificado de Donaldson *et al.* (2005).

Está claro que el material particulado es un importante factor de riesgo en la tasa de mortalidad y morbilidad vascular (Pope *et al.* 2004), así como lo son el alcoholismo, el tabaquismo y la diabetes. Aunque, los mecanismos que relacionan la exposición al material particulado con los daños cardiovasculares no han sido elucidados completamente, diversos autores han postulado tres hipótesis (Polichetti *et al.* 2009):

1. Las partículas respirables se depositan en los pulmones, causando una inflamación que subsecuentemente provoca un daño en el tejido alveolar, generando problemas cardiovasculares (Seaton *et al.* 1995, Polichetti *et al.* 2009).
2. Se ha dicho que es muy corto el lapso de tiempo que pasa entre la exposición a las partículas y los primeros síntomas cardiovasculares, esto se explica con la evidencia de que las partículas ultrafinas respirables pasan al sistema circulatorio, afectándolo de manera directa (Godleski *et al.* 2000, Nemmar *et al.* 2001).
3. El impacto del material particulado en el sistema nervioso central al disminuir el ritmo cardiaco y generar problemas cardiovasculares no se ha estudiado a fondo. Los efectos pueden deberse a la interacción de las partículas con la parte terminal del nervio o por la respuesta local del sistema en presencia del material particulado (Donaldson *et al.* 2005, Polichetti *et al.* 2009).

1.8 Composición de las partículas atmosféricas

Algunos estudios toxicológicos han intentado explicar cuáles son los mecanismos de acción de las partículas sobre las células alveolares (Ferion *et al.* 1992, Ducharme *et al.* 2004), su probable carcinogenicidad (Pope *et al.* 2004) y mutagenicidad (Villalobos-Pietrini *et al.* 2007); sin embargo, los resultados no han sido concluyentes. Se ha planteado que la composición química es uno de los factores más influyentes en dichos efectos. Las partículas atmosféricas están conformadas por compuestos orgánicos e inorgánicos. Existe gran variedad de material orgánico presente en el material particulado: alcanos, alquenos, compuestos aromáticos, ácidos grasos, alcoholes, etc. (Finlayson-Pitts y Pitts 2000). Entre los componentes inorgánicos presentes en las partículas se encuentran distintos tipos de óxidos, nitratos, sulfatos así como ácidos suspendidos a los que se le atribuye efectos negativos sobre la salud, tales como agudización del asma y daños en el tejido pulmonar (EPA 1996).

1.9 Distribución de las especies inorgánicas en el material particulado

La **tabla III** muestra el diámetro aerodinámico de masa media (DAMM) para componentes inorgánicos comúnmente presentes en las partículas atmosféricas. También se muestra el factor de enriquecimiento relativo a la corteza (FEcor), usando aluminio como elemento de referencia. El factor de referencia para un elemento X se calcula como:

$$FE_{cor} = \frac{(X/Al)_{part}}{(X/Al)_{fnt}}$$

Ecuación 1

Donde:

“part” indica la concentración en la partícula y “fnt” su concentración en la fuente de emisión, en este caso la corteza terrestre.

Tabla III. Diámetros aerodinámicos de masa media de partículas atmosféricas (DAMM) con elementos y factores de enriquecimiento por corteza terrestre (FEcor) (Finlayson-Pitts y Pitts 2000)

Elemento	DAMM [μm]	FEcor	Elemento	DAMM [μm]	FEcor
Pb	0.55	1500	Co	2.63	3.5
Hg	0.61	560	Cl	3.04	740
Cd	0.84	1900	Ba	3.31	5.5
Br	0.89	1900	Fe	3.42	2.1
Ni	0.98	32	K	3.76	2.0
I	1.03	510	Na	3.78	4.4
As	1.11	310	Si	3.90	0.79
Cr	1.11	8.1	Al	4.54	1.0
Zn	1.13	260	Ca	4.64	2.8
Cu	1.29	100	Mg	6.34	2.4
V	1.44	14	Ti	6.52	1.4
Mn	2.06	3.9			

Un valor de FEcor cercano a uno indica que la composición de las partículas concuerda con la de una partícula formada por erosión de la superficie terrestre. En este caso, se puede esperar que el diámetro se encuentra en el intervalo de las partículas gruesas (>2.5 μm).

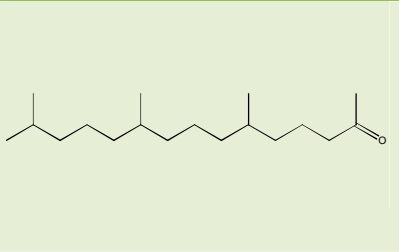
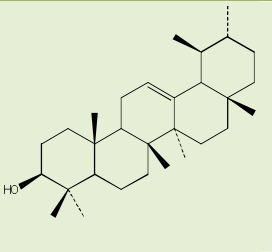
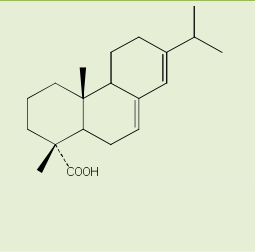
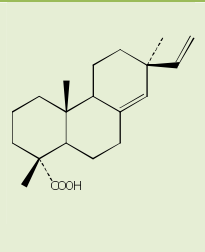
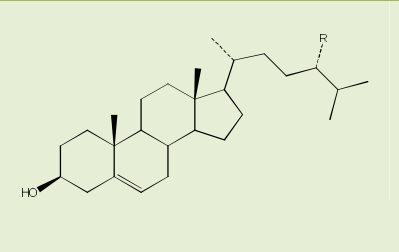
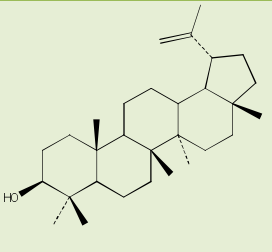
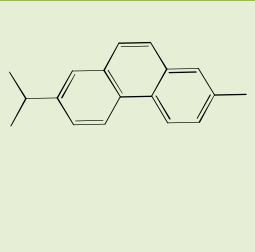
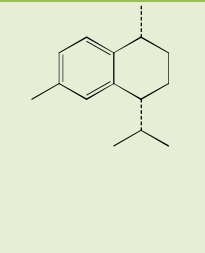
Estos datos muestran claramente algunas características del material particulado. Por ejemplo, el plomo tiene un DAMM de 0.55 μm y un FEcor de 1500 lo que indica que la fuente principal de generación no es la corteza terrestre. Este elemento se emite a la atmósfera por la combustión de

gasolina con plomo y como resultado se encuentra principalmente en partículas finas. Un elemento tanto de origen eólico como de combustión es el vanadio, con un DAMM de 1.44 μm y un F_Ecor de 14. La presencia de este elemento tanto en partículas finas y gruesas se debe a la combustión de derivados del petróleo, y a la erosión de la corteza respectivamente (Finlayson-Pitts y Pitts 2000).

1.10 Componentes orgánicos de las partículas atmosféricas

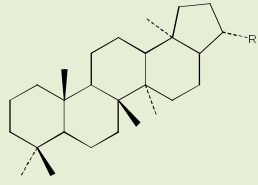
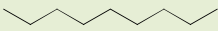
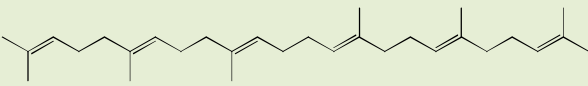
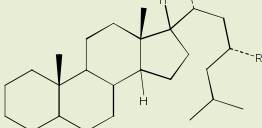
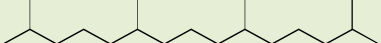
La composición orgánica del aerosol atmosférico es compleja. La **tabla IV** muestra algunos compuestos orgánicos identificados en el aerosol no urbano, emitidos por procesos biogénicos, aunque existen también una variedad de orgánicos que dependen del tiempo, la región etc. (Finlayson-Pitts y Pitts 2000). Por ejemplo, se han observado largas cadenas de alquenonas en Nueva Zelanda cuya emisión se debe a una especie de alga que también se encuentra en la Samoa Americana, donde no hay información de la emisión de dichas cadenas (Sicre *et al.* 1990).

Tabla IV. Algunos compuestos orgánicos presentes en partículas atmosféricas emitidos por procesos biogénicos (Simoneit 1967)

			
6,10,14-Trimetilpentadecan-2-ona	α -Amirina	Ac. Abiético	Ac. Pimárico
			
Colesterol: R=H Campesterol: R=CH ₃ β -Sitosterol: R=C ₂ H ₅	Lupeol	Reteno	Calameno

Las partículas emitidas en regiones con influencia antrópica y aquellas oxidadas, son más complejas que las presentes en regiones remotas no urbanizadas (Finlayson-Pitts y Pitts 2000). La **tabla V** muestra algunos compuestos orgánicos asociados con la combustión de derivados del petróleo que se han observado en partículas atmosféricas (Simoneit 1967).

Tabla V. Diferentes compuestos orgánicos derivados del petróleo identificados en el aerosol atmosférico (Simoneit 1967)

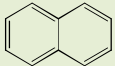
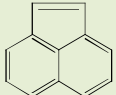
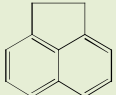
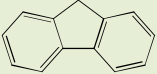
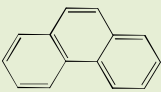
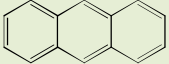
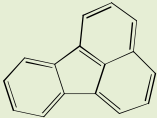
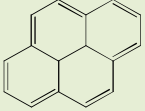
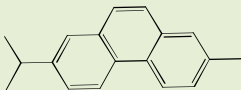
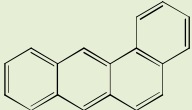
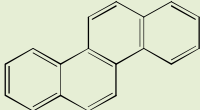
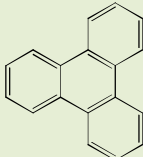
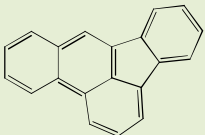
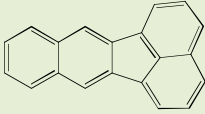
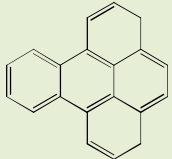
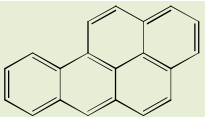
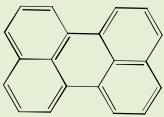
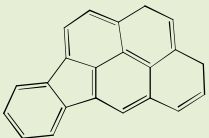
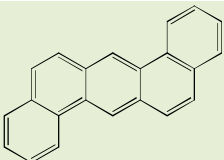
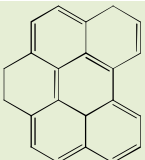
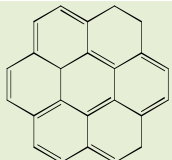
	
Hopanos: R=H, C ₂ H ₅ a C ₈ H ₁₇	n-alcano
	
Terpenos	Esteranos
	
Pristano	

1.11 Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos

Los hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAP) están asociados con el aumento en la incidencia de diversos tipos de cáncer en el hombre. Algunos son carcinogénicos, mutagénicos y posibles modificadores endócrinos, por lo que su determinación en muestras ambientales es importante para su control y minimización ante su exposición (Mastandrea *et al.* 2005).

Los HAP son compuestos orgánicos formados únicamente de carbono e hidrógeno con una estructura de anillos aromáticos fusionados con al menos dos anillos bencénicos. Algunos pueden contener anillos que no son de seis miembros, la **tabla VI** proporciona las estructuras representativas de varios HAP.

Tabla VI. Estructura de los hidrocarburos aromáticos policíclicos

		
1. Naftaleno, C ₁₀ H ₈ PM. 128.171 CAS 91-20-3	2. Acenaftileno, C ₁₂ H ₈ PM. 152.192 CAS 208-96-8	3. Acenafteno, C ₁₂ H ₁₀ PM. 154.208 CAS 83-32-9
		
4. Fluoreno, C ₁₃ H ₁₀ PM. 166.219 CAS 86-73-7	5. Fenantreno, C ₁₄ H ₁₀ PM. 178.229 CAS 85-01-8	6. Antraceno, C ₁₄ H ₁₀ PM. 178.229 CAS 120-12-7
		
7. Fluoranteno, C ₁₆ H ₁₀ PM. 202.251 CAS 206-44-0	8. Pireno, C ₁₆ H ₁₀ PM. 202.251 CAS 129-00-0	9. Reteno, C ₁₈ H ₁₈ PM. 234.336 CAS 483-65-8
		
10. Benzo[a]antraceno, C ₁₈ H ₁₂ PM. 228.228 CAS 56-55-3	11. Criseno, C ₁₈ H ₁₂ PM. 228.228 CAS 218-01-9	12. Trifenileno, C ₁₈ H ₁₂ PM. 228.278 CAS 217-59-4
		
13. Benzo[b]fluoranteno, C ₂₀ H ₁₂ PM. 252.309 CAS 205-99-2	14. Benzo[k]fluoranteno, C ₂₀ H ₁₂ PM. 252.309 CAS 207-08-9	15. Benzo[e]pireno, C ₂₀ H ₁₂ PM. 252.309 CAS 192-97-2
		
16. Benzo[a]pireno, C ₂₀ H ₁₂ PM. 252.309 CAS 50-32-8	17. Perileno, C ₂₀ H ₁₂ PM. 252.309 CAS 198-55-0	18. Indeno[1,2,3-cd]pireno, C ₂₂ H ₁₂ PM. 276.331 CAS 193-39-5
		
19. Dibenzo[a,h]antraceno, C ₂₂ H ₁₄ PM. 278.347 CAS 53-70-3	20. Benzo[ghi]perileno, C ₂₂ H ₁₂ PM. 276.331 CAS 191-24-2	21. Coroneno, C ₂₄ H ₁₂ PM. 300.352 CAS 191-07-1

CAS – "Chemical Abstract Service", PM – Peso molecular [g mol⁻¹].

Los HAP de tres o más anillos presentan baja solubilidad en agua, es decir son altamente hidrofóbicos, solubles en grasas, lo que los hace difíciles de eliminar del organismo, ya que los fluidos sanguíneos y celulares están constituidos en su mayor parte por agua. Esta propiedad hace que aumente su habilidad para insertarse en las moléculas de ADN interfiriendo con los procesos de transcripción y replicación. Por ello, se piensa que su carácter mutagénico y carcinogénico aumenta con su peso molecular (Sienfeld y Pandis 2006, Vallero 2006, Ravindra *et al.* 2008).

En general los HAP de más de cuatro anillos presentan baja presión de vapor a temperatura ambiente y se encuentran en la fase particulada. Los de tres y cuatro anillos se distribuyen entre la fases gaseosa y particulada del aerosol atmosférico mientras que los de dos anillos sólo se encuentran en la fase gas como se muestra en la **tabla VII** (Sienfeld y Pandis 2006, Ravindra *et al.* 2008).

Tabla VII. Coeficientes de partición (K_{ow}) estimados entre las fases particulada y gaseosa de diferentes HAP basada en datos colectados en Osaka, Japón asumiendo una cantidad total de masa de aerosol de $100 \mu\text{g m}^{-3}$. Modificado de Seinfeld y Pandis (2006)

Compuesto	K_{ow} (20 °C)
Fluoreno	4.8×10^{-6}
Fenantreno	3.1×10^{-5}
Antraceno	3.3×10^{-5}
Fluoranteno	3.6×10^{-4}
Pireno	5.6×10^{-4}
Benzo[a]fluoreno	1.9×10^{-3}
Benzo[b]fluoreno	1.8×10^{-3}
Benzo[a]antraceno	0.012
Criseno	0.013
Trifenileno	0.013
Benzo[b]fluoranteno	0.16
Benzo[k]fluoranteno	0.17
Benzo[a]pireno	0.27
Benzo[e]pireno	0.29
Indeno[1,2,3-cd]pireno + Dibenzo[a,h]antraceno	$1 \times 10^{-0.3}$
Benzo[ghi]perileno	1×10^{-1}

C_{PM} – concentración en fase particulada. C_{gas} – concentración en fase gas

1.12 Formación de HAP

Algunos HAP pueden sintetizarse a partir de hidrocarburos saturados bajo ciertas condiciones deficientes de oxígeno. Así, la piro-síntesis y la pirólisis son los dos principales mecanismos que pueden explicar la formación de HAP. Los de bajo peso molecular pueden formarse por

pirosíntesis. Cuando la temperatura excede los 500 °C, los enlaces carbono-hidrógeno y carbono-carbono se rompen formando radicales libres, que se combinan con acetileno que posteriormente se condensa en estructuras aromáticas resistentes a la degradación térmica. La **figura 4** ilustra el proceso de formación a partir de etano. La existencia de anillos aromáticos a esas temperaturas conduce a la formación de HAP. Los compuestos insaturados son especialmente susceptibles a participar en las reacciones de formación de HAP. La tendencia de los hidrocarburos a formar HAP por pirosíntesis varía en el orden: aromáticos > olefinas > parafinas. Finalmente, los alcanos más grandes, tienden a formar HAP por procesos de pirólisis, como los involucrados en el "craqueo" de compuestos orgánicos para formar radicales libres y moléculas más pequeñas y menos estables (Manahan 1994, Ravindra *et al.* 2008).

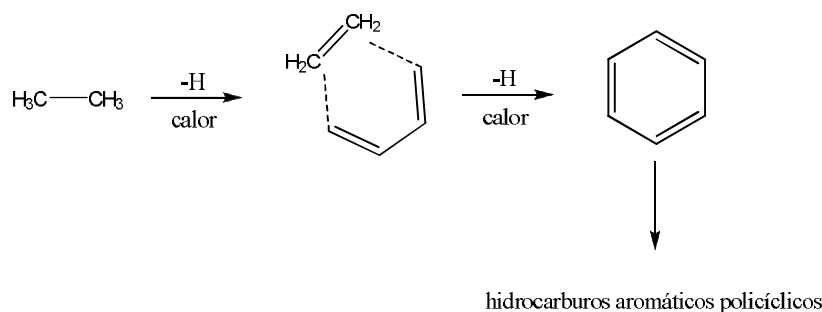


Figura 4. Pirosíntesis de HAP a partir de etano. Modificado de Manahan (1994)

1.13 Fuentes de HAP

En la naturaleza, los HAP pueden formarse por tres vías: pirólisis de materiales orgánicos, como subproductos en la formación de combustibles fósiles y por biosíntesis de plantas y bacterias. Las fuentes incluyen la quema de bosques (que no sean por acción humana) o las erupciones volcánicas (Neff 1979, Wild y Jones 1995). También se encuentran en alquitrán, petróleo crudo, e impermeabilizantes. Algunos se usan en medicina o en la fabricación de colorantes, plásticos y pesticidas. En general, existen 5 fuentes de emisión de HAP: domésticas, móviles, industriales, naturales y las provenientes de la agricultura (Franck y Stadelholfer 1987, Ravindra *et al.* 2008).

Las emisiones domésticas están asociadas predominantemente con la quema de carbón, aceite, gas, basura u otras sustancias orgánicas como el tabaco o la carne cocida al carbón. Dichas emisiones se asocian con un tamaño de partícula menor a 2 µm y varían dependiendo de la

naturaleza del combustible y las condiciones de la combustión como son la temperatura y la disponibilidad de oxígeno (Smith 1987, Jenkis *et al.* 1996).

Las fuentes móviles incluyen la emisión de vehículos, aviones, barcos y trenes, entre otros. Las emisiones de HAP de estas fuentes dependen del tipo de motor, la carga y la edad, el tipo de combustible y la calidad de éste. Además, dependen también del modo de conducción, la temperatura del motor, los lubricantes presentes en él, etc. Paturel *et al.* (1996) encontraron que las emisiones de HAP aumentan con el motor en frío y a baja velocidad, y Devos *et al.* (2006) concluyeron que las emisiones con el motor frío fueron alrededor de 10 veces mayores con motores a gasolina que los motores a diesel. La mayor parte de los estudios demostraron que las emisiones de fuentes móviles (particularmente los vehículos) aportaron la mayor contribución de HAP en áreas urbanas (Jenkins *et al.* 1996, Devos *et al.* 2006).

Las principales fuentes de emisión industrial son la producción de aluminio, coque, cemento, la incineración de desechos y la industria petroquímica. Estudios hechos por Yang *et al.* (1998) encontraron que HAP como acenaftileno, acenafteno, antraceno, indeno[1,2,3-*cd*]pireno y criseno pueden ser posibles marcadores de emisiones industriales.

Las fuentes de emisión por la agricultura incluyen la quema del desecho de dicha actividad, y las quemas a campo abierto de los procesos de corta y siembra. Godoi *et al.* (2004) estudiaron las emisiones de HAP provenientes de la temporada de quema de la caña, siendo fenantreno, fluoranteno y pireno las especies predominantes.

1.14 Reacciones atmosféricas de HAP

La intensidad solar favorece las transformaciones con estos compuestos policíclicos. Algunos HAP como el benzo[*a*]pireno (BaP) reaccionan en presencia de NO₂ y HNO₃ (ambos necesarios) para formar nitro-HAP. La naturaleza de esta reacción depende fuertemente de la naturaleza del aerosol por lo que Nielsen *et al.* (1984) propusieron una clasificación de HAP según su reactividad como la que muestra la **tabla VIII** (Vallero 2006).

Tabla VIII. Escala de reactividad para reacciones electrofílicas de HAP. Modificado de Seinfeld y Pandis (2006)

Orden de reactividad*	HAP
I	Dibenzo[<i>a,h</i>]antraceno, pentaceno, tetraceno
II	Antraceno, benzo[<i>a</i>]pireno, ciclopenta[<i>cd</i>]pireno, perileno
III	Benzo[<i>a</i>]antraceno, benzo[<i>ghi</i>]perileno, pireno
IV	Benzo[<i>e</i>]pireno, criseno, coroneno
V	Acenaftileno, benzo[<i>b</i>]fluoranteno, fluoranteno, indeno[1,2,3- <i>cd</i>]pireno, naftaleno, fenantreno
VI	Bifenilo

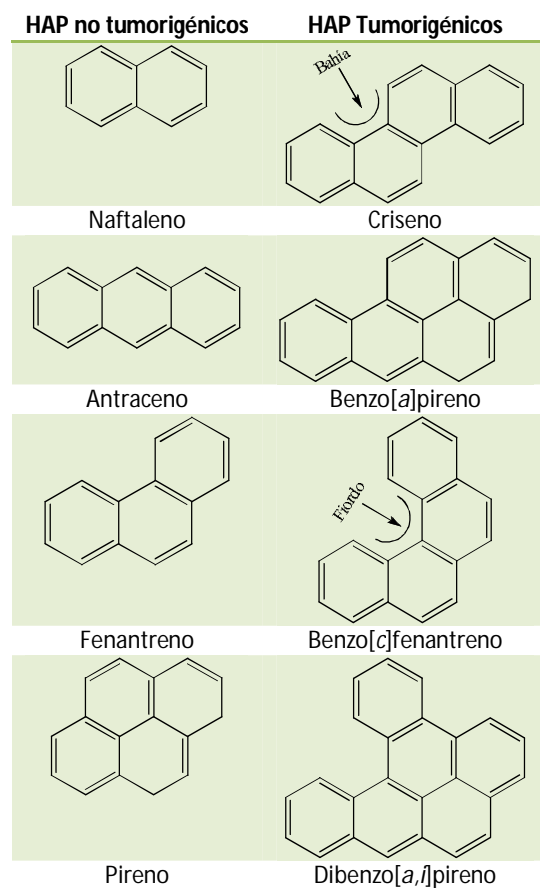
* La reactividad decrece en el orden I a VI

1.15 Efectos de los HAP sobre la salud

Estudios epidemiológicos han sugerido que la exposición prolongada al hollín, a las emisiones vehiculares y a otras matrices atmosféricas que contengan HAP provoca cáncer en los seres humanos (Grimmer 1991, WHO 1998). Dicha actividad carcinogénica está asociada a:

1. La estructura de la molécula. Presentan mayor actividad carcinogénica aquellos HAP con al menos 4 anillos aromáticos y arreglados de tal forma que la molécula presente una bahía o fiordo, con algunas excepciones (**tabla IX**).
2. Su posible activación metabólica para unirse covalentemente a sitios críticos del ADN, ARN y proteínas, causando interferencia con la transcripción, replicación y síntesis de proteínas (Sims y Grover 1974).

Tabla IX. Ejemplos de HAP no tumorigénicos y tumorigénicos. Las bahías y fiordos se indican con flechas.
Modificado de Carl-Elis *et al.* (2002)



El HAP mejor estudiado hasta el momento es el benzo[a]pireno, cuya actividad carcinogénica vía dérmica, intraperitoneal e intratraqueal, por inhalación y oral se ha evidenciado. En base a estos estudios, otros HAP han sido clasificados por la Agencia Internacional de Investigación sobre el Cáncer (IARC por sus siglas en inglés) como probables o posibles carcinogénicos en humanos, y diversos autores han usado esta información para establecer una potencia cancerígena relativa de estos compuestos respecto al B[a]P como se muestra en la **tabla X** (IARC 1983, 1984 a,b 1985, Carl-Elis *et al.* 2002).

Tabla X. Potencia cancerígena relativa de HAP comparados con el B[a]P. Modificado de Carl-Elis *et al.* (2002).

Compuesto*	Nibsbet y LaGoy (1992)	Muller (1997)	Larsen y Larsen (1998)
Antraceno	0.01		0.0005
Fenantreno	0.001	0.00064	0.0005
Benzo[a]antraceno	0.1	0.014	0.005
Benzo[c]fenantreno		0.023	0.023
Criseno	0.01	0.026	0.03
Fluoranteno	0.001		0.05
Pireno	0.001	0	0.001
Benzo[a]pireno	1	1	1
Benzo[e]pireno		0	0.002
Benzo[b]fluoranteno	0.1	0.11	0.1
Benzo[j]fluoranteno		0.045	0.05
Benzo[k]fluoranteno	0.1	0.037	0.05
Ciclopenta[cd]pireno		0.012	0.02
Dibenzo[a,h]antraceno	5	10	1.1
Antraceno		0.28	0.3
Benzo[ghi]perileno	0.01	0.012	0.02
Dibenzo[a,e]pireno		0.89	0.2
Dibenzo[a,h]pireno		1.2	1
Dibenzo[a,i]pireno			0.1
Dibenzo[a,l]pireno		100	10
Indeno[1,2,3-cd]pireno	0.1	0.067	0.1

* Puede observarse que los HAP de mayor actividad carcinogénica son dibenzo[a,l]pireno, (DB[a,l]P) y dibenzo[a,h]antraceno (DBA)

Se estima que el DB[a,l]P tiene un potencial carcinogénico 100 veces mayor que el B[a]P. Al tener un alto peso molecular, se encuentra en la fase particulada. Se ha identificado en el humo del tabaco, en los productos de la gasificación del carbón y en el humo de la quema de madera. El DB[a,l]P es considerado mutágeno *in vivo* (Devanesan *et al.* 1990, Cavalieri *et al.* 1991). Su mutagenicidad se ha demostrado en diferentes estudios llevados a cabo en roedores: la aplicación en el tejido dérmico de ratones produce tumores en diferentes sitios incluyendo la piel y el pulmón, así como linfoma maligno en diferentes órganos; además se sugiere que el DB[a,l]P actúa como iniciador y promotor de cáncer en la piel de ratones (Cavalieri *et al.* 1991, Higginbotham *et al.* 1993).

Por su parte, el DBA ha logrado identificarse en el humo del cigarro de marihuana (Lee *et al.* 1998), emisiones de vehículos diesel (Carmichael *et al.* 1990), refinerías de petróleo (Karlesky *et al.* 1987), humo de aceite de cocina (Li *et al.* 1994) y en la combustión del cigarro en concentraciones de 0.1 – 0.15 mg kg⁻¹ de humo condensado (Hoffmann y Winder 1960). Se estima que la potencia del DBA

para inducir tumores en ratones por vía intrapulmonar es el doble que la del B[a]P, mientras que en otras rutas de administración como la subcutánea se ha reportado ser 10 veces más potente que el B[a]P (Nesnow *et al.* 1998).

1.16 Los HAP y la calidad del aire

Diversos países han añadido a los HAP en las listas de contaminantes peligrosos pero no existe un estándar de la calidad de aire para ellos. La Agencia de Protección Ambiental (EPA, por sus siglas en inglés) los clasifica utilizando el BaP como indicador de carcinogenicidad clase B2: probablemente carcinógeno en humanos con evidencia insuficiente en estudios animales (EPA 1996). La Unión Europea ha propuesto una concentración máxima promedio anual de 1 ng m^{-3} de BaP en PM_{10} (EUD 2004). De manera similar, otros países como Holanda y la Agencia Ambiental Federal Alemana han propuesto reducir el promedio anual de concentraciones de BaP por debajo de los 10 ng m^{-3} (Ravindra *et al.* 2008). En el caso de México la norma oficial mexicana NOM-025-SSA1-2005 establece los valores de concentración máxima para partículas suspendidas totales (PST), PM_{10} y $\text{PM}_{2.5}$ en promedio de 24 horas: $210 \text{ } \mu\text{g m}^{-3}$, $120 \text{ } \mu\text{g m}^{-3}$ y $65 \text{ } \mu\text{g m}^{-3}$ respectivamente, pero no regula valores de BaP u otro HAP (NOM 2005).

1.17 Diesel

El petróleo fue descubierto en 1859 en Pennsylvania. El primer producto refinado de este fue el keroseno que se ocupaba en las lámparas, y fue Roudolf Diesel quién descubrió que los subproductos de dicha refinación podían ser mejores combustibles que el carbón. Así, este cambio de combustible, junto con algunas mejoras en el diseño mecánico resultó en el primer prototipo de motor a diesel. Hoy en día, tanto el motor como el combustible llevan su nombre (Chevron 2007).

Los primeros motores a diesel comerciales eran grandes y operaban a velocidades limitadas. Para 1930 ya se usaban en autobuses, camiones, barcos y plantas industriales. En la actualidad los principales usos del diesel son:

- Transporte terrestre y marítimo
- Agricultura
- Generación de energía eléctrica

- Maquinaria para la construcción
- Minería

El término “combustible diesel” es genérico, se refiere a cualquier combustible para un motor de combustión por compresión, a diferencia de los motores de ignición como los automóviles que usan gasolina; dicho de otro modo son combustibles hechos comercialmente para vehículos de motor diesel. La ASTM International (Sociedad americana para pruebas y materiales por sus siglas en inglés) ha designado 3 grados de calidad del diesel: 1-D, 2-D y 4-D. El aumento en el grado refleja un incremento en la densidad y viscosidad del combustible, otras características se muestran en la **tabla XI** (Chevron 2007, ASTM 2010).

Tabla XI. Características de los diferentes tipos de diesel (ASTM 2010)

Propiedad	No. 1-D	No. 2-D	No. 4-D
Punto de inflamación [°C]	38	52	55
Agua y sedimentos [% vol.]	0.05	0.05	0.5
Viscosidad [$\text{mm}^2 \text{s}^{-1}$ a 40 °C]	1.3 – 2.4	1.9 – 4.1	5.5 – 24
Azufre [ppm]	15	15	-
Índice de Cetano	40	40	30

1.18 Emisiones por combustión de diesel

La inherente eficiencia del motor a diesel, en comparación con el motor a gasolina, reduce sustancialmente las emisiones de CO₂ por kilómetro, pero emiten más NO_x y partículas (Chevron 2007). Los parámetros más importantes que afectan a las emisiones de la combustión de diesel son el contenido de azufre, el índice de cetano y los compuestos aromáticos (Lee *et al.* 1998).

- Azufre

El contenido de azufre en el diesel añade sulfatos a las emisiones de su combustión aumentando así la cantidad de material particulado. En general disminuir la cantidad de azufre presente en el combustible disminuye linealmente la cantidad de partículas (Lee *et al.* 1998).

- Índice de cetano

Así como el octano mide la calidad de ignición de la gasolina, el índice de cetano mide la calidad de ignición del diesel. La escala se basa en las características de ignición de dos hidrocarburos: n-hexadecano y heptametilnonano. El diesel con alto número de cetano (50) presenta menor retraso

de ignición en el motor, lo que suaviza sus condiciones de operación y reduce las emisiones de material particulado y NO_x (Lee *et al.* 1998)

- Compuestos aromáticos

La disminución de la cantidad total de aromáticos presentes en el diesel, reduce la temperatura de ignición, y por lo tanto las emisiones de NO_x. Los estudios hechos por Mi *et al.* (2000) concluyeron que los hidrocarburos aromáticos policíclicos, como fluoreno, en el diesel aumentan entre 2 y 5 veces las emisiones de HAP (Lee *et al.* 1998). La **tabla XII** resume las relaciones entre las propiedades del diesel y el rendimiento del motor.

Tabla XII. Relaciones entre las características del combustible diesel y el rendimiento del motor. Modificado de Chevron (2007)

PROPIEDAD	EFEECTO EN EL RENDIMIENTO
Punto de inflamación	Seguridad en su uso y manejo (no relacionado directamente con el rendimiento).
Agua y sedimentos	Afecta los inyectores y filtros.
Volatilidad	Facilita el encendido.
Viscosidad	Afecta la atomización y la lubricación del motor.
Cenizas	Pueden dañar el sistema de inyección del combustible y generar depósitos en la cámara de combustión.
Azufre	Afecta la emisión de PM, desgaste de los cilindros y el tanque de depósito.
Índice de cetano	Medida de la calidad de ignición, afecta las emisiones en el encendido en frío.
Densidad	Afecta el contenido energético del combustible.
Lubricidad	Desgaste del sistema de inyección.

1.19 Biodiesel

La mayor parte de la demanda energética se cubre con recursos no renovables, como son los combustibles fósiles, cuyas reservas están concentradas en regiones específicas del mundo y actualmente en vías de extinción. Aunado a esto, el continuo aumento en la demanda energética a nivel mundial empieza a hacer más atractivo el uso de combustibles alternativos, algunos renovables y amigables con el ambiente. Para que un combustible alternativo al diesel de petróleo o petrodiesel sea aceptado, debe ser técnicamente viable, económicamente competitivo, amigable con el ambiente y de fácil disponibilidad. Uno de esos combustibles que exhibe gran potencial es el biocombustible, combustibles líquidos o gaseosos que se generan a partir de biomasa (Demirbas 2006). Ofrecen varias ventajas ya que son sustentables, reducen los gases de efecto invernadero y contribuyen al desarrollo de la agricultura regional (Reijnders 2006). Uno de

ellos es el biodiesel, una mezcla de ésteres monoalquílicos de ácidos grasos de cadena larga (de C₁₄ a C₂₂) derivados de aceites vegetales o grasas animales (Demirbas 2007, 2009).

1.20 Producción de biodiesel

La producción del biodiesel no es algo nuevo, el concepto de usar aceite vegetal como combustible data de 1900, cuando Roudolf Diesel desarrolló el primer motor a diesel que funcionaba con aceite vegetal. En 1911, Roudolf declaró que el empleo de aceites vegetales como combustible ayudaba en el desarrollo de la agricultura de los países que usaran dicho tipo de motor. Después de ocho décadas esta idea se hace realidad con un mayor consumo de biodiesel alrededor del mundo (Bijalwan *et al.* 2006).

En general, el aceite vegetal contiene cerca del 97% de triglicéridos y 3% de di- y monoglicéridos y ácidos grasos, lo que le otorga una viscosidad entre 10 y 17 veces mayor a la del petrodiesel. Con el fin de optimizar dicha viscosidad, en la producción de biodiesel, el aceite se somete a una reacción de transesterificación en presencia de hidróxido de sodio o potasio como catalizador formando ésteres (**figura 5**) (Demirbas 2009).

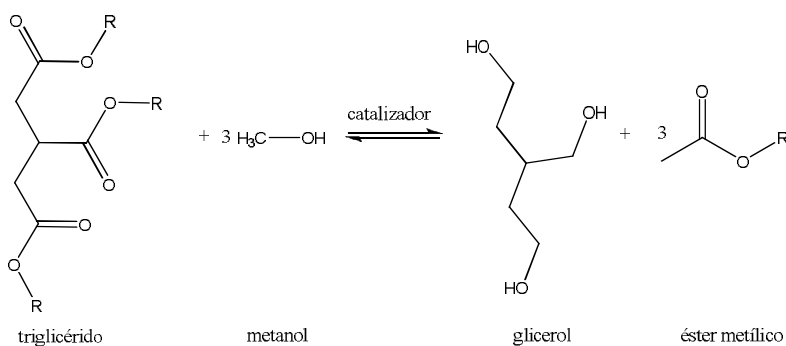


Figura 5. Reacción de transesterificación de aceites vegetales.

Para la fabricación de biodiesel puede utilizarse aceite de origen vegetal como soya, cacahuate, girasol, coco, algodón, jatrofa, canola, palma, mostaza y karanja por mencionar algunos. El caso de la karanja (pungamia) es un buen ejemplo del uso de plantas no comestibles para este fin, ya que sólo se utiliza en promedio 6 % de las 200 millones de toneladas al año para la fabricación de repelentes de insectos (Meher *et al.* 2006, Murugesan *et al.* 2009). En el caso de grasas animales suele usarse sebo de carne vacuno y ovino, así como aceite de aves de corral (Demirbas 2009).

1.21 Ventajas del biodiesel como combustible alternativo al diesel

Es fácilmente disponible, renovable, con alta eficiencia en la combustión, con menor contenido de compuestos con azufre y aromáticos y es biodegradable.

Es uno de los pocos combustibles alternos que mezclado en baja concentración con diesel funciona en motores a diesel convencionales sin necesidad de modificarlos. Existen diferentes mezclas que varían en el porcentaje de biodiesel empleado: el denominado B5, constituido por 5 % biodiesel y 95 % diesel, mientras que el B20 presenta 20 % de biodiesel y 80 % de petrodiesel. El biodiesel puro se conoce como B100 (Demirbas 2007, 2009).

El contenido de oxígeno en el biodiesel (contiene dos átomos de oxígeno por molécula, entre el 10 y 12 % en peso de oxígeno) ocasiona una mejora en el proceso de combustión, también presenta mejores propiedades lubricantes que el petrodiesel, lo que puede extender la vida del motor (Demirbas 2007, Fontaras *et al.* 2010).

No es tóxico y se degrada aproximadamente 4 veces más rápido que el petrodiesel. Su contenido de oxígeno mejora el proceso de degradación. Zhang *et al.* (1998) demostraron que después de 28 días, la degradación del biodiesel en medio acuoso es del 77 al 89 %, mientras la del petrodiesel es de 18% en el mismo tiempo (**tabla XIII**).

Tabla XIII. Porcentajes de biodegradación de combustibles fósiles y biocombustibles. Modificado de Demirbas (2009)

Combustible	Degradación en 28 días [%]	Referencia
Gasolina (91 octanos)	28	Speidel <i>et al.</i> (2000)
Diesel	11	Walker <i>et al.</i> (1976)
Biodiesel de colza	88	Zhang <i>et al.</i> (1998)
Biodiesel de girasol	90	Zhang <i>et al.</i> (1998)

1.22 Desventajas del biodiesel como combustible alternativo al diesel

Las desventajas más importantes del uso de biodiesel con respecto al petrodiesel son: el menor contenido energético, mayor corrosión al cobre, problemas con el encendido en frío y el bombeo de combustible del tanque al motor por su mayor viscosidad, incrementando el consumo de combustible hasta 5 % dependiendo del tipo de mezcla. Las ventajas y desventajas del uso de biodiesel pueden compararse en la **tabla XIV**.

Tabla XIV. Algunas ventajas y desventajas del uso de biodiesel como combustible alternativo al diesel

Ventajas	Desventajas
Es renovable	Menor contenido energético
Mejora la combustión	Su alta viscosidad dificulta su bombeo del tanque al motor
Menor contenido de compuestos con azufre y aromáticos	Los puntos anteriores generan un mayor consumo de combustible
Se degrada hasta 4 veces más rápido	Mayor corrosión al cobre
En mezclas a baja concentración funciona en motores diesel convencionales	Algunas mezclas de mayor concentración presentan problemas de encendido en frío
Mejores propiedades lubricantes que llegan a extender la vida del motor	Mayor costo de producción
No es tóxico	Cambio de uso de suelo para la agricultura y grandes extensiones de área requerida para su producción
Su alto punto de inflamación lo hace más seguro por lo que no requiere de un manejo o transporte especial	
No contribuye al efecto invernadero, debido a que existe un balance entre el CO ₂ emitido y el absorbido por las plantas utilizadas para su producción	

1.23 Emisiones por combustión de biodiesel

Graboski y McCormick (1998) y Lapuerta *et al.* (2008), demostraron que en general, las mezclas de biodiesel disminuyen la emisión de contaminantes como el CO, y las emisiones de hidrocarburos sin combustión (UBHC por sus siglas en inglés, unburnt hydrocarbon emissions) pues la presencia de oxígeno en la estructura molecular, mejora la combustión (Murugesan *et al.* 2009, Fontaras *et al.* 2010). Por otro lado, estos mismos estudios revelaron que existe un aumento en la emisión de NO_x debido al incremento en la temperatura de la cámara de combustión por el alto punto de inflamación del biodiesel.

Karavalakis *et al.* (2009) mostraron que los combustibles alternativos de origen biológico con oxígeno en su molécula reducen las emisiones de partículas, y aunque se ha demostrado reducción del total de emisiones de hidrocarburos en mezclas de biodiesel, también se ha observado el aumento en la masa de la fracción orgánica soluble (FOS) asociada con las partículas.

La información encontrada en la literatura acerca de las emisiones de HAP por combustión de biodiesel es limitada y frecuentemente contradictoria. Sin embargo, la mayoría de los autores han observado que las emisiones de HAP disminuyen con biodiesel puro o mezclado con petrodiesel, aunque se tiene que reconocer la notable dependencia en las condiciones de operación del motor; algunos resultados se muestran en la **figura 6** (Bagley *et al.* 1998, Correa y Arbilla 2006, Karavalakis *et al.* 2009). Otros autores no observaron diferencias estadísticas significativas en la emisión de

HAP asociados a la fase particulada como benzo[*a*]antraceno o benzo[*ghi*]perileno (Turrio-Baldasari *et al.* 2004).

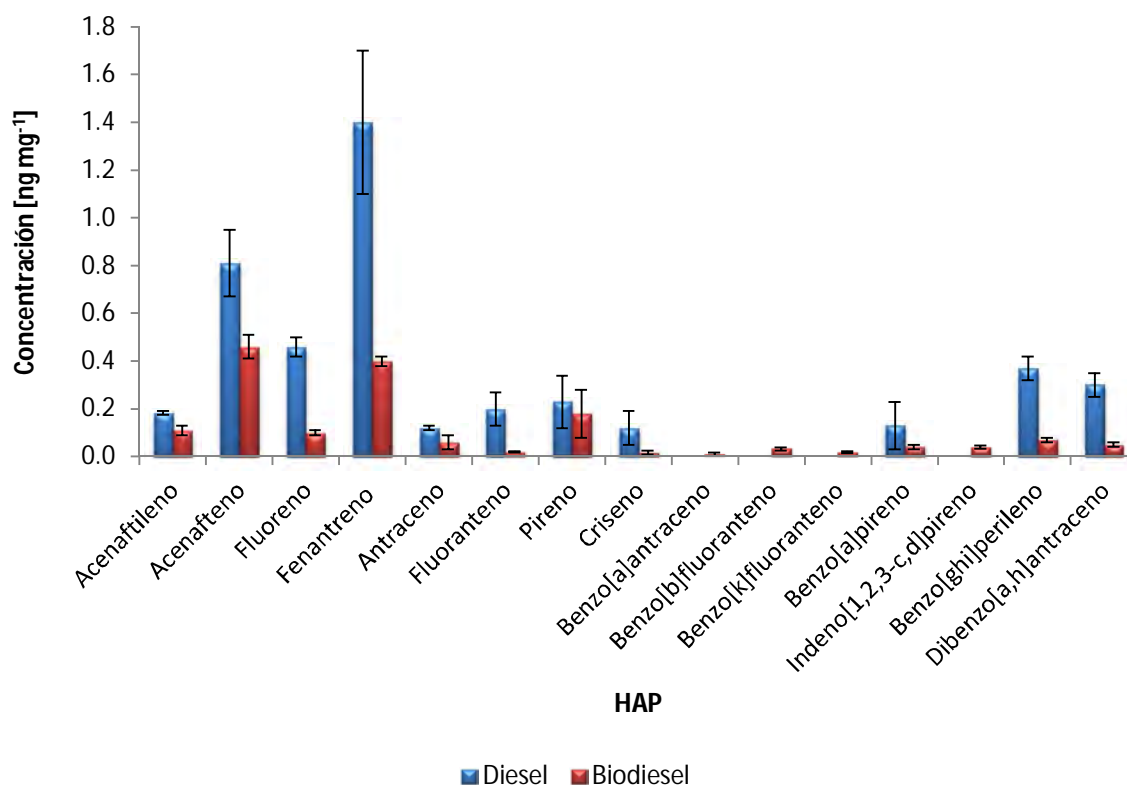


Figura 6. Concentración total de HAP en ng mg⁻¹ de partículas de emisión de un motor Renault en marcha (ralentí) utilizando diesel bajo en azufre y biodiesel de canola (B5) (Borrás *et al.* 2009).

1.24 Validación de un método analítico

La palabra validación tiene su origen en el latín *validus* que significa fuerte, y sugiere que algo que ha sido probado es verdadero, útil y de referencia aceptable (Araujo 2009). La Organización Internacional de Estandarización define validación como la confirmación por examinación y presentación de evidencia objetiva de que se cumplen los requerimientos particulares para un uso previo específico (ISO 1994b). Esta definición implica que se ha llevado a cabo una detallada investigación para evidenciar que un método analítico aplicado de manera correcta produce resultados que se ajustan al propósito y confirma la efectividad de dicho método con un nivel alto de exactitud (Araujo 2009).

En un contexto general, la validación de un método es un proceso que consiste de por lo menos cinco pasos: calificación del sistema instrumental, muestreo, preparación de la muestra, análisis de la muestra y evaluación de datos.

- Calificación del sistema

Una evaluación general del sistema permite verificar que los instrumentos son los indicados para el análisis a realizar, que los materiales (reactivos, referencias certificadas, estándares internos y externos, etc.) son aptos para su uso en las determinaciones analíticas, que los analistas están capacitados y que se cuenta con los procedimientos analíticos, protocolos y criterios de aceptación debidamente documentados. Si se ignora esta calificación general de un sistema y surge un problema, la fuente de dicho problema puede ser difícil de identificar (Swartz y Krull 1997).

- Muestreo

El objetivo del muestreo es asistir en la selección de una fracción representativa del material sujeto a investigación. La elección de un método de muestreo apropiado es de gran importancia para ofrecer la garantía de que la muestra seleccionada es verdaderamente representativa del material como un todo para realizar inferencias estadísticas significativas (Araujo 2009).

- Preparación de la muestra

La preparación de la muestra es un proceso clave para una validación exitosa. Se considera que la preparación de la muestra representa el 60-80% del trabajo y costos operarios en un laboratorio analítico. Se debe tener en cuenta que la selección de un procedimiento de preparación específico depende forzosamente de los analitos, la matriz, el tamaño de la muestra y la técnica instrumental.

- Análisis de la muestra

El análisis está ligado al instrumento empleado para la obtención de información cuantitativa o cualitativa de las muestras con un nivel aceptable de incertidumbre. La elección de un análisis particular debe basarse en consideraciones tales como las propiedades químicas de las especies a analizar, su concentración, la matriz, costos, etc.

- Evaluación de datos

La evaluación de datos permite extraer la información útil y formar conclusiones de una serie de datos por medio de modelos estadísticos o matemáticos. También evalúa el proceso de validación.

1.24 Parámetros de validación de un método analítico

Los principales parámetros definidos por la Conferencia Internacional sobre Armonización (ICH por sus siglas en inglés, International Conference on Harmonization) para evaluar métodos analíticos son: selectividad, exactitud, precisión, linealidad, intervalo de cuantificación, límite de detección, límite de cuantificación y robustez (ICH 1995)

- Selectividad

Es la capacidad del método para identificar correctamente el o los analitos de interés en la presencia de interferencias químicas o físicas. Puede evaluarse mediante blancos de matriz y blancos de matriz fortificados. Los blancos de matriz contienen las especies químicas, además de los analitos de interés, que se espera encontrar en la muestra (EPA 2005).

- Exactitud

Es la proximidad entre el valor experimental obtenido por mediciones repetidas y el valor de referencia aceptado. La determinación de este parámetro permite estimar el grado en el cual los errores sistemáticos afectan un método particular (ISO 1994a). Las principales estrategias para evaluar exactitud son (IUPAC 1999):

- Medición del analito en un material de referencia particular y comparación del resultado en el material certificado. Puede usarse siempre y cuando el material de referencia se asemeje a la concentración de los analitos y la matriz de la muestra en investigación.
- Medición del analito en muestras de matriz enriquecida con dichos analitos a concentración conocida y determinación de su porcentaje de recobro. Presenta la desventaja de desestimar la exactitud si el analito y la matriz se comportan de diferente modo debido a discrepancias en su estructura, reactividad e interrelación.

- Comparación de los resultados del método en validación con aquellos de un método de referencia. Dicho método debe tener una validación de carácter nacional o internacional con principios de medición y de errores similares o menores al método a validar.

La guía de validación de procedimientos analíticos emitida por la ICH recomienda evaluar la exactitud efectuando un mínimo de 9 determinaciones sobre un mínimo de 3 niveles de concentración (bajo, medio y alto) correspondiente con todo el intervalo analítico a evaluar lo que da un total de 27 determinaciones. A pesar de que estos requerimientos mínimos se ajustan en general a métodos cromatográficos o espectroscópicos, el analista debe seguir las recomendaciones favorables para el método particular (ICH 1996).

- Precisión

El término precisión se define por la ISO como el grado de concordancia entre los valores analíticos obtenidos en mediciones repetitivas de un analito bajo condiciones específicas. La determinación de este parámetro evalúa la repetibilidad y la reproducibilidad en un método de validación. En este contexto, la repetibilidad se refiere a obtener la magnitud de una propiedad particular de la muestra más de una vez bajo las mismas condiciones de operación en un intervalo corto de tiempo; por su parte, el término reproducibilidad se refiere a la reproducción de la magnitud de una propiedad ya medida cambiando una o más condiciones (analistas, equipo, tiempo, reactivos, etc.) (EMA 2004).

Para la validación de métodos cromatográficos se recomienda evaluar la precisión con ensayos mínimos de tres niveles de concentración (bajo, medio, alto) preparados por triplicado y cubriendo todo el intervalo de trabajo (9 ensayos). Como se mencionó anteriormente el criterio mínimo varía dependiendo de la naturaleza de los procedimientos analíticos (ICH 1996).

- Linealidad

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

Es común verificar la linealidad de una curva de calibración por inspección del coeficiente de correlación r . Un coeficiente de correlación cercano a la unidad ($r = 1$) se considera suficiente

evidencia para afirmar que el experimento tiene una perfecta calibración lineal. Sin embargo la Administración de Drogas y Alimentos de E.U. (FDA por sus siglas en inglés, Food and Drug Administration) y la ICH recomiendan que dicho coeficiente de correlación r no sólo debe ser usado para evaluar una relación lineal sino que debe evaluarse con un método estadístico apropiado (ICH 1996). Es muy importante aclarar que no existe la prueba " r -test" y que el valor de r no puede ser usado como el grado de desviación de linealidad (Araujo 2009).

Para evitar estas apreciaciones subjetivas, el coeficiente de correlación r , debe evaluarse estadísticamente mediante el estadístico t (**ecuación 2**) utilizando las siguientes hipótesis (Miller y Miller 2002):

Estadístico t :	Hipótesis	
$t = \frac{ r \sqrt{n-2}}{\sqrt{1-r^2}}$	H ₀ : No existe correlación lineal H _a : Existe correlación lineal	Ecuación 2

Donde:

- r : coeficiente de correlación
- n : número de niveles de calibración

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

Otra manera de evaluar linealidad es a través del análisis de varianza (ANOVA) donde se sugieren dos fuentes de variación. La primera es la debida a la regresión, entre la señal del instrumento y , y la concentración del analito, x . La segunda es el error experimental aleatorio en los valores de y , que se denomina variación sobre la regresión. ANOVA separa las dos fuentes de variación utilizando la relación en que la suma de cuadrados total (SC) sobre el promedio de los valores de y de los puntos de calibración, \bar{y} , es igual a la SC debida a la regresión más la SC de los residuales (**ecuación 3**) (Miller y Miller 2002):

Suma de cuadrados aditiva:

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

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

Ecuación 3

Donde:

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

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

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

Tabla XV. ANOVA para evaluar el modelo de regresión lineal

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

Con estos datos se calcula la "F de Fisher" conforme a la **ecuación 4** para evaluar si el modelo propuesto es adecuado para explicar la variabilidad de los datos a través de la regresión. Las hipótesis a probar son:

H_0 : El modelo no es lineal

H_a : El modelo es lineal

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

Ecuación 4

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

- Rango

El rango de un procedimiento analítico es la diferencia entre la mayor y la menor concentración de analito donde se ha demostrado una adecuada precisión, exactitud y linealidad en que la señal del detector puede ser atribuida a dicha concentración sin ser significantes los errores sistemáticos y aleatorios (ICH 1996):

$$Rango = Conc_{.m\acute{a}x} - Conc_{.min}$$

Ecuación 5

Donde:

Conc._{.m^áx} Es la concentración máxima del analito

Conc._{.mⁱn} Es la concentración mínima del analito

- Intervalo lineal de trabajo

Para cualquier método cuantitativo, existe un intervalo de concentraciones del mensurando donde el método puede ser aplicado. En el límite inferior del intervalo, los factores limitantes son los límites de detección y de cuantificación, mientras que en el límite superior, el factor limitante depende del sistema de respuesta del instrumento y de las condiciones establecidas como óptimas.

Dentro del intervalo de trabajo puede existir un intervalo de respuesta lineal y dentro de éste la respuesta de la señal tendrá una relación lineal con el mensurando. El intervalo lineal de trabajo de un método analítico es el intervalo entre los niveles inferior y superior de concentración del analito en el cual es posible la determinación con la precisión, exactitud y linealidad exigidas, bajo las condiciones específicas para el ensayo. El intervalo lineal se define como el intervalo de concentraciones en el que la sensibilidad puede ser considerada constante y es normalmente expresada en las mismas unidades del resultado obtenido por el método de ensayo (Araujo 2009).

- Límite de detección (LD)

El LD se define comúnmente como la menor cantidad de analito en una muestra que puede ser detectada pero no cuantificada por un método analítico. Los criterios que se utilizan para la evaluación del LD son (ICH 1996):

- Modo visual. Se lleva a cabo preparando muestras con concentración conocida de analito y se establece el menor nivel al cual el analito se detecta visualmente.
- En base a la relación señal/ruido. Se determina comparando las señales analíticas a baja concentración con aquellas del blanco, de tal forma que la señal del analito sea dos o tres veces la desviación estándar del blanco ($3\sigma_{\text{blanco}}$ o $2\sigma_{\text{blanco}}$) con una confianza del 99 y 95 % respectivamente.
- En base al cociente de la desviación estándar y la pendiente de la curva de calibración (Miller y Miller 2002):

$$LD = a + 3S_a$$

Ecuación 6

Donde:

LD = Límite de detección

a = Ordenada al origen

s_a = Desviación estándar de la ordenada al origen

- Límite de cuantificación (LC)

Se define como la mínima cantidad de analito que puede determinar el método con un nivel aceptable de precisión y exactitud (Swartz y Krull 1997). Igual que el LD, el LC puede ser evaluado por (ICH 1996):

- Modo visual. Se preparan muestras con concentración conocida y se establece el nivel mínimo en el cual el analito puede ser cuantificado.

- En base a la relación señal/ruido. Se comparan las señales de muestras a concentración conocida con las del blanco de tal forma que la señal de la concentración sea equivalente a 10 veces la desviación estándar del blanco ($10 \sigma_{\text{blanco}}$)
- En base al cociente de la desviación estándar de la respuesta y de la pendiente de la curva de calibración (Miller y Miller 2002):

$$LC = a + 10 s_a$$

Ecuación 7

Donde:

LC = Limite de cuantificación

a = ordenada al origen

s_a = desviación estándar de la ordenada al origen

- *Robustez*

Este parámetro evalúa la capacidad del método analítico para permanecer inafectado por variaciones menores en las condiciones de operación. Las pruebas de robustez examinan el desempeño del método cuando se le aplican cambios menores en las condiciones de operación o del ambiente. Los cambios deben reflejar las variables que pueden encontrarse en diferentes laboratorios (EPA 2005).

1.25 Técnica de análisis: desorción térmica – cromatografía de gases – espectrometría de masas (DT-CG-EM)

Los procedimientos analíticos tradicionales usados para la identificación y la cuantificación de HAP en partículas suspendidas en la atmósfera requieren principalmente de extracción con disolventes, seguida de su evaporación, procesos de purificación y posterior análisis utilizando cromatografía, generalmente de líquidos o de gases; esta última la más empleada ya sea con detector de ionización de flama (CG-DIF) o acoplada a espectrometría de masas (GC-EM). La efectividad de estos métodos ha sido comprobada; sin embargo, sufren de ciertas limitaciones ya que los múltiples pasos en el procedimiento aumentan el tiempo de trabajo en el laboratorio y pueden generar baja eficiencia aumentando el riesgo de perder parte de la muestra en algún paso,

generalmente se encuentra que no todos los componentes pueden extraerse con un sólo disolvente, el tratamiento es costoso en el análisis de rutina y generan desechos tóxicos.

Con el fin de optimizar los métodos tradicionales, se han desarrollado nuevas técnicas, una de ellas es la desorción térmica (DT) acoplada a la cromatografía de gases (CG) y a la espectrometría de masas (EM). Con esta técnica, no se requieren grandes cantidades de muestra, se evita el uso de disolventes, se minimiza la generación de residuos, se disminuyen los tiempos de análisis aumentando la productividad y, usando distintos tipos de sólidos sorbentes, puede obtenerse una buena selectividad en el análisis para el analito en cuestión (Waterman *et al.* 2000, Gil-Moltó *et al.* 2009).

A pesar de que la DT se emplea comúnmente en la extracción de diversos compuestos orgánicos, principalmente volátiles y en algunos casos semivolátiles, existen pocas aplicaciones de la DT-CG-EM asociada al aerosol atmosférico. Estudios como los de Waterman *et al.* (2000) y Neusses *et al.* (2000) se refieren sólo al análisis de HAP de 4 a 6 anillos en material de referencia (SRM 1649a del Instituto Nacional de Estándares y Tecnología, NIST por sus siglas en inglés) pero no profundizaron en el estudio de muestras reales. Recientemente, Bates *et al.* (2008) y Gil-Moltó *et al.* (2009) diseñaron experimentos para demostrar la eficiencia, reproducibilidad y sensibilidad de la técnica TD-CG-EM para cuantificar distintos HAP presentes en el material particulado.

1.26 Desorción térmica

La desorción térmica se usa comúnmente en combinación con la cromatografía de gases. Durante el proceso de desorción térmica se utiliza un aumento de temperatura y el flujo de gas inerte para extraer compuestos orgánicos volátiles y semivolátiles retenidos en la matriz de una muestra o de algún absorbente. Los analitos desorbidos se transfieren por el gas acarreador al sistema analítico en un volumen concentrado y reducido.

La desorción simple, como se le conoce al proceso anterior, tiene una aplicación limitada pues los picos que se producen son anchos y asimétricos, lo que algunas veces hace imposible su integración. Por esta razón, la mayoría de los instrumentos incorporan un mecanismo criogénico que concentra los analitos desorbidos del tubo antes de transferirlos al sistema analítico en el menor volumen posible. Los dos mecanismos básicos usados son la columna capilar criogénica (de mayor costo debido al consumo del líquido criogénico) y la trampa a baja temperatura con sistema

Peltier, que enfoca los analitos en una trampa empacada con sorbente a baja temperatura para su posterior desorción y transferencia al cromatógrafo. La **figura 7** muestra el proceso de desorción del equipo UNITY de MARKES empleado en este trabajo.

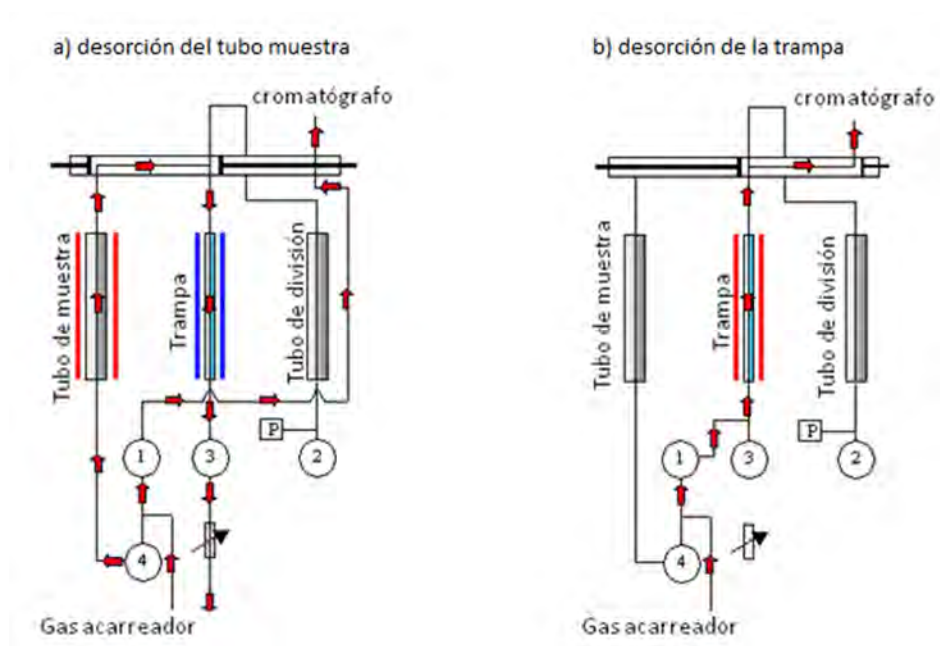


Figura 7. Esquema de la desorción térmica en dos pasos: (a) Los analitos se desorben de la matriz al aumentar la temperatura y acarreados por el flujo de helio a la trampa absorbente a baja temperatura, (b) posteriormente la trampa se calienta rápidamente desorbiendo los analitos y el flujo de gas acarreador los transfiere al cromatógrafo de gases.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo General

- Validar un método analítico para la determinación de hidrocarburos aromáticos policíclicos ad/ab-sorbidos en partículas emitidas por la combustión de diesel y de biodiesel por desorción térmica acoplada a cromatografía de gases-espectrometría de masas.

2.2 Objetivos Específicos

- Definir los parámetros de desorción adecuados para la cuantificación de hidrocarburos aromáticos policíclicos presentes en el material particulado por cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas.
- Validar el método analítico evaluando linealidad, selectividad, precisión y exactitud; así como determinar los límites de detección y de cuantificación del método analítico.
- Aplicar el método analítico para la determinación de HAP en partículas emitidas por la combustión de diesel y de biodiesel.

3. DESARROLLO EXPERIMENTAL

3.1 Diseño experimental



Figura 8. Diagrama del desarrollo experimental.

3.2 Optimización de las condiciones de desorción de HAP en las partículas atmosféricas

Se evaluaron los siguientes parámetros:

1. Elección del sorbente en la trampa de desorción
2. Tiempo de purga del tubo muestra
3. Temperatura de desorción primaria
4. Temperatura de la trampa durante la desorción primaria
5. Tiempo de desorción primaria
6. Flujo de helio en la desorción primaria
7. Temperatura de desorción secundaria

8. Tiempo de desorción secundaria
9. Flujo de helio en la desorción secundaria

3.2.1 Elección del sorbente adecuado

La afinidad de los analitos por el sorbente y la volatilidad de éstos serán los parámetros que definan el tipo de sorbente a emplear, los cuales deben retener cuantitativamente los compuestos de interés y a su vez desorberlos eficientemente bajo condiciones de temperatura y flujo de gas acarreador óptimas. Como regla general, mientras más volátil sea el analito a retener, más fuerte deberá ser el sorbente. Existen básicamente dos grupos de sorbentes: los poliméricos como el Tenax TA y el Chromosorb 106, y los de carbón grafito como Carbotrap A, B ó C:

- El Tenax TA, es un polímero macroporoso, semicristalino hecho a base de óxido difenil-*p*-fenileno (DPPPO, por sus siglas en inglés) con baja capacidad de absorción. Sin embargo, logra desorber completamente los compuestos (reteniendo menos de 1 ng por componente al final de la desorción). Presenta gran estabilidad a alta temperatura, permitiendo el recobro de moléculas semivolátiles. Esto lo hace un sorbente adecuado en la colecta de múltiples compuestos orgánicos, como los que se encuentran en el material particulado atmosférico (Harper 2000).
- El Chromosorb 106 tiene una capacidad sorbente mayor que el Tenax. Su estabilidad térmica es menor y por tanto no es aplicable para la determinación de compuestos semivolátiles, además retiene especialmente compuestos aromáticos complicando la desorción de la trampa (Harper 2000).
- Los sorbentes a base de carbón grafito como carbotrap A, B y C, cuya diferencia es su área superficial, rara vez se utilizan solos excepto cuando se quiere seguir a un compuesto específico. Presentan la desventaja de absorber agua, lo que puede bloquear la trampa al congelarse o dañar la columna del cromatógrafo (Fankow *et al.* 1998, Harper 2000).

En años recientes, se han hecho populares las trampas empacadas con diferentes sorbentes. Combinaciones típicas incluyen Tenax TA y carbón grafito de baja y media área superficial como Carbotrap A y C. El arreglo de estos debe ser tal que los compuestos menos volátiles se atrapen en la parte frontal del tubo, y que los compuestos más volátiles se capturen sucesivamente al incrementar la fuerza de los sorbentes hacia el final del tubo. La desorción tiene lugar en dirección inversa. Este tipo de arreglo permite la colecta de muchos compuestos volátiles de interés en una sola muestra; con la asistencia de una columna cromatográfica selectiva y buena programación de su temperatura se obtienen resultados de una mezcla compleja orgánica con alta sensibilidad y resolución. La **tabla XVI** presenta algunas características de diferentes sorbentes (Haper 2000).

Tabla XVI. Características de algunos sorbentes utilizados en desorción térmica

Absorbente	Fuerza de retención	Área superficial [m ² g ⁻¹]	Temperatura máxima [°C]	Analitos
Carbograph 2	Muy débil	12	400	n-C ₈ a n-C ₂₀
Tenax	Débil	35	350	n-C ₇ a n-C ₃₀
Carbotrap A	Media/débil	100	400	n-C ₅ a n-C ₁₄
Chromosorb 102	Media	350	250	n-C ₅ a n-C ₁₂
Chromosorb 106	Media	750	225	n-C ₅ a n-C ₁₂
Unicarb	Fuerte	1200	400	n-C ₃ a n-C ₈
Carbosieve SIII	Muy fuerte	800	400	Con punto de ebullición de -60 a 80 °C

Para probar la eficiencia del sorbente, se empacaron dos trampas de 2 mm de diámetro y 10 cm de largo: una con 6 cm de carbograph 2 y otra con 6 cm de fibra de vidrio silanizada. Se analizaron dos filtros de fibra de vidrio cubiertos con teflón adicionados con 100 ng de 16 HAP. La mejor desorción se obtuvo con la trampa de fibra de vidrio como se muestra en la **figura 9**, pues usando carbograph 2 no se observan todos los analitos y las señales son de menor intensidad. Las condiciones cromatográficas y de desorción se muestran en la **tabla XVII**.

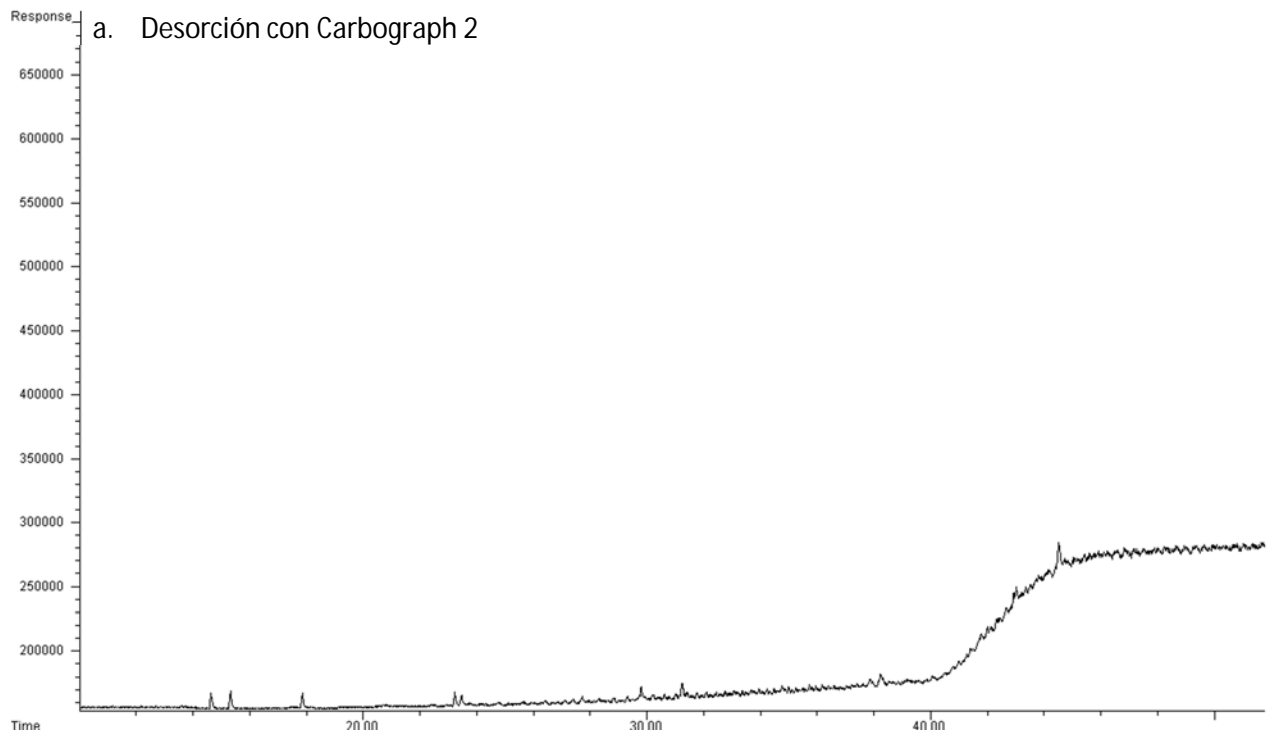


Figura 9. Evaluación de sorbentes para la desorción de HAP. a. desorción con carbograph 2 y b. desorción con fibra de vidrio.

Tabla XVII. Condiciones de trabajo para la elección del sorbente

Parámetro	Valor	Parámetro cromatográfico	Valor
Desorción primaria		Columna	DB-35MS, J&W Scientific, 30m x 0.250 mm x 0.25 µm.
Temperatura de desorción	350 °C	Gas acarreador	Helio (Infra), 99.9997% pureza
Tiempo de desorción	5 min	Tiempo de corrida	52.6 min
Temperatura de la trampa	0 °C	Temperatura inicial (horno)	80 °C (1 min)
Flujo de división	37 mL min ⁻¹	Primera rampa	50 °C min ⁻¹ hasta 110 °C (0 min)
Flujo de la trampa	59 mL min ⁻¹	Segunda rampa	5 °C min ⁻¹ hasta 303 °C (0 min)
Split	Cerrado. Toda la muestra llega a la trampa	Tercera rampa	20 °C min ⁻¹ hasta 335 °C (10 min)
Desorción secundaria			
Temperatura de desorción	350 °C		
Tiempo de desorción	5 min		
Flujo de división	37 mL min ⁻¹		
Flujo de la columna	2.5 mL min ⁻¹		
Split	1:15.8, el 6 % de la muestra llega al detector		

3.2.3 Tiempo de purga del tubo muestra

El tubo de desorción que contiene la muestra debe ser purgado con gas acarreador para remover la humedad y el aire antes de elevar la temperatura a fin de prevenir la oxidación de los analitos. En general se utiliza un volumen de gas acarreador igual a 10 veces la capacidad del tubo de desorción. En el caso de los tubos de acero inoxidable, se sugiere utilizar 30 mL (capacidad de 3 mL) (Markes Int. 2006).

En este trabajo, se evaluó el tiempo de purga para eliminar el disolvente en el que se encontraban los HAP para realizar la calibración del sistema analítico. Esto es importante porque un exceso de disolvente no purgado adecuadamente puede saturar la trampa y hacer menos efectiva la retención de los analitos. Además, al realizar experimentos con muestras reales, éstas pueden llegar a contener agua por lo que es importante que al purgar se remueva la mayor parte de esta.

Con el fin de reducir la cantidad de disolvente que entra a la trampa se probaron diferentes tiempos de purga usando 100 ng de naftaleno (el HAP más volátil de toda la familia) en tolueno, disolvente con una presión de vapor similar a la del agua. La **figura 10** muestra que después de 4 min, se pierde el 90 % de disolvente y solo el 30% de naftaleno.

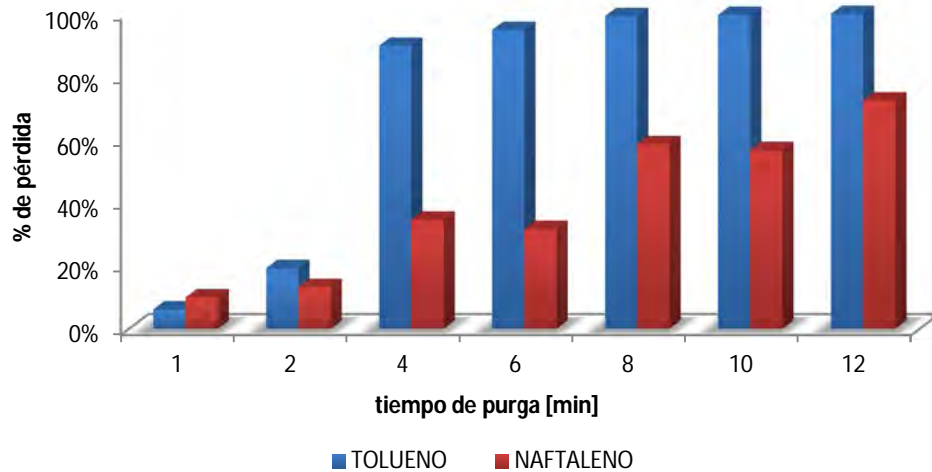


Figura 10. Efecto del tiempo de purga sobre las masas del disolvente y del analito.

Bajo estas condiciones y comparando las presiones de vapor del tolueno (28.4 mmHg) y el agua (23.7 mmHg) a 25 °C podemos esperar que también se remueva la mayor parte del agua que contenga la muestra.

3.2.4 Temperatura de desorción primaria

La temperatura máxima y mínima de desorción del equipo es 400 y 50 °C respectivamente (Markes Int. 2006). Los parámetros que rigen la temperatura óptima de desorción, son la volatilidad del analito y la temperatura máxima del sorbente. Bates *et al.* (2008) propusieron una temperatura de desorción primaria de 320 °C con el fin de lograr la completa desorción de los HAP de mayor peso molecular.

Para optimizar este parámetro se probaron temperaturas de desorción primaria de 350, 300 y 250 °C, utilizando una solución de 22 HAP a una concentración de 10 ng μL^{-1} (etiquetada como solución STDA). Para ello se adicionaron 10 μL sobre 4.5 mg de filtro de fibra de vidrio recubierto con teflón (previamente horneado) colocado a la mitad del tubo de desorción (sección donde se alcanza la mayor temperatura en el equipo). Colocar primero el filtro y después impregnarlo del analito, permitió evitar pérdida por manipulación.

Las áreas absolutas se muestran en la **figura 11**. A 300 °C, fenantreno y pireno -marcadores de emisión de diesel y biodiesel- presentaron la mejor desorción. A esta temperatura hubo mejor desorción de HAP de mayor peso molecular como benzo[*b*]fluoranteno y benzo[*e*]pireno. Con estos datos, se decidió que la temperatura de desorción primaria óptima para el análisis fuese 300 °C.

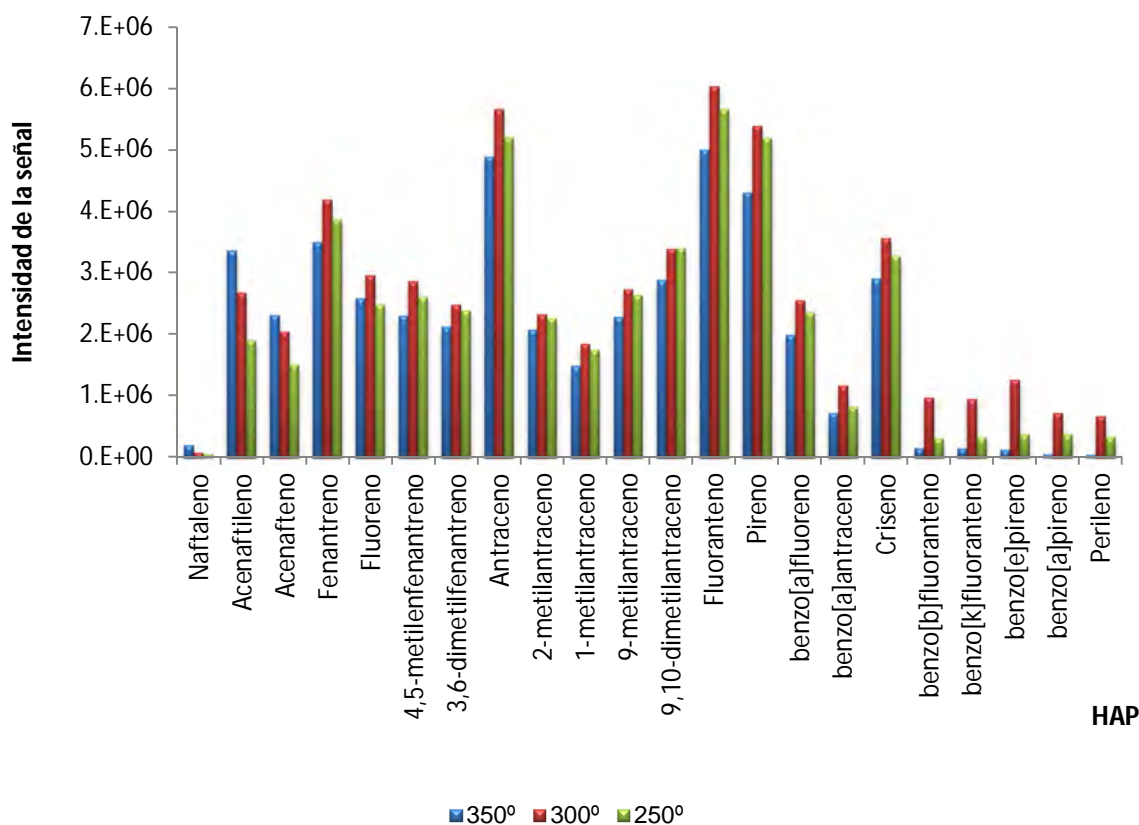


Figura 11. Intensidad de la señal de los HAP debido a la temperatura de desorción (100 ng HAP).

3.2.5 Temperatura de la trampa durante la desorción primaria

La temperatura máxima y mínima para la trampa durante la desorción primaria es de 30 y -10 °C respectivamente (Markes Int. 2006). En las condiciones experimentales indicadas en la **tabla XVII** y utilizando 10 µL de la solución STDA se probó la efectividad en la retención de HAP en la trampa a -10, 0 y 10 °C respectivamente. La **figura 12** muestra respuestas similares para las tres temperaturas, con un ligero incremento a 0 °C para criseno y benzo[*a*]antraceno por lo que se eligió ésta como temperatura óptima.

Tabla XVII. Condiciones de desorción para la optimización de la temperatura de la trampa durante la desorción primaria

Parámetro	Valor
Desorción primaria	
Temperatura de desorción	300 °C
Tiempo de desorción	10 min
Temperatura de la trampa	-10, 0 y 10 °C
Flujo de división	59 mL min ⁻¹
Flujo de la trampa	59 mL min ⁻¹
Split	Toda la muestra entra a la trampa
Desorción secundaria	
Temperatura de desorción	350 °C
Tiempo de desorción	10 min
Flujo de división	37 mL min ⁻¹
Flujo de la trampa	2.5 mL min ⁻¹
Split	1:15.8, 6 % de la muestra llega al detector

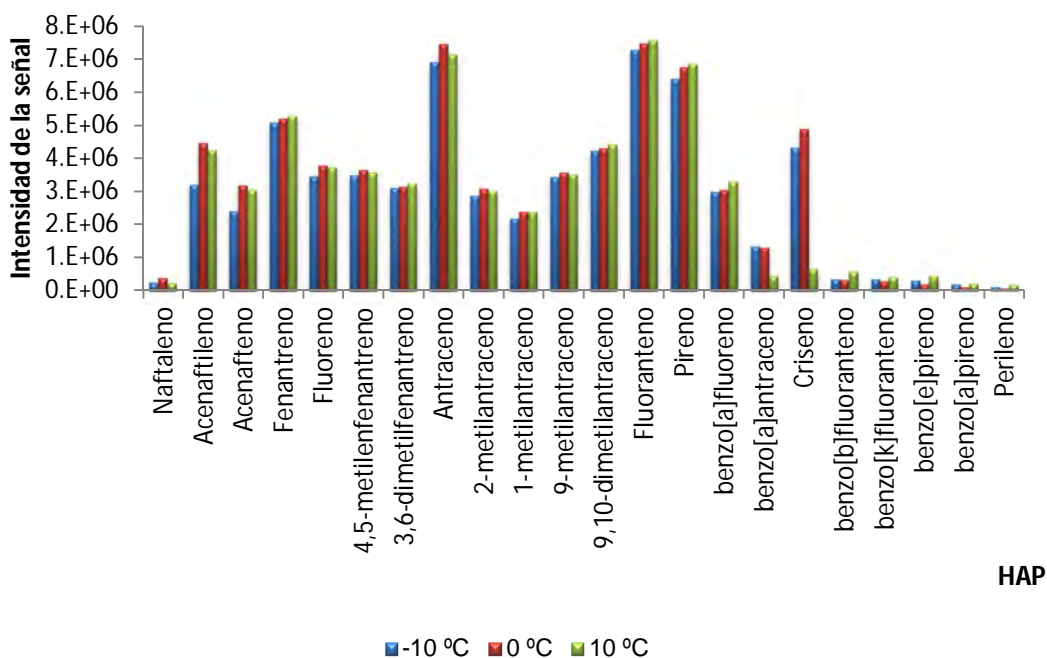


Figura 12. Intensidad de la señal de los HAP en función de la temperatura de la trampa durante la desorción primaria (100 ng de HAP).

3.2.6 Tiempo de desorción primaria

Los tiempos evaluados para la primera desorción fueron 1, 5, 10 y 20 min. La **figura 13** revela que con 1 min de desorción, la intensidad de la señal de HAP fue menor para los HAP de mayor peso

molecular, y que en general no había una variación significativa entre 10 y 20 min de desorción, por lo que se eligió 10 min como el tiempo de desorción adecuado.

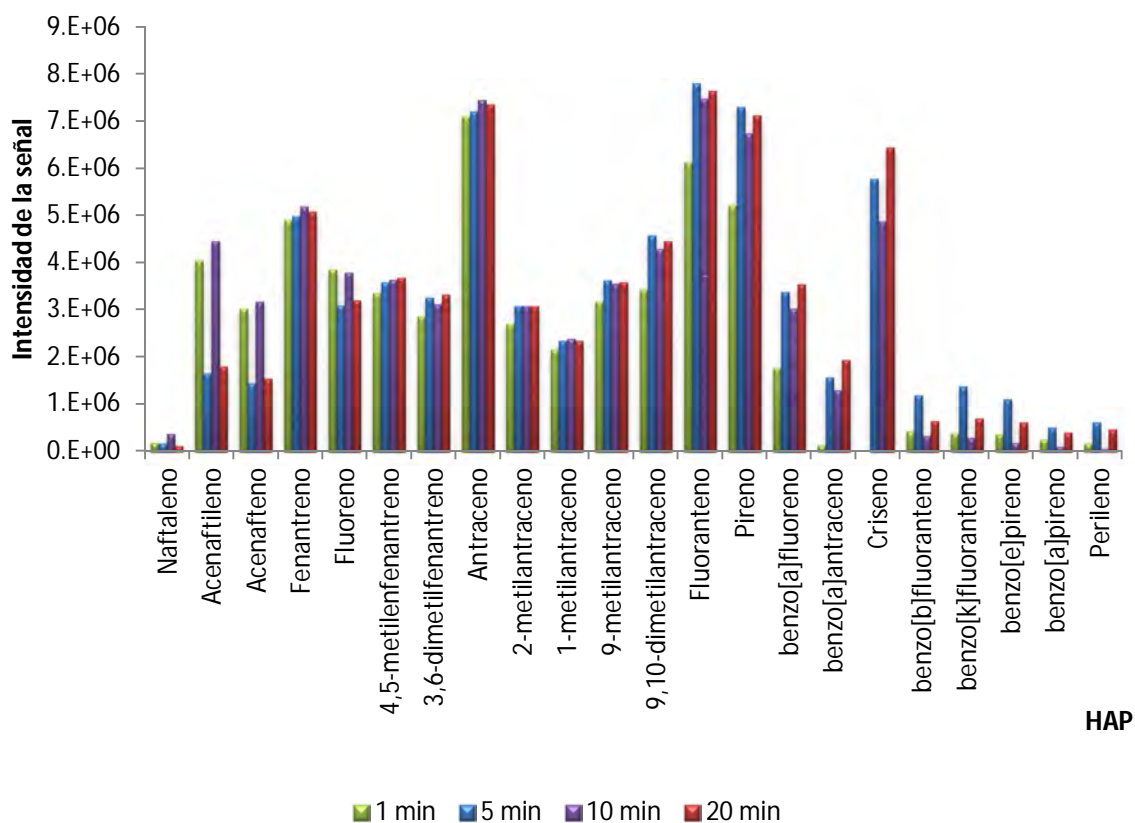


Figura 13. Intensidad de la señal de HAP en función del tiempo de la desorción primaria (100 ng HAP).

3.2.7 Flujo de helio en la desorción primaria

Una desorción eficiente requiere no solo de una temperatura óptima, sino también de un flujo de helio suficiente para extraer a los analitos de la matriz. El flujo mínimo de operación del sistema es 10 mL min^{-1} para el tubo de desorción y 2 mL min^{-1} para la trampa. Para compuestos semivolátiles se recomienda un flujo $>50 \text{ mL min}^{-1}$ para el tubo de desorción y $>10 \text{ mL min}^{-1}$ para la trampa (Markes Int. 2006). El flujo que pasa por la trampa no debe exceder normalmente los 100 mL min^{-1} en cualquiera de las dos desorciones.

Se probaron flujos de helio de 39 a 75 mL min^{-1} a través del tubo de desorción. El flujo que presentó mejores condiciones de desorción fue 61 mL min^{-1} como lo muestra la **figura 14**.

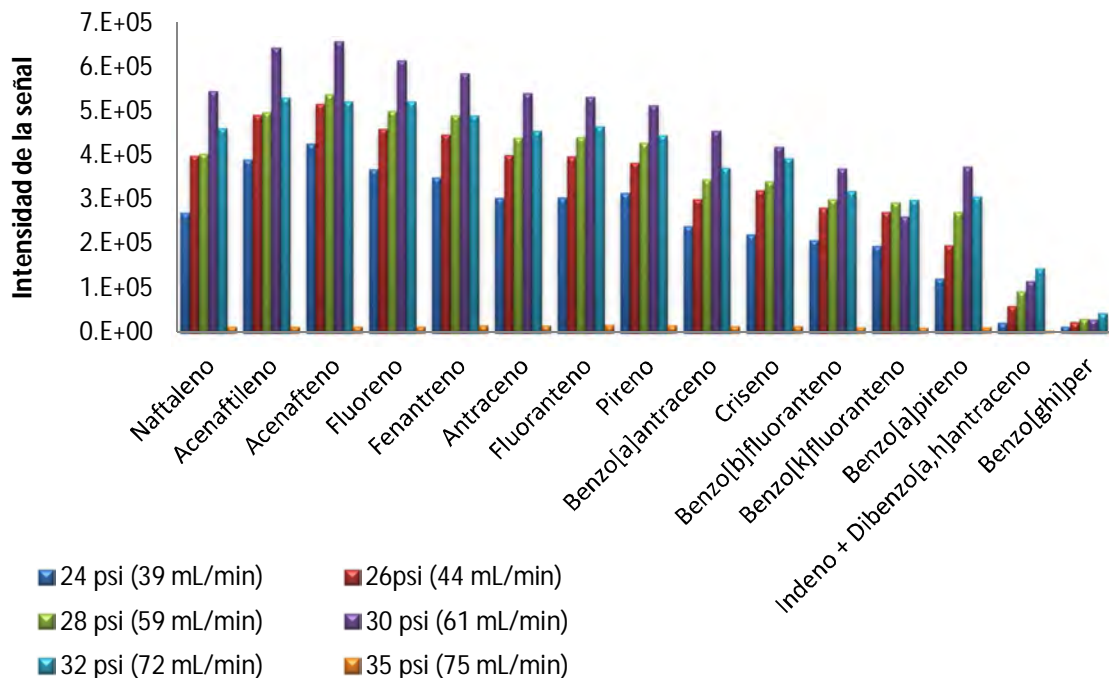


Figura 14. Intensidad de la señal de los HAP en función del flujo de helio en el tubo de desorción (100 ng de HAP).

3.2.8 Temperatura de desorción secundaria (trampa con los analitos)

Una desorción secundaria ineficiente puede causar una incorrecta cuantificación de los analitos. Si el tiempo de desorción de la trampa no es suficiente para desorber todos los analitos, se desorberán en el siguiente experimento, contaminando la muestra, aumentando su señal y sobreestimando su concentración.

Bates *et al.* (2008) propusieron una temperatura de desorción secundaria de 360 °C. En base a este dato se probaron temperaturas de desorción secundarias de 350, 300 y 250 °C, utilizando 10 µL de la solución STDA bajo el procedimiento anterior. La **figura 15** muestra que la intensidad de la señal de los HAP de bajo peso molecular es similar en las tres temperaturas; sin embargo, para los HAP de mayor peso molecular se obtienen mejores recobros a 350 °C, por lo que se escogió esta temperatura como la óptima para el análisis.

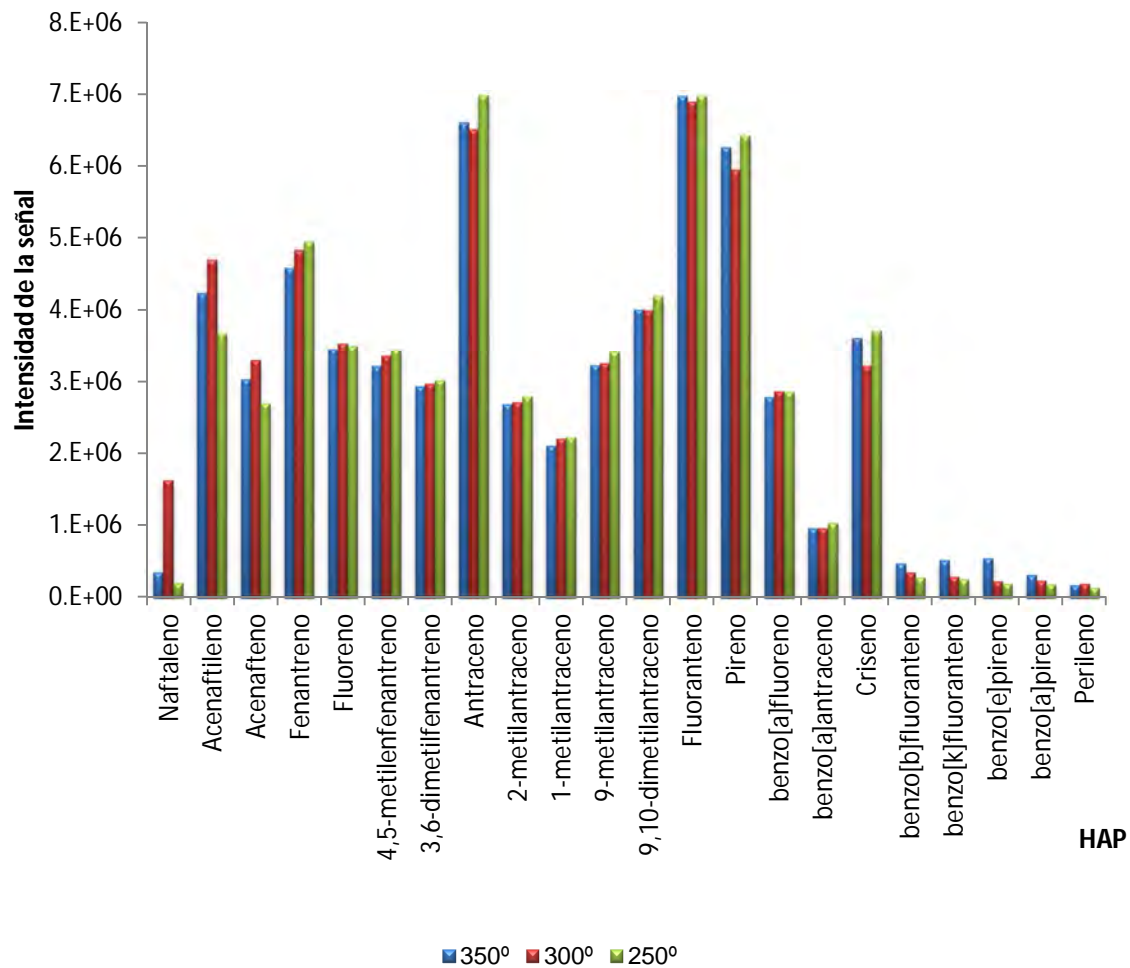


Figura 15. Intensidad de la señal de los HAP en función de la temperatura de desorción secundaria (100 ng de HAP).

3.2.9 Tiempo de desorción secundaria

Se evaluaron los mismos tiempos que en la primera desorción: 1, 5, 10 y 20 min, y se encontró que 10 minutos fue el que mayor intensidad de señal presentaba para HAP de alto peso molecular (figura 16).

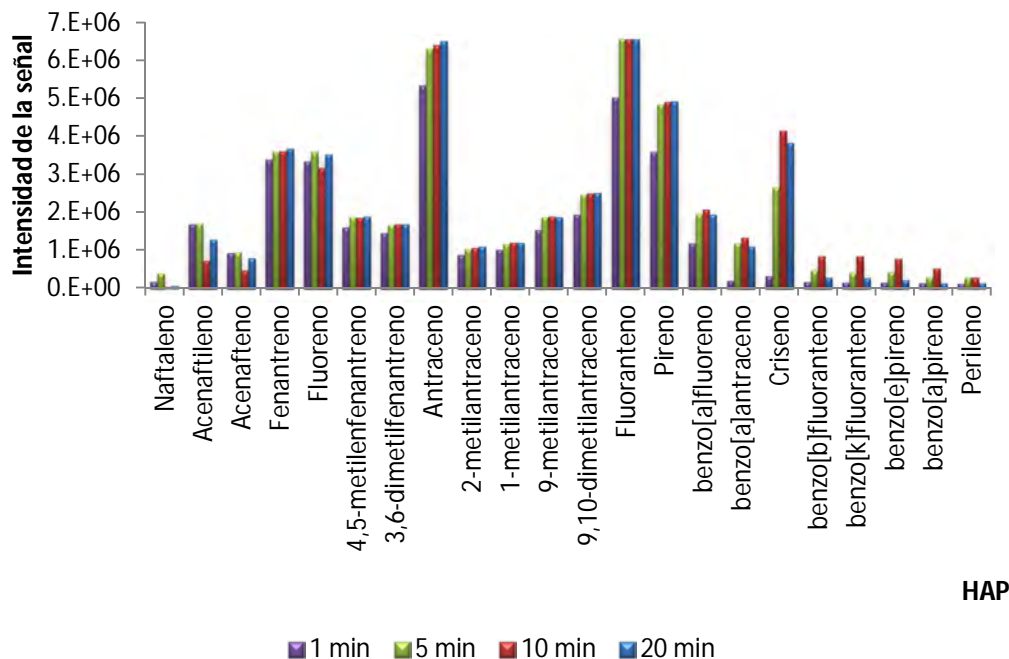


Figura 16. Intensidad de la señal de los HAP debido al tiempo de desorción de la trampa (100 ng de HAP)

3.2.10 Flujo de helio en la desorción secundaria. Uso del “split” del TD

Existen dos modos diferentes para dividir el flujo de helio (split) usados en el equipo: simple y doble. En la división simple el split puede abrirse en la primera o en la segunda desorción (**figura 17**), mientras que en la división doble el split se abre en ambas desorciones.

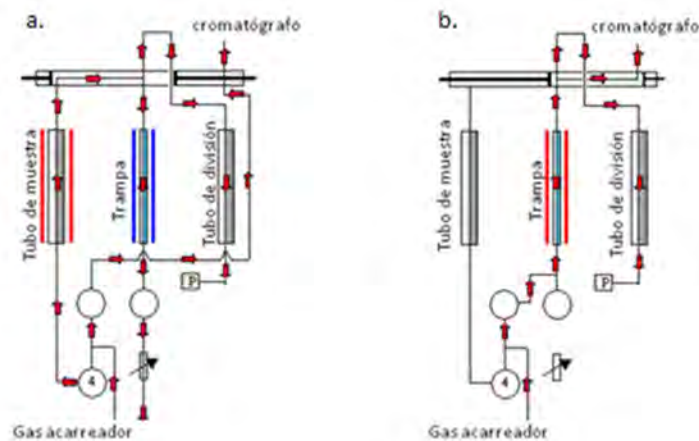


Figura 17. Esquema de la división del flujo de helio en la desorción a. del tubo con muestra y b. de la trampa

Los flujos totales para calcular el split y por tanto la masa de analito que llega al espectrómetro de masas pueden calcularse conforme a las ecuaciones mostradas en la **tabla XVIII**:

Tabla XVIII. Flujos totales en el procedimiento de desorción y cálculo del split en la división simple y doble:

Flujo	Cálculo
Flujo a través de tubo con muestra en la primera desorción:	$flujo_{desorción} + flujo_{división}$
Flujo a través de la trampa en la primera desorción	$flujo_{desorción}$
Flujo de la trampa en la segunda desorción	$flujo_{columna} + flujo_{división}$
Split en una división simple	$\frac{flujo_{desorción}}{flujo_{desorción} + flujo_{división}}$ ó bien, $\frac{flujo_{columna}}{flujo_{columna} + flujo_{división}}$
Split en una división doble	$\frac{flujo_{desorción}}{flujo_{desorción} + flujo_{división}} \times \frac{flujo_{columna}}{flujo_{columna} + flujo_{división}}$

Para favorecer la completa desorción de los analitos de la trampa se requiere pasar a través de ésta un volumen grande, por ejemplo 400 mL de helio (Caputi 2004, Bates *et al.* 2008). El flujo promedio en una columna capilar de CG es de 1.5 mL min⁻¹ lo que significa 4 horas de desorción para pasar 400 mL de gas acarreador por la trampa sin dividir la muestra (splitless). Esto hace que en la segunda desorción sea necesario el uso del split (Caputi 2004).

Se probaron flujos de split de 50 y 37 mL min⁻¹. La desorción de los compuestos de la trampa de desorción resultó óptima para los dos valores. La **figura 18** muestra los cromatogramas de un análisis y su blanco inmediato utilizando los parámetros de desorción optimizados de la **tabla XIX**.

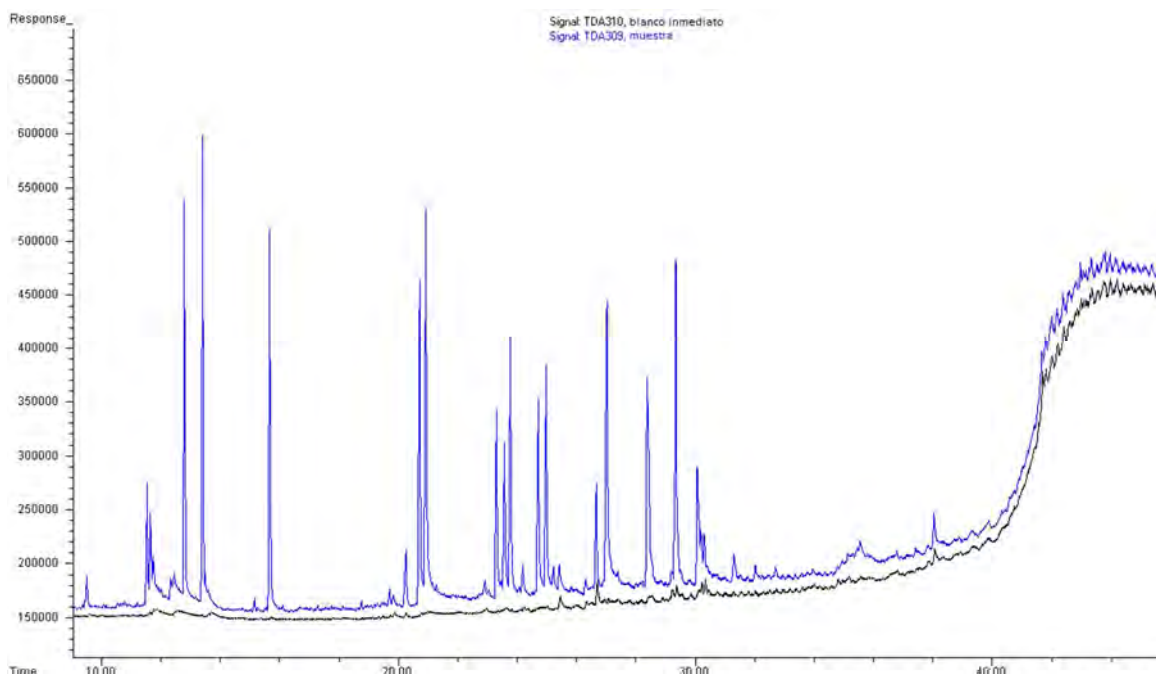


Figura 18. Optimización de la desorción de HAP (6 ng en el detector) de la trampa. Puede observarse que el blanco inmediato a la desorción de la muestra no presenta “picos fantasma” ocasionados por una desorción incompleta de los analitos.

Tabla XIX. Comparación de los parámetros de desorción optimizados en el laboratorio y los obtenidos por Bates *et al.* (2008)

Parámetro	Valor obtenido	Bates <i>et al.</i> (2008)
Trampa	Fibra de vidrio silanizada	Fibra de vidrio y carbograph 2
Gas acarreador	Helio	Helio
Desorción primaria		
Temperatura de desorción	300 °C	320 °C
Tiempo de desorción	10 min	10 min
Temperatura de la trampa	0 °C	30 °C
Flujo de división	49.8 mL min ⁻¹	30 mL min ⁻¹
Flujo de la trampa	55 mL min ⁻¹	50 mL min ⁻¹
Split	Cerrado. Toda la muestra entra a la trampa	Cerrado. Toda la muestra entra a la trampa
Desorción secundaria		
Temperatura de desorción	350 °C	360 °C
Tiempo de desorción	10 min	4 min
Flujo de división	49.8 mL min ⁻¹	30 mL min ⁻¹
Flujo de la trampa	2.4 mL min ⁻¹	2.6 mL min ⁻¹
Split	1:21.8, 4.5 % de la muestra llega al detector	1:12.5 8 % de la muestra llega al detector

3.3 Muestreo de partículas emitidas por la combustión de diesel y de biodiesel

3.3.1 Acondicionamiento de los filtros

Los filtros de fibra de vidrio recubiertos con teflón (TIGF, Pallflex) de 5 cm de radio se trataron con 20 mL de cloruro de metileno (CM) en un baño de ultrasonido a 60 °C por 20 min. Una vez secos, se colocaron en el desecador a temperatura ambiente, 24 h después se pesaron utilizando una balanza analítica Sartorius (modelo BA210S) previamente verificada con masas calibradas de 10 a 0.001g (**apéndice A**). Se cubrieron con aluminio y se transportaron en cajas de petri de vidrio y en una hielera a baja temperatura, aproximadamente 5 °C hasta el lugar del muestreo.

3.3.2 Colecta de partículas de emisión de diesel y biodiesel

Las muestras de partículas de emisión de diesel utilizadas para preparar la curva de calibración se colectaron el 10 de febrero del 2011 en el laboratorio de emisiones de la Facultad de Ingeniería, UNAM, utilizando un motor de camión similar a los camiones de 9 toneladas que circulan actualmente. El escape del motor se conectó por medio de un tubo de aluminio flexible a un túnel de dilución de 2 m de diámetro por 20 cm de diámetro hecho de PVC. En el tubo de dilución se colocaron un termómetro y dos boquillas de 3/8 y 7/16 pulgadas seguidas de los portafiltros (holders), al final de los cuales se conectó una bomba de vacío para succionar la emisión del motor (**Figuras 19 - 21**).



Figura 19. Motor utilizado en el muestreo.



Figura 20. Túnel de dilución.



Figura 21. Portafiltras.

Las pruebas se realizaron encendiendo el motor 10 min antes de la toma de muestra y sin apagar el motor entre cada toma. La **tabla XX** presenta las condiciones del muestreo.

Tabla XX. Condiciones del muestreo de partículas emitidas por la combustión de diesel a alto RPM

#	Prueba	Tiempo [min]	Boquilla	T. Inicial [°C]	T. Final [°C]	partículas [mg]
1	F21	20	7/16	95	95	16.14
2	F22	20	3/8	95	95	16.71
3	F23	20	7/16	97	100	18.24
4	F24	20	3/8	97	100	17.2
5	F25	19	7/16	100	100	18.04
6	F26	20	3/8	100	100	18.01
7	F27	21	7/16	82	83	21.59

Los filtros con partículas se doblaron a la mitad, se empaquetaron en aluminio y se conservaron a 0 °C en una hielera durante su transporte. La masa de las partículas se determinó por gravimetría, pesando el filtro antes y después del muestreo (**figura 22**).



Figura 22. Filtros antes y después del muestreo.

3.3.3 Extracción de los filtros con partículas

Para realizar la curva de calibración del método se extrajeron los compuestos orgánicos presentes en la matriz a analizar, dejando únicamente las partículas impregnadas en el filtro. Los filtros, de 17.99 mg promedio, se trataron individualmente en matraces Erlenmeyer de 250 mL con 40 mL de CM en un baño de ultrasonido a 60 °C por 40 min (**figura 23**) a reflujo (Valle-Hernández *et al.* 2010). Una vez secos se cortaron en 16 partes, cada una con 1.12 mg de partículas aproximadamente (**figura 23**), se empacaron en aluminio y se conservaron a -10 °C.

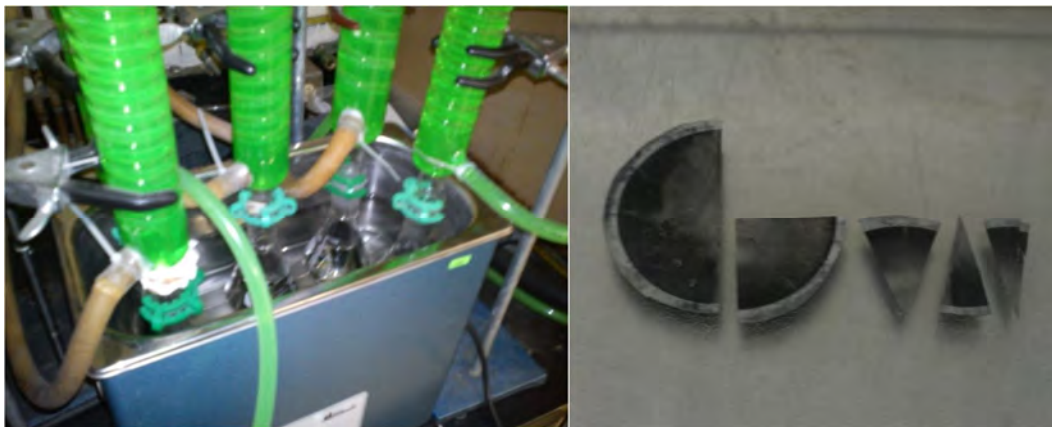


Figura 23. Proceso de extracción y partición de los filtros con partículas.

3.4 Estudios previos para la preparación de la curva de calibración del método analítico

La curva de calibración se preparó de acuerdo con la información de la literatura (Borrás *et al.* 2009) y a un muestreo preliminar realizado en el laboratorio utilizando la técnica de extracción asistida por ultrasonido (Valle-Hernández *et al.* 2011, Santos-Medina 2011). La **figura 24** compara los resultados de ambos estudios. Los HAP de bajo peso molecular ($128-202 \text{ g mol}^{-1}$), que incluye a los marcadores de combustión de diesel (fenantreno y pireno), están presentes en las partículas de interés en un intervalo de $20 \text{ ng mg}_{\text{part}}^{-1}$ hasta $100 \text{ ng mg}_{\text{part}}^{-1}$ por lo que la curva de calibración para estos compuestos se realizó de 1 a $250 \text{ ng mg}_{\text{part}}^{-1}$. Por otra parte, los HAP de mayor peso molecular ($206-276 \text{ g mol}^{-1}$) están presentes en concentraciones menores a $10 \text{ ng mg}_{\text{part}}^{-1}$, en consecuencia se escogió un intervalo de 0.5 a $20 \text{ ng mg}_{\text{part}}^{-1}$ para su cuantificación. En el caso de acenaftileno y acenafteno, en ambos estudios estuvieron presentes en concentraciones menores a las de sus homólogos de bajo peso molecular, por lo que se decidió incluirlos en el intervalo de concentración menor ($20-0.5 \text{ ng mg}_{\text{part}}^{-1}$).

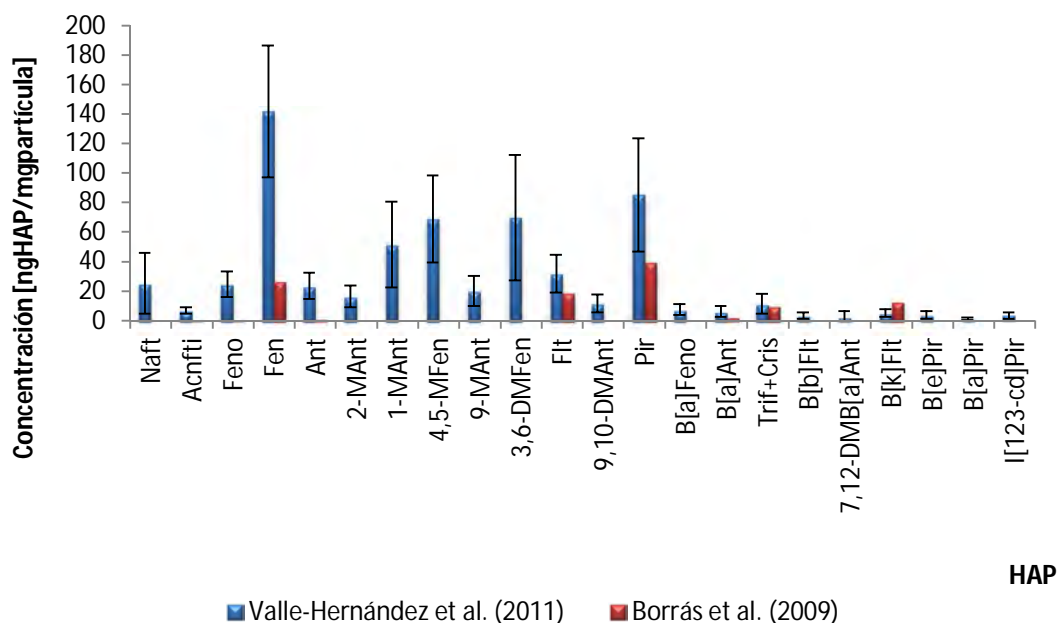


Figura 24. Comparación de la concentración de HAP presentes en partículas de emisión de diesel. Las muestras de Valle-Hernández *et al.* (2010) se realizaron a revoluciones >1600 RPM con tiempo de muestreo de 20 min., y colecta de 20 mg de partículas. En el caso de Borrás *et al.* (2009) se escogió el resultado bajo las condiciones más similares: 11 minutos de muestreo, a 900 RPM y con una colecta de 10.3 mg de partículas.

La preparación de la curva de calibración se llevó a cabo a partir de estándares individuales en estado sólido de HAP y HAP deuterados (marcas Ultra Scientific, Chem Service y Supelco) con pureza del 99 %.

3.4.1 Preparación de las soluciones “stock” de HAP individuales

Para elaborar las soluciones madre y de trabajo de la curva de calibración se hicieron soluciones individuales de 27 HAP y 12 HAP deuterados (**tabla XXI**). Se pesaron aproximadamente 1.0 mg de HAP en viales ámbar limpios y acondicionados a 250 °C y se les añadió 1 mL de tolueno (marca Burdick & Jackson, pureza 99.9 %) con una micropipeta automática (Microman).

Tabla XXI. Soluciones “stock” preparadas a 23 °C

#	HAP _{bajo PM}	PM [g mol ⁻¹]	HAP [mg]	1 mL Tol [mg]	solución [mg]	Concentración [µg HAP/mg sol]	Concentración [µg HAP/mL]
1	Naftaleno	128	1.2	870.7	871.9	1.4	1200
2	Fluoreno	166	1.0	874.7	875.7	1.1	1000
3	Antraceno	178	1.3	871.4	872.7	1.5	1300
4	Fenantreno	178	1.1	875.3	876.4	1.3	1100
5	4,5-Metilenfenantreno	190	0.8	864.7	865.5	0.9	800
6	1-Metilantraceno	192	0.7	867.1	867.8	0.8	700
7	2-Metilantraceno	192	1.2	862.7	863.9	1.4	1200
8	9-Metilantraceno	192	1.3	864.6	865.9	1.5	1300
9	Fluoranteno	202	1.3	868.9	870.2	1.5	1300
10	Pireno	202	0.9	864.6	865.5	1.0	900
11	3,6-Dimetilfenantreno	206	1.0	864.2	865.2	1.2	1000
12	9,10-Dimetilantraceno	206	0.9	867.4	868.3	1.0	900

#	HAP _{alto PM}	PM [g mol ⁻¹]	HAP [mg]	1 mL Tol [mg]	solución [mg]	Concentración [µg HAP/mg sol]	Concentración [µg HAP/mL]
13	Acenaftileno*	152	0.8	874.8	875.6	0.9	800
14	Acenafteno*	154	1.5	871.9	873.4	1.7	1500
15	Benzo[a]fluoreno	216	1.1	869.4	870.5	1.3	1100
16	Benzo[a]antraceno	228	1.0	871.2	872.2	1.1	1000
17	Trifenileno	228	1.2	872.5	873.7	1.4	1200
18	Criseno	228	0.9	870.7	871.6	1.0	900
19	Benzo[b]fluoranteno	252	1.2	866.1	867.3	1.4	1200
20	Benzo[k]fluoranteno	252	1.1	866.2	867.3	1.3	1100
21	Benzo[e]pireno	252	1.0	867.8	868.8	1.2	1000
22	Benzo[a]pireno	252	1.5	866.2	867.7	1.7	1500
23	Perileno	252	1.3	866	867.3	1.5	1300
24	Dibenzo[a,c]antraceno	278	0.9	865.8	866.7	1.0	900
25	Indeno[1,2,3-cd]pireno	276	1.0	867.1	868.1	1.2	1000
26	Dibenzo[a,h]antraceno	278	0.9	846.2	847.1	1.1	900
27	Benzo[ghi]perileno	276	0.8	865.3	866.1	0.9	800

*Excepto estos HAP que son de bajo PM

#	HAP-d _{bajo PM}	PM [g mol ⁻¹]	HAP [mg]	1 mL Tol [mg]	Solución [mg]	Concentración [µg HAP/mg sol]	Concentración [µg HAP/mL]
1	Naftaleno-d8	136	1.3	862.4	863.7	1.5	1300
2	Antraceno-d10	188	0.7	862.4	863.1	0.8	700
3	Fenantreno-d10	188	0.9	860.6	861.5	1.0	900
4	Pireno-d10	212	1.3	863.5	864.8	1.5	1300

#	HAP-d _{alto PM}	PM [g mol ⁻¹]	HAP [mg]	1 mL Tol [mg]	Solución [mg]	Concentración [µg HAP/mg sol]	Concentración [µg HAP/mL]
5	Acenafteno-d10	164	1.4	862.2	863.6	1.6	1400
6	Benzo[a]antraceno-d12	240	0.8	862.5	863.3	0.9	800
7	Criseno-d12	240	0.5	860.5	861	0.6	500
8	Benzo[a]pireno-d12	264	0.6	857.9	858.5	0.7	600
9	Benzo[b]fluoranteno-d12	264	1.4	863.1	864.5	1.6	1400
10	Benzo[k]fluoranteno-d12	264	0.6	858.5	859.1	0.7	600
11	Perileno-d12	264	0.8	860.2	861	0.9	800
12	Benzo[ghi]perileno-d12	288	0.6	858.9	859.5	0.7	600

3.4.2 Preparación de las soluciones madre

Los estudios realizados por Borrás *et al.* (2009) presentados en la **sección 3.4** muestran que, en general, los HAP de menor peso molecular (<202 g mol⁻¹) se encuentran presentes en las partículas de emisión de diesel en mayor concentración que aquellos de mayor peso molecular (>202 g mol⁻¹). Con base en esto se elaboraron 5 soluciones madre (**tablas XXII - XXVI**):

1. Solución **SM1_{HAP bajo PM}** para HAP de peso molecular 128-206 g mol⁻¹ a ~40 ng μL⁻¹, con volumen final en 1.85 mL y masa final de 1588.2 mg (**tabla XXII**).
2. Solución **SM1_{HAP alto PM}** para HAP de peso molecular 206-278 g mol⁻¹ a ~20 ng μL⁻¹, con volumen final de 1 mL y masa final de 827.2 mg. En esta solución se decidió incluir también acenaftileno y acenafteno debido a que están presentes en las partículas en bajas concentraciones (Borrás *et al.* 2009) (**tabla XXIII**).
3. Solución **SM2_{HAP alto PM}** ~5 ng μL⁻¹, se preparó al tomar 200 μL (172.2 mg) de la **SM1_{HAP alto PM}** y se aforó a 1 mL con tolueno, masa final de 864.2 mg (**tabla XXIV**).
4. Solución **SMHAP-d bajo PM** para HAP deuterados (HAP-d) de peso molecular 136-212 g mol⁻¹ a ~40 ng μL⁻¹, con volumen final de 1.85 mL y masa de 1588.7 mg (**tabla XXV**).
5. Solución **SMHAP-d alto PM** para HAP-d de peso molecular 240-288 g mol⁻¹ a ~40 ng μL⁻¹ y con volumen final de 1.95 mL y masa de 1139.4 mg (**tabla XXVI**)

Las alícuotas de las soluciones “stock” se tomaron con microjeringas calibradas (Hamilton) y el tolueno con la micropipeta automática.

Tabla XXII. Preparación de la solución **SM1_{HAP bajo PM}** a 22 °C

#	HAP	Sol. Stock [μg mg ⁻¹]	Sol. Stock [μg mL ⁻¹]	Alícuota [μL]	Alícuota [mg]	HAP [μg]	SM1 _{HAP bajo PM} [ng μL ⁻¹]	SM1 _{HAP bajo PM} [ng mg ⁻¹]
1	Naftaleno	1.4	1200	62	52.7	72.5	39.2	45.7
2	Fluoreno	1.1	1000	74	63.6	72.6	39.3	45.7
3	Antraceno	1.5	1300	57	49.5	73.7	39.9	46.4
4	Fenantreno	1.3	1100	67	57.6	72.3	39.1	45.5
5	4,5-Metilenfenantreno	0.9	800	93	79.7	73.7	39.8	46.4
6	1-Metilantraceno	0.8	700	106	91.4	73.7	39.9	46.4
7	2-Metilantraceno	1.4	1200	62	53.2	73.9	39.9	46.5
8	9-Metilantraceno	1.5	1300	57	48.5	72.8	39.4	45.8
9	Fluoranteno	1.5	1300	57	48.7	72.8	39.3	45.8
10	Pireno	1.0	900	82	70.2	73.0	39.5	46.0
11	3,6-Dimetilfenantreno	1.2	1000	74	62.8	72.6	39.2	45.7
12	9,10-Dimetilantraceno	1.0	900	82	69.8	72.3	39.1	45.6
Total S.Stock [mg]								747.7
Total S.Stock [μL]								872
Vol. Tolueno [μL]								978
Vol. Final [μL]								1850
Masa final [mg]								1588.2

Tabla XXIII. Preparación de la solución **SM1**_{HAP alto PM} a 23 °C

#	HAP	Sol. Stock [μg mg ⁻¹]	Sol. Stock [μg mL ⁻¹]	Alicuota [μL]	Alicuota [mg]	HAP [μg]	SM1 _{HAP alto PM} [ng μL ⁻¹]	SM1 _{HAP alto PM} [ng mg ⁻¹]
13	Acenaftileno	0.9	800	31	26.5	24.2	24.2	29.3
14	Acenafteno	1.7	1500	17	14.2	24.4	24.4	29.5
15	Benzo[a]fluoreno	1.3	1100	23	17.4	22.0	22.0	26.6
16	Benzo[a]antraceno	1.1	1000	25	20.3	23.3	23.3	28.1
17	Trifenileno	1.4	1200	21	7.1	9.8	9.8	11.8
18	Criseno	1.0	900	28	9.6	9.9	9.9	12.0
19	Benzo[b]fluoranteno	1.4	1200	21	15.7	21.7	21.7	26.3
20	Benzo[k]fluoranteno	1.3	1100	23	17.9	22.7	22.7	27.4
21	Benzo[e]pireno	1.2	1000	25	16.3	18.8	18.8	22.7
22	Benzo[a]pireno	1.7	1500	17	11.9	20.6	20.6	24.9
23	Perileno	1.5	1300	19	13.16	19.7	19.7	23.8
24	Dibenzo[a,c]antraceno	1.0	900	28	21.8	22.6	22.6	27.4
25	Indeno[1,2,3-cd]pireno	1.2	1000	25	19.5	22.5	22.5	27.2
26	Dibenzo[a,h]antraceno	1.1	900	28	22.6	24.0	24.0	29.0
27	Benzo[ghi]perileno	0.9	800	31	25	23.1	23.1	27.9
Total S.Stock [mg]								259.0
Total S.Stock [μL]								362
Vol. Tolueno [μL]								638
Vol. Final [μL]								1000
Masa final [mg]								827.2

Tabla XXIV. Preparación de la solución **SM2**_{HAP bajo PM} a 23 °C a partir de 200 µL (172.2 mg) de la **SM1**_{HAP alto PM}

#	HAP	SM1 _{HAP alto PM} [ng µL ⁻¹]	SM1 _{HAP alto PM} [ng mg ⁻¹]	HAP [µg]	SM2 _{HAP alto PM} [ng µL ⁻¹]	SM2 _{HAP alto PM} [ng mg ⁻¹]
13	Acenaftileno	24.2	29.3	5.04	5.0	5.8
14	Acenafteno	24.4	29.5	5.08	5.1	5.9
15	Benzo[a]fluoreno	22.0	26.6	4.58	4.6	5.3
16	Benzo[a]antraceno	23.3	28.1	4.85	4.8	5.6
17	Trifenileno	9.8	11.8	2.03	2.0	2.3
18	Criseno	9.9	12.0	2.06	2.1	2.4
19	Benzo[b]fluoranteno	21.7	26.3	4.52	4.5	5.2
20	Benzo[k]fluoranteno	22.7	27.4	4.73	4.7	5.5
21	Benzo[e]pireno	18.8	22.7	3.91	3.9	4.5
22	Benzo[a]pireno	20.6	24.9	4.28	4.3	5.0
23	Perileno	19.7	23.8	4.11	4.1	4.8
24	Dibenzo[a,c]antraceno	22.6	27.4	4.71	4.7	5.5
25	Indeno[1,2,3-cd]pireno	22.5	27.2	4.68	4.7	5.4
26	Dibenzo[a,h]antraceno	24.0	29.0	5.00	5.0	5.8
27	Benzo[ghi]perileno	23.1	27.9	4.81	4.8	5.6
Vol. Tolueno [µL]						800
Vol. Final [µL]						1000
Masa final [mg]						864

Tabla XXV. Preparación de la solución **SMHAP-d**_{bajo PM} a 21 °C

#	HAP-d	Sol. Stock [µg mg ⁻¹]	Sol. Stock [µg mL ⁻¹]	Alícuota [µL]	Alícuota [mg]	HAP [µg]	SMHAP-d _{bajo PM} [ng µL ⁻¹]	SMHAP-d _{bajo PM} [ng mg ⁻¹]
1	Naftaleno-d8	1.5	1300	57	47.3	71.2	38.5	44.8
2	Antraceno-d10	0.8	700	105	90.1	73.1	39.5	46.0
3	Fenantreno-d10	1.0	900	82	69.7	72.8	39.3	45.8
4	Pireno-d10	1.5	1300	57	49.3	74.1	40.0	46.6
Total S.Stock [mg]								256.4
Total S.Stock [µL]								301
Vol. Tolueno [µL]								1550
Vol. Final [µL]								1851
Masa final [mg]								1588.7

Tabla XXVI. Preparación de la solución **SMHAP-d**_{alto PM} a 21 °C

#	HAP-d	Sol. Stock [$\mu\text{g mg}^{-1}$]	Sol. Stock [$\mu\text{g mL}^{-1}$]	Alicuota [μL]	Alicuota [mg]	HAP [μg]	SMHAP-d _{alto PM}		
							[ng μL^{-1}]	[ng mg^{-1}]	
5	Acenafteno-d10	1.6	1400	53	44.3	71.8	36.8	63.0	
6	Benzo[a]antraceno-d12	0.9	800	93	85.9	79.6	40.8	69.9	
7	Criseno-d12	0.6	500	100	83.3	48.4	24.8	42.5	
8	Benzo[a]pireno-d12	0.7	600	125	107	74.8	38.3	65.6	
9	Benzo[b]fluoranteno-d12	1.6	1400	53	36.8	59.6	30.6	52.3	
10	Benzo[k]fluoranteno-d12	0.7	600	125	106.3	74.2	38.1	65.2	
11	Perileno-d12	0.9	800	92	78.8	73.2	37.5	64.3	
12	Benzo[ghi]perileno-d12	0.7	600	125	106.6	74.4	38.2	65.3	
							Total S.Stock [mg]	649	
							Total S.Stock [μL]	766	
							Vol. Tolueno [μL]	1184	
							Vol. Final [μL]	1950	
							Masa final [mg]	1139.4	

3.4.3 Preparación de las soluciones de trabajo

Se prepararon 5 soluciones de trabajo (ST), dos para los HAP de bajo peso molecular y 3 para HAP de alto peso molecular, con el fin de cubrir el intervalo de la curva de calibración del método. Las concentraciones individuales de HAP se enlistan en las **tablas XXVII y XXVIII**.

- **ST1**_{HAP bajo PM}, $\sim 6 \text{ ng } \mu\text{L}^{-1}$ elaborada con 77 μL (64.7 mg) de **SM1**_{HAP bajo PM} y 423 μL de tolueno para un volumen final de 500 μL y masa de 438.1 mg (**tabla XXVII**).
- **ST2**_{HAP bajo PM}, $\sim 1 \text{ ng } \mu\text{L}^{-1}$ elaborada con 83 μL (71.3 mg) de **ST1**_{HAP bajo PM} y 417 μL de tolueno para un volumen final de 500 μL y masa de 434.6 mg (**tabla XXVII**).
- **ST1**_{HAP alto PM}, $\sim 3 \text{ ng } \mu\text{L}^{-1}$ elaborada con 300 μL (256.4 mg) de **SM2**_{HAP alto PM} y 200 μL de tolueno para un volumen final de 500 μL y masa de 433.8 mg (**tabla XXVIII**).
- **ST2**_{HAP alto PM}, $\sim 0.8 \text{ ng } \mu\text{L}^{-1}$ elaborada con 135 μL (116.6 mg) de **ST1**_{HAP alto PM} y 365 μL de tolueno para un volumen final de 500 μL y masa de 435.7 mg (**tabla XXVIII**).
- **ST3**_{HAP alto PM}, $\sim 0.3 \text{ ng } \mu\text{L}^{-1}$ elaborada con 190 μL (164.3 mg) de **ST2**_{HAP alto PM} y 310 μL de tolueno para un volumen final de 500 μL y masa de 436.5 mg (**tabla XXVIII**).

Tabla XXVII. Concentración de HAP en las soluciones de trabajo para compuestos de bajo PM, preparadas a 21°C

#	HAP	SM1 _{HAP} bajo PM		HAP [µg]	ST1 _{HAP} bajo PM		HAP [µg]	ST2 _{HAP} bajo PM		
		[ng µL ⁻¹]	[ng mg ⁻¹]		[ng µL ⁻¹]	[ng mg ⁻¹]		[ng µL ⁻¹]	[ng mg ⁻¹]	
1	Naftaleno	39.2	45.7	3.0	5.9	6.7	0.5	1.0	1.1	
2	Fluoreno	39.3	45.7	3.0	5.9	6.8	0.5	1.0	1.1	
3	Antraceno	39.9	46.4	3.0	6.0	6.9	0.5	1.0	1.1	
4	Fenantreno	39.1	45.5	2.9	5.9	6.7	0.5	1.0	1.1	
5	4,5-Metilenfenantreno	39.8	46.4	3.0	6.0	6.9	0.5	1.0	1.1	
6	1-Metilantraceno	39.9	46.4	3.0	6.0	6.9	0.5	1.0	1.1	
7	2-Metilantraceno	39.9	46.5	3.0	6.0	6.9	0.5	1.0	1.1	
8	9-Metilantraceno	39.4	45.8	3.0	5.9	6.8	0.5	1.0	1.1	
9	Fluoranteno	39.3	45.8	3.0	5.9	6.8	0.5	1.0	1.1	
10	Pireno	39.5	46.0	3.0	5.9	6.8	0.5	1.0	1.1	
11	3,6-Dimetilfenantreno	39.2	45.7	3.0	5.9	6.7	0.5	1.0	1.1	
12	9,10-Dimetilantraceno	39.1	45.6	2.9	5.9	6.7	0.5	1.0	1.1	
					Vol. Tolueno [µL]	423			Vol. Tolueno [µL]	417
					Vol. Final [µL]	500			Vol. Final [µL]	500
					Masa final [mg]	438.1			Masa final [mg]	434.6

Tabla XXVIII. Concentración de HAP en las soluciones de trabajo para compuestos de alto PM, preparadas a 22 °C

#	HAP	SM2 _{HAP alto PM}		HAP [μg]	ST1 _{HAP alto PM}		HAP [μg]	ST2 _{HAP alto PM}		HAP [μg]	ST3 _{HAP alto PM}	
		[ng μL ⁻¹]	[ng mg ⁻¹]		[ng μL ⁻¹]	[ng mg ⁻¹]		[ng μL ⁻¹]	[ng mg ⁻¹]		[ng μL ⁻¹]	[ng mg ⁻¹]
13	Acenaftileno	5.0	5.8	1.5	3.0	3.4	0.4	0.8	0.9	0.2	0.3	0.3
14	Acenafteno	5.1	5.9	1.5	3.0	3.5	0.4	0.8	0.9	0.2	0.3	0.3
15	Benzo[a]fluoreno	4.6	5.3	1.4	2.7	3.1	0.4	0.7	0.8	0.1	0.3	0.3
16	Benzo[a]antraceno	4.8	5.6	1.4	2.9	3.3	0.4	0.8	0.9	0.1	0.3	0.3
17	Trifenileno	2.0	2.3	0.6	1.2	1.4	0.2	0.3	0.4	0.1	0.1	0.1
18	Criseno	2.1	2.4	0.6	1.2	1.4	0.2	0.3	0.4	0.1	0.1	0.1
19	Benzo[b]fluoranteno	4.5	5.2	1.3	2.7	3.1	0.4	0.7	0.8	0.1	0.3	0.3
20	Benzo[k]fluoranteno	4.7	5.5	1.4	2.8	3.2	0.4	0.8	0.9	0.1	0.3	0.3
21	Benzo[e]pireno	3.9	4.5	1.2	2.3	2.7	0.3	0.6	0.7	0.1	0.2	0.3
22	Benzo[a]pireno	4.3	5.0	1.3	2.5	2.9	0.3	0.7	0.8	0.1	0.3	0.3
23	Perileno	4.1	4.8	1.2	2.4	2.8	0.3	0.7	0.8	0.1	0.2	0.3
24	Dibenzo[a,c]antraceno	4.7	5.5	1.4	2.8	3.2	0.4	0.8	0.9	0.1	0.3	0.3
25	Indeno[1,2,3-cd]pireno	4.7	5.4	1.4	2.8	3.2	0.4	0.7	0.9	0.1	0.3	0.3
26	Dibenzo[a,h]antraceno	5.0	5.8	1.5	3.0	3.4	0.4	0.8	0.9	0.2	0.3	0.3
27	Benzo[ghi]perileno	4.8	5.6	1.4	2.9	3.3	0.4	0.8	0.9	0.1	0.3	0.3
				Vol. Tolueno [μL]	200		Vol. Tolueno [μL]	365		Vol. Tolueno [μL]	310	
				Vol. Final [μL]	500		Vol. Final [μL]	500		Vol. Final [μL]	500	
				Masa final [mg]	433.8		Masa final [mg]	435.7		Masa final [mg]	436.5	

3.4.4 Preparación de las soluciones de estándar interno (E.I.)

Con las soluciones madre de HAP deuterados se preparó una solución de E.I. (**tabla XXIX**):

- E.I., ~32 $\mu\text{g mL}^{-1}$ elaborada con 420 μL (360.5 mg) de **SMHAP-d** bajo PM, 34 μL (28.4 mg) de **SMHAP-d** alto PM y 46 μL (38.8 mg) de tolueno para un volumen final de 500 μL .

Tabla XXIX Concentración de HAP deuterados en las soluciones de E.I.

#	HAP-d	SMHAP-d _{bajo PM} [ng μL^{-1}]	SMHAP-d _{bajo PM} [ng mg ⁻¹]	HAP [μg]	EI [ng μL^{-1}]	EI [ng mg ⁻¹]
1	Naftaleno-d8	38.5	44.8	16.2	32.3	37.8
2	Antraceno-d10	39.5	46.0	16.6	33.2	38.8
3	Fenantreno-d10	39.3	45.8	16.5	33.0	38.6
4	Pireno-d10	40.0	46.6	16.8	33.6	39.3
5	Acenafteno-d10	36.8	63.0	1.8	3.6	4.2
6	Benzo[a]antraceno-d12	40.8	69.9	2.0	4.0	4.6
7	Criseno-d12	24.8	42.5	1.2	2.4	2.8
8	Benzo[a]pireno-d12	38.3	65.6	1.9	3.7	4.4
9	Benzo[b]fluoranteno-d12	30.6	52.3	1.5	3.0	3.5
10	Benzo[k]fluoranteno-d12	38.1	65.2	1.9	3.7	4.3
11	Perileno-d12	37.5	64.3	1.8	3.6	4.3
12	Benzo[ghi]perileno-d12	38.2	65.3	1.9	3.7	4.3
Vol. Tolueno [μL]						46
Vol. Final [μL]						500
Masa final [mg]						427.7

Un resumen de las soluciones elaboradas se presenta a modo de esquema en la **figura 25**.

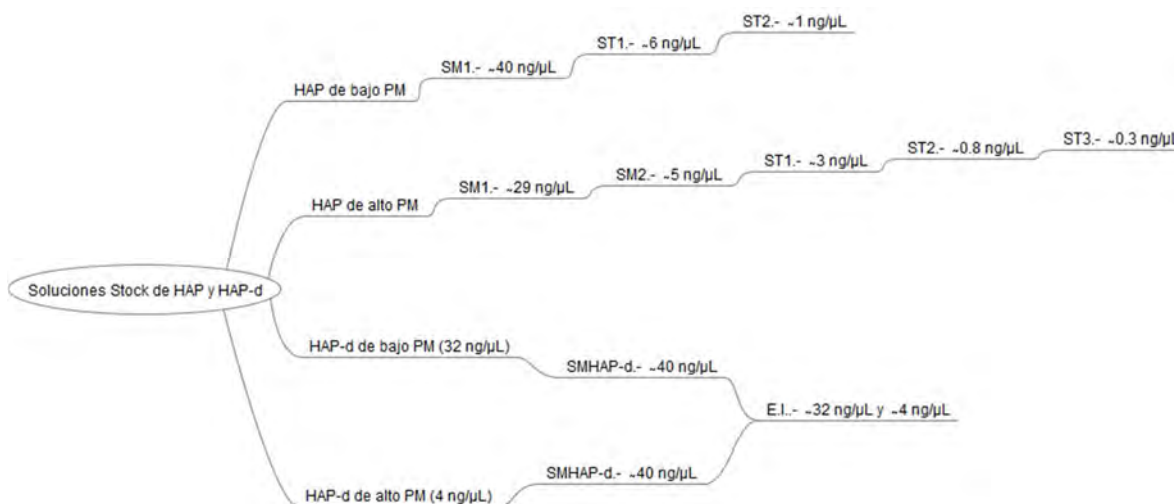


Figura 25. Soluciones elaboradas para preparar la curva de calibración del método analítico.

3.4.5 Preparación de los niveles de la curva de calibración del método analítico

Los 11 niveles de concentración de la curva de calibración se prepararon conforme a la **tabla XXX**. A cada nivel se le adicionaron 20 μL (17 mg) de E.I. y su aforo final fue de 100 μL . De cada solución se tomaron 15 μL que fueron adicionados a 1/16 de filtro que contiene teóricamente 1.12 mg de 18 mg de partículas como se expresó en la **sección 3.3.3**); las adiciones de cada nivel se hicieron por triplicado. Las concentraciones de HAP y HAP-d se muestran en la **tabla XXXI** en función del volumen de adición.

Tabla XXX. Preparación de los niveles de concentración de la curva de calibración del método

Nivel de concentración	Solución 1	Solución 2
1	42 μL de SM1 _{HAP bajo PM}	40 μL de ST1 _{HAP alto PM}
2	34 μL de SM1 _{HAP bajo PM}	36 μL de ST1 _{HAP alto PM}
3	25 μL de SM1 _{HAP bajo PM}	30 μL de ST1 _{HAP alto PM}
4	17 μL de SM1 _{HAP bajo PM}	27 μL de ST1 _{HAP alto PM}
5	8 μL de SM1 _{HAP bajo PM}	22 μL de ST1 _{HAP alto PM}
6	28 μL de ST1 _{HAP bajo PM}	18 μL de ST1 _{HAP alto PM}
7	20 μL de ST1 _{HAP bajo PM}	50 μL de ST2 _{HAP alto PM}
8	15 μL de ST1 _{HAP bajo PM}	35 μL de ST2 _{HAP alto PM}
9	10 μL de ST1 _{HAP bajo PM}	20 μL de ST2 _{HAP alto PM}
10	35 μL de ST2 _{HAP bajo PM}	22 μL de ST3 _{HAP alto PM}
11	15 μL de ST2 _{HAP bajo PM}	10 μL de ST3 _{HAP alto PM}

Tabla XXXI. Concentración de los HAP y HAP-d en la curva de calibración. Las concentraciones están en ng/15µL

#	HAP	Nivel de concentración	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
1	Naftaleno		236	200	147	101	47	24	17	13	9	5	1
2	Fluoreno		236	200	147	101	47	24	17	13	9	5	1
3	Antraceno		240	203	149	102	47	24	17	13	9	5	1
4	Fenantreno		235	199	146	100	46	24	17	13	9	5	1
5	4,5-Metilenfenantreno		239	203	149	102	47	24	17	13	9	5	1
6	1-Metilantraceno		240	203	149	102	47	24	17	13	9	5	1
7	2-Metilantraceno		240	204	149	103	47	25	17	13	9	5	1
8	9-Metilantraceno		237	201	147	101	47	24	17	13	9	5	1
9	Fluoranteno		236	201	147	101	47	24	17	13	9	5	1
10	Pireno		237	201	148	101	47	24	17	13	9	5	1
11	3,6-Dimetilfenantreno		236	200	147	101	47	24	17	13	9	5	1
12	9,10-Dimetilantraceno		235	200	146	100	46	24	17	13	9	5	1
13	Acenaftileno		18	16	13	12	9	8	6	4	2	1	0.4
14	Acenafteno		18	16	13	12	9	8	6	4	2	1	0.4
15	Benzo[a]fluoreno		16	15	12	11	9	7	5	4	2	1	0.4
16	Benzo[a]antraceno		17	16	13	11	9	8	6	4	2	1	0.4
17	Trifenileno		7	6	5	5	4	3	2	2	1	0	0.2
18	Criseno		7	7	5	5	4	3	2	2	1	0	0.2
19	Benzo[b]fluoranteno		16	14	12	11	8	7	5	4	2	1	0.4
20	Benzo[k]fluoranteno		17	15	13	11	9	7	6	4	2	1	0.4
21	Benzo[e]pireno		14	13	10	9	7	6	5	3	2	1	0.3
22	Benzo[a]pireno		15	14	11	10	8	7	5	4	2	1	0.4
23	Perileno		15	13	11	10	8	6	5	3	2	1	0.4
24	Dibenzo[a,c]antraceno		17	15	13	11	9	7	6	4	2	1	0.4
25	Indeno[1,2,3-cd]pireno		17	15	12	11	9	7	6	4	2	1	0.4
26	Dibenzo[a,h]antraceno		18	16	13	12	9	8	6	4	2	1	0.4
27	Benzo[ghi]perileno		17	15	13	11	9	8	6	4	2	1	0.4
28	Naftaleno-d8		98	96	96	96	96	96	96	96	96	95	96
29	Antraceno-d10		101	99	98	99	98	99	99	98	99	98	99
30	Fenantreno-d10		100	99	98	99	98	99	99	98	99	97	99
31	Pireno-d10		102	100	100	100	100	100	100	100	100	99	100
32	Acenafteno-d10		11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11
33	Benzo[a]antraceno-d12		12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
34	Criseno-d12		7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7
35	Benzo[a]pireno-d12		11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11
36	Benzo[b]fluoranteno-d12		9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9
37	Benzo[k]fluoranteno-d12		11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11
38	Perileno-d12		11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11
39	Benzo[ghi]perileno-d12		11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11

3.3.6 Fortificación y análisis de los filtros con matriz diesel

En un análisis previo se determinó que 15 μL fue el volumen necesario para adicionar homogéneamente y sin pérdidas por escurrimiento 1/16 del filtro a analizar, mientras que en otro experimento se determinó que el tiempo de interacción del analito con la matriz mostró que la respuesta no cambia si el análisis se hace inmediatamente ó 3, 5 ó 12 h después. Debido a esto, se decidió que la adición de 15 μL del punto de la curva a 1/16 de filtro se llevara a cabo al momento de su análisis. De este modo, el 1/16 de filtro con partículas previamente extraídas (**tabla XX, figura 22**) se colocó dentro del tubo de desorción, se adicionaron 15 μL del punto de la curva y se colocó en el TD para su análisis. Las condiciones de desorción y cromatográficas se muestran en la **tabla XXXII**.

Tabla XXXII. Condiciones de desorción y cromatográficas para la curva de calibración del método

Parámetro	Valor	Parámetro cromatográfico	Valor
Modelo y marca del TD	Markes International. Desorbedor térmico modelo UNITY 2	Marca y modelo del cromatógrafo	Agilent Technologies. Cromatógrafo de gases 6890 plus acoplado al espectrómetro de masas 5973 N
Desorción primaria		Columna	DB-35MS, J&W Scientific, 30m x 0.250 mm x 0.25 μm .
Temperatura de desorción	300 °C	Fase estacionaria	35% difenil-polidimetil-siloxano
Tiempo de desorción	10 min	Gas acarreador	Helio (Infra), 99.9997% pureza
Temperatura de la trampa	0 °C	Tiempo de corrida	46.2 min
Flujo de división	59 mL min ⁻¹	Temperatura inicial (horno)	80 °C (1 min)
Flujo de la trampa	59 mL min ⁻¹	Primer rampa	50 °C min ⁻¹ hasta 110 °C (0 min)
Split	Cerrado. Toda la muestra llega a la trampa	Segunda rampa	5 °C min ⁻¹ hasta 303 °C (0 min)
Desorción secundaria		Tercera rampa	20 °C min ⁻¹ hasta 335 °C (10 min)
Temperatura de desorción	350 °C	Fuente de iones	Impacto electrónico a 70 eV
Tiempo de desorción	10 min	Temperatura de la fuente de iones	250 °C
Flujo de división	37 mL min ⁻¹	Temperatura del cuadrupolo	150 °C
Flujo de la columna	2.5 mL min ⁻¹	Rango de "scan"	35-500 uma
Split	1:21.8, 4.5% de la muestra llega al detector		

Los niveles de concentración de la curva se analizaron aleatoriamente y por triplicado (**tabla XXXIII**), exceptuando los puntos I, VI y VIII que se hicieron por duplicado. En el caso del punto I la trampa se saturaba después de cada inyección por lo que se decidió hacer sólo dos inyecciones, el punto VI y VII tuvieron que ser inyectados nuevamente y sólo se hizo por duplicado. Antes del análisis por triplicado de cada punto se llevó a cabo un blanco, que consistió en el análisis de 1/16 de filtro con matriz sin fortificar. Después de cada inyección se hizo un "trap heat", que consiste en calentar la trampa a 350°C por 20 min y con flujo de 47 mL min⁻¹ de helio para evitar el acarreo de contaminación.

Tabla XXXIII. Orden de análisis de la curva de calibración

Nivel:	3	9	8	5	11	4	10	2	1	6	7
---------------	---	---	---	---	----	---	----	---	---	---	---

Finalmente, antes de realizar cualquier cálculo, a la señal en el nivel de la curva, se le restó la señal del blanco inmediato anterior.

3.4.6 Relación entre la masa inyectada de HAP y la masa que llega al detector

Por las condiciones establecidas en el split del TD durante la desorción secundaria, solo el 4.5% de la masa adicionada al filtro llega al detector. La **tabla XXXIV** presenta los ng de HAP corregidos por el split de la curva de calibración.

Tabla XXXIV. Masa de HAP (ng), de los puntos de la curva de calibración, que llega al detector

#	HAP Nivel de concentración	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
1	Naftaleno	10.81	9.18	6.72	4.62	2.14	1.10	0.77	0.59	0.39	0.23	0.07
2	Fluoreno	10.82	9.19	6.73	4.63	2.14	1.11	0.77	0.59	0.39	0.23	0.07
3	Antraceno	10.99	9.33	6.84	4.70	2.17	1.12	0.78	0.60	0.40	0.23	0.07
4	Fenantreno	10.77	9.15	6.70	4.60	2.13	1.10	0.77	0.59	0.39	0.23	0.07
5	4,5-Metilenfenantreno	10.98	9.32	6.83	4.69	2.17	1.12	0.78	0.60	0.40	0.23	0.07
6	1-Metilantraceno	10.99	9.33	6.84	4.70	2.17	1.12	0.78	0.60	0.40	0.23	0.07
7	2-Metilantraceno	11.01	9.35	6.85	4.71	2.18	1.13	0.78	0.60	0.40	0.23	0.07
8	9-Metilantraceno	10.85	9.21	6.75	4.64	2.15	1.11	0.77	0.59	0.40	0.23	0.07
9	Fluoranteno	10.84	9.20	6.75	4.63	2.14	1.11	0.77	0.59	0.40	0.23	0.07
10	Pireno	10.88	9.23	6.77	4.65	2.15	1.11	0.78	0.59	0.40	0.23	0.07
11	3,6-Dimetilfenantreno	10.82	9.18	6.73	4.62	2.14	1.11	0.77	0.59	0.39	0.23	0.07
12	9,10-Dimetilantraceno	10.78	9.15	6.71	4.61	2.13	1.10	0.77	0.59	0.39	0.23	0.07
13	Acenaftileno	0.82	0.74	0.61	0.55	0.43	0.36	0.28	0.19	0.11	0.04	0.02
14	Acenafteno	0.82	0.75	0.62	0.55	0.43	0.37	0.28	0.19	0.11	0.04	0.02
15	Benzo[a]fluoreno	0.74	0.67	0.56	0.50	0.39	0.33	0.25	0.17	0.10	0.04	0.02
16	Benzo[a]antraceno	0.79	0.71	0.59	0.53	0.41	0.35	0.26	0.18	0.10	0.04	0.02
17	Trifenileno	0.33	0.30	0.25	0.22	0.17	0.15	0.11	0.08	0.04	0.02	0.01
18	Criseno	0.34	0.30	0.25	0.22	0.18	0.15	0.11	0.08	0.04	0.02	0.01
19	Benzo[b]fluoranteno	0.73	0.66	0.55	0.49	0.39	0.33	0.25	0.17	0.10	0.04	0.02
20	Benzo[k]fluoranteno	0.77	0.69	0.58	0.51	0.40	0.34	0.26	0.18	0.10	0.04	0.02
21	Benzo[e]pireno	0.63	0.57	0.48	0.42	0.33	0.28	0.21	0.15	0.08	0.03	0.02
22	Benzo[a]pireno	0.70	0.63	0.52	0.47	0.36	0.31	0.23	0.16	0.09	0.03	0.02
23	Perileno	0.67	0.60	0.50	0.45	0.35	0.30	0.22	0.16	0.09	0.03	0.02
24	Dibenzo[a,c]antraceno	0.77	0.69	0.57	0.51	0.40	0.34	0.26	0.18	0.10	0.04	0.02
25	Indeno[1,2,3-cd]pireno	0.76	0.69	0.57	0.51	0.40	0.34	0.26	0.18	0.10	0.04	0.02
26	Dibenzo[a,h]antraceno	0.81	0.73	0.61	0.54	0.43	0.36	0.27	0.19	0.11	0.04	0.02
27	Benzo[ghi]perileno	0.78	0.71	0.59	0.52	0.41	0.35	0.26	0.18	0.10	0.04	0.02
28	Naftaleno-d8	4.50	4.42	4.39	4.42	4.39	4.42	4.42	4.39	4.42	4.37	4.42
29	Antraceno-d10	4.62	4.53	4.51	4.53	4.51	4.53	4.53	4.51	4.53	4.48	4.53
30	Fenantreno-d10	4.60	4.52	4.49	4.52	4.49	4.52	4.52	4.49	4.52	4.47	4.52
31	Pireno-d10	4.68	4.60	4.57	4.60	4.57	4.60	4.60	4.57	4.60	4.55	4.60
32	Acenafteno-d10	0.50	0.49	0.49	0.49	0.49	0.49	0.49	0.49	0.49	0.48	0.49
33	Benzo[a]antraceno-d12	0.55	0.54	0.54	0.54	0.54	0.54	0.54	0.54	0.54	0.54	0.54
34	Criseno-d12	0.34	0.33	0.33	0.33	0.33	0.33	0.33	0.33	0.33	0.33	0.33
35	Benzo[a]pireno-d12	0.52	0.51	0.51	0.51	0.51	0.51	0.51	0.51	0.51	0.50	0.51
36	Benzo[b]fluoranteno-d12	0.41	0.41	0.40	0.41	0.40	0.41	0.41	0.40	0.41	0.40	0.41
37	Benzo[k]fluoranteno-d12	0.52	0.51	0.50	0.51	0.50	0.51	0.51	0.50	0.51	0.50	0.51
38	Perileno-d12	0.51	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.49	0.50
39	Benzo[ghi]perileno-d12	0.52	0.51	0.50	0.51	0.50	0.51	0.51	0.50	0.51	0.50	0.51

3.5 Análisis cualitativo por TD-CG-EM/IE

3.5.1 Identificación de los HAP

Los HAP se identificaron con base en los tiempos de retención relativos y su espectro de masas, usando los parámetros cromatográficos y de desorción de la tabla XVII. Los tiempos de retención relativos se obtuvieron mediante la ecuación:

$$t_{rr} = \frac{t_{r_{HAP}}}{t_{r_{EI}}}$$

Ecuación 8

Donde:

t_{rr} : Tiempo de retención relativo del HAP

$t_{r_{HAP}}$: Tiempo de retención absoluto del HAP

$t_{r_{EI}}$: Tiempo de retención absoluto del estándar interno inmediato anterior al HAP objetivo

Por su parte, los espectros de masas para cada HAP se obtuvieron al restar la señal en el ápice de cada pico cromatográfico a la señal del ruido de la línea base. Los espectros y tiempos de retención relativos se compararon con los obtenidos en trabajos anteriores en el laboratorio.

3.6 Análisis cuantitativo por TD-CG-EM/IE

3.6.1 Evaluación de los factores de respuesta relativos (F_{RR})

Los factores de respuesta relativos, calculados conforme a las **ecuaciones 9 y 10**, se emplearon para llevar a cabo los análisis cuantitativos.

$$F_{RR} = \frac{A_{HAP} m_{EI}}{A_{EI} m_{HAP}}$$

Ecuación 9

$$\%CV_{F_{RR}} = \frac{S_{F_{RR}}}{\bar{F}_{RR}} \times 100$$

Ecuación 10

Donde:

F_{RR} : Factor de respuesta relativo
 A_{HAP} : Área bajo la curva del HAP
 A_{EI} : Área bajo la curva del estándar interno
 m_{HAP} : masa del HAP en ng, corregido por el split del TD
 m_{EI} : masa del estándar interno en ng, corregido por el Split del TD
 $\%CV_{F_{RR}}$: Coeficiente de variación del factor de respuesta relativo
 $S_{F_{RR}}$: Desviación estándar del F_{RR}
 $\overline{F_{RR}}$: Factor de respuesta relativo promedio

3.6.2 Evaluación de la homoscedasticidad de las varianzas

Para evaluar la tendencia de la varianza como función de la concentración en la curva de calibración, se analizaron las varianzas en toda la regresión comparando las de un nivel de concentración con respecto a otro. Para ello se aplicó la prueba estadística "F de Fisher" con el estadístico:

$$F = \frac{S_a^2}{S_b^2}$$

Ecuación 11

Donde:

S_a^2 : Varianza de la respuesta a concentración mayor
 S_b^2 : Varianza de la respuesta a menor concentración

Bajo las siguientes hipótesis:

H_0 : No hay diferencia significativa entre las varianzas
 H_a : Hay diferencia significativa entre las varianzas

Si $F_{\text{calculado}} \geq F_{\text{tablas}}$ al nivel de significancia deseado, se rechaza H_0 , por lo que se concluye que las varianzas son diferentes y en consecuencia se debe estabilizar la varianza para emplear una regresión lineal simple o emplear los parámetros de una regresión lineal ponderada.

3.6.3 Cálculo de los parámetros de la regresión lineal ponderada

La prueba "F de Fisher" mostró que para la curva de calibración de algunos HAP las varianzas aumentaban al incrementar su concentración. Por ello se decidió calcular los parámetros de la

ecuación lineal ponderada para las curvas de cada HAP. Los parámetros estimados fueron: pendiente ponderada (b_w) ordenada al origen ponderada (a_w) y desviación estándar de la regresión ponderada ($S_{(y/x)_w}$). La **tabla XXXV** muestra el cálculo para obtener dichos parámetros (Miller y Miller 2002).

Tabla XXXV. Fórmulas para el cálculo de la regresión ponderada

Parámetro de la regresión ponderada	Fórmula	Ecuación
Factor ponderado de la i -ésima dilución	$W_i = \frac{S_i^{-2}}{\sum_i S_i^{-2}/n}$	12
Centroide ponderado de Y	$\bar{Y}_w = \frac{\sum_i W_i Y_i}{n}$	13
Centroide ponderado de X	$\bar{X}_w = \frac{\sum_i W_i X_i}{n}$	14
Pendiente ponderada en la recta de regresión	$b_w = \frac{\sum_i W_i X_i Y_i - n \bar{X}_w \bar{Y}_w}{\sum_i W_i X_i^2 - n \bar{X}_w^2}$	15
Ordenada al origen ponderada en la recta de regresión	$a_w = \bar{Y}_w - b_w \bar{X}_w$	16
Desviación estándar de los residuos de Y de la recta de regresión ponderada	$S_{(y/x)_w} = \left\{ \frac{\sum_i W_i (Y_i - \hat{Y}_i)^2}{n - 2} \right\}^{1/2}$	17

Donde:

S_i^{-2} : Inverso de la varianza de las áreas bajo la curva de la i -ésima dilución

n : Número de puntos que forman la curva de calibración

X_i : Relación de masas $m_{\text{HAP}}/m_{\text{EI}}$

Y_i : Relación de áreas, $A_{\text{HAP}}/A_{\text{EI}}$

\hat{Y}_i : Respuesta ajustada por la regresión ponderada, Y_i ajustada

\bar{X}_w : Centroide ponderado de X

\bar{Y}_w : Centroide ponderado de Y

3.6.4 Evaluación de la linealidad

La linealidad se evaluó mediante el coeficiente de correlación de Pearson (r) y el análisis de varianza (ANOVA) (**sección 1.24**).

El cálculo del coeficiente de correlación (r) se hizo mediante la siguiente ecuación:

$$r = \frac{\sum_i [(X_i - \bar{X})(Y_i - \bar{Y})]}{\{[\sum_i (X_i - \bar{X})^2][\sum_i (Y_i - \bar{Y})^2]\}^{1/2}}$$

Ecuación 18

Posteriormente, este coeficiente se evaluó mediante el estadístico t utilizando la **ecuación 2**.

3.6.5 Límites de detección (LD) y cuantificación (LC) del método

Los LD y LC se obtuvieron sustituyendo las **ecuaciones 6 y 7** en la ecuación de la regresión lineal (**ecuación 19**):

$$Y = bX + a$$

Ecuación 19

Si $Y = LD$:

$$a + 3S_a = bX_{LD} + a$$

Ecuación 20

Si $Y = LC$:

$$a + 10S_a = bX_{LC} + a$$

Ecuación 21

Despejando X_{LD} :

$$X_{LD} = 3 \frac{S_a}{b}$$

Ecuación 22

Despejando X_{LC} :

$$X_{LC} = 10 \frac{S_a}{b}$$

Ecuación 23

Donde:

b : Pendiente ponderada, b_w

a : Ordenada al origen ponderada, a_w

S_a : Desviación estándar de la ordenada al origen, igual al valor estadístico $S_{(Y/X)_w}$

Al ser X una relación de masa (m_{HAP}/m_{EI}) X_{LD} y X_{LC} son adimensionales. Para obtener los límites en unidades de masa se multiplicaron por la masa del estándar interno (EI) adicionado:

$$LD = X_{LD} \times EI$$

Ecuación 24

$$LC = X_{LC} \times EI$$

Ecuación 25

3.6.6 Evaluación de la precisión del método analítico

La precisión se evaluó a través del coeficiente de variación (% CV) de las áreas relativas en el análisis por triplicado o duplicado del mismo nivel de concentración (**ecuación 26**) y en función del coeficiente de variación del factor de respuesta relativo ($\%CV_{FRR}$) como se muestra en la **ecuación 27**.

$$\%CV = \frac{S_{(A_{HAP}/A_{EI})}}{\overline{A_{rel}}} \times 100$$

Ecuación 26

Donde:

$\% CV$: Coeficiente de variación de las áreas relativas en el nivel de concentración
 $S_{(A_{HAP}/A_{EI})}$: Desviación estándar de las áreas relativas en el nivel de concentración
 $\overline{A_{rel}}$: Promedio del área relativa en el nivel de concentración

$$precisión_{\% CV_{FRR}} = 100 - \%CV_{FRR}$$

Ecuación 27

3.6.7 Eficiencia

Con el fin de evaluar la eficiencia del método se utilizó el material de referencia certificado SRM2975 y SRM1649A del NIST catalogados como material particulado diesel y polvo urbano; para ello se calculó el porcentaje de la relación entre el valor obtenido por el método analítico y el valor indicado en el certificado (ambos en ng mg^{-1}) y multiplicado por 100.

Se pesaron 4 masas de SRM2975 y SRM1649A de NIST en un intervalo de 5 a 29 mg sobre papel aluminio acondicionado previamente a 250 °C y utilizando la balanza analítica Sartorius. Una vez pesados, se envolvieron en el papel aluminio y se almacenaron a -10 °C hasta su análisis.

Previo a su análisis, las muestras se fortificaron con 20 μL de la solución de estándar interno usada anteriormente en la curva de calibración del método analítico. Posteriormente se colocó la muestra (envuelta en el aluminio) en el tubo de desorción y se procedió al análisis utilizando las mismas condiciones que en el análisis de la curva de calibración (**tabla XXXII**).

En cuanto al orden en el análisis, primero se llevó a cabo un blanco utilizando sólo aluminio acondicionado antes de analizar las 4 muestras del SRM2975 y otro antes del análisis de las muestras de SRM1649A. Al igual que en la curva de calibración, entre cada análisis se realizó un "trap heat" de 20 minutos a 350°C.

Al igual que en la curva de calibración, la señal del blanco se restó a la señal de la muestra de SRM antes de su evaluación.

3.6.8 Evaluación de HAP en partículas emitidas por la combustión de diesel y de biodiesel

Entre marzo y abril del 2011 se realizó un segundo muestreo en el laboratorio de Control de Emisiones de la Facultad de Ingeniería de la UNAM con el fin de evaluar las emisiones de biodiesel y de diesel utilizando el método analítico validado.

Para ello se tomaron dos muestras de biodiesel y dos de diesel (siguiendo el mismo procedimiento de la **sección 3.3.2**). La **tabla XXXV** presenta las características de los filtros muestreados.

Tabla XXXV. Condiciones del muestreo para evaluar muestras reales

Combustible	Rpm \pm 5	Tiempo muest. [min]	Filtro #	Boquilla	filtro inicial [mg]	filtro final [mg]	Partículas [mg]
Diesel 500	800	10	L9	7/16 in	68.5	88.2	19.7
B10	805	10	FT1	7/16 in	69.6	90.5	20.9
Diesel 500	1200	10	L7	7/16 in	68.1	83.2	15.1
B10	1200	10	M3	7/16 in	63.0	77.9	14.9

Para el análisis de las muestras de biodiesel se cortó 1/16 del filtro muestra, se colocó en el tubo de desorción y se le adicionó 15 μ L de la solución de estándar interno.

En el caso de las muestras de diesel, la trampa se saturó con 1/16 de filtro (1.23 mg de partículas aproximadamente) y el análisis no fue adecuado. Por este motivo se decidió analizar 1/32 de filtro y abrir el split del tubo de muestra a la trampa de desorción, por lo que el split total del TD fue 41.7. Además, el volumen de estándar interno adicionado fue 30 μ L para detectar la misma masa de EI.

Cada muestra se analizó por duplicado, previo blanco y entre cada análisis se realizó un "heat trap" al igual que en los análisis previos.

Para obtener la concentración de HAP presente en la muestra (en $\text{ng}_{\text{HAP}}/\text{mg}_{\text{particula}}$) se utilizaron las ecuaciones de regresión lineal ponderada de cada HAP y la corrección por el split del TD.

4 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 Análisis cualitativo

La **figura 26** presenta el cromatograma del total de iones (TIC por sus siglas en inglés) con los tiempos de retención para cada uno de los 28 HAP analizados así como los 11 HAP-d usados como estándares internos. Los tiempos de retención absolutos y relativos al EI (inmediato anterior) se presentan en la **tabla XXXVI**. La **figura 27** muestra los espectros de masas de cada uno de los HAP estudiados.

Tabla XXXVI. Tiempos de retención absolutos (t_r), relativos al EI inmediato anterior (t_{rr}) e iones de los HAP analizados. Los HAP se indican por la serie 1-27 y los EI por la serie A-L, estas mismas etiquetas se emplean en la **figura 26**

#	HAP	t_r [min]	t_{rr}	Ion principal	Iones secundarios
A	Naftaleno-d8	5.73		136	137, 68
1	Naftaleno	5.80	1.01	128	129, 64
B	Acenafteno-d10	12.27		164	165, 82
2	Acenaftileno	11.77	0.96	152	153, 76
3	Acenafteno	12.44	1.01	154	155, 77
C	Fenantreno-d10	19.82		188	189, 94
4	Fluoreno	14.83	0.75	166	167, 83
5	Fenantreno	19.95	1.01	178	179, 89
9	4,5-metilenfenantreno	22.87	1.15	190	191, 95
11	3,6-dimetilenfenantreno	23.99	1.21	206	207, 103
D	Antraceno-d10	20.06		188	189, 94
6	Antraceno	20.16	1.00	178	179, 89
7	2-metilantraceno	22.47	1.12	192	193, 96
8	1-metilantraceno	22.70	1.13	192	193, 96
10	9-metilantraceno	23.73	1.18	192	193, 96
13	9,10-dimetilantraceno	27.10	1.35	206	207, 103
E	Pireno-d10	27.01		212	213, 106
12	Fluoranteno	25.83	0.96	202	203, 101
14	Pireno	27.10	1.00	202	203, 101
F	Benzo[a]antraceno-d12	33.12		240	241, 120
15	Benzo[a]fluoreno	28.71	0.87	216	217, 108
16	Benzo[a]antraceno	33.26	1.00	228	229, 114
G	Criseno-d12	33.45		240	241, 120
17	Criseno	33.52	1.00	228	229, 114
18	Trifenileno	33.59	1.00	228	229, 114
H	Benzo[b]fluoranteno-d12	38.55		264	265, 132
19	Benzo[b]fluoranteno	38.68	1.00	252	253, 126
I	Benzo[k]fluoranteno-d12	38.68		264	265, 132
20	Benzo[k]fluoranteno	38.79	1.00	252	253, 126
J	Benzo[a]pireno-d12	40.34		264	265, 132
21	Benzo[e]pireno	40.20	1.00	252	253, 126
22	Benzo[a]pireno	40.44	1.00	252	253, 126
K	Perileno-d12	40.76		264	265, 132
23	Perileno	40.86	1.00	252	253, 126
L	Benzo[ghi]perileno-d12	44.84		288	289, 144
24	Dibenzo[a,c]antraceno	43.81	0.98	278	279, 139
25	Indeno[1,2,3-cd]pireno	43.92	0.98	276	277, 138
26	Dibenzo[a,h]antraceno	44.03	0.98	278	279, 139
27	Benzo[ghi]perileno	44.94	1.00	276	277, 138

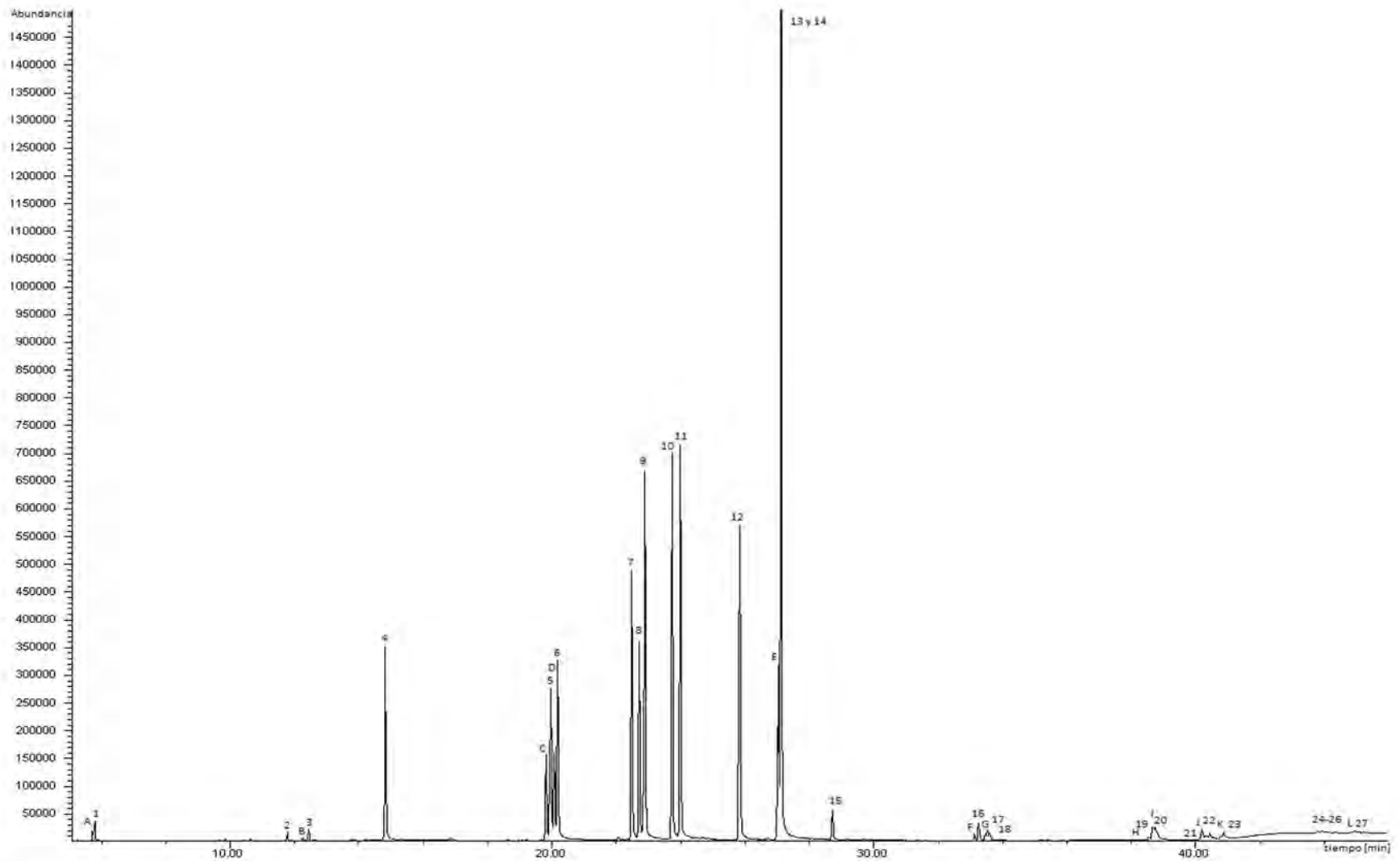
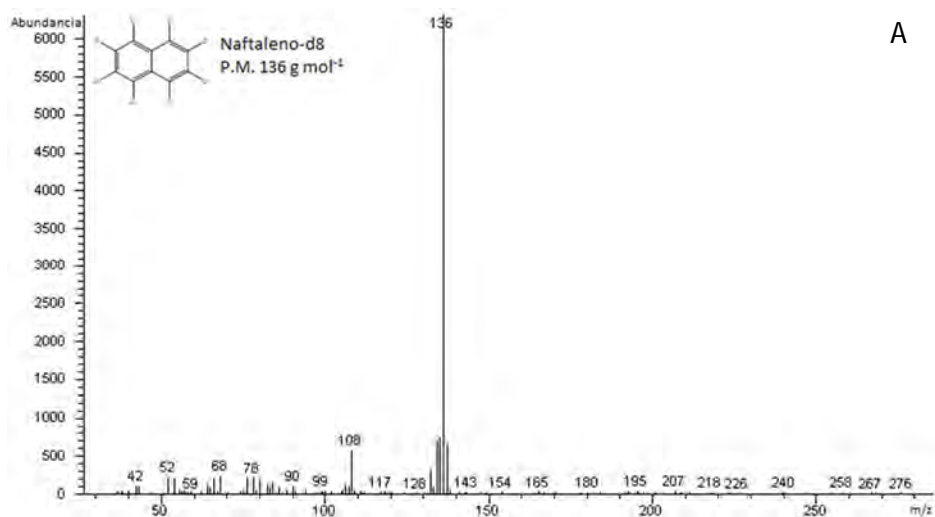
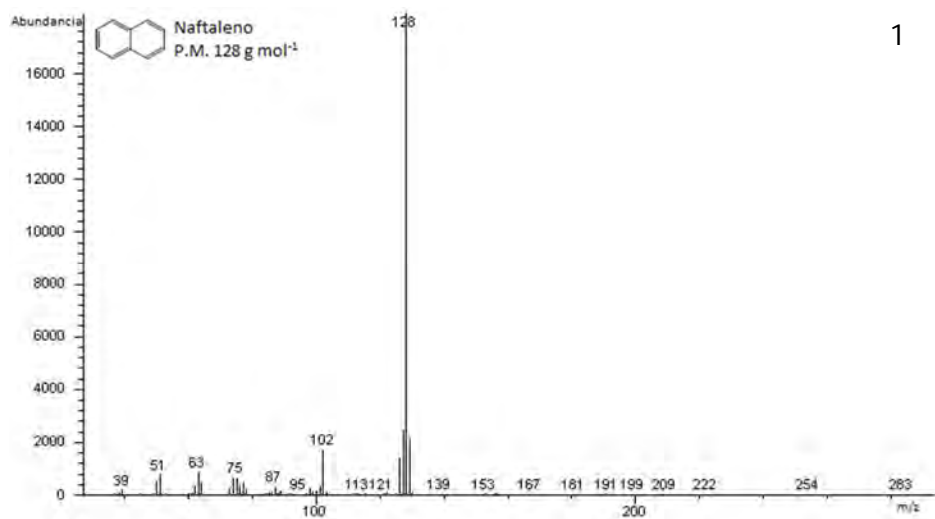


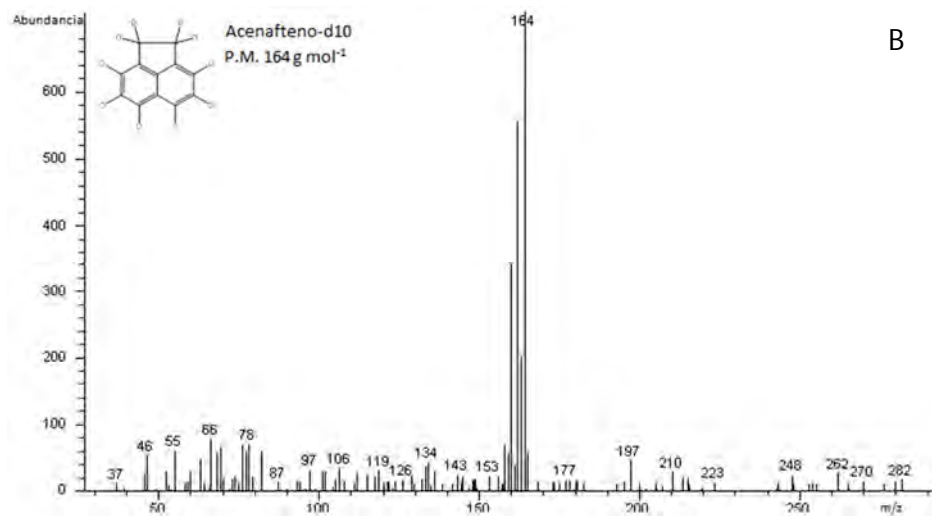
Figura 26. Cromatograma total de iones a 200 ng (HAP de bajo PM) y 16 ng (HAP alto PM) correspondiente al nivel 2 (**tabla XXX**). La gráfica ilustra los tiempos de retención de los 28 HAP (1-28) y los estándares internos (A-K). Nombres, iones y tiempos de retención se presentan en la **tabla XXII**.



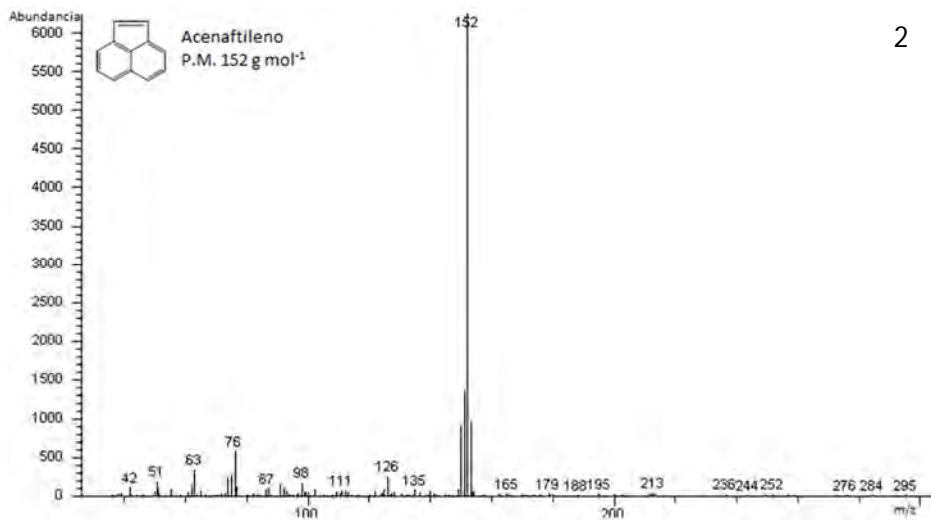
A



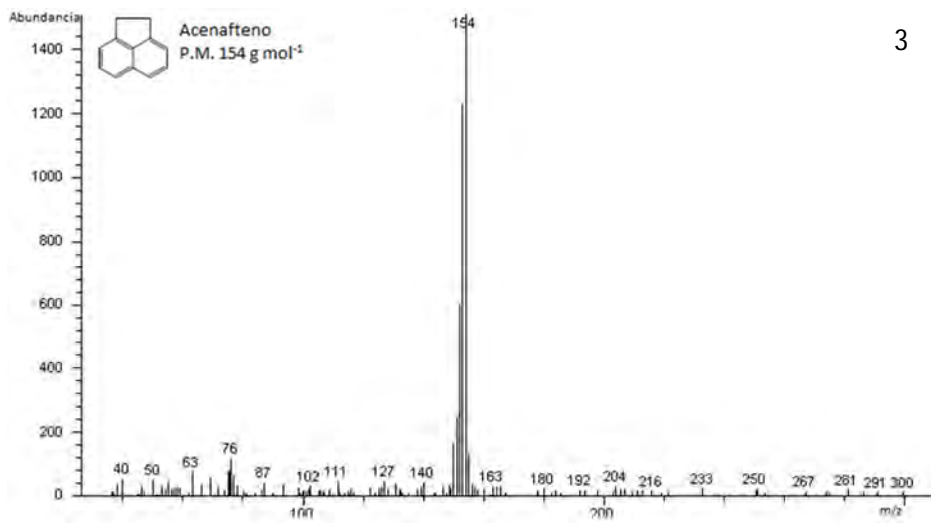
1



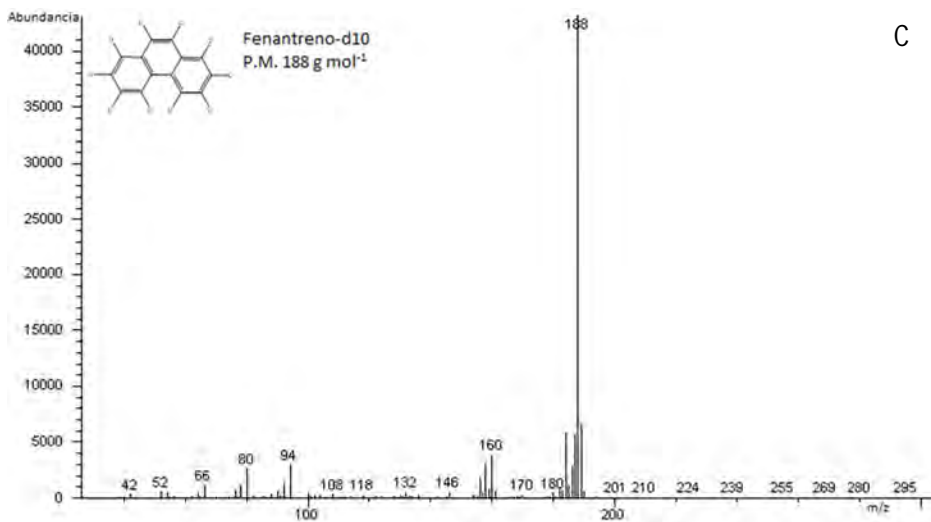
B



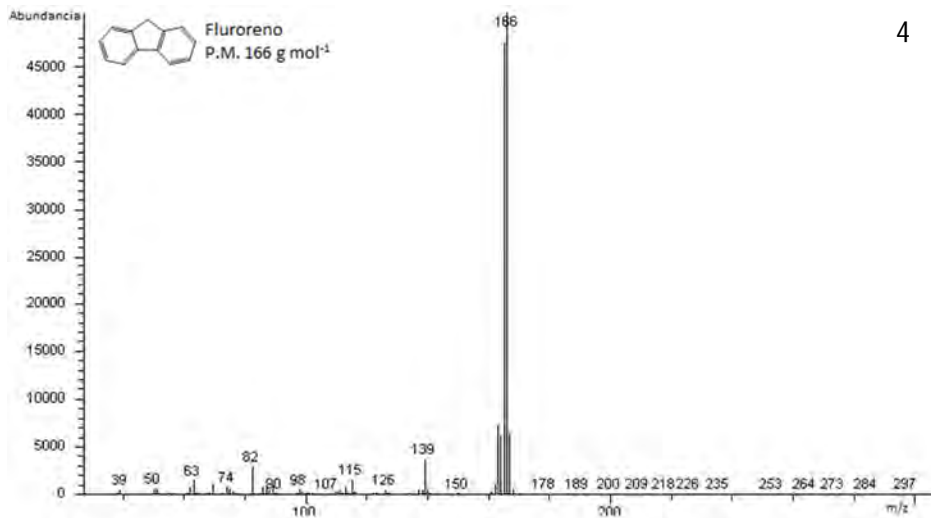
2



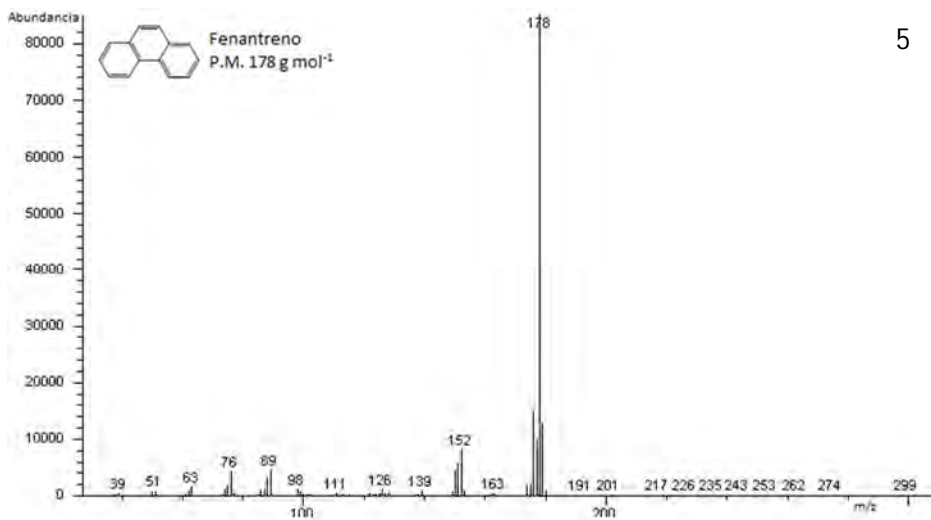
3



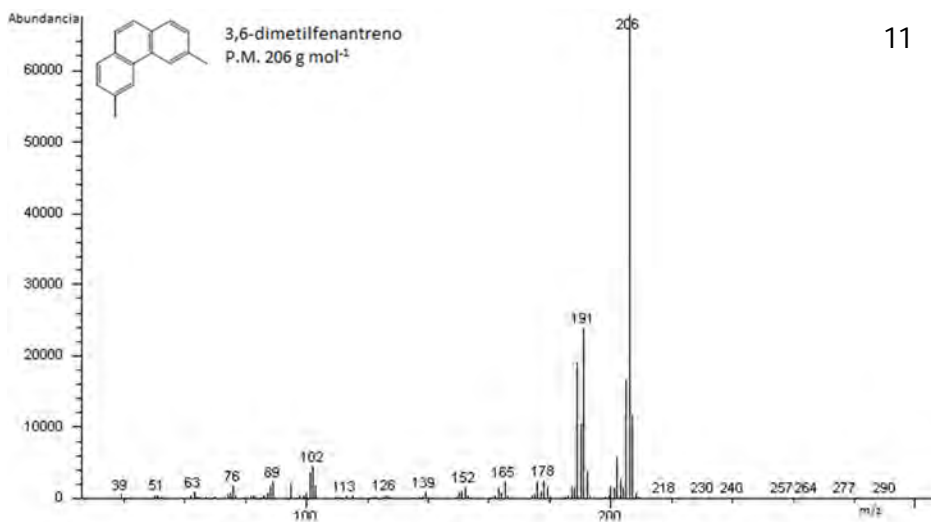
C



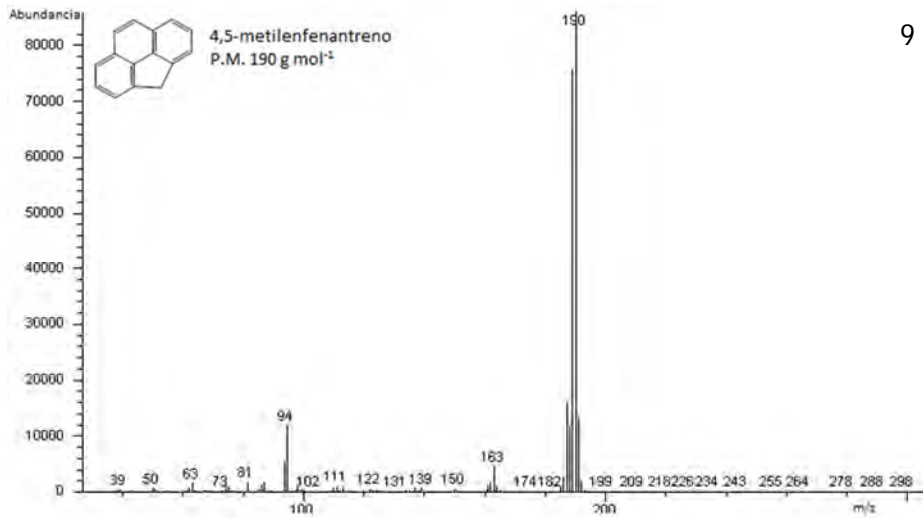
4



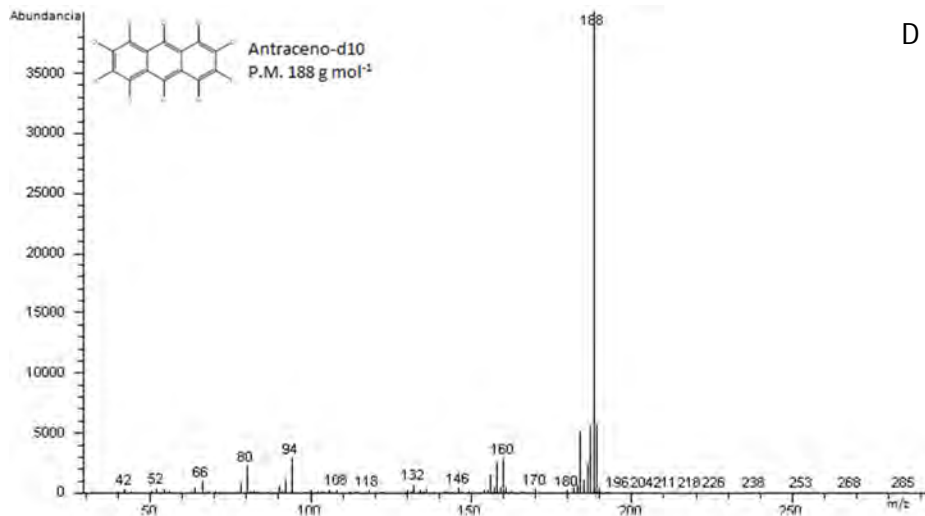
5



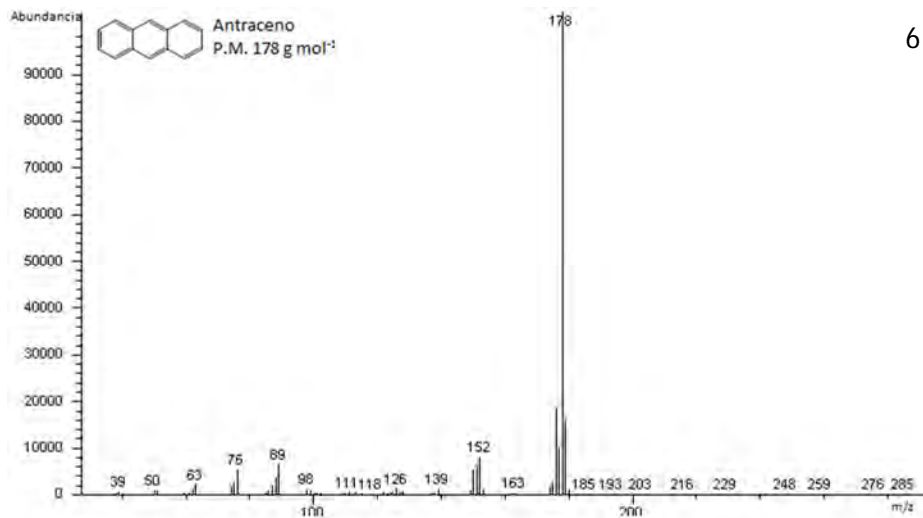
11



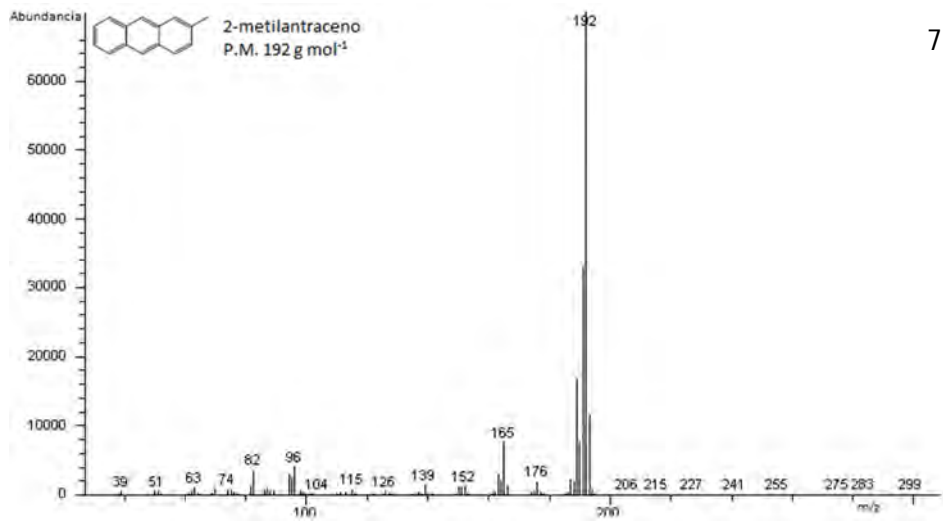
9



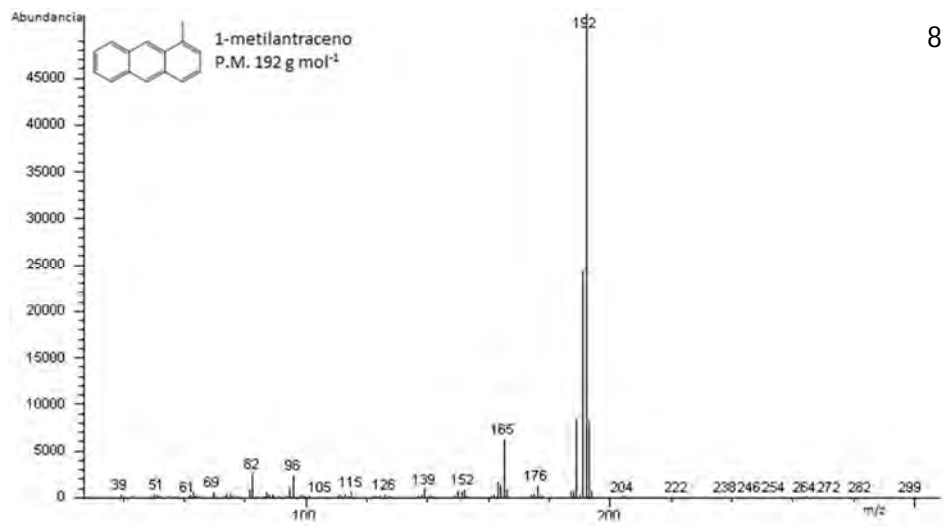
D



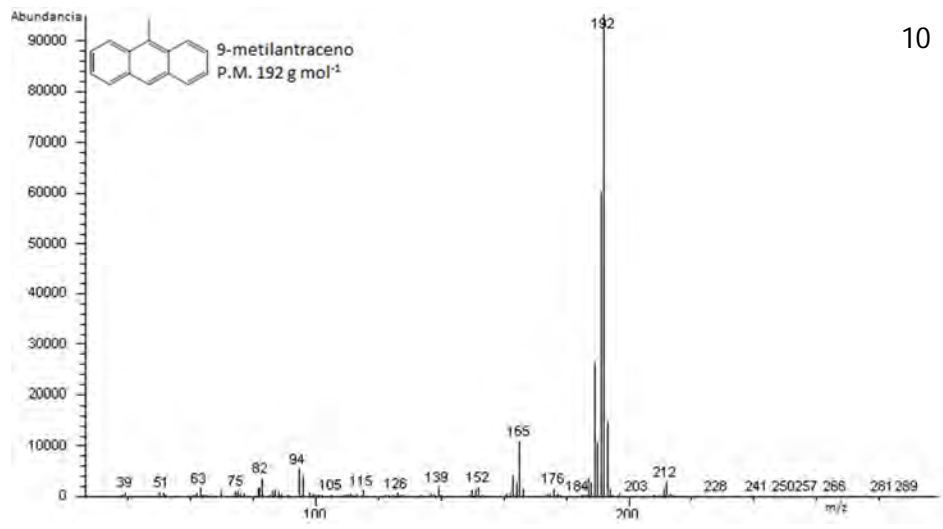
6



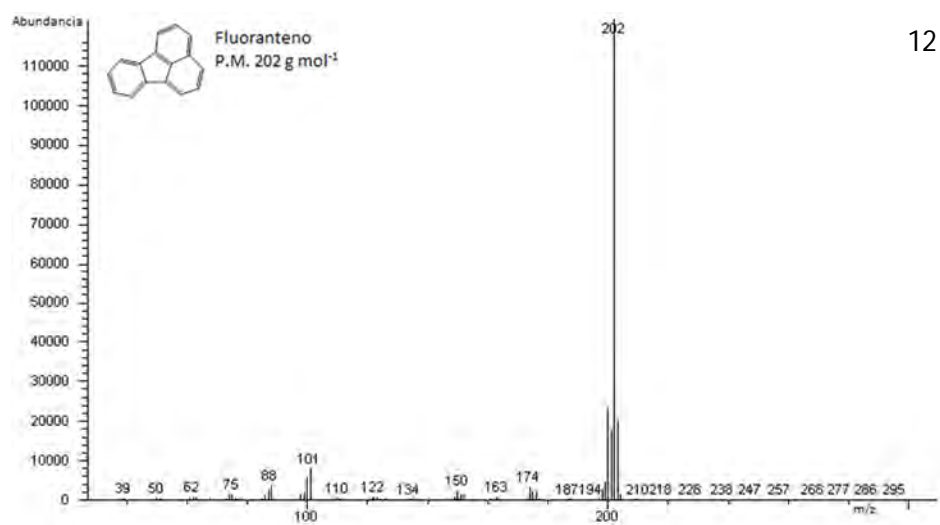
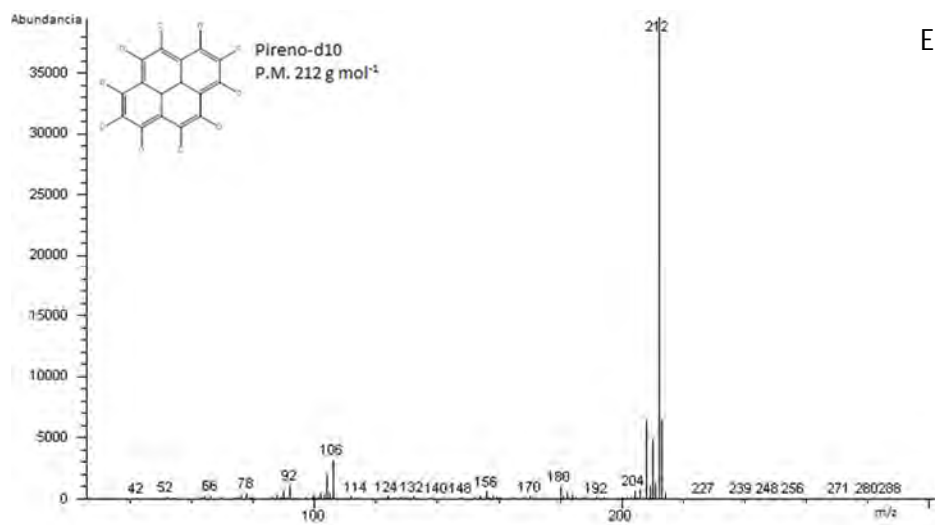
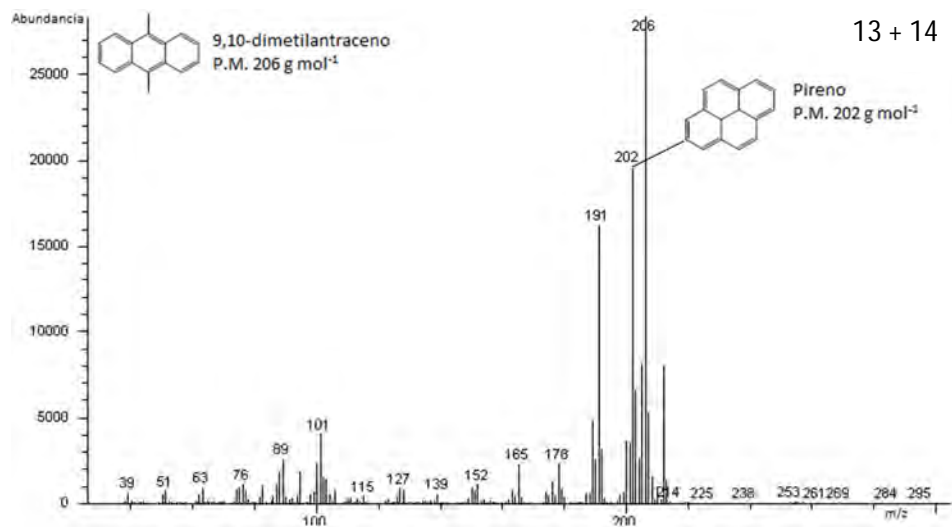
7

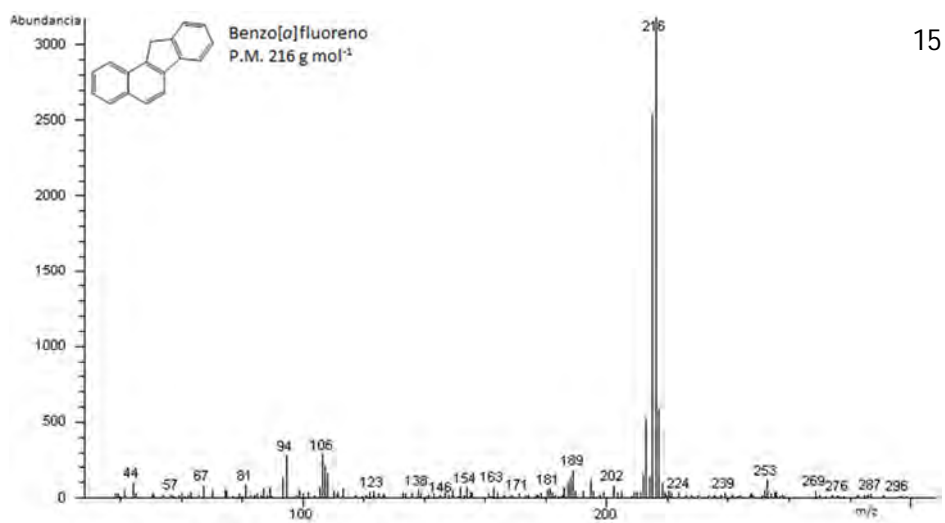
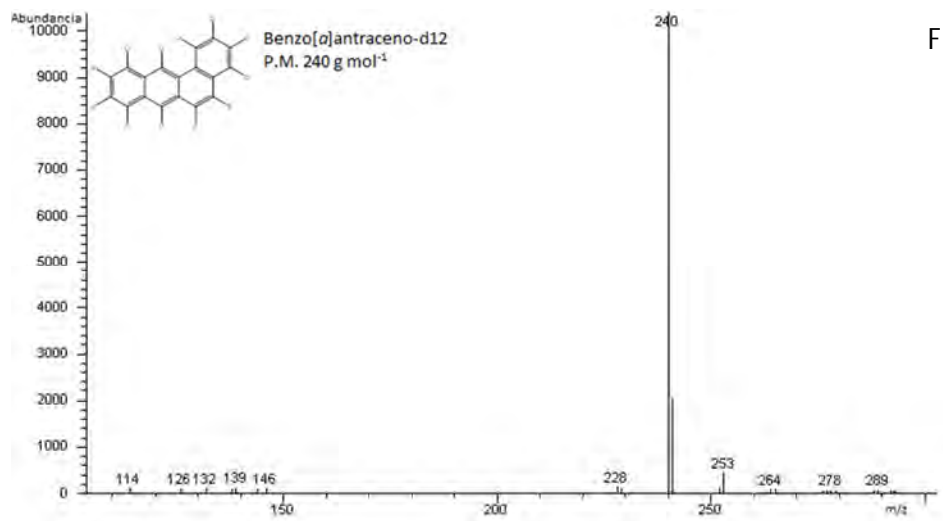
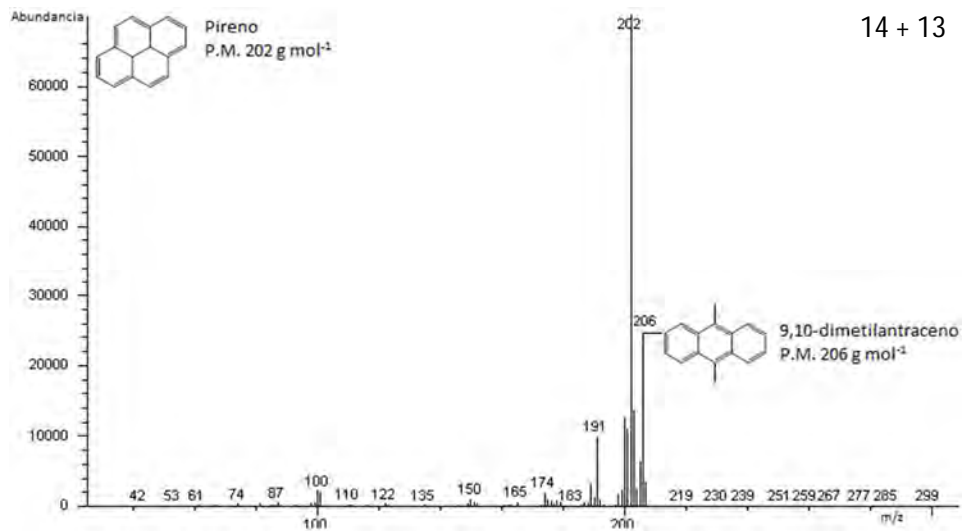


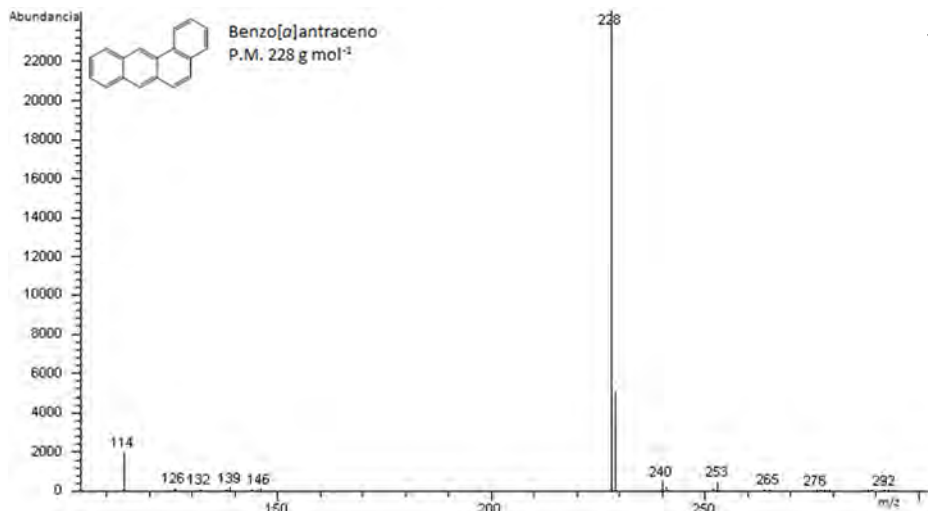
8



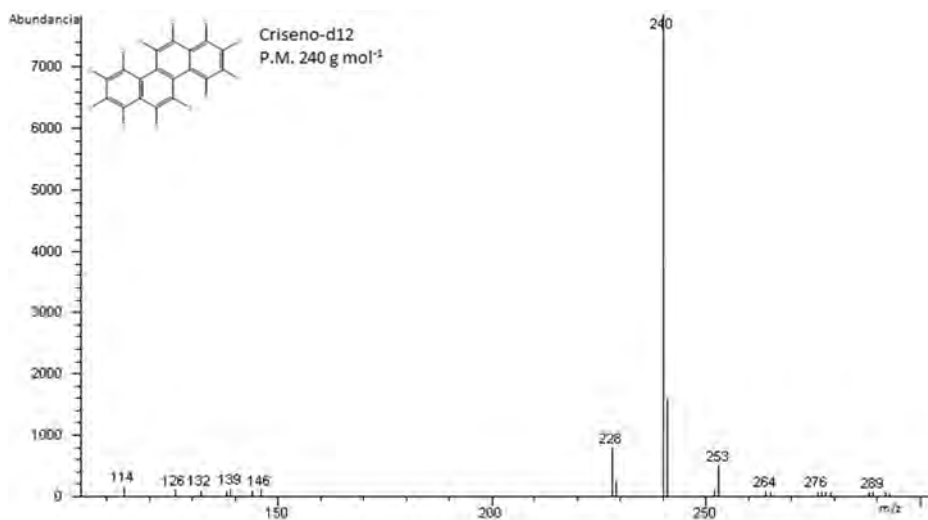
10



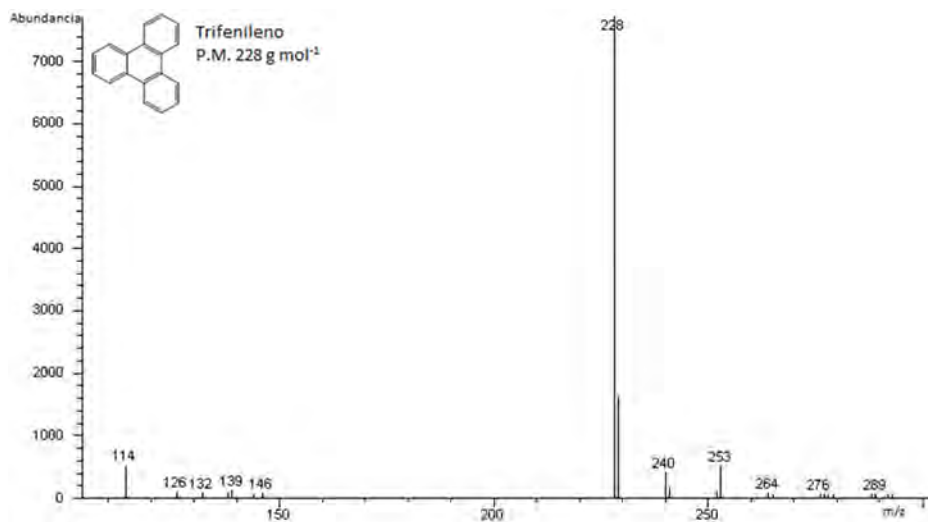




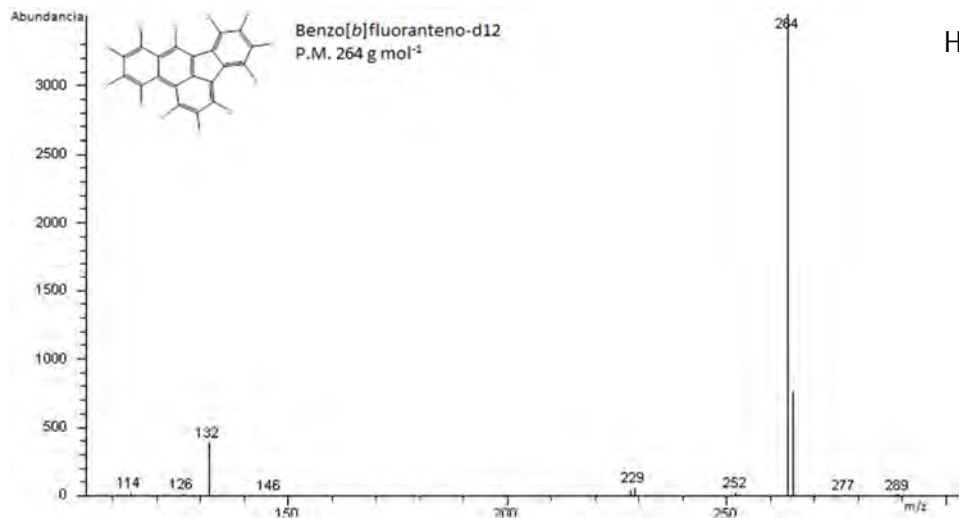
16



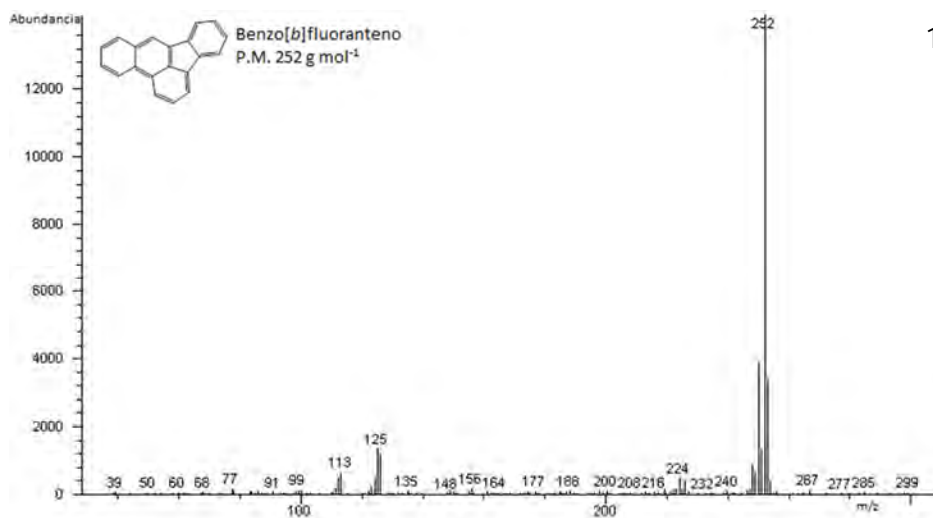
G



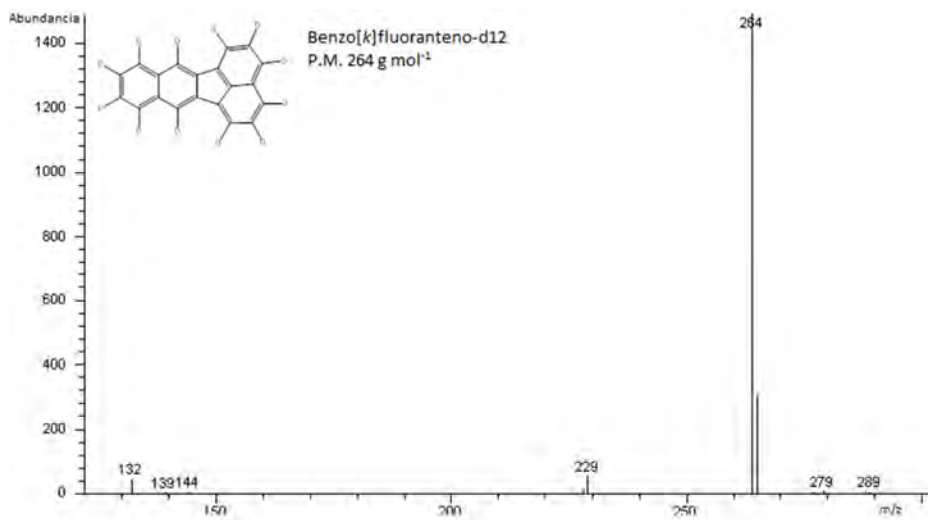
18



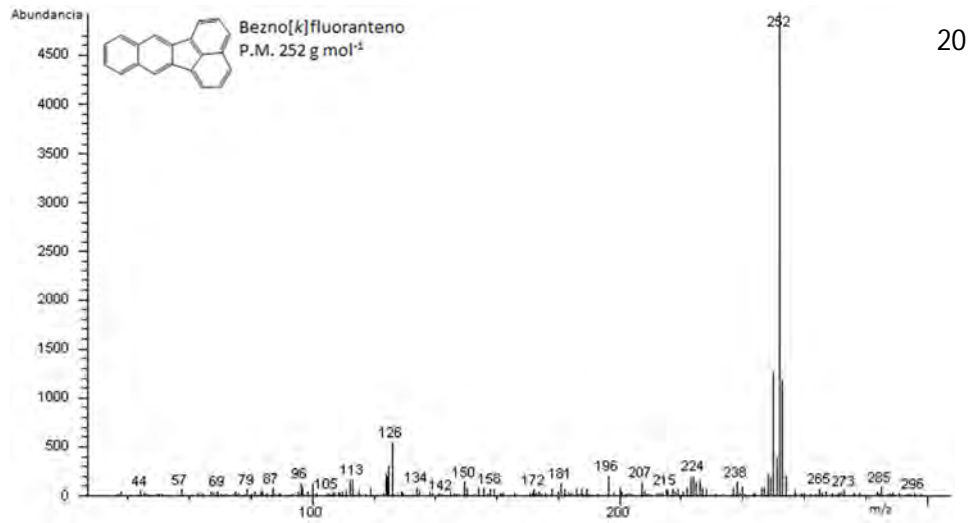
H



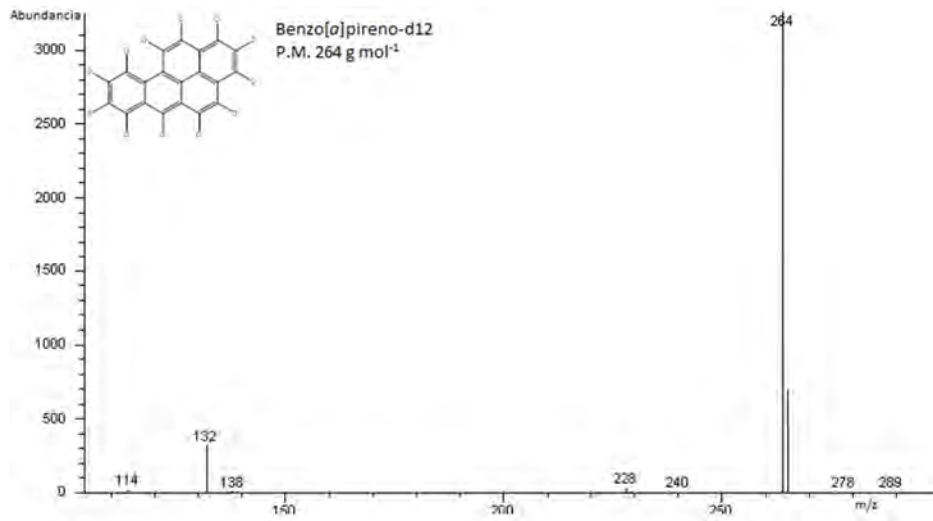
19



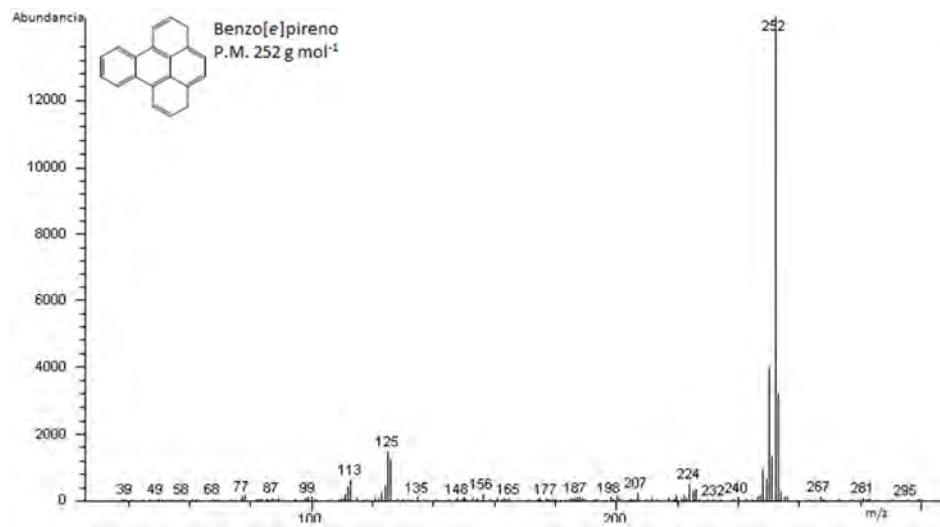
I



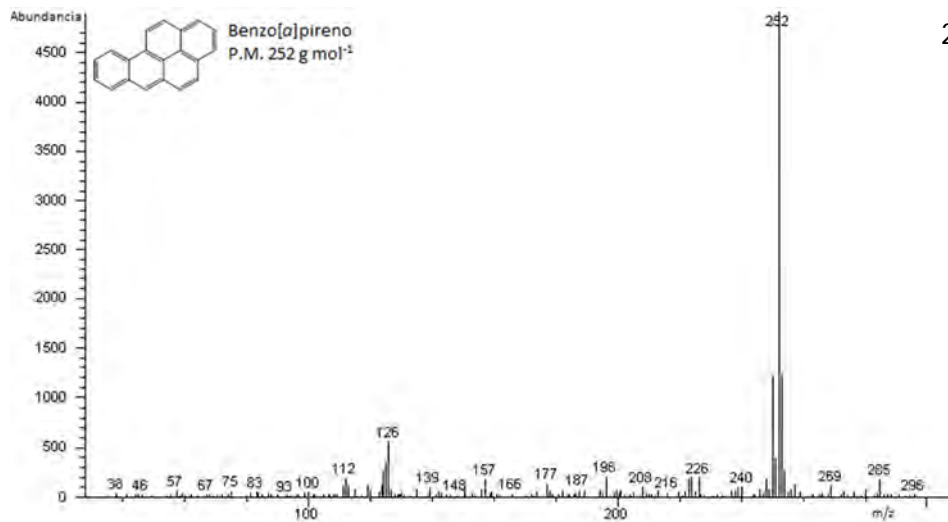
20



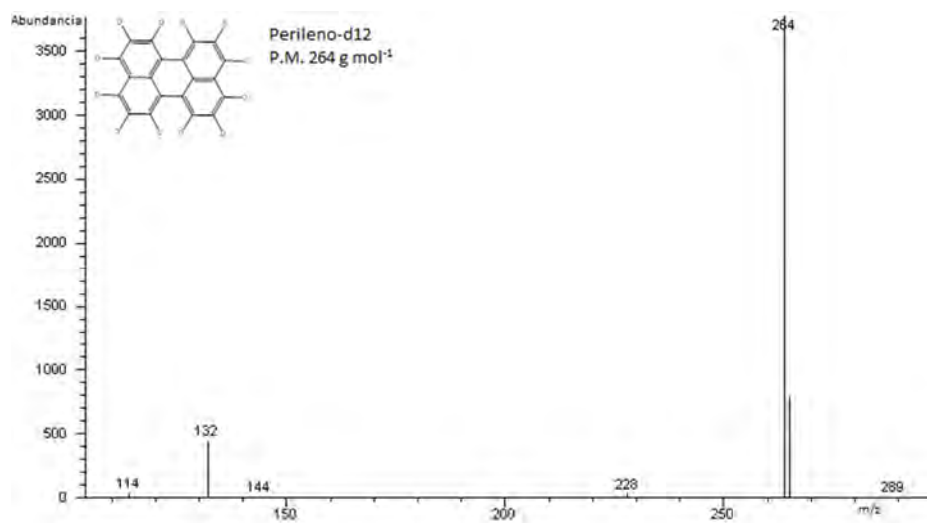
J



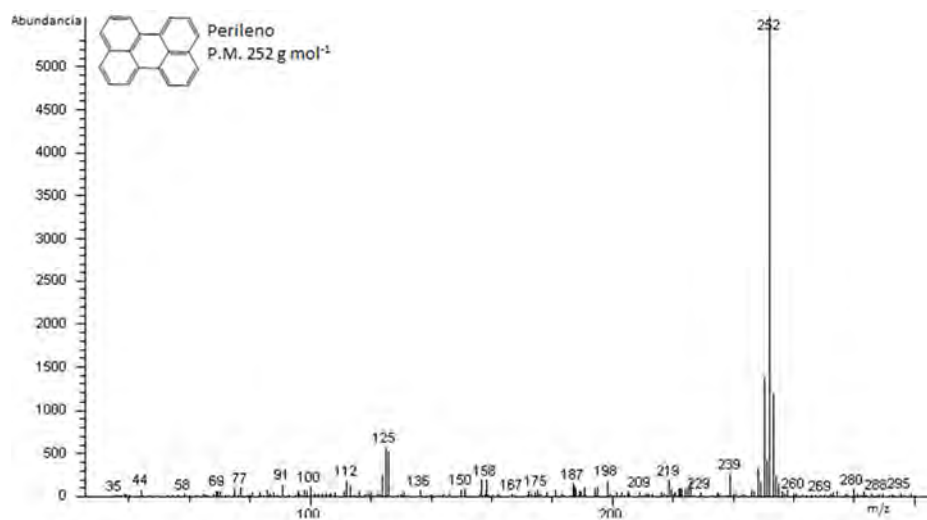
21



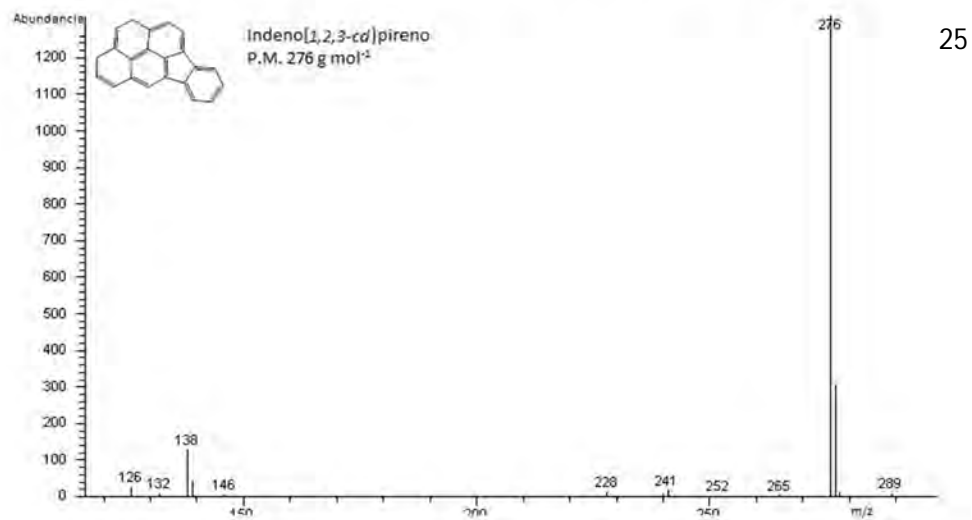
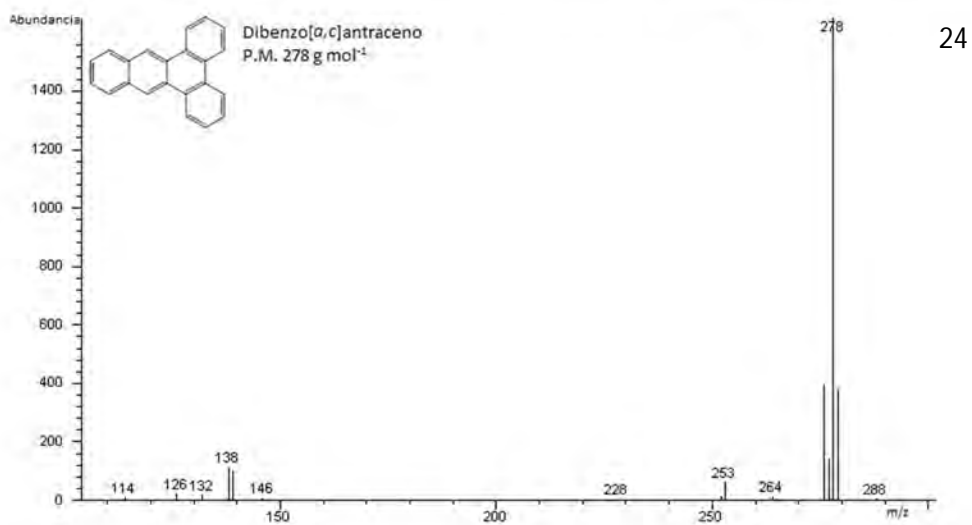
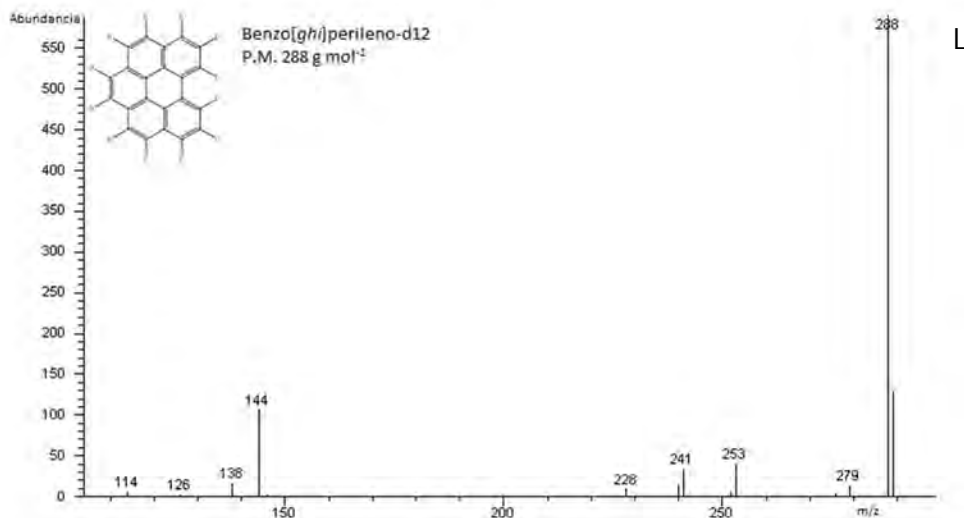
22

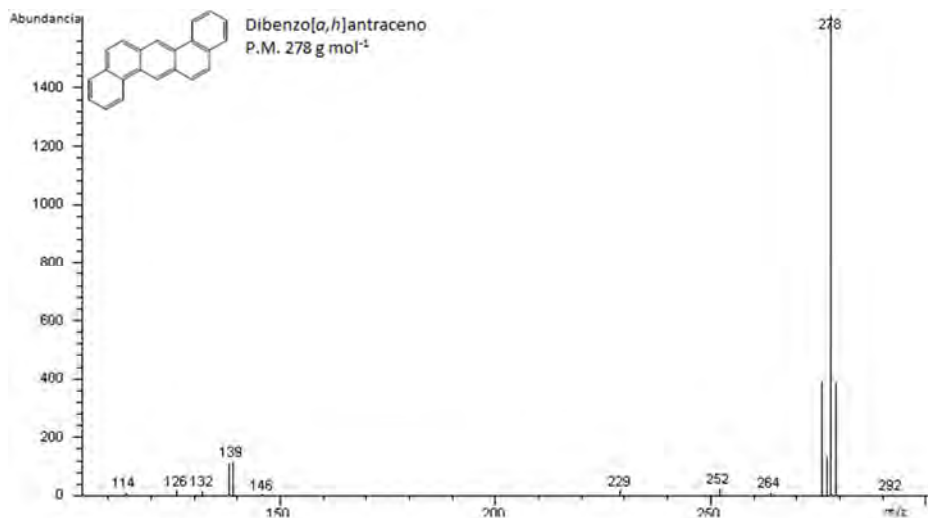


K

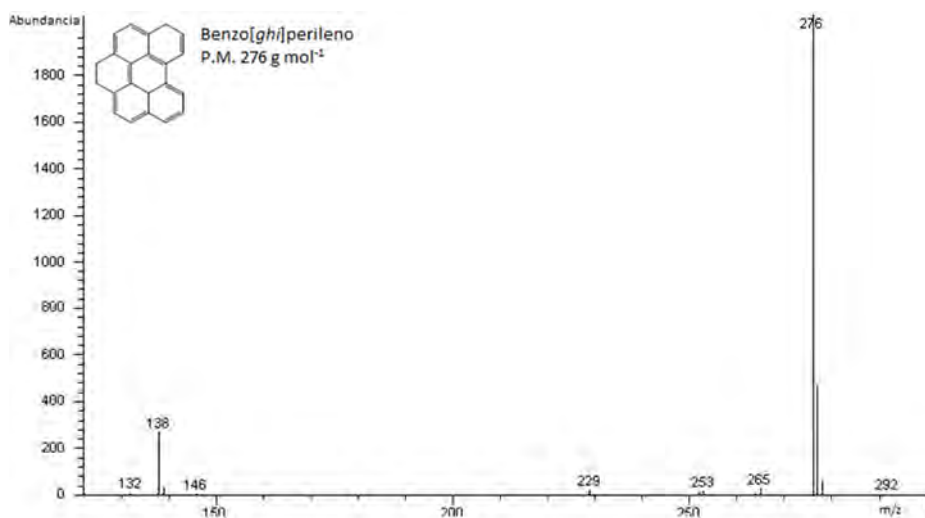


23





26



27

Figura 27. Espectros de masa de los HAP analizados y HAP-d usados como EI

4.2 Análisis cuantitativo

4.2.1 Factores de respuesta relativos (F_{RR})

Los F_{RR} permitieron establecer un criterio técnico aceptable para los puntos de la curva de calibración. De acuerdo con el método TO-13A de la EPA, el límite máximo permitido para el coeficiente de variación () de dichos factores debe ser menor al 30 %.

La **tabla XXXVII** presenta un ejemplo del cálculo de F_{RR} y utilizando las **ecuaciones 9 y 10** para la curva de calibración del pireno.

Tabla XXXVII. Ejemplo del cálculo de F_{RR} y %CV usando la curva de calibración del pireno.

Nivel de concentración	m_{HAP} ¹ [ng]	$\frac{m_{HAP}}{m_{EI}}$	Promedio $\frac{A_{HAP}}{A_{EI}}$	F_{RR}	%CV _{FRR} [%]
1	10.9	2.4	2.7	1.1	n.c.
2	9.2	2.0	2.3	1.1	1.6
3	6.8	1.5	1.7	1.1	1.2
4	4.6	1.0	1.1	1.1	1.3
5	2.2	0.5	0.6	1.2	2.6
6	1.1	0.2	0.3	1.3	6.3
7	0.8	0.2	0.2	1.0	6.7
8	0.6	0.1	0.0	0.3	31.1
9	0.4	0.1	0.0	0.3	40.1
10	0.2	0.1	0.1	1.5	39.3
11	0.1	0.0	0.0	2.3	47.5

¹ m_{HAP} : masa de HAP que llega al detector

n.c.: no calculado

En el caso del pireno, el %CV_{FRR} de los primeros 7 niveles de la curva fue 6.7%, menor al máximo permitido por la norma TO13A de la EPA. Utilizando los primeros 8 niveles el %CV_{FRR} aumentó a 31.1 % superando el 30 % permitido, por lo que los niveles 8, 9, 10 y 11 fueron descartados de la curva de calibración del pireno. La **tabla XXXVIII** presenta los % CV_{FRR} del resto de los HAP.

Tabla XXXVIII. Valores de F_{RR} y de % CV_{FRR} para los 11 niveles de concentración de la curva de calibración de cada HAP analizado.

Nivel conc.	Naftaleno		Acenaftileno		Acenafteno		Fenantreno		Fluoreno		Antraceno	
	F_{rr}	%CV	F_{rr}	%CV	F_{rr}	%CV	F_{rr}	%CV	F_{rr}	%CV	F_{rr}	%CV
1	1.1	n.c.	3.2	n.c.	1.9	n.c.	0.9	n.c.	0.5	n.c.	1.0	n.c.
2	1.1	0.2	3.2	0.0	1.9	0.6	0.9	1.3	0.5	4.5	1.0	0.2
3	1.2	1.7	3.2	0.9	1.9	1.0	1.0	1.7	0.5	3.2	1.0	0.9
4	1.1	1.4	3.3	1.7	1.9	1.4	0.9	1.7	0.5	2.7	1.0	1.7
5	1.3	4.7	3.2	1.6	1.9	1.4	1.0	3.1	0.6	5.3	1.1	2.5
6	1.2	4.7	2.2	13.4	2.0	3.0	1.1	5.7	0.6	7.2	1.2	4.9
7	1.1	4.7	2.6	13.6	1.6	5.9	0.9	5.3	0.5	7.0	0.9	6.2
8	0.4	24.7	3.2	12.7	1.9	5.5	0.2	31.3	0.1	31.5	0.2	32.3
9	0.6	29.2	3.2	12.1	2.0	5.3	0.2	41.5	0.1	43.3	0.2	43.1
10	1.9	35.4	3.7	13.1	2.1	6.2	1.1	39.6	0.6	40.6	1.1	40.7
11	3.1	55.3	4.1	15.3	2.6	12.6	1.6	43.1	0.6	39.1	1.3	39.7

Nivel conc.	2-metil antraceno		1-metil antraceno		4,5-metilen fenantreno		9-metil antraceno		3,6 dimetil fenantreno		Fluoranteno	
	F _{rr}	%CV	F _{rr}	%CV	F _{rr}	%CV	F _{rr}	%CV	F _{rr}	%CV	F _{rr}	%CV
1	0.8	n.c.	0.6	n.c.	0.8	n.c.	1.0	n.c.	0.9	n.c.	0.9	n.c.
2	0.8	1.4	0.6	1.4	0.8	0.2	1.0	0.3	0.9	0.4	0.9	1.3
3	0.8	2.0	0.6	1.0	0.8	0.7	1.0	1.6	1.0	2.2	0.9	1.0
4	0.8	3.6	0.6	2.1	0.8	2.3	1.0	3.5	0.9	3.6	0.9	1.2
5	0.8	3.4	0.6	1.9	0.8	2.1	1.0	3.0	1.0	3.3	1.0	1.8
6	0.8	3.2	0.6	1.7	0.9	3.8	1.0	2.9	0.9	2.9	1.1	5.7
7	0.7	5.9	0.5	6.0	0.7	5.9	0.8	7.9	0.8	5.0	0.9	5.4
8	0.1	34.3	0.1	33.7	0.1	33.1	0.2	34.4	0.1	33.5	0.2	31.7
9	0.1	45.6	0.1	44.7	0.2	44.0	0.2	45.6	0.2	44.5	0.2	41.6
10	0.8	42.7	0.6	42.1	0.8	41.4	1.0	42.7	1.0	41.9	1.1	39.6
11	0.9	40.9	0.8	41.2	1.0	40.6	1.2	40.8	1.3	41.4	1.5	41.3

Nivel conc.	9,10-dimetil antraceno		Pireno		Benzo[a]fluoreno		Benzo[a]antraceno		Criseno	
	F _{rr}	%CV	F _{rr}	%CV	F _{rr}	%CV	F _{rr}	%CV	F _{rr}	%CV
1	1.6	n.c.	1.2	n.c.	1.6	n.c.	1.9	n.c.	1.7	n.c.
2	1.5	2.3	1.1	1.6	1.7	1.8	1.9	0.2	1.9	7.6
3	1.7	3.2	1.1	1.2	1.9	8.0	2.4	13.4	2.3	15.2
4	1.5	4.5	1.1	1.3	1.7	6.5	2.0	11.4	2.0	12.5
5	1.5	4.0	1.2	2.6	1.8	6.0	2.1	9.9	2.1	10.9
6	1.4	5.4	1.3	6.3	1.8	5.5	2.1	8.9	2.0	9.8
7	1.3	8.6	1.1	6.7	1.5	6.8	1.9	9.3	1.9	9.2
8	0.2	34.5	0.3	31.1	2.2	11.4	3.5	24.5	3.9	31.9
9	0.3	45.1	0.3	40.1	2.0	11.1	3.5	27.9	2.9	30.4
10	1.7	42.5	1.5	39.3	2.1	11.6	4.2	33.3	3.3	30.6
11	2.0	41.5	2.3	47.5	2.6	15.7	7.5	56.6	5.9	46.2

Nivel conc.	Trifenileno		Benzo[b]fluoranteno		Benzo[k]fluoranteno		Benzo[e]pireno	
	F _{rr}	%CV	F _{rr}	%CV	F _{rr}	%CV	F _{rr}	%CV
1	1.2	n.c.	2.9	n.c.	1.94	n.c.	3.2	n.c.
2	1.2	3.4	2.8	3.2	2.07	4.64	3.4	3.7
3	1.7	23.7	4.9	33.6	4.21	46.57	7.2	48.3
4	1.4	19.4	3.1	28.9	2.25	40.86	4.0	41.4
5	1.6	17.6	3.9	25.1	2.95	34.95	5.2	35.4
6	1.6	16.6	2.7	25.7	2.25	32.83	2.6	39.3
7	1.2	16.8	2.9	24.6	2.03	32.15	3.3	37.9
8	4.1	55.2	10.1	60.2	9.80	77.88	17.4	84.5
9	3.1	53.1	10.2	63.9	9.33	77.77	15.4	81.4
10	3.8	53.7	13.2	69.4	9.21	74.05	16.6	77.9
11	8.0	78.9	31.6	108.0	24.89	107.30	43.8	110.7

Nivel conc.	Benzo[a]pireno		Perileno		Dibenzo[a,c]antraceno		Indeno[1,2,3-cd]pireno	
	F _{rr}	%CV	F _{rr}	%CV	F _{rr}	%CV	F _{rr}	%CV
1	1.7	n.c.	1.8	n.c.	1.3	n.c.	1.5	n.c.
2	0.5	80.9	1.7	4.8	1.6	11.8	1.9	16.8
3	0.7	68.6	4.5	61.4	4.8	74.9	7.5	92.2
4	0.6	63.6	2.0	54.7	2.3	63.0	3.1	78.8
5	0.9	55.1	2.7	46.8	3.8	53.7	5.3	65.3
6	1.5	50.7	1.1	53.1	1.1	59.7	2.5	63.9
7	1.9	51.5	1.6	52.1	1.6	59.1	2.9	60.5
8	3.1	64.5	12.2	107.5	26.3	159.9	33.9	149.0
9	4.5	78.6	9.5	97.4	19.2	134.1	17.4	127.3
10	12.7	131.9	11.1	90.9	29.5	123.1	24.5	112.8
11	25.4	158.0	25.7	112.3	69.8	144.4	60.8	127.5

Nivel conc.	Dibenzo[a,h]antraceno		Benzo[ghi]perileno		
	F _{rr}	%CV	F _{rr}	%CV	
1		1.3	n.c.	2.1	n.c.
2		1.5	11.8	2.5	14.0
3		4.5	74.9	10.4	93.8
4		2.2	63.0	4.1	80.8
5		3.6	53.7	7.2	66.8
6		1.1	59.7	3.5	64.7
7		1.5	59.1	3.0	64.4
8		24.8	159.9	66.2	177.2
9		18.1	134.1	37.5	146.0
10		27.8	123.1	50.9	126.7
11		63.1	141.8	122.2	136.7

Todos los HAP incluidos en la curva de mayor concentración (1 a 236 ng) presentaron una variación mayor al 30 % de $CV_{F_{RR}}$ a partir del nivel 8 de la curva de calibración por lo que fueron descartados. Es probable que la variación en estos puntos se deba a problemas con la desorción de la trampa cuando se analiza un compuesto con alta (236 a 100 ng) y baja concentración (10 a 1 ng); la trampa llega a retener hasta el 1% del analito (1 a 2 ng cuando la concentración es alta) que se desorbe en el siguiente análisis (de 1 a 10 ng) generando así una respuesta mayor en el detector a la real. Este problema se debe a lo observado con acenafteno y acenaftileno, presentes en la curva de baja concentración (0.5 a 20 ng), ya que ambos no presentaron ese problema y sus F_{RR} empleando los 11 niveles presentaron $\% CV_{F_{RR}}$ menores al 30 %.

En cuanto a los HAP incluidos en la curva de baja concentración (0.5 a 20 ng), acenafteno, acenaftileno –compuestos de bajo PM- y benzo[a]fluoreno presentaron $CV_{F_{RR}}$ menores al 30 % en sus 11 niveles de concentración. Para la serie de benzo[a]antraceno a benzo[e]pireno se descartaron los puntos 8-11 y finalmente, para el resto de los compuestos (benzo[a]pireno a

benzo[ghi]perileno) se decidió descartar su análisis debido a que todos los puntos presentan un $\% CV_{FRR}$ mayor al límite de la EPA.

Los casos del acenafteno y acenaftileno confirman que el equipo no presenta problemas para trabajar con compuestos semivolátiles de bajo peso molecular $<228 \text{ g mol}^{-1}$. Para HAP de peso molecular $>252 \text{ g mol}^{-1}$ la desorción es ineficiente.

4.2.2 Homoscedasticidad de la las varianzas

La **figura 28** muestra la recta de regresión lineal simple para los 7 puntos de la curva del 2-metilantraceno. Puede verse que al aumentar la concentración del HAP crece la desviación estándar de la respuesta, por lo que se evaluó la homoscedasticidad de la varianza con el fin de determinar el tipo de regresión lineal (simple o ponderada) que ajuste mejor los datos obtenidos. Para ello se utilizó la prueba estadística "F de Fischer" con la relación de varianzas como se describió en la **sección 3.6.2**. Con el objeto de mostrar el cálculo para evaluar la homoscedasticidad la **tabla XXXIX** muestra el 2-metilantraceno como ejemplo.

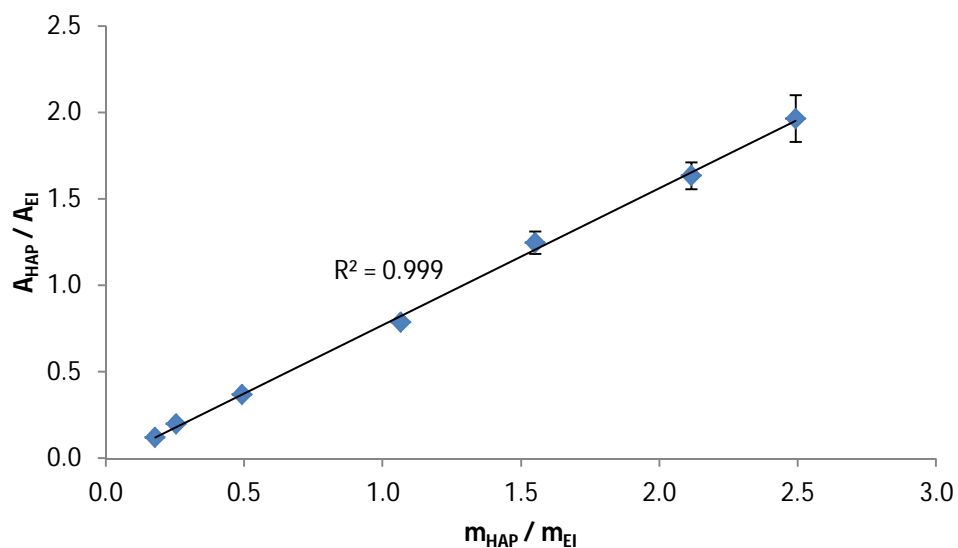


Figura 29. Curva de calibración del método para el 2-metilantraceno. Intervalo de masa de 0.78 a 11.01 ng.

Tabla XXXIX. Evaluación de la homoscedasticidad de las varianzas en la curva de calibración del método del 2-metilantraceno (n = 2 ó 3) para cada punto de la curva, grados de libertad gl = 1 ó 2

nivel de concentración	m_{HAP}^1 [ng]	$\frac{m_{HAP}}{m_{EI}}$	Promedio $\frac{A_{HAP}}{A_{EI}}$	Número de réplicas <i>n</i>	Desviación estándar <i>S</i>	$F_{cal} = \frac{S_a^2}{S_b^2}$ Punto _a /Punto _b	Valor	F_{tab} p>0.05	Valor
1	11.0	2.4	2.0	2	0.13	1/3	4.4	F _{1,2}	18.5
2	9.4	2.1	1.6	3	0.08	2/4	29.4	F _{2,2}	19.0
3	6.9	1.5	1.3	3	0.06	3/5	62.3	F _{2,2}	19.0
4	4.7	1.0	0.8	3	0.01	4/6	7.0	F _{2,1}	199.4
5	2.2	0.5	0.4	3	0.01	5/7	5.5	F _{2,1}	199.4
6	1.1	0.3	0.2	2	0.01				
7	0.8	0.2	0.1	2	0.00				

¹ - Masa de HAP que llegó al detector, corregida con el split del TD (sección 3.2.10)

El valor de F_{tab} a un nivel de confianza p, de 0.05 fue superado por la relación de varianzas de los puntos 2/4, y 3/5, rechazando la hipótesis nula (las varianzas son iguales), quedando la hipótesis alterna (las varianzas no son iguales). Por consecuencia se sugiere el uso de la regresión lineal ponderada. La **tabla XL** presenta las F_{cal} y F_{tab} para el resto de los HAP en los puntos donde $F_{cal} > F_{tab}$.

Tabla XL. Valor de "F de Fischer" a la cual $F_{cal} > F_{tab}$ para determinar la homoscedasticidad de las varianzas en las curvas de calibración del método

HAP	Punto _a /Punto _b	F_{cal}	F_{tab} , p>0.05
Naftaleno	2/4	24.96	19.00
Acenaftileno	8/10	52.58	19.00
Acenafteno	6/9	38.17	18.51
fenantreno	2/4	19.42	19.00
Fluoreno	1/3	44.54	18.51
	2/4	44.37	19.00
4,5-metilenfenantreno	2/4	45.47	19.00
3,6-dimetilfenantreno	2/4	48.36	19.00
	3/5	21.02	19.00
2-metilantraceno	2/4	29.37	19.00
	3/5	62.26	19.00
1-metilantraceno	2/4	60.97	19.00
9-metilantraceno	2/4	130.81	19.00
	3/5	71.23	19.00
9,10-dimetilantraceno	2/4	26.27	19.00
	3/5	65.99	19.00
Pireno	1/3	33.18	18.51
Benzo[a]fluoreno	8/10	57.47	19.00
Trifenileno	1/4	25.07	18.51

4.2.3 Parámetros de la curva de calibración ponderada

Debido a que la mayoría de los HAP presenta al menos una de las relaciones $F_{cal} > F_{tab}$, lo que indica que las varianzas no son homoscedásticas, se optó por aplicar a todas las curvas de calibración del método la regresión lineal ponderada (**ecuaciones 12-17**). Un ejemplo del cálculo se presenta en la **tabla XLI**.

Tabla XLI. Ejemplo para calcular los parámetros de la regresión ponderada de la curva de calibración del pireno

Nivel de conc.	m_{HAP}^1 [ng]	$\frac{m_{HAP}}{m_{EI}}$	Promedio $\frac{A_{HAP}}{A_{EI}}$	X_i	Y_i	S_i	$\frac{1}{S_i^2}$	W_i	$W_i X_i$	$W_i Y_i$	$W_i X_i Y_i$	$W_i X_i^2$
1	10.9	2.4	2.7	2.4	2.7	0.05	405.4	0.05	0.12	0.14	0.32	0.28
2	9.2	2.0	2.3	2.0	2.3	0.06	321.1	0.04	0.08	0.09	0.18	0.16
3	6.8	1.5	1.7	1.5	1.7	0.01	13452.8	1.65	2.44	2.79	4.11	3.59
4	4.6	1.0	1.1	1.0	1.1	0.01	5380.5	0.66	0.67	0.75	0.76	0.68
5	2.2	0.5	0.6	0.5	0.6	0.01	13315.1	1.64	0.77	0.92	0.43	0.36
6	1.1	0.2	0.3	0.2	0.3	0.02	2335.5	0.29	0.07	0.09	0.02	0.02
7	0.8	0.2	0.2	0.2	0.2	0.01	21701.4	2.67	0.45	0.48	0.08	0.08
			Suma	7.7	8.9	0.16	56911.7	7.00	4.59	5.26	5.90	5.16
			Promedio	1.1	1.3	0.02	8130.2	1.00	0.66	0.75	0.84	0.74

A partir de los datos anteriores se calcularon los parámetros de regresión ponderada como se muestran en la **tabla XLII**.

Tabla XLII. Parámetros de la regresión ponderada de la curva de calibración del pireno

Parámetro de la regresión	Ecuación	Fórmula	Valor
Pendiente ponderada	9	$b_w = \frac{\sum_i W_i X_i Y_i - n \bar{X}_w \bar{Y}_w}{\sum_i W_i X_i^2 - n \bar{X}_w^2} = \frac{5.90 - [7 \times 0.66 \times 0.75]}{5.16 - [7 \times 0.66^2]} =$	1.14
Ordenada al origen ponderada	10	$a_w = \bar{Y}_w - b_w \bar{X}_w = 0.75 - [1.14 \times 0.66] =$	0.002
Centroide ponderado de Y	11	$\bar{Y}_w = \frac{\sum_i W_i Y_i}{n} = \frac{5.26}{7} =$	0.75
Centroide ponderado de X	12	$\bar{X}_w = \frac{\sum_i W_i X_i}{n} = \frac{4.59}{7} =$	0.66

Finalmente, utilizando los parámetros de la regresión ponderada, se calculó $S_{(Y/X)_w}$. La **tabla XLIII** ejemplifica los cálculos previos a su obtención.

Tabla XLIII. Cálculos para la obtención de $S_{(Y/X)_W}$ de la regresión ponderada del pireno

Nivel de conc.	Y_i	\hat{Y}_i	W_i	$Y_i - \hat{Y}_i$	$(Y_i - \hat{Y}_i)^2$	$W_i(Y_i - \hat{Y}_i)^2$
1	2.7	2.71	0.05	0.02	3.6E-04	1.8E-05
2	2.3	2.30	0.04	-0.04	1.4E-03	5.5E-05
3	1.7	1.69	1.65	0.00	4.6E-07	7.6E-07
4	1.1	1.16	0.66	-0.02	5.6E-04	3.7E-04
5	0.6	0.54	1.64	0.02	5.5E-04	9.0E-04
6	0.3	0.28	0.29	0.04	1.6E-03	4.7E-04
7	0.2	0.19	2.67	-0.01	1.7E-04	4.6E-04
suma	8.9	8.86	7.00	0.01	4.7E-03	2.3E-03

Utilizando la **ecuación 17**:

$$S_{(Y/X)_W} = \left\{ \frac{\sum_i W_i (Y_i - \hat{Y}_i)^2}{n - 2} \right\}^{1/2} = \left\{ \frac{0.0023}{7 - 2} \right\}^{1/2} = \mathbf{0.02}$$

4.2.4 Linealidad

Coefficiente de correlación de Pearson (r)

La linealidad del sistema se evaluó mediante el coeficiente de correlación de Pearson (r) y a través de un análisis de varianza (ANOVA).

El coeficiente de correlación de Pearson (r) se determinó con la **ecuación 18**. La **tabla XLIV** muestra un ejemplo de los cálculos previos a r para el pireno.

Tabla XLIV. Ejemplo de cálculos previos a la obtención de r en el caso de la curva de calibración del pireno

Nivel de conc.	X_i	Y_i	$X_i - \bar{X}$	$Y_i - \bar{Y}$	$(X_i - \bar{X})(Y_i - \bar{Y})$	$(X_i - \bar{X})^2$	$(Y_i - \bar{Y})^2$
1	2.37	2.73	1.26	1.46	1.84	1.59	2.13
2	2.01	2.26	0.90	0.99	0.90	0.82	0.99
3	1.47	1.69	0.37	0.42	0.15	0.13	0.18
4	1.01	1.13	-0.09	-0.13	0.01	0.01	0.02
5	0.47	0.56	-0.64	-0.71	0.45	0.41	0.50
6	0.24	0.32	-0.86	-0.95	0.82	0.75	0.90
7	0.17	0.18	-0.94	-1.09	1.02	0.88	1.18
Suma	7.74	8.87	n.c	n.c	5.20	4.59	5.89
Promedio	1.11	1.27	n.c	n.c	0.74	0.66	0.84

Sustituyendo los datos en la **ecuación 18** se obtiene:

$$r = \frac{\sum_i [(X_i - \bar{X})(Y_i - \bar{Y})]}{\{[\sum_i (X_i - \bar{X})^2][\sum_i (Y_i - \bar{Y})^2]\}^{1/2}} = \frac{5.20}{(4.59 \times 5.89)^{1/2}} = \mathbf{0.9996}$$

Finalmente se obtuvo el estadístico t_{cal} usando la **ecuación 2**:

$$t = \frac{|r|\sqrt{n-2}}{\sqrt{1-r^2}} = \frac{0.9996\sqrt{18-2}}{\sqrt{1-0.9996^2}} = \mathbf{105.84}$$

El valor de t_{tab} a un nivel de significancia p , de 0.01 es de 2.92 por lo que se rechaza la hipótesis nula de la **sección 1.24** y al aceptar la hipótesis alterna por consecuencia, existe una correlación lineal entre la respuesta del detector y la masa del HAP. La **tabla XLV** presenta los valores de los coeficientes de Pearson y del estadístico t para el resto de los HAP. Puede verse que en todos los casos se rechazó la hipótesis nula, por lo que existe una correlación lineal entre la respuesta y la concentración en el intervalo de trabajo estudiado. Además, se calculó el coeficiente de determinación r^2 para obtener el porcentaje de la variación explicada por el modelo lineal.

Tabla XLV. Coeficientes de correlación (r) y de determinación (r^2) de la curva de calibración del método analítico y t_{cal} y t_{tab} a p , 0.01 para los HAP analizados en el estudio. $gl = 16, 27$ ó 13

HAP	r	r^2	n	t_{tab}	t_{cal}
Naftaleno	0.999	0.999	18	2.92	114.6
Acenaftileno	0.991	0.983	29	2.77	27.9
Acenafteno	0.999	0.997	29	2.77	69.4
Fenantreno	0.999	0.999	18	2.92	113.1
Fluoreno	0.999	0.997	18	2.92	56.6
4,5-metilenfenantreno	0.999	0.999	18	2.92	117.5
3,6-dimetilfenantreno	0.999	0.999	18	2.92	80.7
Antraceno	0.999	0.999	18	2.92	120.8
2-metilantraceno	0.999	0.999	18	2.92	82.9
1-metilantraceno	0.999	0.999	18	2.92	137.8
9-metilantraceno	0.999	0.999	18	2.92	87.6
9,10-dimetilantraceno	0.999	0.998	18	2.92	62.0
Fluoranteno	0.999	0.999	18	2.92	129.9
Pireno	0.999	0.999	18	2.92	105.8
Benzo[a]fluoreno	0.996	0.993	26	2.80	40.5
Benzo[a]antraceno	0.996	0.992	15	2.92	27.8
Criseno	0.986	0.973	15	3.01	15.3
Trifenileno	0.949	0.900	15	3.01	7.8

Los cálculos previos para obtener F_{cal} ("F de Fisher") y evaluar la linealidad mediante ANOVA se muestran en la **tabla XLVI**.

Tabla XLVI. Cálculos previos para obtener F_{cal} para la curva de calibración del pireno

Nivel de conc.	Y_i	\hat{Y}_i	$(\hat{Y}_i - \bar{Y})^2$	$(Y_i - \hat{Y}_i)^2$	$(Y_i - \bar{Y})^2$
1	2.73	2.71	2.08	3.6E-04	2.13
2	2.26	2.30	1.06	1.4E-03	0.99
3	1.69	1.69	0.17	4.6E-07	0.18
4	1.13	1.16	0.01	5.6E-04	0.02
5	0.56	0.54	0.53	5.5E-04	0.50
6	0.32	0.28	0.98	1.6E-03	0.90
7	0.18	0.19	1.15	1.7E-04	1.18
Suma	8.87	8.86	5.99	4.7E-03	5.89

La **tabla XLVII** presenta el cálculo de la tabla ANOVA descrita en la **sección 1.24**:

Tabla XLVII. Tabla de análisis estadístico ANOVA

Fuente de variación	Suma de Cuadrados	Grados de libertad	Varianzas
Por la regresión	$SC_e = \sum_i (\hat{y}_i - \bar{y})^2 = 5.99$	1	$S_e^2 = \frac{SC_e}{1} = 5.99$
Residual	$SC_r = \sum_i (y_i - \hat{y}_i)^2 = 0.0047$	n-2	$S_r^2 = \frac{SC_r}{n-2} = \frac{0.0047}{18-2} = 2.9 \times 10^{-4}$
Global	$SC_t = \sum_i (y_i - \bar{y})^2 = 5.89$	n-1	$S_t^2 = \frac{SC_t}{n-1} = \frac{5.89}{18-1} = 0.36$

Posteriormente se calculó el valor de "F de Fisher" con la **ecuación 4**:

$$F_{cal} = \frac{S_e^2}{S_r^2} = \frac{5.99}{2.9 \times 10^{-4}} = \mathbf{20655}$$

El valor de $F_{tab_{1,16}}$ a un nivel de significancia p , de 0.01 es de 8.53, por lo que se sugiere el rechazo de la hipótesis nula y se concluye que el modelo es lineal para la curva de calibración del pireno. La **tabla XLVIII** presenta los valores de F_{cal} y F_{tab} para el resto de los HAP. Puede verse que en todos los casos $F_{cal} > F_{tab}$ por lo que el modelo fue lineal para todos los casos, con ello se confirma la correlación lineal entre la respuesta y la masa en el intervalo de trabajo estudiado calculado con Pearson anteriormente.

Tabla XLVIII. Valores de F_{cal} y F_{tab} para el resto de los HAP analizados

HAP	S_e^2	S_r^2	S_t^2	F_{cal}	F_{tab}
Naftaleno	6.22	3.6E-04	2.3	17080	8.53
Acenaftileno	28.68	2.7E-02	1.2	1056	7.68
Acenafteno	11.24	1.2E-03	0.4	9170	7.68
Fluoreno	1.24	2.3E-04	0.1	5492	8.53
Fenantreno	3.98	1.9E-04	0.2	20682	8.53
Antraceno	5.01	2.0E-04	0.3	24743	8.53
2-metilantraceno	3.00	5.7E-04	0.2	5283	8.53
1-metilantraceno	1.70	9.2E-05	0.1	18383	8.53
4,5-metilenfenantreno	2.92	3.6E-04	0.2	8086	8.53
9-metilantraceno	4.36	2.2E-03	0.3	1947	8.53
3,6-dimetilfenantreno	4.00	6.4E-04	0.2	6195	8.53
Fluoranteno	3.98	1.2E-04	0.2	33021	8.53
9,10-dimetilantraceno	11.76	1.9E-03	0.7	6198	8.53
Pireno	5.99	2.9E-04	0.4	20561	8.53
Benzo[a]fluoreno	5.04	3.0E-03	0.2	1707	7.82
Benzo[a]antraceno	2.53	1.7E-03	0.2	1475	9.07
Criseno	1.25	3.3E-03	0.1	375	9.07
Trifenileno	0.86	1.3E-02	0.03	67	9.07

4.2.5 Límites de detección y de cuantificación del método analítico

Una vez calculados los valores de $S_{(Y/X)_w}$ se determinaron los límites de detección (LD) y de cuantificación (LC) de acuerdo con las **ecuaciones 24 y 25**. Siguiendo con el pireno como caso de estudio los cálculos realizados fueron:

$$LD = X_{LD} \times EI = 3 \frac{S_{(Y/X)_w}}{b_w} \times EI = 3 \frac{0.021}{1.143} \times 4.59[ng] = \mathbf{0.25 [ng]}$$

$$LC = X_{LC} \times EI = 10 \frac{S_{(Y/X)_w}}{b_w} \times EI = 10 \frac{0.021}{1.143} \times 4.59[ng] = \mathbf{0.84[ng]}$$

Finalmente, la **tabla XLIX** presenta la pendiente, la ordenada al origen, la desviación ponderada y los límites de cuantificación y de detección con sus intervalos de confianza al 99% para los HAP estudiados.

Tabla XLIX. Pendiente (b_w), ordenada al origen (a_w), desviación estándar ($S_{(Y/X)_w}$) ponderadas para los HAP estudiados así como sus límites de detección (LD_w) y cuantificación (LC_w)

HAP	b_w	a_w	$S_{(Y/X)_w}$	LD_w [ng en detector]	LC_w [ng en detector]	LD_w [ng en muestra]	LC_w [ng en muestra]
Naftaleno	1.13	0.01	0.02	0.27	0.88	5.8	19.2
Acenaftileno	2.98	0.06	0.03	0.02	0.05	0.3	1.1
Acenafteno	1.85	0.02	0.04	0.03	0.10	0.6	2.1
Fluoreno	0.51	0.00	0.01	0.31	1.04	6.8	22.6
Fenantreno	0.92	0.01	0.02	0.30	1.02	6.6	22.1
Antraceno	1.02	0.02	0.02	0.31	1.04	6.8	22.6
2-metilantraceno	0.79	-0.01	0.01	0.21	0.70	4.6	15.3
1-metilantraceno	0.59	-0.01	0.01	0.20	0.66	4.3	14.3
4,5-metilenfenantreno	0.78	0.00	0.02	0.31	1.03	6.8	22.6
9-metilantraceno	0.96	0.02	0.01	0.14	0.48	3.1	10.4
3,6-dimetilfenantreno	0.92	-0.01	0.01	0.20	0.67	4.4	14.6
Fluoranteno	0.94	0.01	0.02	0.29	0.96	6.3	20.9
9,10-dimetilantraceno	1.59	-0.05	0.02	0.13	0.43	2.8	9.4
Pireno	1.14	0.00	0.02	0.26	0.86	5.6	18.7
Benzo[a]fluoreno	1.59	0.03	0.05	0.05	0.17	1.1	3.7
Benzo[a]antraceno	1.87	0.11	0.04	0.03	0.11	0.7	2.5
Criseno	1.87	0.04	0.04	0.02	0.07	0.5	1.5
Trifenileno	1.56	-0.10	0.08	0.05	0.17	1.1	3.6

La pendiente (b_w) de la **tabla XLIX** muestra el cambio de respuesta por unidad de cambio de concentración, conocida como *sensibilidad* o *factor de respuesta*. Así, los HAP que presentan una mayor sensibilidad para el espectrómetro de masas fueron acenaftileno (2.98), benzo[a]antraceno (1.87), criseno (1.87) y acenafteno (1.85).

En cuanto a los límites de detección y de cuantificación, los mejores valores se obtuvieron para acenaftileno y acenafteno, presentes en la curva de menor masa (0.02-0.82 ng corregidos por el split del TD). Esto confirma que la desorción es eficiente para HAP de bajo PM (<202 g mol⁻¹). Por otro lado, la **figura 30** compara los límites de cuantificación con las pendientes ponderadas de los HAP. Es evidente la estrecha e inversa relación entre la sensibilidad y los límites de cuantificación; por ejemplo, el fluoreno, que presentó la menor sensibilidad con una pendiente de 0.51, tuvo el mayor LC_w (1.04 ng). En el caso contrario, acenaftileno, que mostró la mayor sensibilidad con una pendiente de 2.98, presentó el menor LC_w con 0.05 ng.

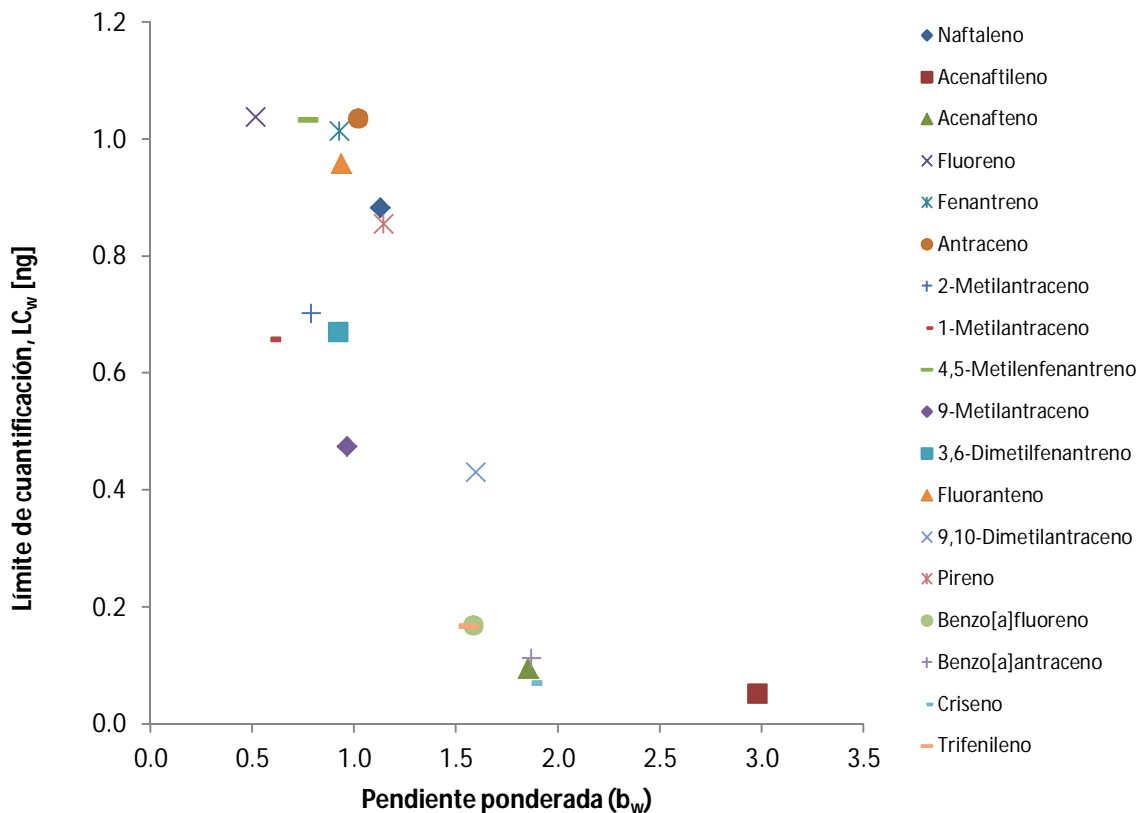


Figura 30. Gráfica de los límites de cuantificación ponderados (LCw) vs pendientes ponderadas para cada HAP.

4.2.6 Precisión del método analítico

La precisión se evaluó conforme a lo descrito en la **sección 3.6.6**. La **tabla L** muestra el ejemplo de los cálculos para obtener estos valores utilizando la curva de calibración del pireno, a su vez, la **tabla LI** muestra los resultados para el resto de los HAP.

Tabla L. Cálculos para evaluar la precisión del método para el pireno

Nivel de conc	$\frac{m_{HAP}}{m_{EI}}$	$\frac{A_{HAP}}{A_{EI}}$ 1 ^a iny.	$\frac{A_{HAP}}{A_{EI}}$ 2 ^a iny.	$\frac{A_{HAP}}{A_{EI}}$ 3 ^a iny.	Promedio $\frac{A_{HAP}}{A_{EI}}$	$S_{\frac{A_{HAP}}{A_{EI}}}$	%CV	100-%CV	F_{RR}	%CV _{F_{RR}}	100-%CV _{F_{RR}}
1	2.4	2.692	2.762		2.73	0.05	1.8	98.18	1.11	6.7	93.32
2	2.0	2.302	2.285	2.198	2.26	0.06	2.5	97.53	1.08		
3	1.5	1.683	1.696	1.679	1.69	0.01	0.5	99.49	1.10		
4	1.0	1.145	1.140	1.119	1.13	0.01	1.2	98.80	1.08		
5	0.5	0.556	0.554	0.570	0.56	0.01	1.5	98.45	1.15		
6	0.2	0.304	0.333		0.32	0.02	6.5	93.51	1.27		
7	0.2	0.186	0.177		0.18	0.01	3.7	96.26	1.03		

Tabla LI. Precisión del método para los HAP analizados

HAP	Nivel de conc.	Precisión 100-%CV [%]											Precisión 100-%CV _{F_{RR}}	
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11		
Naftaleno		98.3	99.2	96.2	92.2	96.6	93.3	96.3						95.3
Acenaftileno		96.3	97.0	97.2	98.7	96.0	96.5	97.7	98.9	97.3	99.3	93.3		84.8
Acenafteno		99.6	98.4	97.7	95.8	98.3	96.5	98.1	96.5	98.1	96.3	90.8		87.5
Fluoreno		81.3	93.3	95.7	97.9	91.9	91.0	92.7						93.0
Fenantreno		99.4	98.3	99.2	99.2	97.7	93.8	96.0						94.8
Antraceno		99.2	97.9	98.3	98.5	95.6	98.8	95.8						93.8
2-metilantraceno		93.1	95.3	94.9	98.2	97.8	97.3	97.1						94.2
1-metilantraceno		93.9	92.9	95.0	98.2	95.8	98.0	95.9						94.0
4,5-metilenfenantreno		91.6	94.8	96.1	98.4	95.8	95.8	95.3						94.0
9-metilantraceno		90.5	92.3	93.6	98.6	97.5	99.3	93.6						92.0
3,6-dimetilfenantreno		85.1	90.6	91.7	97.2	94.2	96.9	95.5						95.1
Fluoranteno		99.5	99.4	98.2	98.5	97.1	98.3	97.7						94.6
9,10-dimetilantraceno		87.8	91.1	90.5	96.4	96.1	94.0	96.0						91.4
Pireno		98.2	97.5	99.5	98.8	98.5	93.5	96.3						93.3
Benzo[a]fluoreno		96.3	98.1	89.8	98.3	98.6	95.0	99.1	87.3	97.1	91.7	93.3		84.3
Benzo[a]antraceno		99.1	98.4	93.1	99.1	95.2	96.5	93.7						90.8
Criseno		92.2	98.7	95.3	93.3	89.6	87.2	91.3						90.8
Trifenileno		86.3	89.8	97.4	96.4	96.0	95.6	97.0						83.2

Se puede observar que la precisión del método en términos del % CV es, en general, mayor al 90 %, es decir que presenta % CV menores al 10 %. Por otro lado, la precisión evaluada por los % CV_{F_{RR}} disminuye en los compuestos en que se tomaron en cuenta los 11 niveles de concentración como es el caso del acenaftileno (84.8 %), acenafteno (87.5 %) y benzo[a]fluoreno (84.3 %), por lo que se concluye que el método reduce su reproducibilidad cuando se trabaja con concentraciones menores a 0.2 ng corregido por el split del TD.

En el caso de trifenileno, su alto peso molecular (228 g mol^{-1}) dificulta su desorción, lo que puede influir en su bajo % CVF_{RR} (83.2 %)

4.2.7 Eficiencia

La eficiencia se evaluó utilizando el SRM2975 y SRM1649A de NIST conforme lo descrito en la **sección 3.6.7**. Un ejemplo del cálculo se presenta en las **ecuaciones 28-31**. La **tabla LII** presenta el ejemplo del cálculo de la eficiencia del fenantreno. Por su parte, la **tabla LIII** y la **figura 31** muestran las eficiencias de los demás compuestos empleando los materiales de referencia.

Utilizando la ecuación de la regresión lineal ponderada para el fenantreno:

$$\frac{A_{fen}}{A_{EI}} = b_w \times \frac{Fen_{ng}}{EI_{ng}} + a_w$$

Ecuación 28

Despejando Fen_{ng} y sustituyendo los valores para 5.9 mg de SRM 2975 tenemos:

$$Fen_{ng} = \frac{\frac{A_{fen}}{A_{EI}} - a_w}{b_w} \times EI_{ng} = \frac{0.90 - 0.01}{0.92} \times 4.51[ng] = \mathbf{4.36[ng]}$$

Ecuación 29

4.36 ng de fenantreno llegaron al detector, multiplicados por el Split del TD y divididos entre la masa de SRM2975 analizada tenemos:

$$Fen[ng \text{ mg}_{SRM}^{-1}] = \frac{4.36[ng] \times 21.8}{5.9[mg]} = \mathbf{16.1 \frac{ng_{Fen}}{mg_{SRM 2975}}}$$

Ecuación 30

Finalmente se calculó la eficiencia como la relación entre el valor obtenido por el método analítico y el valor reportado en el certificado:

$$Eficiencia_{Fen_{SRM1649A}} = \frac{16.1 [ng \text{ mg}^{-1} \text{ obtenido}]}{17 [ng \text{ mg}^{-1} \text{ reportado}]} \times 100 = \mathbf{94 \%}$$

Ecuación 31

Tabla LII. Cálculo de la eficiencia del fenantreno para SRM1649A (polvo urbano) y 2975 (material particulado diesel)

Fenantreno								
El [ng]	b_w	a_w	LD_w	LC_w	Split TD	$Fen_{SRM1649A}$ [ng mg ⁻¹]	$Fen_{SRM2975}$ [ng mg ⁻¹]	
4.51	0.92	0.01	0.9994	0.30	21.8	4.14	17	
#	SRM	SRM [mg]	$\frac{A_{fen}}{A_{EI}}$	$\frac{ng_{fen}}{ng_{EI}}$	Fenantreno [ng]	$Fen_{ng} \times Split_{TDA}$ [ng]	Fenantreno [ng mg ⁻¹]	eficiencia [%]
1	1649A	19.6	1.43	1.54	6.95	151.54	7.7	187
2	1649A	20.9	1.83	1.97	8.90	194.04	9.3	224
3	1649A	5.0	0.44	0.47	2.12	46.16	9.2	223
4	1649A	4.9	0.42	0.46	2.01	43.81	8.9	216
Promedio							213	
Desviación estándar							18	
5	2975	21.8	3.13	3.40	15.26	332.63	15.3	90
6	2975	29.4	4.32	4.66	21.04	458.63	15.6	92
7	2975	6.4	1.07	1.15	5.19	113.20	17.7	104
8	2975	5.9	0.90	0.96	4.33	94.31	17.7	94
Promedio							95	
Desviación estándar							6	

Tabla LIII. Eficiencia de los demás HAP presentes en el material de referencia y el método analítico

#	HAP	SRM 1649A	SRM2975
		Eficiencia promedio [%]	Eficiencia promedio [%]
1	Fenantreno	212 ± 17	95 ± 6
2	Fluoranteno	198 ± 25	96 ± 17
3	Pireno	167 ± 26	122 ± 16
	Fluoreno	276 ± 46	

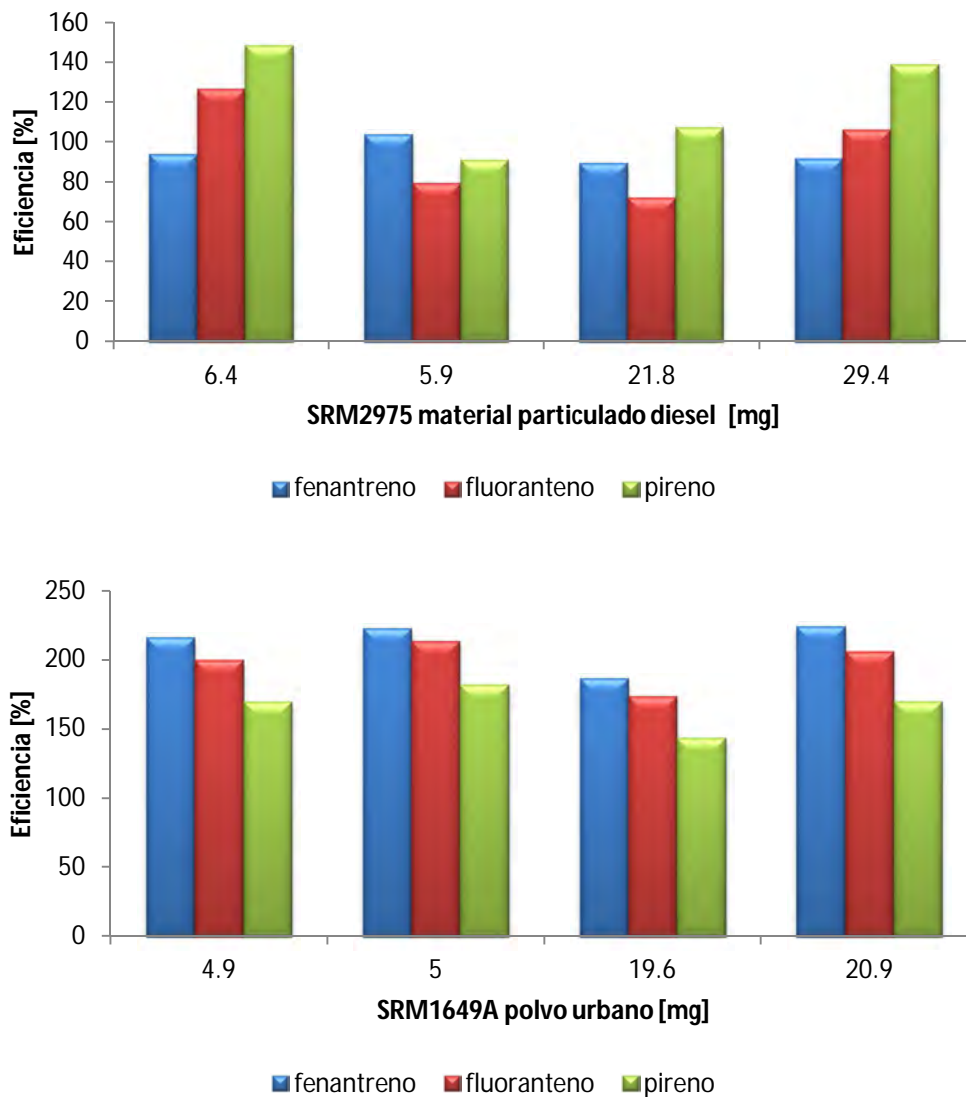


Figura 31. Eficiencias del método obtenidas por la comparación con el SRM2975 y SRM1649A de NIST

En general para el SRM2975 del NIST catalogado como material particulado diesel, matriz objetivo de este proyecto, las eficiencias se encontraron dentro del 60-130 % aceptado por la EPA para matrices atmosféricas (Método TO13A). En el caso del pireno, en la **sección 4.1** se observó que el compuesto coluye con el 9,10-dimetilantraceno en la columna cromatográfica empleada en este estudio, lo que dificulta su cuantificación. El aumento en las eficiencias con el SRM1649A de NIST se debe a la complejidad de la matriz, ya que al no haber ningún tratamiento previo de la muestra, afectó la selectividad del método analítico; siendo el método inespecífico para HAP en matrices

complejas como el polvo urbano y adecuado para su análisis en matrices menos complejas como el material particulado de combustión de diesel.

4.2.8 HAP en partículas emitidas por la combustión de diesel y de biodiesel

La **tabla LIV** y la **figura 32** muestran las concentraciones de HAP en $\text{ng mg}^{-1}_{\text{partícula}}$ para los HAP analizados por este método analítico. Para calcular la concentración en la muestra se utilizaron las **ecuaciones 31 a 33**, tomando como ejemplo el fenantreno, que presentó un área relativa de 1.325 en un análisis de 2.4 mg del filtro FT1 con 20.9 mg de partículas de emisión de biodiesel B10 (**tabla XX**):

$$Fen_{ng} = \frac{\frac{A_{fen}}{A_{EI}} - a_w}{b_w} \times EI_{ng} = \frac{1.325 - 0.01}{0.92} \times 4.51 = 6.44 \text{ ng}_{Fen}$$

Multiplicando por el Split del TD y considerando la eficiencia del 95%:

$$6.44 \text{ ng}_{Fen} \times 21.8 = 140.39 \text{ ng}_{Fen}$$

Considerando la masa total del filtro (90.5 mg), la masa de las partículas colectadas (20.9 mg) y la masa de la muestra (2.4 mg) podemos expresar la concentración de fenantreno en $\text{ng mg}_{\text{part}}^{-1}$:

$$140.39 \text{ ng}_{Fen} \times \frac{1}{2.4 \text{ mg}_{\text{muestra}}} \times \frac{90.5 \text{ mg}_{\text{filtro}}}{20.9 \text{ mg}_{\text{partículas}}} = 253.3 \frac{\text{ng}_{Fen}}{\text{mg}_{\text{part}}}$$

Generalizando y resumiendo en una sola ecuación para calcular la concentración de HAP en $\text{ng mg}_{\text{part}}^{-1}$:

$$HAP \left[\frac{\text{ng}}{\text{mg}_{\text{part}}} \right] = \frac{\frac{A_{HAP}}{A_{EI}} - a_w}{b_w} \times EI_{ng} \times \text{split}_{TDA} \times \frac{m_{\text{filtro}}}{m_{\text{muestra}} \times m_{\text{partículas}}}$$

Ecuación 35

Donde:

$HAP \left[\frac{\text{ng}}{\text{mg}_{\text{part}}} \right]$: concentración de HAP en $\text{ng mg}_{\text{part}}^{-1}$

$\frac{A_{Fen}}{A_{EI}}$: Área relativa del HAP

a_w : ordenada al origen ponderada

b_w : pendiente ponderada

EI_{ng} : masa de estándar interno en el detector (ng)

split_{TDA} : corrección debida al Split del TD (21.8 en este método)

Eficiencia: eficiencia del método para el HAP

m_{filtro} : masa total del filtro de teflón con partículas de diesel o de biodiesel (mg)

$m_{muestra}$: masa de la muestra que entró al equipo (mg)

$m_{particulas}$: masa total de partículas colectadas (mg)

Tabla LIV. Concentraciones de HAP en ng/mg_{particula} emitidas por la combustión de biodiesel (B10) y de diesel

	Filtro FT1: B10, 805 RPM			Filtro M3 B10, 1200 RPM		
HAP	Concentración ng mg _{part} ⁻¹	Desviación estándar	CV %	Concentración ng mg _{part} ⁻¹	Desviación estándar	CV
Naftaleno	<i>I.L.C.</i> ¹			<i>I.L.C.</i>		
Acenaftileno	11.3	1.7	15.43	19.0	0.7	3.9
Fenantreno	266.3	19.5	7.3	272.0	15.2	5.6
Fluoreno	63.5	9.9	15.7	82.5	2.1	2.6
3,6-dimetilfenantreno	30.3	5.7	18.6	27.9	4.9	17.8
Antraceno	66.4	6.4	9.7	50.6	5.7	11.3
2-metilantraceno	157.7	0.8	0.5	152.2	0.8	0.5
1-metilantraceno	233.1	11.3	4.8	213.3	12.8	6.0
Fluoranteno	50.7	1.3	2.4	<i>I.L.C.</i>		
Pireno	104.6	0.5	0.5	72.8	3.7	5.1
benzo[a]fluoreno	12.0	6.7	55.4	3.6	0.0	0.5
benzo[a]antraceno	5.0	0.7	13.8	<i>I.L.C.</i>		
Criseno	6.0	0.1	1.2	<i>I.L.C.</i>		
	Filtro L9: Diesel 500, 800 RPM			Filtro L7: Diesel 500, 1200 RPM		
HAP	Concentración ng mg _{part} ⁻¹	Desviación estándar	CV	Concentración ng mg _{part} ⁻¹	Desviación estándar	CV
Fenantreno	248.0	4.5	1.8	95.3	7.9	8.3
3,6-dimetilfenantreno	86.4			100.4		
2-metilantraceno	157.1	6.5	4.2	90.3	4.6	5.1
1-metilantraceno	220.3	18.9	8.6	169.1	2.5	1.5
9-metilantraceno	67.1	14.7	22.0	29.2	7.0	24.0
Fluoranteno	97.1	8.4	8.7	91.8	4.3	4.7
Pireno	166.7	14.0	8.4	165.5	10.3	6.2
benzo[a]fluoreno	<i>I.L.C.</i>			3.4		
Criseno	2.5					
Trifenileno	261.0	4.7	1.8			

¹- Concentración inferior al límite de cuantificación

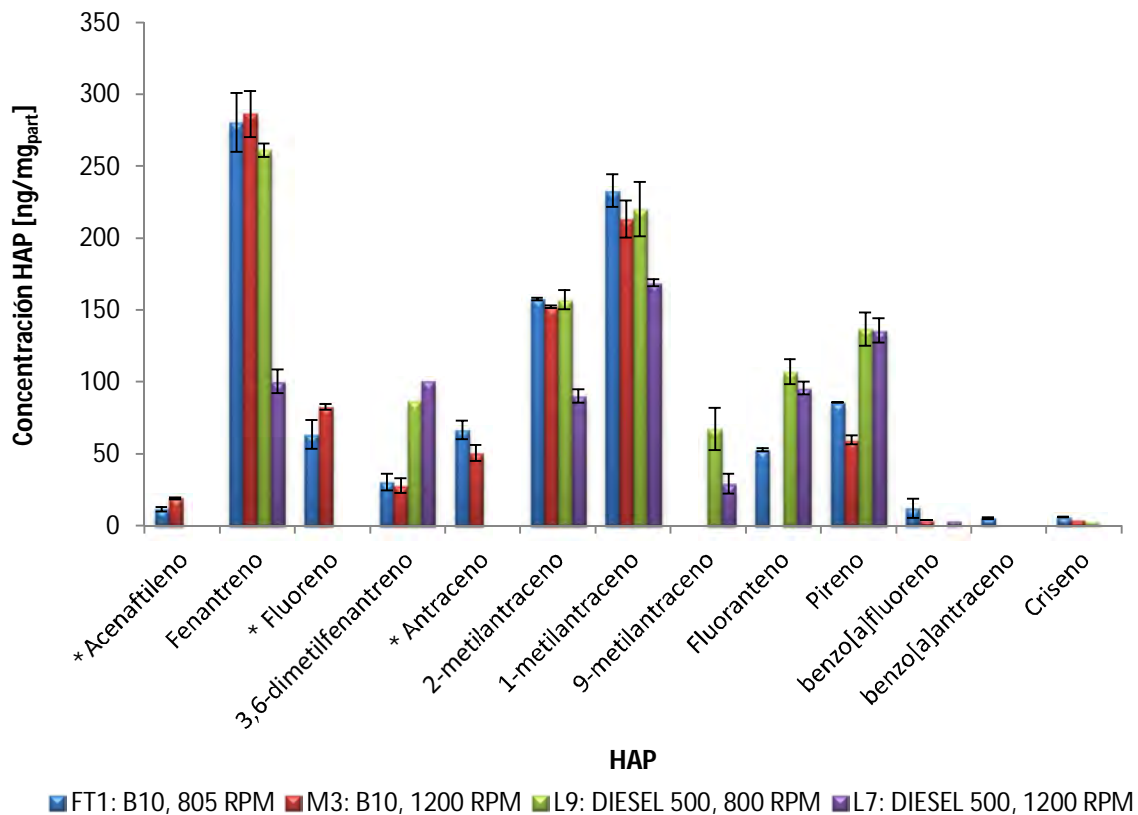


Figura 32. Concentración de HAP en partículas de emisión de biodiesel (B10) y de diesel analizadas mediante el método TD-CG/EM. (*) Para estos HAP la cuantificación en muestras de diesel no fue posible por la complejidad de la muestra

La complejidad de las muestras de diesel, aun reduciendo la masa analizada y la que llega al detector, impidió la cuantificación de algunos HAP como acenaftileno, fluoranteno y antraceno. Debido a que es muy complicado hacer un corte más a la muestra, la recomendación para el análisis de HAP en este tipo de matrices es reducir el tiempo de muestreo con la finalidad de coleccionar menor masa de partículas.

Finalmente, se observó reducción del 63 % a 800 RPM y 44 % a 1200 RPM de pireno en biodiesel B10 con respecto al diesel. Este HAP es marcador de las emisiones de diesel, por lo que el biodiesel puede ser un combustible alternativo a los combustibles fósiles amigable con el ambiente.

5 CONCLUSIONES

El análisis de los factores de respuesta relativos y sus coeficientes de variación (CV) permitieron discriminar niveles de concentración de la curva de calibración utilizando el valor máximo de 30 % en el coeficiente de variación permitido por EPA en la norma TO13A.

La evaluación de la homoscedasticidad de las varianzas permitió proponer el cálculo de la regresión lineal ponderada al concluir que las varianzas fueron diferentes para la mayoría de las curvas de calibración de los HAP.

Los límites de detección del método analítico se encontraron en el intervalo de 0.3 (acenaftileno) a 6.8 (fluoreno) ng presentes en la muestra, mientras que los de cuantificación entre 1.1 (acenaftileno) y 22.6 (fluoreno) ng presentes en la muestra.

El método presenta una precisión en función del % CV del 81.3 % (fluoreno) al 99.6 % (acenaftileno) y en función de % CV F_{RR} del 83.2 % (trifenileno) al 95.3 % (naftaleno).

La eficiencia del método evaluada con SRM2975 de NIST varía entre 95 % (fenantreno) y 122 % (pireno), este último coluye con el 9,10-dimetilantraceno, lo que dificulta su cuantificación.

Se demostró que el método es lineal en el intervalo de masa establecido, por medio de la evaluación de los coeficientes "r de Pearson" entre 0.949 (trifenileno) y 0.999 (naftaleno, acenaftileno y otros) y el estadístico ANOVA.

El intervalo dinámico lineal del método se encontró entre 17 a 236 ng para los HAP de bajo PM (<202 g mol⁻¹) y de 1 a 18 ng para HAP de alto PM (>228 g mol⁻¹).

La trampa criogénica del TD es específica para HAP de PM <228 g mol⁻¹. No es así para HAP de mayor PM pues su desorción fue ineficiente, y provoca errores de cuantificación.

Se demostró que el método funciona y es específico para matrices poco complejas como las emisiones de diesel, y mezclas con biodiesel.

El método resultó inespecífico para matrices complejas, como polvo urbano, pues al no existir tratamiento previo y dadas las condiciones cromatográficas, coluyen los analitos con las impurezas sobreestimando la cuantificación.

El método emplea el uso de tecnología verde, que no requiere grandes cantidades de disolventes, reduce el tiempo de análisis y emplea poca cantidad de muestra en comparación a las técnicas tradicionales.

En las muestras analizadas de diesel (diesel 500) y biodiesel (B10) se detectaron 13 HAP; y los más abundantes fueron 2-metilantraceno, 1-metilantraceno, fenantreno y pireno; estos últimos considerados como marcadores de emisión de diesel. Otros HAP detectados fueron fluoreno y antraceno. Finalmente, se observó una reducción de pireno en las muestras de biodiesel (B10), del 44 % al 63 %.

6 RECOMENDACIONES

Ensayar la optimización de las condiciones de desorción, con ayuda de los conceptos de diseño de experimentos.

Se requiere realizar ensayos con otros sorbentes que mejoren la retención y desorción de los HAP de alto PM. Uno de ellos puede ser Tenax.

Es necesario realizar experimentos para determinar el tiempo de vida de la trampa, éste dependerá de la complejidad de la matriz.

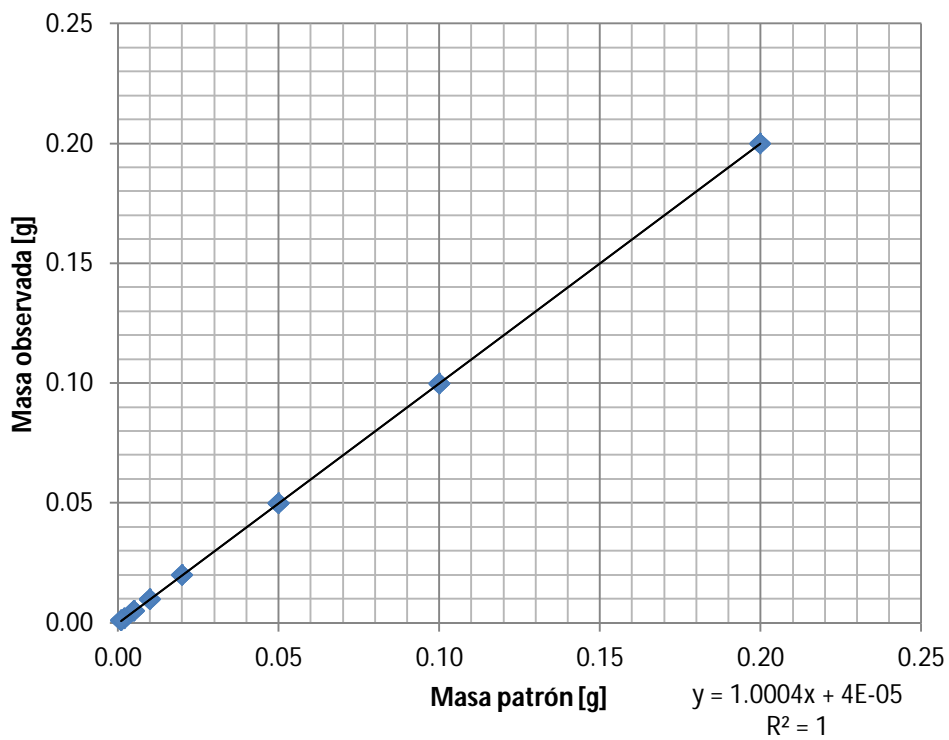
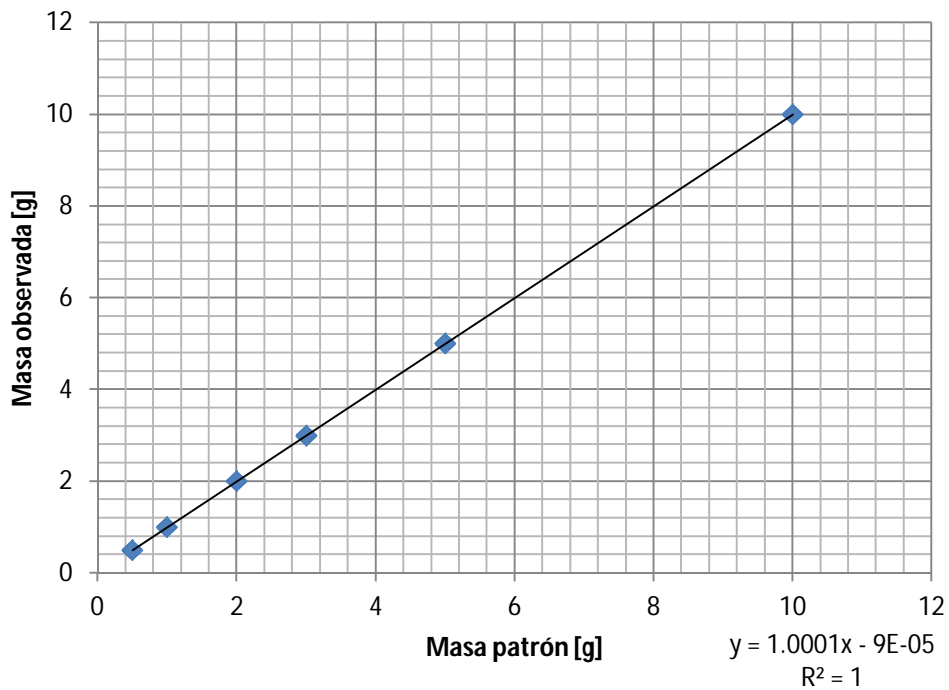
Un primer acercamiento al análisis de matrices complejas puede ser el empleo de la cromatografía de gases bidimensional.

Realizar análisis por triplicado o quintuplicado por cada muestra dada la variación del método para los HAP de $PM > 202 \text{ g mol}^{-1}$.

Obtener la eficiencia del método en los demás HAP analizados por otros métodos como la fortificación con HAP de concentración conocida.

APÉNDICE A.

Verificación de la balanza Sartorius modelo BA210S con masas patrón marca Ohaus



7 BIBLIOGRAFÍA

1. Alves C., Pio C., Duarte A. (2001). Composition of extractable organic matter of air particles from rural and urban Portuguese areas. *Atmospheric Environment*. 35, 5485–5496.
2. Amador M. (2003) Estudio de los hidrocarburos aromáticos policíclicos adsorbidos a las aeropartículas < 10 µm del suroeste de la Ciudad de México, 15-16.
3. Aragón-Piña A. Campos-Ramos A., Leyva-Ramos R., Hernández-Orta M., Miranda-Ortiz N., Luszczewski-Kudra A. (2006). Influencia de emisiones industriales en el polvo atmosférico de la ciudad de San Luis Potosí, México. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*, 22 (001), 5-19.
4. Araujo P. (2009). Key aspects of analytical method validation and linearity evaluation. *Journal of Chromatography B* 877, 224-2234.
5. ASTM D975-10c (2010). Standard specification for diesel fuels <http://www.astm.org/Standards/D975.htm>
6. Bagley S.T., Gratz L.D., Johnson J.H., McDonald J.F., (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 and Technology*. 32, 1183-1191.
7. Bates, M., Bruno, P., Caputi, M., Caselli, M., de Gennaro, G., Tutino M. (2008). Analysis of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in airborne particles by direct sample introduction thermal desorption GC/MS. *Atmospheric Environment*. 42, 6144-6151.
8. Bernabé J., Carretero M. (2003). Caracterización mediante microscopía electrónica de barrido de partículas atmosféricas del área industrial de Huelva (SW de España). *Boletín de la Sociedad Española de Mineralogía*. 26, 167-177.
9. Bijalwan A., Sharma C.M., Kediyal V.K., (2006). Biodiesel revolution. *Science Reporter*, January, 14-17.
10. Borja-Aburto V. H. (2000). Estudios ecológicos. *Salud Pública de México* 42, 533-538.
11. Borrás E., Tortajada-Genaro L.A., Vázquez M., Zielinska B. (2009). Polycyclic aromatic hydrocarbons emissions from different reformulated diesel fuels and engine operating conditions. *Atmospheric Environment* 43, 5944-5952.
12. Campos-Ramos A., Aragón-Piña A., Galindo-Estrada I., Querol X., Alastuey A. (2009). Characterization of atmospheric aerosols by SEM in a rural area in the western part of México and its relation with different pollution sources. *Atmospheric Environment* 43, 6159–6167.
13. Caputi M. (2001). Monitoring of volatile organic compounds and polycyclic aromatic hydrocarbons in atmosphere. Tesis de grado. Departamento de química, Universidad de Bari, Italia.

14. Carl-Elis B., Per G., Annika H., Bengt J., Christer J., Titus K., Agneta R., Margareta T., Katarina V., Roger W. (2002). Cancer risk assessment, indicators, and guidelines for polycyclic aromatic hydrocarbons in the ambient air. *Environmental Health Perspectives*. 10(3), 451-488.
15. Carmichael P.L., Jacob J., Grimmer G., Phillips D.H. (1990). Analysis of the polycyclic aromatic hydrocarbon content of petrol and diesel engine lubricating oils and determination of DNA adducts in topically treated mice by ³²P-postlabelling. *Carcinogenesis* 11(11), 2025-2032
16. Cavalieri E.L., Higginbotham S., RamaKrishna N.V., Devanesam P.D., Todorovic R., Rogan E.G., Salmasi S. (1991) Comparative dose-response tumorigenicity studies of dibenzo[*alpha*]pyrene and two dibenzo[*alpha,h*]pyrene dihydrodiols in mouse skin and rat mammary gland. *Carcinogenesis* 12(10), 1934-1944.
17. Chevron (2007). Diesel fuels technical review. http://www.chevron.com/products/prodserv/fuels/documents/Diesel_Fuel_Tech_Review.pdf
18. Correa S.M., Arbilla G., (2006). Aromatic Hydrocarbons emissions in diesel and biodiesel exhaust. *Atmospheric Environment*. 40, 6821-6826.
19. Demirbas A. (2006). Use of algae as biofuel source. *Energy Conversion and Management*, 51 (12), 2738-2749.
20. Demirbas A. (2007). Importance of biodiesel as transportation fuel. *Energy Policy* 35, 4661-4670.
21. Demirbas A. (2009). Progress and recent trends in biodiesel fuels. *Energy Conversion and Management* 50, 14-34.
22. Devanesan P.D., Cremonesi P., Nunnally J.E., Gogan E.G., Cavalieri E.L. (1990). Metabolism and mutagenicity of dibenzo[*a,e*]pyrene and the very potent environmental carcinogen dibenzo[*a,h*]pyrene. *Chemical Research in Toxicology* 3(6), 580-596.
23. Devos O., Combet E., Tassel P., Paturel L., (2006). Exhaust emissions of PAHs of passenger cars. *Polycyclic Aromatic Compounds* 26, 69–78.
24. Donaldson, K. Mills N., MacNee W., Robinson S., Newby D. (2005). Role of inflammation in cardio pulmonary health effects of PM. *Toxicology and Applied Pharmacology* 207, S483–S488
25. Ducharme F., Schwartz Z., Hicks G., Kakuma R., (2004). Addition of anti-leukotriene agents to inhaled corticosteroids for chronic asthma. *Cochrane database of systematic reviews* 2, 31-33.
26. EMA (Entidad Mexicana de Acreditación) (2004). Guía para la validación y verificación de los procedimientos de examen cuantitativo empleados por el laboratorio. 47p.
27. EPA (Environmental Protection Agency), (1996). Air quality criteria for particulate matter. EPA/600/P-95/001Af, 63-76.
28. EPA (Environmental Protection Agency), (2005). Validation and peer review of U.S. Environmental Protection Agency. *Chemical Methods of Analysis*. 23p.

29. EPA (Environmental Protection Agency), (2010). Basic concepts in environmental sciences, module 3: characteristics of particles – particle size categories. <http://www.epa.gov/apti/bces/module3/category/category.htm>
30. EUD (European Union Directive), (2004). Directive 2004/107/EC of the European parliament and of the council. Official Journal of European Union L23, 3–16.
31. Falkovich A.H., Rudich Y. (2001). Analysis of semivolatile organic compounds in atmospheric aerosols by direct sample introduction thermal desorption GC/MS. *Environmental Science and Technology*. 35, 2326-2333.
32. Fankow J.F., Luo W., Isabelle L., Bender D.A., Baker R.J. (1998). Determination of a wide range of volatile organic compounds in ambient air using multisorbent adsorption/thermal desorption and gas chromatography/mass spectrometry. *Analytical Chemistry* 70, 5213-5221.
33. Ferion J., Oberdöster G., Penney D.P. (1992). Pulmonary retention of ultrafine and fine particles in rats. *American Journal of Respiratory Cell and Molecular Biology*. 6, 535-542.
34. Finlayson - Pitts y Pitts Jr. N. (2000). *Chemistry of the upper and lower atmosphere*. Academic Press, 16-23, 419-462
35. Fontaras G., Kousoulidou M., Karavalakis G., Tzamkiozis T., Pistikopoulos P., Ntziachristos L., Bakeas E., Stournas S., Samaras Z. (2010). Effects of low concentration biodiesel blend on modern passenger cars. Part 1: feedstock impact on regulated pollutants, fuel consumption and particle emissions. *Environmental Pollution*. 158, 1451-1460
36. Franck H.G., Stadelhofer J.W., (1987). *Industrial Aromatic Chemistry. Raw Products, Processes, Products*. Springer, Berlin, 308–380.
37. Friedlander S.K. (2000). *Smoke, dust and haze, fundamentals of smoke aerodynamics*. 2a Ed. Oxford University Press, 359-372.
38. Gil-Moltó J., Varea M., Galindo N., Crespo J. (2009). Application of an automatic thermal desorption- gas chromatography- mass spectrometry system for the analysis of polycyclic aromatic hydrocarbons in airborne particle matter. *Journal of chromatography A*. 1216, 1285-1289.
39. Godleski J.J., Verrier R.L., Koutrakis P., Catalano P., Coull B., Reinisch U., Lovett E.G., Lawrence J., Murthy G.G., Wolfson J.M., Clarke R.W., Nearing B.D., Killingsworth C., (2000). Mechanisms of morbidity and mortality from exposure to ambient particles. Research Report (Health Effects Institute. 91, 5–88.
40. Godoi A.F.L., Ravindra K., Godoi R.H.M., Andrade S.J., Santiago - Silva M., Van Vaeck L., Van Grieken R., (2004). Fast Chromatographic determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in aerosol samples from sugarcane burning. *Journal of Chromatography A* 1027, 49–53
41. Götz, G. (1991). *Atmospheric particles and nuclei*. Budapest: akadémiai kiado. 193-200.

42. Graboski M., McCormick R. (1998). Combustion of fat and vegetable oil derived fuels in diesel engines. *Progress in Energy and Combustion Science* 24, 125-164.
43. Grass S.D., Ross M., Family F., Barbour J., Simpson J., Coulibaly D., Hernandez J., Chen Y., Slavkovivh V., Li Y., Graziano J., Santella R., Brandt-Rauf P., Chillrud S. (2010). Airborne particulate metals in the New York City subway: A pilot study to assess the potential for health impacts. *Environmental Research*, vol. 110, 1-11.
44. Grimmer G. (1991). Relevance of the polycyclic aromatic hydrocarbons as environmental carcinogens. *Fresenius Journal of Analytical Chemistry* 339, 792-795.
45. Harper, M. (2000). Sorbent trapping of volatile organic compounds from air. *Journal of chromatography A*. 885, 129-151.
46. Higginbotham S., RamaKrishna N.V., Johansson S.L., Rogan E.G., Cavalieri E.L. (1993). Tumor-initiating activity and carcinogenicity of dibenzo[*a,f*]pyrene versus 7,12-dimethylbenz[*a*]anthracene and benzo[*a*]pyrene at low doses in mouse skin. *Carcinogenesis* 14(5), 875-878.
47. Hinds W. (1982). *Aerosol Technologies. Properties, behavior and measurement of airborne particles*. Wiley Interscience, Nueva York. 424p.
48. Hoffmann D., Wynder E.L. (1960). On the isolation and identification of polycyclic aromatic hydrocarbons. *Cancer* 13, 1062-1073.
49. IARC (International Agency for Research on Cancer) (1983). Polynuclear aromatic compounds. Part 1. Chemicals, environmental and experimental data. IARC Monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans, 32. Lyon, France: International Agency for Research Cancer.
50. IARC (International Agency for Research on Cancer) (1984a). Polynuclear aromatic compounds. Part 2. Carbon blacks, mineral oils and some nitroarenes. IARC Monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans, 33. Lyon, France: International Agency for Research Cancer.
51. IARC (International Agency for Research on Cancer) (1984b). Polynuclear aromatic compounds. Part 3. Industrial exposures in aluminium production, coal gasification, coke production, and iron and steel founding. IARC Monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans, 34. Lyon, France: International Agency for Research Cancer.
52. IARC (International Agency for Research on Cancer) (1985). Polynuclear aromatic compounds. Part 4. Bitumens, coal-tars and derived products. IARC Monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans, 35. Lyon, France: International Agency for Research Cancer.
53. ICH (Internal Conference on Harmonization) (1995). Text on validation of analytical procedures. U.S. Department of Health and Human Services Food and Drug Administration.
54. ICH (International Conference on Harmonization) (1996). Guidance for Industry Q2B: Validation of Analytical Procedures: Methodology, <http://www.fda.gov/Cder/Guidance/1320fnl.pdf>

55. ISO (International Organization for Standardization) (1994a). Guide 5725-1: Accuracy (trueness and precision) of measurement methods and result part 1: general principles and definitions, Geneva.
56. ISO (International Organization for Standardization) (1994b). Guide 8402: Quality Vocabulary, ISO, Geneva
57. ISO (International Organization for Standardization) (1997). ISO 11843-1: Capability of detection. Part 1: terms and definitions. ISO, Geneva
58. IUPAC (International Union of Pure Applied Chemistry) (1999). Harmonized Guide lines for In-House Validation of Methods of Analysis (Technical Report). Budapest, <http://old.iupac.org/divisions/V/501/draftoct19.pdf>.
59. Jenkins B.M., Jones A.D., Turn S.Q., Williams R.B., (1996). Emission factors for polycyclic aromatic hydrocarbons from biomass burning. *Environmental Science and Technology* 30, 2462–2469
60. Karavalakis G., Fontaras G., Ampatzoglou D., Kousoulidou M., Stournas S., Samaras Z., Bakeas E. (2009). Effect of low concentration biodiesel blends application on modern passenger cars. Part 3: impact on PAH nitro-PAH and oxy-PAH emissions. *Environmental Pollution* XXX, 1-11.
61. Karlesky D.L., Ramelow G., Ueno Y., Warner I.M., Ho C.N. (1987). Survey of polynuclear aromatic compounds in oil refining areas. *Environmental Pollution* 43, 195-207.
62. Khalili N.R., Scheff P.A., Holsen T.M., (1995). PAH source fingerprints for coke ovens, diesel and gasoline engines, high way tunnels, and wood combustion emissions. *Atmospheric Environment* 29, 533–542.
63. Lapuerta M., Armas O., Rodríguez-Fernández J., (2008). Effect of biodiesel fuel on diesel engine emissions. *Progress in Energy and Combustion Science* 34, 198-223.
64. Lee R., Pedley J., Hobbs C. (1998). Fuel quality impact on heavy duty diesel emissions: A literature review. SAE Technical Papers, document number 982649, <http://www.sae.org/technical/papers/982649/>
65. LGEEPA (Ley general del equilibrio ecológico y protección al ambiente) (2010). Diario Oficial de a Federación 6 de abril del 2010.
66. Li S., Pan D., Wang G. (1994). Analysis of polycyclic aromatic hydrocarbons in cooking oil fumes. *Archive of Environmental Health* 49(2), 119-122.
67. Lutengens F.K. y Tarbuck K. (2007). *The atmosphere, an introduction to meteorology*. Prentice Hall, Nueva Jersey, 17-25.
68. Manahan S.E., (1994). *Environmental chemistry*. Lewis Publisher NY. 6a. Ed. 50-62.
69. Markes International (2006). *Thermal desorber user manual*. Ver. 5.2.
70. Mastandrea C., Chichizola C., Ludeña B., Sánchez H., Álvarez H., Gutiérrez A. (2005). Polyaromatic hydrocarbons. Health risk and biomarkers. *Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana*. 39, 27-36.

71. Meher L.C., Vidya S.S., Dharmagadda, Naik S.N., (2006). Optimization of alkali catalyzed transesterificación of Pongamia pinnata oil for production of biodiesel. *Bioresource Technology*. 97, 1392-1397.
72. Mi H.H., Lee W.J., Chen C.B., Yang H.H., Wu S.J. (2000) Effect of fuel aromatic content on PAH emission from a heavy duty engine. *Chemosphere* 41, 1783-1790.
73. Miller J.N., Miller J.C. (2002). *Estadística y quimiometría para química analítica*. Pearson, España pp. 111-143.
74. Murugesan A., Umarani C., Subrimanian N., Nedunchezian N. (2009). Biodiesel as an alternative fuel for diesel engines – A review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews* 13, 653-662.
75. Neff J.M., (1979). *Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in the Aquatic Environment. Sources, Fates and Biological Effects*. Applied Science Publication, London, 1–262.
76. Nemmar A., Vanbilloen H., Hoylaerts M.F., Hoet P.H.M., Verbruggen A., Nemery B. (2001). Passage of intratracheally instilled ultrafine particles from the lung into the systemic circulation in hamster. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*. 164, 1665–1668.
77. Nesnow S., Ross J.A., Mass M.J., Stoner G.D. (1998). Mechanistic relationship between DNA adducts oncogene mutations and lung tumorigenesis in strain A mice. *Experimental Lung Research* 24, 395-405.
78. Neusuess C., Pelzing M., Plewka A., Herrmann H. (2000). A new analytical approach for sized-resolved speciation of organic compounds in atmospheric aerosol particles: methods and first results. *Journal of Geophysics Research*. 105, 4513-4527.
79. Nielsen T., Seitz B., Ramdahl T. (1984). Occurrence of nitro-pah in the atmosphere in a rural area. *Atmospheric environment*. 18 (10), 2159-2165.
80. NOM-025-SSA1-2005 (Norma Oficial Mexicana) (2010). *Salud Ambiental. Criterio para evaluar la calidad del aire del ambiente, con respecto a las partículas menores a 10 micras (PM10). Valor permisible para la concentración de partículas menores de 10 micras (PM10) en el aire ambiente, como medida de protección a la salud de la población*. Diario Oficial de la Federación.
81. Offenberg, J., Baker, J., (2002). Precipitation scavenging of polychlorinated biphenyls and polycyclic aromatic hydrocarbons along an urban to over – water transect. *Environmental Science and Technology* 36, pp. 3763–3771.
82. Park S. S., Kim Y. J., Kang C. H., (2002). Atmospheric polycyclic aromatic hydrocarbons in Seoul, Korea. *Atmospheric Environment* 36, 2917–2924.
83. Paturel L., Saber A., Combet E., Joumard R. (1996). Analysis of PAH emissions from passenger cars by high resolution spectrofluorimetry. *Polycyclic Aromatic Compounds* 9, 331–339.
84. Polichetti G., Cocco S., Spinali A., Trimarco V., Nunziata A. (2009). Effects of particulate matter (PM₁₀, PM_{2.5} and PM₁) on the cardiovascular system. *Toxicology* 261, 1-8.

85. Pope III C.A., Burnett R.T., Thurston G.D., Thun M.J., Calle E.E., Krewski D., Godleski J.J. (2004). Cardiovascular mortality and long-term exposure to particulate air pollution: epidemiological evidence of general pathophysiological pathways of disease. *Circulation* 109, 71–77
86. Ravindra K., Sokhi R., Van Grieken R. (2008). Atmospheric polycyclic aromatics hydrocarbons: source attribution, emission factors and regulation. *Atmospheric Environment* 42, 2895-2921.
87. Reijnders L. (2006). Conditions of the sustainability of biomass based fuel use. *Energy Policy*. 34 (7), 863-876.
88. Rosales-Castillo J. A., Torres-Meza V. M., Olaiz-Fernández G. y Borja-Aburto, V. J. (2001). Los efectos agudos de la contaminación del aire en la salud de la población: evidencias de estudios epidemiológicos. *Salud Pública de México* 43, 554-555.
89. Seaton A., MacNee W., Donaldson K., Godden D. (1995). Particulate air pollution and acute health effects. *Lancet* 345, 176–178.
90. Seinfeld H., Pandis N., (2006). Atmospheric chemistry and physics, from air pollution to climate change. John Wiley & sons, inc. 2da. Ed. 693-698.
91. Sicre M.A., Gagosian R.B., Peltzer E.T., (1990). Evaluation of the atmospheric transport of marine-derived particles using long-chain unsaturated ketones. *Journal of Geophysical Research*. 95, 1789-1795.
92. Simoneit R.T., (1967). Organic matter of troposphere-III. Characterization sources of petroleum and pyrogenic residues in aerosols. *Atmospheric environment* 18, 51-67.
93. Sims P, Grover PL. (1974). Epoxides in polycyclic aromatic hydrocarbon metabolism and carcinogenesis. *Advances in Cancer Research*. 20:165-275
94. Smith K.R., (1987). *Biofuels, Air Pollution, and Health — a Global Review*. Plenum Press, New York.
95. Speidel H.K., Lightner R.L., Ahmed I. (2000). Biodegradability of new engineered fuels compared to conventional petroleum fuels and alternative fuels in current use. *Applied Biochemistry and Biotechnology* 84-86, 879-897.
96. Swartz M.E., Krull I.S. (1997). *Analytical method development and validation*. Marcel Dekker Inc. New York.
97. Turrio-Baldassarri L., Battisteli C.L., Conti L., Crebelli R., Berardis B., Iamicelli A.L., Gambino M., Iannaccone S., (2004). Emission comparison of urban bus engine fueled with diesel oil and biodiesel blend. *Science of Total Environment*. 327, 147-162.
98. Umbría A., Galán M., Muñoz M.J., Martín R. (2004). Characterization of atmospheric particles: analysis of particles in the Campo de Gibraltar. *Atmósfera*, vol. 17, num. 4. 191-206.
99. Valcárcel M., Gómez-Hens A., Rubio S. (2001). Selectivity in analytical chemistry revisited. *Trends in Analytical Chemistry* 20(8), 383-393.

100. Valle-Hernández B.L., Amador-Muñoz O., Jazcilevich Diamant A., Hernández-López A.E., Villalobos-Pietrini R. (2011). Reduction trend of polycyclic aromatic hydrocarbons and nitro-polycyclic aromatic hydrocarbons in diesel-engine particulate matter using biodiesel. *Combustion, Science and Technology*. En proceso.
101. Valle-Hernández B.L., Mugica-Álvarez V., Salinas-Talavera E., Amador-Muñoz O., Murillo Tovar M.A., Villalobos-Pietrini R., De Vizcaya-Ruiz A. (2010). Temporal variations of nitro-polycyclic aromatic hydrocarbons in PM₁₀ and PM_{2.5} collected in Northern Mexico City. *Science of the Total Environment*. 408, 5429-5438.
102. Vallero D. (2006). *Fundamentals of air pollution*. Academic Press, 4ta Ed. 83-90, 210-220, 412, 494-512.
103. Van Jaarsveld J.A., VanPul W.A.J., DeLeeuw F.A., (1997). Modelling transport and deposition of persistent organic pollutants in the European region. *Atmospheric Environment* 31, 1011–1024.
104. Villalobos-Pietrini R., Amador-Muñoz O., Waliszewski S., Hernández-Mena L., Munive-Colín Z., Gómez-Arroyo S., Bravo-Cabrera J.L., Frías-Villegas A. (2006). Mutagenicity and polycyclic aromatic hydrocarbons associated with extractable organic matter from airborne particles 10 µm in southwest Mexico City. *Atmospheric Environment*, 40 (30), 5845-5857.
105. Walker D., Petrakis L., Colwell R.R. (1976). Comparison of biodegradability of crude and fuel oils. *Canadian Journal of Microbiology*. 22, 598-602.
106. Walker D., Petrakis L., Colwell R.R. (1976). Comparison of biodegradability of crude and fuel oils. *Canadian Journal of Microbiology* 22, 598-602.
107. Wania F., Mackay D., (1996). Tracking the distribution of persistent organic pollutants. *Environmental Science and Technology* 30, 390–396.
108. Waterman D., Horsfield B., Leistner F., Hall K., Smith S. (2000). Quantification of polycyclic aromatic hydrocarbons in the NIST standard reference material (SRM1649A) urban dust using thermal desorption GC/MS. *Analytical Chemistry*, 72, 3563-3567.
109. WHO, World Health Organization (1998). *Environmental health criteria 202: selected non heterocyclic polycyclic aromatic hydrocarbons*. IPCS, International Programme on Chemical Safety. World Health Organization, Geneva.
110. Wild S.R., Jones K.C. (1995). Polynuclear aromatic hydrocarbons in the United Kingdom environment: a preliminary source inventory and budget. *Environmental Pollution* 88, 91 – 108.
111. Wilson W. E., Suh H. H. (1996). Fine and coarse particles: concentration relationships relevant to epidemiological studies. *Journal of the Air and Waste Management Association* 47, 1238-1249.
112. Wu C. Feng, C., Lo Y., Lin T., Lo J. (2004). Determination of volatile organic compounds in workplace air by multisorbent adsorption/desorption-GC/MS. *Chemosphere*, 56, 71-80.

113. Yang H.H., Lee W.J., Chen S.J., Lai S.O., (1998). PAH emission from various industrial stacks. *Journal of Hazardous Materials* 60, 159–174
114. Zhang X., Peterson C., Reece D., Haws R., Moller G. (1998). Biodegradability of biodiesel in the aquatic environment. *Transactions of the ASAE* 41, 1423-1430.