



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE QUÍMICA

*Optimización y aplicación de un método analítico para la
determinación de hidrocarburos aromáticos policíclicos
ad/absorbidos en musgos usados como bioindicadores y su
análisis espacio-temporal*

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
QUIMICO

PRESENTA

Alberto García Ibarra



CDMX

2018



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

JURADO ASIGNADO:

PRESIDENTE: **Profesor: García Ramírez Gloria**
VOCAL: **Profesor: Esturau Escofet Nuria**
SECRETARIO: **Profesor: Amador Muñoz Omar**
1er. SUPLENTE: **Profesor: Arcos Ramos Rafael Omar**
2° SUPLENTE: **Profesor: Zafra Ramírez Silvia Patricia**

SITIO DONDE SE DESARROLLÓ EL TEMA:

Laboratorio de Especiación Química de Aerosoles Orgánicos Atmosféricos y Desarrollo de Tecnologías Verdes del Centro de Ciencias de la Atmosfera de la UNAM

ASESOR DEL TEMA:

Dr. Omar Amador Muñoz

SUPERVISOR TÉCNICO:

Mtra. Josefina Poblano Bata

SUSTENTANTE (S):

Alberto García Ibarra

AGRADECIMIENTOS

Académicos

- Al Dr. Omar Amador Muñoz por permitirme desarrollar el presente trabajo en el Laboratorio de Especiación Química de Aerosoles Orgánicos Atmosféricos del Centro de Ciencias de la Atmósfera de la UNAM.
- Al Q. Armando Retama, M. en C. Olivia Rivera, Ing. J.J. Miguel Sánchez, Q. Oscar Hernández y Adrián Pérez del Sistema de Monitoreo Atmosférico de la Secretaría de Medio Ambiente de la Ciudad de México por las facilidades otorgadas para la colocación de los musgos en los sitios de muestreo.
- A la Dra. Sandra Luz Gómez Arroyo por gestionar la beca ante el SECITI.
- Al Dr. César Damián por la asesoría en el tratamiento de los bioindicadores.
- A Abraham Lara, Ing. Wilfrido Gutiérrez, Ing. Manuel García y Ing. Alfredo Rodríguez, por su apoyo técnico en el mantenimiento, servicio y reparación de la instrumentación analítica requerida para llevar a cabo este trabajo.
- Al M. en B. Saúl Armendáriz por las facilidades otorgadas para la consulta del material bibliográfico utilizado en este trabajo.
- Al L. Higicel Domínguez por el apoyo técnico en el mantenimiento y actualización de las infraestructuras de cómputo y de la red utilizadas en este estudio.

Institucionales

El presente estudio se desarrolló gracias al financiamiento otorgado por la Secretaría de Ciencia, Tecnología e Innovación de la Ciudad de México a través del proyecto SECITI/057/2016.

Agradezco la beca otorgada a la Secretaría de Ciencia, Tecnología e Innovación de la Ciudad de México a través del proyecto SECITI/057/2016.

Agradezco al Sistema de Monitoreo Atmosférico de la Ciudad de México, por haber proporcionado los datos atmosféricos.

INDICE

1. Introducción	2
2. Antecedentes	3
2.1 Contaminación.....	3
2.2 Contaminante.....	3
2.3 Contaminación atmosférica y contaminantes atmosféricos	3
2.4 Aerosol atmosférico	4
2.5 Material particulado suspendido	4
2.6 Características de las partículas.....	4
2.6.1 Formas de las partículas	5
2.6.2 Composición química de las partículas	5
2.6.3 Compuestos mayoritarios	7
2.6.4 Compuestos minoritarios	8
2.7 Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos.....	9
2.7.1 Formación de los HAP	10
2.7.2 Características físicas y químicas de los HAP	11
2.7.3 Reactividad de los HAP	13
2.7.4 Aplicaciones de algunos HAP.....	13
2.7.5 Importancia relativa de las fuentes de HAP	13
2.7.6 Principales efectos de los HAP sobre la salud.....	15
2.8 Muestreo del aerosol atmosférico	18
2.8.1 Métodos de medición de la calidad del aire	18
2.8.2 Muestreo activo.....	18
2.8.3 Muestreo pasivo.....	19
2.9 Briofitos.....	20
2.9.1 Estructuras morfológicas de los briofitos	21
2.9.2 Uso de musgos como bioindicadores de contaminantes atmosféricos.....	21
2.10 Diseño de experimentos 2 ³ centrado.....	22
2.11 Análisis por dilución isotópica.....	23

3.	Objetivos.....	24
3.1	General.....	24
3.2	Particulares.....	24
4.	Hipótesis.....	24
5.	Metodología.....	25
5.1	Colecta y preparación del musgo nativo.....	25
5.2	Colecta del aerosol atmosférico y muestreo.....	25
5.3	Determinación de la masa seca del musgo.....	27
5.4	Determinación de las mejores condiciones de extracción de en los musgos.....	27
5.5	Determinación de la eficiencia del método analítico para la recuperación de los HAP de los musgos.....	29
5.6	Extracción de HAP del aerosol atmosférico colectado.....	29
5.6.1	Fortificación de los musgos con HAP deuterados (HAP-d).....	29
5.6.2	HAP adsorbidos al musgo.....	32
5.6.3	HAP absorbidos y totales en el musgo.....	34
5.7	Análisis instrumental.....	35
5.8	Parámetros meteorológicos.....	36
5.9	Análisis estadístico.....	36
6.	Resultados.....	37
6.1	Pérdida de masa por deshidratación.....	37
6.2	Optimización del método de extracción para la recuperación los HAP.....	38
6.3	Eficiencia del método analítico para la recuperación de los HAP de los musgos.....	41
6.4	Comportamiento temporal de temperatura y humedad relativa.....	44
6.5	Comportamiento temporal de HAP en el AMVM.....	47
6.5.1	HAP adsorbidos al musgo.....	47
6.5.2	HAP absorbidos al musgo.....	51
6.5.3	HAP totales.....	55
6.6	Comportamiento espacial de HAP en el AMVM.....	59

6.7 Tasas de diagnóstico.....	62
6.8 Comparación con otros estudios	64
7. Conclusiones	68
8. Recomendaciones	69
9. Bibliografía.....	70
10. Anexos	79
11. Productos Científicos Generados	85

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1	Comparación de los diámetros de las partículas atmosféricas, con respecto al de un cabello humano.	4
Figura 2	Morfología y diámetros de las partículas suspendidas en el aire.	5
Figura 3	Procesos de formación de las partículas.	8
Figura 4	Metabolismo del benzo[a]pireno en humanos.	16
Figura 5	Representación de los tres grupos de biofritos: (a) hepáticas, (b) musgos y (c) antocerotas.	20
Figura 6	Musgo nativo de Puebla (izquierda) y musgo colocado en bolsas de tule en el sitio de muestreo (derecha).	25
Figura 7	Ubicación geográfica de los sitios de muestreo en el AMVM.	26
Figura 8	Almacenamiento del musgo con el aerosol colectado.	27
Figura 9	Extracción líquido-líquido en embudos de separación (izquierda) y extractos de los HAP en diclorometano (derecha).	33
Figura 10	Extracción de los HAP en musgo aplicando la CEMAUF modificada.	34
Figura 11	Pérdida de la masa del musgo colectado en desecador a temperatura ambiente.	37
Figura 12	Gráficas de superficie de respuesta global (GSRG) obtenidas del diseño de experimentos 2 ³ centrado para recuperar HAP en musgos.	38
Figura 13	Gráficas de Pareto de a. Fenantreno, b. Pireno y c. Floureno.	40
Figura 14	Cromatograma de iones seleccionados del estándar de referencia. Fluoreno-d10 (176 m/z), fenantreno-d10 y antraceno-d10 (188 m/z), fluoranteno-d10 y pireno-d10 (212 m/z), benzo[a]antraceno-d12 y criseno-d12 (240 m/z), benzo[b]fluoranteno-d12, benzo[k]fluoranteno-d12 y benzo[a]pireno-d12 (264 m/z) e indeno[1,2,3-cd]pireno-d12 y benzo[ghi]perileno-d12 (288 m/z).	41
Figura 15	Porcentajes de recuperación de HAP-d (250 ng) adsorbidos (extracción líquido-líquido) en musgo colectado durante noviembre 2016 a junio 2017, N=40.	42
Figura 16	Porcentajes de recuperación de HAP-d (250 ng) absorbidos (extracción con CEMAUF) en musgo remanente colectado durante noviembre 2016 a junio 2017, N=40.	42
Figura 17	Porcentajes de recuperación de HAP-d (250 ng) en musgo completo colectado durante noviembre 2016 a junio a 2017, N=40	43
Figura 18	Medianas (cuadros internos) de la humedad relativa ambiental (%) en los cinco sitios del AMVM de noviembre 2016 a junio 2017. Cajas - primer y tercer cuartiles, bigotes – valores mínimo y máximo.	44

Figura 19	Medianas (cuadros internos) de la temperatura ambiental (°C) en los cinco sitios del AMVM de noviembre 2016 a junio 2017. Cajas - primer y tercer cuartiles, bigotes – valores mínimo y máximo.	45
Figura 20	Comparación de las medianas (cuadros internos) de la temperatura ambiental (°C) entre SF – Secas frías, SC – Secas cálidas y LL – Lluvias, en el AMVM. Cajas - primer y tercer cuartiles, bigotes – valores mínimo y máximo.	46
Figura 21	Cromatograma iónico de los HAP adsorbidos al musgo colocado en el centro (Merced) del AMVM durante abril 2017. Fluoreno-d10 (176 m/z), fluoreno (166 m/z), fenantreno-d10 y antraceno-d10 (188 m/z), fenantreno y antraceno (178 m/z), fluoranteno-d10 y pireno-d10 (212 m/z), fluoranteno y pireno (202 m/z).	47
Figura 22	Medianas de la concentración de HAP adsorbidos al musgo (lavado) durante la época de secas frías, secas cálidas y lluvias en el AMVM, N=40.	48
Figura 23	Comparación temporal de las medianas de la suma de HAP adsorbidos al musgo entre noviembre 2016 a junio 2017. a. $HAP \leq 228 \text{ g mol}^{-1}$, b. $HAP > 228 \text{ g mol}^{-1}$ y c. HAP totales, N=5.	49
Figura 24	Comparación temporal de las medianas de HAP agrupados por peso molecular y totales adsorbidos al musgo (lavado) en el AMVM, N= 15 para SF, N= 10 para SC y N=15 para LL.	50
Figura 25	Cromatograma iónico de los HAP absorbidos en el musgo colocado en el noreste (San Agustín) del AMVM durante abril 2017. Fluoreno-d10 (176 m/z), fluoreno (166 m/z), fenantreno-d10 y antraceno-d10 (188 m/z), fenantreno y antraceno (178 m/z), fluoranteno-d10 y pireno-d10 (212 m/z), fluoranteno y pireno (202 m/z).	51
Figura 26	Medianas de la concentración de HAP absorbido al musgo (remanente) durante la época de secas frías, secas cálidas y lluvias en el AMVM, N=40.	52
Figura 27	Comparación temporal de las medianas de la suma de HAP absorbidos al musgo entre noviembre 2016 a junio 2017. a. $HAP \leq 228 \text{ g mol}^{-1}$, b. $HAP > 228 \text{ g mol}^{-1}$ y c. HAP totales, N=5.	53
Figura 28	Comparación temporal de las medianas de HAP agrupados por peso molecular y totales absorbidos al musgo (remanente) en el AMVM, N= 15 para SF, N=10 para SC y N=15 para LL.	54
Figura 29	Cromatograma iónico de los HAP en el musgo completo colocado en el sureste (UAMI-I) del AMVM durante abril 2017. Fluoreno-d10 (176 m/z), fluoreno (166 m/z), fenantreno-d10 y antraceno-d10 (188 m/z), fenantreno y antraceno (178 m/z), fluoranteno-d10 y pireno-d10 (212 m/z), fluoranteno y pireno (202 m/z).	55
Figura 30	Medianas de la concentración de HAP en musgo completo durante la época de secas frías, secas cálidas y lluvias en el AMVM, N=40.	56

Figura 31	Comparación temporal de las medianas de la suma de HAP en musgo completo entre noviembre 2016 a junio 2017. a. $\text{HAP} \leq 228 \text{ g mol}^{-1}$, b. $\text{HAP} > 228 \text{ g mol}^{-1}$ y c. HAP totales, N=5.	57
Figura 32	Comparación temporal de las medianas de HAP agrupados por peso molecular y totales en musgo completo en el AMVM, N= 15 para SF, N= 10 para SC y N= 15 para LL.	58
Figura 33	Comparación espacial de las medianas de HAP entre los cinco sitios del AMVM en musgo adsorbido colectado entre noviembre 2016 a junio 2017. Agrupados por peso molecular, N=8.	59
Figura 34	Comparación espacial de medianas de HAP entre los cinco sitios del AMVM en musgo absorbido colectado entre noviembre 2016 a junio 2017. Agrupados por peso molecular, N=8.	60
Figura 35	Comparación espacial de medianas de HAP entre los cinco sitios del AMVM en musgo completo colectado entre noviembre 2016 a junio 2017. Agrupados por peso molecular, N=8.	61
Figura 36	Tasas de diagnóstico en musgos a. adsorbido, b. absorbido y c. totales.	63

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla I	Características físicas y químicas de las partículas, tiempos de residencia y transporte en la atmósfera	7
Tabla II	Componentes mayoritarios y minoritarios en las partículas suspendidas	9
Tabla III	Estructura, nombre y peso molecular (g/mol) de algunos HAP	10
Tabla IV	Características físicas de los HAP. Peso molecular (PM) en g mol ⁻¹ , punto de fusión (PF) en °C, punto de ebullición (PE) en °C y presión de vapor (PV) en mmHg (25-30°C) en KPa, solubilidad en agua (SA) en mg L ⁻¹	12
Tabla V	Tasas de diagnóstico entre HAP para la asignación de fuentes de emisión.	14
Tabla VI	Diseño de experimentos 2 ³ , para optimizar las condiciones de extracción de HAP en musgo.	28
Tabla VII	HAP, HAP-deuterados (HAP-d) (subrogados) y HAP fluorados (estándares internos, EI). Tiempos de retención (min), masa molecular (g mol ⁻¹), ion principal (subrayado) y secundarios (m/z).	31
Tabla VIII	HAP cuantificados y estimados con los HAP-d	32
Tabla IX	Condiciones de operación en el CG-EM para el análisis de HAP, HAP-d y HAP-f.	35
Tabla X	Porcentajes de recuperación promedio (P) ± desviación estándar (DE) y coeficientes de variación (%CV) en los nueve tratamientos (T, Tabla VI) del diseño de experimentos 2 ³ centrado	39
Tabla XI	Análisis de HAP por medio de técnica de extracción Soxhlet.	65
Tabla XII	Análisis de HAP por medio de técnica de extracción fluidos presurizados.	66
Tabla XIII	Análisis de HAP por medio de técnica de extracción de ultrasonido.	69

Resumen

Los musgos o briofitos se consideran bioindicadores pasivos debido a su gran capacidad para sorber y retener diferentes compuestos. En este trabajo se llevó a cabo la optimización de un método analítico para la determinación de HAP ad/absorbidos en musgos utilizados como bioindicadores. Para ello, se desarrolló un diseño de experimentos 2^3 centrado. Las condiciones de extracción utilizando diclorometano como disolvente de extracción fueron: 5 min, 45 °C, 80 % de potencia a una frecuencia de sonicación de 37 KHz (por triplicado). Los experimentos se realizaron adicionando 300 ng de HAP para encontrar las mejores condiciones de extracción.

El método se aplicó para determinar los HAP en el aerosol colectado en los musgos ubicados en cinco sitios alrededor del Área Metropolitana del Valle de México (AMVM): noroeste, noreste, centro, suroeste y sureste. Las colectas se hicieron mensualmente de noviembre 2016 a junio 2017. Se utilizó el método por dilución isotópica para el análisis cuantitativo de los HAP, usando 16 HAP deuterados a 250 ng. Los análisis se llevaron a cabo por cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (CG-EM) por ionización electrónica y monitoreando a los iones seleccionados.

El 90 % del peso del musgo es agua. Las mejores condiciones de extracción ofrecieron porcentajes de recuperación entre $80\pm 4\%$ (acenaftileno-d8 adsorbido) y $95\pm 5\%$ (criseno-d12, absorbido), con coeficientes de variación $\leq 12\%$. Se encontraron 19 de 28 HAP analizados. Los HAP más abundantes fueron $\leq 228 \text{ g mol}^{-1}$ que se encuentran principalmente en la fase gaseosa del aerosol atmosférico. Los más abundantes fueron fluoreno, fenantreno, fluoranteno y pireno. El análisis temporal indicó que los meses de lluvias y más calurosos (abril, mayo y junio) mostraron las mayores concentraciones de HAP ($p < 0.05$). Se propone que los $\text{HAP} \leq 228 \text{ g mol}^{-1}$ incrementaron su concentración en fase gas en estos meses debido al aumento de la temperatura, facilitando su disolución en el agua y su posterior absorción por el musgo a través de sus rizoides, por ello, se encontraron más HAP absorbidos que adsorbidos a los musgos.

El análisis espacial sugirió concentraciones homogéneas de las medianas de HAP en los cinco sitios del AMVM ($p > 0.05$), probablemente debido a la saturación de los musgos por el largo periodo de colecta.

Debido al proceso de bioacumulación, los musgos no son la mejor matriz para llevar a cabo tasas de diagnóstico e identificación de fuentes de emisión.

1. INTRODUCCIÓN

La mala calidad del aire deteriora la salud de la población, daña a los ecosistemas y perjudica a los materiales (Arruti *et al.* 2012). Los aerosoles atmosféricos (AA) constituyen una parte importante de los contaminantes atmosféricos, cuyos efectos dependen en gran medida de su composición química (EPA 2009). Por ello la importancia en determinar su presencia en la atmósfera.

Los hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAP) forman parte de la contaminación atmosférica en Ciudad de México (Amador-Muñoz *et al.* 2010, 2011, 2013). Se encuentran distribuidos tanto en la fase gaseosa como en la particulada del AA (Ravindra *et al.* 2008a) y son de interés debido a sus propiedades tóxicas (IARC 2010). Son compuestos orgánicos que pueden bioacumularse en los organismos (Inomata *et al.* 2012). Los musgos son bioindicadores pasivos con capacidad de ad/absorber nutrientes del entorno. Se han utilizado como indicadores de contaminantes atmosféricos por su gran capacidad de sorción y retención. Generalmente la determinación de HAP en musgos se lleva a cabo por métodos analíticos que generan grandes cantidades de residuos y períodos largos de extracción (Kozák *et al.* 2003, Roy *et al.* 1996, Augusto *et al.* 2011).

En este proyecto se propuso una metodología que reduce el consumo de disolvente y el tiempo de extracción, para determinar HAP en musgos usando una modificación de la celda de extracción asistida por ultrasonido desarrollada en el grupo de investigación y recientemente patentada por Amador-Muñoz *et al.* (2014).

El método se aplicó para determinar HAP absorbidos y adsorbidos en musgos colocados en el Área Metropolitana del Valle de México y estudiar su comportamiento espacio-temporal.

2. ANTECEDENTES

2.1 Contaminación

La Ley General de Equilibrio Ecológico y Protección al Ambiente (2016) define el concepto de contaminación como “la presencia en el ambiente de uno o más contaminantes o de cualquier combinación de ellos que cause desequilibrio ecológico” (LGEEPA 2016).

2.2 Contaminante

La misma LGEEPA (2016), define a un contaminante 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”.

2.3 Contaminación atmosférica y contaminantes atmosféricos

La contaminación atmosférica se genera cuando toda sustancia presente en la atmósfera se encuentra en concentraciones que impliquen molestias o riesgo para la salud de las personas y los seres vivos y daño a los materiales.

Las principales fuentes generadores de contaminantes son las industrias, los automóviles, las actividades comerciales y los hogares. Si bien la combustión incompleta de hidrocarburos es una de las principales emisoras de contaminantes a la atmósfera, la evaporación y la resuspensión, son otros procesos que introducen sustancias ajenas a la composición natural del aire (Martínez y Mera 2004).

Los contaminantes atmosféricos pueden clasificarse como primarios y secundarios. Los contaminantes primarios son los que se emiten directamente a la atmósfera como dióxido de azufre (SO_2), óxido de nitrógeno (NO), monóxido de carbono (CO). Los contaminantes secundarios son aquellos que se forman mediante procesos químicos atmosféricos, como la oxidación o la fotólisis, que actúan sobre los contaminantes primarios o sobre especies no contaminantes en la atmósfera. Algunos contaminantes secundarios son, el ácido sulfúrico (H_2SO_4), que se forma por la oxidación del dióxido de azufre (SO_2), el ácido nítrico, que se forma por la oxidación del dióxido de nitrógeno (NO_2) y el ozono (O_3) que se forma a partir de los NO_x , hidrocarburos y radiación solar (Manahan 2007).

2.4 Aerosol atmosférico

El aerosol atmosférico consiste en una mezcla de partículas sólidas y líquidas suspendidas en un gas (Baron y Willeke 2001). Las partículas adquieren diversos tamaños y formas. Están constituidas por cientos de sustancias orgánicas, ácidos, metales, minerales, carbono elemental y agentes microbianos (EPA 2016, Olaguer 2017).

2.5 Material particulado suspendido

El material particulado aerotransportado está compuesto de partículas sólidas y líquidas, suspendidas y dispersas en el aire. Debido a que son de diferente tamaño y forma, se clasifican por su diámetro aerodinámico. Éste indicador es igual al diámetro de una partícula esférica de densidad unitaria que tiene la misma velocidad terminal que la partícula de interés, independiente de su forma, tamaño o densidad bajo condiciones de temperatura, presión y humedad ambiental (WHO-Europe 2005)

De acuerdo con su diámetro, las partículas se agrupan en finas y gruesas (**Figura 1**). Las primeras tienen diámetros menores o iguales a $2.5 \mu\text{m}$ ($\text{PM}_{2.5}$). Las partículas gruesas son aquellas que tienen diámetros $\leq 10 \mu\text{m}$, llamadas (PM_{10}) y aquellas conocidas como suspendidos totales (PST), con diámetros $< 40 \mu\text{m}$ (EPA 1996).



Figura 1. Comparación de los diámetros de las partículas atmosféricas, con respecto al de un cabello humano (EPA 2010).

2.6 Características de las partículas

Las partículas suspendidas tienen características únicas entre los contaminantes atmosféricos. Mientras que los contaminantes en fase gaseosa, como el dióxido de azufre, el monóxido de carbono y los óxidos de nitrógeno, son moléculas

individuales, bien caracterizadas, las partículas varían en cuanto a su forma, tamaño, composición química y permanencia en la atmósfera (Rajput y Lakhani 2012).

2.6.1 Formas de las partículas

Las partículas ambientales presentan una variedad de formas, como esferas, elipses, cubos, formas irregulares, geometría fractal (**Figura 2**). La forma de las partículas es muy importante para determinar sus propiedades ópticas, ya que juegan un papel significativo en el balance radiativo del planeta (INE-SEMARNAT 2009). Debido a que la Tierra tiene una atmósfera compuesta por moléculas y partículas suspendidas que interaccionan con la luz solar y se encargan de su dispersión, las partículas tienden a agruparse de diferentes maneras, afectando su morfología.

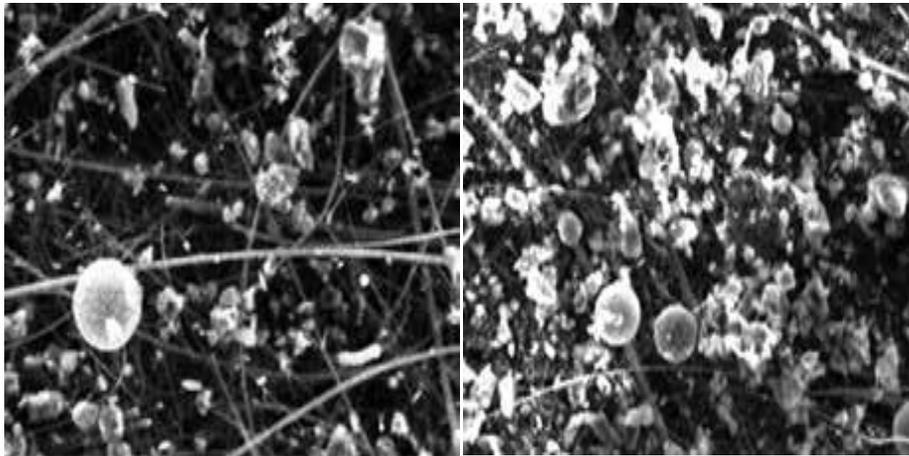


Figura 2. Morfología y diámetros de las partículas suspendidas en el aire (EPA 2010).

2.6.2 Composición química de las partículas

La composición química de las partículas es muy diversa y depende, principalmente, tanto de la fuente emisora como del mecanismo de su formación. Por ejemplo, las partículas en una región costera contendrán principalmente cloruro de sodio proveniente de la sal de mar, mientras que aquellas de origen geológico, estarán formadas por óxidos de hierro, calcio, sílice y aluminio (European Commission 2004).

En los procesos de combustión se emiten partículas de carbón, pero también materia inorgánica que proviene del contenido mineral presente en los combustibles. Lo mismo pasa con la mayoría de los procesos industriales, como las cementeras, donde las emisiones serán compuestos inorgánicos, a menudo de composición similar a las materias primas o productos generados.

La **tabla I** muestra las características físicas, los procesos de formación y de remoción de las partículas clasificadas por su tamaño en micrómetros, así como su permanencia en la atmósfera en función de su diámetro.

Las partículas ambientales que provienen de las fuentes móviles que usan gasolina son una mezcla de carbón orgánico, carbón elemental y pequeñas trazas de metales y sulfatos. De esas partículas, el carbón orgánico contribuye entre el 26 % y el 88 % del total de partículas ambientales provenientes de esta fuente. Aunque los compuestos del carbón orgánico no están todavía bien caracterizados, se han identificado compuestos orgánicos con una variedad de pesos moleculares. Anteriormente, las emisiones de partículas provenientes de los vehículos consistían principalmente en compuestos de plomo por el aditivo que se le agregaba al combustible, sin embargo, con su eliminación, también redujeron sus emisiones (EPA 2016).

Dependiendo del tipo de partículas y de su fuente de emisión se pueden encontrar tanto compuestos mayoritarios como minoritarios.

Tabla I. Características físicas y químicas de las partículas, tiempos de residencia y transporte en la atmósfera (EPA 2016).

Características	Ultrafinas ($PM_{0.1}$)	Finas ($\leq PM_{2.5}$)	Gruesas ($PM_{2.5}-PM_{10}$)
<i>Solubilidad</i>	No están bien caracterizadas	Muy solubles, higroscópicas y delicuescentes	Algunas son solubles
<i>Vida media atmosférica</i>	Minutos	Días a semanas	Minutos a horas
<i>Proceso de remoción</i>	<ul style="list-style-type: none"> • Crecen a la moda de acumulación • Se difunden en gotas de lluvia y otras superficies 	<ul style="list-style-type: none"> • Formación de nubes y lluvia • Precipitación seca 	<ul style="list-style-type: none"> • Precipitación seca • Eliminación por gotas de lluvia
<i>Distancia de transporte</i>	De metros a pocos kilómetros	De cientos a miles de kilómetros	De un kilómetro a decenas de kilómetros (de cientos a miles de kilómetros en tormentas de arena)
<i>Composición</i>	<ul style="list-style-type: none"> • Sulfato • Carbón elemental • Compuestos metálicos • Compuestos orgánicos con baja presión de vapor a temperatura ambiente 	<ul style="list-style-type: none"> • Sulfato, nitrato, amonio, iones de hidrógeno • Carbón elemental • Gran variedad de compuestos orgánicos • Metales como Pb, Cd, V, Ni, Cu, Zn, Mn, Fe, etc. • Agua ligada a las partículas • Bacterias, virus 	<ul style="list-style-type: none"> • Nitratos, cloruros, sulfatos de reacciones de HNO_3, HCl y SO_2 con partículas gruesas. • Óxidos de elementos de la corteza terrestre (Si, Al, Ti, Fe). • $CaCO_3$, $CaSO_4$, NaCl, sal marina • Bacterias, polen, moho, esporas de hongos, detritos de plantas y animales.

<i>Proceso de formación</i>	<ul style="list-style-type: none"> • Nucleación de gases atmosféricos, incluidos H₂SO₄, NH₃ y algunos compuestos orgánicos • Condensación de gases 	<ul style="list-style-type: none"> • Condensación de gases • Coagulación de partículas pequeñas • Reacción de gases en o sobre las partículas • Evaporación de neblina y gotas de agua en las que los gases se han disuelto y reaccionado 	<ul style="list-style-type: none"> • Procesos mecánicos (prensado, molienda, abrasión, rompimiento de sólidos/gotas) • Evaporación de aerosoles • Suspensión de polvos • Reacción de gases en o sobre partículas
-----------------------------	---	---	--

2.6.3 Compuestos mayoritarios

Estos compuestos generalmente conforman la mayor parte de la masa de las partículas (Andreae 2007). La **figura 3** muestra algunos procesos para la formación de las partículas.

- Sulfatos. Son componentes principalmente secundarios que se originan de la oxidación del SO₂, aunque pueden estar presentes como un componente primario derivado de la sal de los mares o de la materia mineral, como el yeso.
- Nitratos. La forma más común de los nitratos en las partículas suspendidas es como NH₄NO₃, compuesto que se deriva de la neutralización de vapores de HNO₃ por NH₃. También los nitratos pueden estar presentes como nitrato de sodio.
- Amonio. Los compuestos más comunes de amonio presentes en las partículas son el sulfato de amonio ((NH₄)₂SO₄) y el nitrato de amonio (NH₄NO₃).
- Sodio y cloro. Principalmente se originan de la sal marina.
- Carbón elemental. Está constituido principalmente por carbón negro (hollín) formado durante la combustión de combustibles fósiles y biomasa.
- Carbón orgánico. Comprende los compuestos orgánicos, tanto primarios, derivados de fuentes móviles o industriales, como secundarios, resultado de la oxidación de compuestos orgánicos volátiles.
- Componentes minerales. Se originan del material de suelo y roca por procesos de la fuerza del viento, de construcción y demolición. Los suelos y las rocas son ricos en aluminio, sílice, hierro y calcio.
- Agua. Hay componentes en las partículas ambientales, especialmente las sales como (NH₄)₂SO₄, NH₄NO₃ y NaCl, que pueden tomar agua de la atmósfera y convertirse en gotas líquidas. Esta agua puede

representar un componente significativo de la masa de las partículas (Sosa 2009)

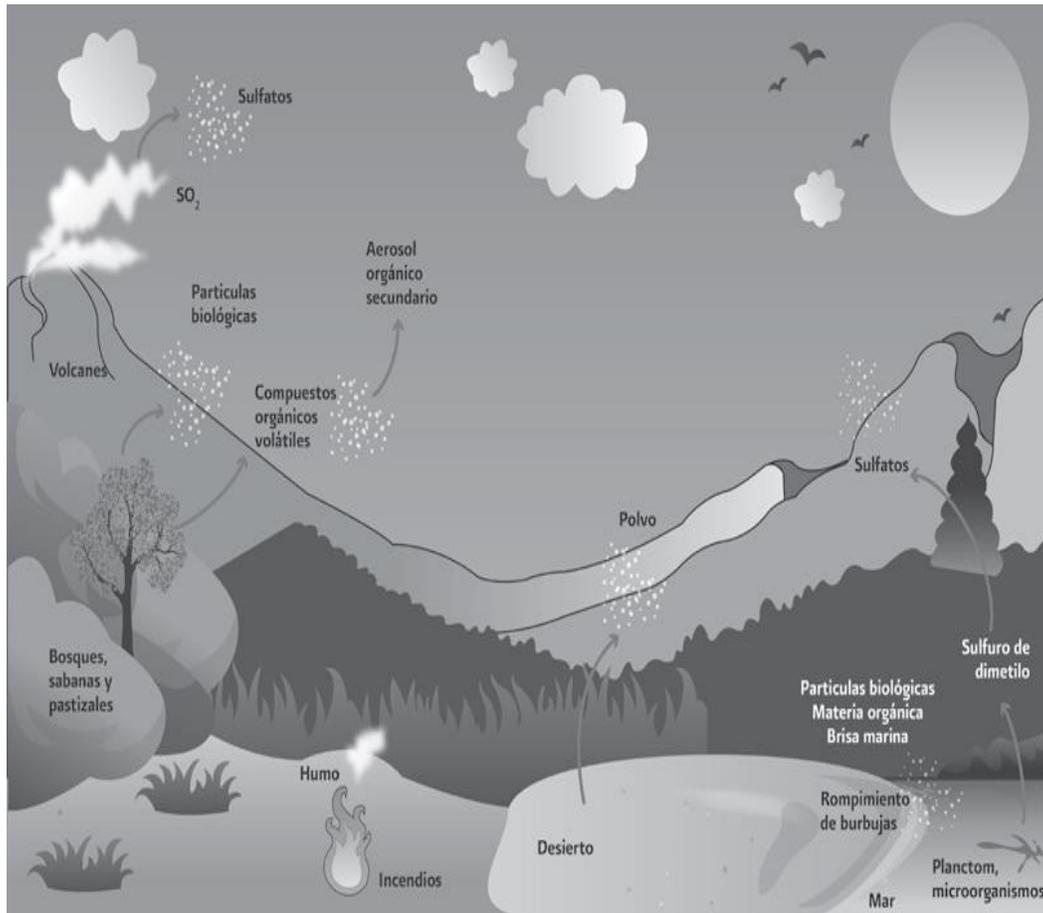


Figura 3. Procesos de formación de las partículas (Andreae 2007).

2.6.4 Compuestos minoritarios

Estos compuestos pueden estar presentes adicionalmente a los compuestos mayoritarios en las partículas ambientales o formar parte de ellos (**Tabla II**). Los principales compuestos minoritarios son:

- Elementos traza. Ejemplos de estos son los metales, como plomo, cadmio, mercurio, níquel, cromo, zinc y manganeso, los cuales pueden ser emitidos por procesos metalúrgicos, sistemas de combustión, etc. Las concentraciones de los elementos traza son muy pequeñas, de forma que su detección es a menudo una función de la sensibilidad del procedimiento analítico utilizado.
- Compuestos orgánicos traza. A pesar de que la masa total de los compuestos orgánicos puede conformar una parte significativa de la masa total de las

partículas, hay una importante cantidad de compuestos orgánicos individuales que están presentes en muy bajas concentraciones; ejemplos de ellos son los hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAP) y alifáticos, los aldehídos, los ácidos carboxílicos y las cetonas, entre otros (Sosa 2009).

Tabla II. Componentes mayoritarios y minoritarios en las partículas suspendidas (Chow *et. al.* 2002)

<i>Compuestos Mayoritarios</i>	<i>Compuestos Minoritarios</i>
<ul style="list-style-type: none"> • Sulfatos (SO₄) • Nitratos (NO₃) • Amonio (NH₄) • Sodio y cloro (Na y Cl) • Carbón elemental • Carbón orgánico • Componentes minerales, Fe₂O₃, Ca, Si y Al • Agua 	<ul style="list-style-type: none"> • Elementos traza: por ejemplo, metales, como plomo (Pb), cadmio (Cd), mercurio (Hg), níquel (Ni), cromo (Cr), zinc (Zn) y magnesio (Mg), etc. • Compuestos orgánicos: por ejemplo, hidrocarburos aromáticos policíclicos, alifáticos, aldehídos, ácidos carboxílicos y cetonas, entre otros.

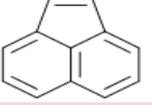
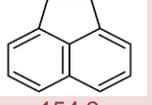
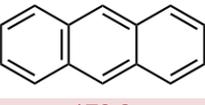
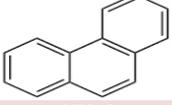
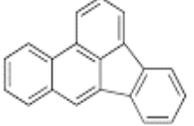
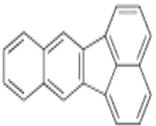
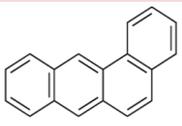
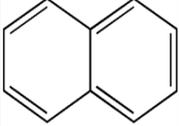
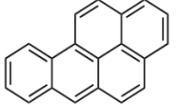
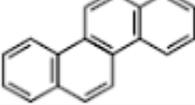
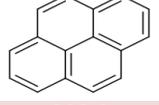
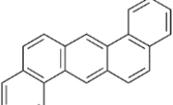
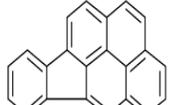
Entre los compuestos orgánicos de mayor interés por sus propiedades mutagénicas (Villalobos-Pietrini *et al.* 2007) y cancerígenas (IARC 2010) son los hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAP).

2.7 Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos

Los Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos (HAP) y sus derivados están asociados al aumento en la incidencia de diversos tipos de cáncer en el hombre. Considerando sus diferentes fuentes y el riesgo ante su exposición, es indispensable su monitoreo ambiental y ocupacional (Mastandrea *et al.* 2005).

Los HAP son compuestos orgánicos formados por dos o más anillos aromáticos condensados, ubicados en forma recta, angulada o en racimos, que difieren en el número y posición del anillo aromático (Furton y Pentzke 1998).

Tabla III. Estructura, nombre y peso molecular (g mol^{-1}) de algunos HAP (ATSDR 1995)

Acenaftileno  152.20	Acenafteno  154.2	Antraceno  178.2	Fenantreno  178.2
Benzo[b]fluoranteno  252.3	Benzo[k]fluoranteno  252.3	Benzo[a]antraceno  228.3	Naftaleno  128.3
Benzo[a]pireno  252.3	Fluoranteno  276.3	Criseno  228.3	Pireno  202.3
Fluoreno  166.2	Dibenzo[a,h]antraceno  278.3	Indeno[1,2,3-cd]pireno  276.3	

2.7.1 Formación de los HAP

Los HAP se forman por pirólisis o combustión incompleta de materia orgánica que contiene carbono e hidrógeno. A elevadas temperaturas, la pirólisis de compuestos orgánicos produce fragmentos de moléculas y radicales que se combinan para dar lugar a los HAP. La composición de los productos de la pirosíntesis depende del combustible, la temperatura y el tiempo de permanencia a altas temperaturas.

Los combustibles que forman HAP son metano, otros hidrocarburos, hidratos de carbono, ligninas, péptidos, etc. Sin embargo, los compuestos insaturados y las estructuras cíclicas suelen favorecer la formación de los HAP (ATSDR 1995).

Evidentemente, los HAP se liberan de la zona de combustión en forma de vapores. Debido a sus bajas presiones de vapor, la mayoría de los HAP se condensan en el acto sobre partículas de hollín o forman ellos mismos partículas muy pequeñas. Los HAP liberados a la atmósfera en forma de vapor se adsorben

por las partículas presentes, que pueden transportarse grandes distancias por los vientos (Bateman 1997).

2.7.2 Características físicas y químicas de los HAP

Los HAP individuales difieren sustancialmente en sus propiedades físicas y químicas. Regularmente se miden 16 HAP, considerados por la Agencia de Protección al Ambiente de los Estados Unidos (EPA), la Organización Mundial de la Salud (OMS) y la Comunidad Económica Europea (CEE), como contaminantes prioritarios debido a sus efectos carcinogénicos (Nadal *et al.* 2004). La **tabla IV** muestra sus propiedades físicas y químicas que permiten predecir su comportamiento y permanencia en el ambiente (Jones y de Voogt 1999).

Los HAP han recibido especial atención en los estudios de contaminación del aire, debido a que algunos son carcinogénicos o mutagénicos. La Agencia Internacional de Investigación en Cáncer ha agrupado a los HAP en cuatro grupos, de acuerdo con sus propiedades carcinogénicas (IARC 2018):

- 1 - Carcinogénico para Humanos;
- 2A - Probablemente carcinogénico para Humanos;
- 2B - Posiblemente carcinogénico para humanos;
- 3 - No clasificable como carcinogénico para humanos;
- 4- Probablemente no carcinogénico para Humanos.

Tabla IV. Características físicas de los HAP. Peso molecular (PM) en g mol⁻¹, punto de fusión (PF) en °C, punto de ebullición (PE) en °C y presión de vapor (PV) en mmHg (25-30°C) en KPa, solubilidad en agua (SA) en mg L⁻¹

HAP	Abreviatura	Anillos	PM	Fórmula	PF	PE	SA ^[1]	PV ^[2]	Log K _{ow} ^[3]	Log K _{oc} ^[1]	Grupo ^[4]
Naftaleno	Naf	2	128	C ₁₀ H ₈	80-82	218	31.0	1.2 x10 ⁻²	3.37	n.r.	n.r.
Acenaftileno	Actil	3	152	C ₁₂ H ₈	92-93	265-280	3.50	4.0 x10 ⁻³	n.r.	3.23-3.76	3
Acenafteno	Acno	3	154	C ₁₂ H ₁₀	90-96	278-279	3.90	5.81 x10 ⁻⁴	4.00	3.0-4.17	n.r.
Fluoreno	Fno	3	166	C ₁₃ H ₁₀	116-118	293-295	1.98	4.16 x10 ⁻⁵	4.18	3.59-4.05	3
Fenantreno	Fen	3	178	C ₁₄ H ₁₀	96-101	339-340	0.07	2.26 x10 ⁻⁶	4.54	3.88-4.31	n.r.
Antraceno	Ant	3	178	C ₁₄ H ₁₀	216-219	340	1.30	9.04 x10 ⁻⁵	4.57	4.13-4.31	3
Fluoranteno	Flt	3	202	C ₁₆ H ₁₀	107-111	375-393	0.26	1.20 x10 ⁻⁶	5.22	4.52-4.90	3
Pireno	Pir	4	202	C ₁₆ H ₁₀	150-156	360-404	0.14	3.33 x10 ⁻⁷	5.18	4.56-4.90	3
Benzo[a]antraceno	BaA	4	228	C ₁₈ H ₁₂	157-167	435	0.04	2.93 x10 ⁻⁹	5.75	5.28-5.58	2B
Criseno	Cris	4	228	C ₁₈ H ₁₂	252-256	441-448	2.00 x10 ⁻²	8.38 x10 ⁻⁸	5.75	5.29-5.59	2B
Benzo[b]fluoranteno	BbF	5	252	C ₂₀ H ₁₂	167-168	481	1.20 x10 ⁻²	6.66 x10 ⁻⁸	6.09	5.46-6.08	2B
Benzo[k]fluoranteno	BkF	5	252	C ₂₀ H ₁₂	198-217	471-480	6.00 x10 ⁻⁴	7.86 x10 ⁻¹²	6.30	5.88-6.08	2B
Benzo[a]pireno	BaP	5	252	C ₂₀ H ₁₂	177-179	493-496	3.80 x10 ⁻³	7.45 x10 ⁻¹⁰	6.04	5.46- 6.42	1
Dibenzo[a,h]antraceno	DahA	5	278	C ₂₂ H ₁₄	266-270	524	5.00 x10 ⁻⁴	1.33 x10 ⁻¹¹	6.75	5.97	2A
Indol[1,2,3-cd]pireno	Ind	6	276	C ₂₂ H ₁₂	163-166	497	5.30 x10 ⁻²	1.33 x10 ⁻¹²	6.58	7.66	2B
Benzo[gh]perileno	BghiP	6	276	C ₂₂ H ₁₂	107-111	375-393	3.00 x10 ⁻⁴	1.39 x10 ⁻¹¹	6.86	6.31-6.78	3

1) Mackay y Callot (1998); 2) Meharg *et al.* (1998); 3) Karickhoff (1981); 4) IARC (2018); n.r.:No reportado

2.7.3 Reactividad de los HAP

Químicamente, los HAP reaccionan por sustitución del hidrógeno o por adición cuando se produce la saturación, conservándose el sistema de anillos. La mayoría de los HAP sufren fotooxidación, siendo ésta una forma para eliminarlos de la atmósfera. La reacción de fotooxidación más frecuente es la formación de endoperóxidos que pueden convertirse a quinonas (Stellman 1998). Los HAP reaccionan rápidamente con óxidos de nitrógeno o HNO_3 . Por ejemplo, el antraceno puede oxidarse a antraquinona por acción del HNO_3 o dar un derivado nitrogenado mediante una reacción de sustitución con NO_2 (Fishbein 2000).

2.7.4 Aplicaciones de algunos HAP

Algunos usos de HAP (Stellman 1998) son:

El antraceno se utiliza en la producción de antraquinona. Importante materia prima para la fabricación de colorantes. Se emplea también como diluyente para conservar la madera y en la producción de fibras sintéticas, plásticos y monocristales.

El fenantreno se utiliza en la fabricación de colorantes y explosivos, en la investigación clínica y en la síntesis de fármacos.

El fluoranteno es un componente que se utiliza como material de revestimiento para proteger el interior de las tuberías de agua potable de acero, hierro dúctil y los tanques de almacenamiento.

2.7.5 Importancia relativa de las fuentes de HAP

La fuente más importante de HAP es la combustión incompleta de cualquier material orgánico que contenga carbono e hidrógeno. Esto puede ocurrir naturalmente por incendios forestales, actividad volcánica y procesos de formación volcánica (Thiele y Brummer 2002).

Los perfiles de HAP resultantes de la quema de diversos materiales orgánicos dependen de la temperatura de combustión, duración del proceso, las condiciones de la flama y del tipo de material orgánico. A temperaturas inferiores a los 700°C , además de los HAP, se forman HAP alquilados, muchas veces derivados metilados. Un ejemplo típico es el humo del cigarro que produce hollín con alto contenido de HAP alquilados (Björseth y Ramdahl 1985).

En los países industrializados, la mayor parte de la emisión de HAP es de origen industrial, vehicular y por la calefacción e incineración de residuos domésticos. La contribución de fuentes puntuales es difícil de estimar con precisión, y varía según el país. Por ejemplo, en Alemania durante los años 90 algo más del 50 % de las emisiones de benzo[a]pireno (uno de los HAP más importantes) eran debidas a la calefacción por el uso de carbón. No obstante, en países con baja densidad de población, la producción de HAP era predominantemente industrial. Por ejemplo, en Canadá, más del 90 % del total de HAP provenían de la industria metalúrgica, especialmente de la producción de aluminio, la siderometalúrgica y de la manufactura de metales férricos (Mastandrea 2005). La relación de la concentración de los HAP se puede usar para determinar la contribución de diferentes fuentes de emisión (**Tabla V**), donde el método de relación binaria para la identificación de fuentes de HAP implica la relación entre pares de marcadores de HAP (Ravindra *et al.* 2008b).

Tabla V. Tasas de diagnóstico entre HAP para la asignación de fuentes de emisión.

Relación binaria	Valor	Fuente de emisión	Referencia
$\Sigma\text{BPH}/\Sigma\text{APH}$	<1	Pirogénico	Zhang <i>et al.</i> (2008)
	>1	Petrogénico	
$\text{I}123\text{cdP}/(\text{I}123\text{cdP} + \text{BghiP})$	0.18	Gasolina	Ravindra <i>et al.</i> (2008a)
	0.37-0.70	Diesel	Kavouras <i>et al.</i> (2001)
$\text{Fno}/(\text{Fno}+\text{Pir})$	>0.5	Diesel	Ravindra <i>et al.</i> (2008b)
	< 0.5	Gasolina	
$\text{Ant}/(\text{Ant}+\text{Fen})$	>0.1	Petrogénico	Pies <i>et al.</i> (2008)
	<0.1	Pirogénico	
$\text{Flt}/(\text{Flt}+\text{Pir})$	<0.4	Petrogénico	De La Torre-Roche <i>et al.</i> (2009)
	0.4-0.5	Combustible fósil	
	>0.5	Combustion de madera	
$\text{BaP}/(\text{BaP}+\text{Cris})$	0.5	Diesel	Guo <i>et al.</i> (2003)
BbF/BkF	0.73	Gasolina	Ravindra <i>et al.</i> (2008b)
	> 0.5	Diesel	Park <i>et al.</i> (2002)
BaP/BghiP	0.5-0.6	Emisiones de tráfico	Park <i>et al.</i> (2002)
$\text{I}123\text{cdP}/\text{BghiP}$	< 0.4	Gasolina	Caricchia <i>et al.</i> (1999)
Flt/Pir	0.6	Emisiones vehiculares	Neilson (1998)

ΣBPH – Suma de HAP de bajo peso molecular (<228 gmol^{-1}), ΣAPH - Suma de HAP de alto peso molecular (>228 gmol^{-1}), $\text{I}123\text{cdP}$ – Indeno[1,2,3-*cd*]pireno,

BghiP – Benzo[ghi]perileno, Fno – Fluoreno , Pir – Pireno, Ant – Antraceno, Fen – Fenantreno, BaP – Benzo[a]pireno, Cris – Criseno, BbF – Benzo[b]fluoranteno, BkF – Benzo[k]fluoranteno, Flt – Fluoranteno.

2.7.6 Principales efectos de los HAP sobre la salud

Existen centenares de HAP, pero hasta el momento sólo una veintena han mostrado posibles efectos sobre la salud, especialmente de tipo carcinogénico. Diversos aspectos de los HAP son importantes para determinar sus posibles efectos sobre la salud: en primer lugar, la vía de entrada al organismo; en segundo lugar, su metabolismo, es decir, la serie de transformaciones que sufren los HAP una vez absorbidos; y por último las características químicas de los compuestos y de sus derivados (Yu *et. al* 2002).

Los HAP son altamente liposolubles y por lo tanto rápidamente absorbidos en el tracto intestinal de los mamíferos y otros organismos. Están fácilmente distribuidos en una amplia variedad de tejidos con una marcada tendencia para localizarse en tejidos adiposos. Los HAP por sí mismos son químicos relativamente no reactivos con respecto a macromoléculas biológicas en condiciones fisiológicas. Sin embargo, requieren activación metabólica para manifestar genotoxicidad, incluyendo mutagenicidad y carcinogenicidad (Connell *et al.* 1997).

2.7.6.1 Absorción y metabolismo de los HAP

La exposición de HAP se lleva cabo por diferentes vías, una de ellas es por inhalación de diferentes emisiones, por ejemplo, humo de cigarrillos, humo de madera, por la combustión de combustibles fósiles o biomasa, caminos de asfalto, etc. Otras vías son la ingestión de alimentos asados y la sorción dérmica. Tras su incorporación al organismo, los HAP se absorben en algunos tejidos, especialmente los que tienen mayor contenido graso. Los HAP se eliminan del cuerpo a los pocos días de su absorción, principalmente por la orina y las heces (Yu *et. al* 2002).

Un aspecto de interés para comprender la actividad biológica de los HAP es su metabolismo, es decir, la serie de transformaciones que sufren una vez absorbidos por el organismo. Como con cualquier sustancia externa, el organismo trata de eliminarlos, proceso que se conoce como detoxificación y que se realiza mediante la acción de ciertas enzimas (Mastrangela *et al.* 1997).

La **figura 4** muestra el mecanismo de acción en la formación de los aductos formados a partir del benzo[a]pireno en humanos.

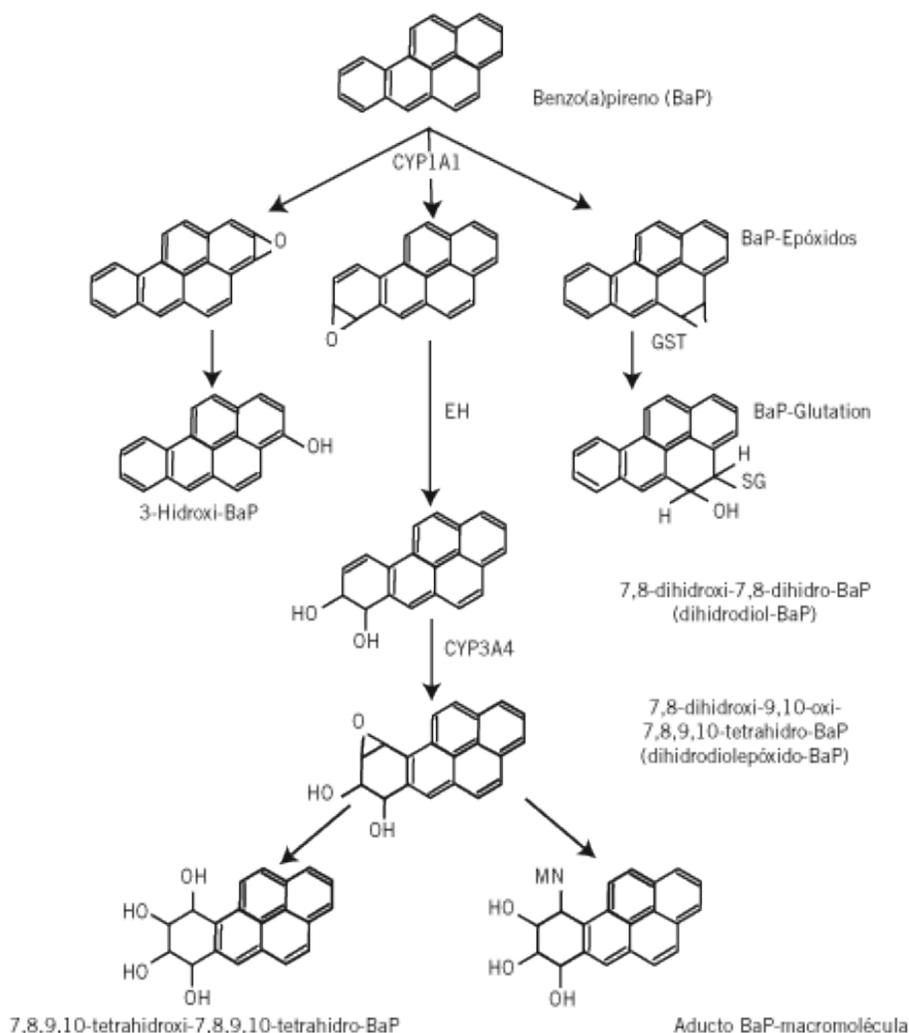


Figura 4. Metabolismo del benzo[a]pireno en humanos (ATSDR 1995, Spivack 2001)

2.7.6.2 Genotoxicidad de los HAP

Existen diversos mecanismos por los que una sustancia química puede producir tumores malignos; la más importante y conocida es la capacidad de producir mutaciones en el ADN. Cuando un compuesto es capaz de inducir mutaciones al ADN se dice que es genotóxico. La genotoxicidad de los HAP depende de dos características. En primer lugar, de su estructura química: algunos compuestos como el benzo[a]pireno tienen una región de su molécula con capacidad de captar electrones, que les permite interactuar con moléculas complejas como el ADN. Por otra parte, la mayoría de los HAP no tienen esta propiedad de forma natural, sino que quienes la tienen son sus derivados, producidos durante el metabolismo. Como se observó en la **figura 4**, en el proceso de eliminación de los HAP se

forman compuestos intermedios llamados epóxidos con la capacidad de adherirse al ADN formando lo que se conoce como aductos (Agudo 2010).

El ADN es fundamental para la vida, ya que es la molécula que forma los genes y contiene la información sobre las funciones de cada célula del organismo. Cuando la célula se divide, cada parte contiene una copia del ADN original. En este proceso de réplica, la presencia de sustancias extrañas adheridas (como los aductos de HAP) al ADN pueden producir un cambio en la nueva molécula de ADN; dicho cambio se conoce con el nombre de mutación. Muchas mutaciones no tienen consecuencias para la célula y por tanto para el organismo. Sin embargo, si la mutación se produce en algunos genes clave, que controlan el crecimiento celular, la célula puede entrar en un estado de crecimiento incontrolado, que puede producir cáncer. Es importante también recordar que además de genotóxicos, algunos HAP o mezclas de HAP tienen la capacidad de hacer progresar con mayor rapidez mutaciones que han sido producidos por otras sustancias. En este caso se dice que los HAP son promotores de tumores, o co-cancerígenos (Armstrong *et. al* 2004).

Algunos efectos que se han observado después de la exposición a HAP, es el aumento en el daño oxidativo y la secreción de citocinas en células epiteliales bronquiales humanas. Las células con las características de la enfermedad pulmonar obstructiva crónica tienen menor capacidad para metabolizar los productos químicos orgánicos derivados de la contaminación atmosférica, como el benzo[a]pireno (BaP), mostrando mayor sensibilidad a la formación de aductos de ADN OH-BaP. Estudios *in vivo* han demostrado que la exposición a ciertos niveles de algunos HAP induce cáncer de pulmón por inhalación, cáncer de estómago por ingesta de HAP en alimentos y cáncer de piel por contacto de HAP con la piel (Abbas *et al.* 2018).

Estudios con animales han demostrado que algunos HAP también pueden afectar los sistemas hematopoyético e inmunitario que producen efectos adversos reproductivos, neurológicos y de desarrollo. Pueden formar aductos, dando como resultado un espectro de mutaciones celulares que pueden ser teratogénicas. Presentan problemas en el nacimiento (bajo peso al nacer, parto prematuro y retraso en el desarrollo infantil) y disminuyen el coeficiente intelectual (Abbas *et al.* 2018).

2.8 Muestreo del aerosol atmosférico

2.8.1 Métodos de medición de la calidad del aire

La medición de contaminantes atmosféricos se puede lograr a través de diversos métodos que se agrupan de acuerdo con sus principios de medición (SINAICA 2009), en:

- Muestreo activo; por ejemplo: Altos, medios y bajos volúmenes.
- Muestreo pasivo; por ejemplo: Absorbentes, bioindicadores, etc.

2.8.2 Muestreo activo

Este método requiere energía eléctrica para que una bomba succione el aire y lo filtre a través de un sustrato físico (filtros o absorbentes) o disolución que promueva una reacción química. Los muestreadores activos pueden coleccionar la fase gaseosa y la particulada del aerosol atmosférico. Entre los muestreadores para partículas se encuentran los de alto, medio y bajo volumen para coleccionar partículas suspendidas totales (PST), partículas $\leq 10 \mu\text{m}$ (PM_{10}) y $\leq 2.5 \mu\text{m}$ ($\text{PM}_{2.5}$) (EPA 1996). Ventajas: Fácil de operar, muy confiables y mediciones cuantitativas. Desventajas: Requieren análisis de laboratorio posterior a la toma de muestra. Son más caros que los muestreadores pasivos.

2.8.2.1 Método automático

Actualmente el Sistema de Monitoreo Atmosférico (SIMAT) de la Secretaría del Medio Ambiente del Gobierno de la Ciudad de México está integrado por 48 estaciones ubicadas en el Área Metropolitana del Valle de México (AMVM).

Cada una cuenta con métodos automáticos para medir contaminantes criterio (PM_{10} , $\text{PM}_{2.5}$, CO, SO_2 , NO_2 , O_3) con alta resolución que permite llevar a cabo mediciones de forma continua. La RAMA cuenta con analizadores automáticos que determinan la concentración de gases contaminantes en el aire, en función de sus propiedades físicas y/o químicas. Los colectores de partículas se basan en la atenuación de la radiación de una fuente de energía (EPA 1996). Ventajas: Valores en tiempo real, alta resolución temporal; observación de concentraciones máximas y mínimas; permite alertar a la población de exposiciones agudas y situaciones de contingencia. Desventajas: Costo elevado de adquisición y operación; requieren personal capacitado para su manejo; requieren mantenimiento y calibración constantes.

2.8.2.2 Método manual

La Red Manual de Monitoreo Atmosférico (REDMA) es el subsistema del SIMAT que realiza mediciones cada seis días y su principal objetivo es obtener muestras de partículas suspendidas totales (PST), partículas menores a 10 micrómetros (PM_{10}) y partículas menores a 2.5 micrómetros ($PM_{2.5}$). Las muestras se analizan para evaluar su concentración en el aire ambiente y para determinar el contenido de algunas sustancias peligrosas, como el plomo (SMA 2009).

Actualmente la REDMA cuenta con 12 estaciones ubicadas estratégicamente en diversos puntos de la Ciudad de México, 7 se localizan en la CDMX y 5 en el Estado de México.

El estudio de los contaminantes de la REDMA, permite evaluar indirectamente el desempeño ambiental de las acciones de prevención y control de la contaminación en la Ciudad de México (SMA 2009).

2.8.3 Muestreo pasivo

Estos muestreadores no utilizan energía eléctrica para filtrar el aire a través de un sustrato. El aire se difunde por los poros de los sustratos que generalmente son polímeros como espumas de poliuretano o resinas (EPA 1998) y biofiltros. Ventajas: Simplicidad en la operación y bajo costo. Desventajas: Mediciones cualitativas, análisis semicuantitativo.

2.8.3.1 Muestreo con bioindicadores

El uso de bioindicadores se ha convertido en una parte importante de las mediciones de la contaminación del aire. Son un medio ampliamente disponible y efectivo para determinar "los niveles de contaminación atmosférica y su impacto sobre los receptores biológicos" y por lo tanto se consideran métodos complementarios a los métodos tradicionales. Debido a sus peculiares características morfológicas y fisiológicas, los musgos (división Bryophyta) son indicadores útiles de una amplia gama de contaminantes. Las briófitas son especies poiquilohídricas (condición de los organismos que carecen de un mecanismo para regular el contenido hídrico y prevenir la desecación) con diversos medios para captar agua y minerales. Como la mayoría de las briófitas son pequeñas y las hojas constan de una sola capa, la relación entre la superficie y el volumen es alta, favoreciendo el depósito de aerosol atmosférico en su superficie. Además, los musgos son resistentes contra muchas sustancias que son altamente tóxicas para otras plantas y como consecuencia de su ciclo de nutrientes y mecanismos de absorción, tienden a acumular ciertos contaminantes. Las briófitas muestran varias ventajas como bioindicadores de la deposición

atmosférica sobre otras especies vegetales, como la falta de una cutícula protectora y paredes celulares gruesas, numerosos componentes de la pared celular con grupos cargados negativamente, nutrición obtenida principalmente de la sedimentación seca y húmeda, así como la distribución generalizada de varias especies, esto aunado a la simplicidad y bajo costo del método de muestreo (Zarazua-Ortega *et al.* 2013).

Este método implica el uso de especies vivas generalmente organismos vegetales, es un método complementario al instrumental donde su superficie funge como receptora de contaminantes. Sin embargo, a pesar de que se han desarrollado guías sobre estas metodologías, todavía quedan problemas no resueltos en cuanto a la estandarización y armonización de estas técnicas. Se ha mostrado gran interés en el uso de bioindicadores para estimar algunos factores ambientales entre los que se incluye la calidad del aire, particularmente en la investigación de sus efectos. Tal es el caso del uso de la capacidad de la planta para acumular contaminantes o la estimación de los efectos de los contaminantes en el metabolismo de la planta, o en la apariencia de esta, entre otros (EPA 1998). Ventajas: Bajo costo, útiles para identificar la presencia y efectos de algunos contaminantes. Desventajas: Mediciones cualitativas. Algunos requieren análisis de laboratorio.

2.9 Briofitos

El término “briofito” (de origen griego), se refiere a las plantas que tienen la capacidad de revivir después de la hidratación (Shaw y Renzaglia 2004) e incluye a los musgos, en sentido estricto, a las hepáticas y las antocerotas. Si bien se cree que los briofitos son las plantas terrestres menos evolucionadas, presentan gran importancia, por ser un grupo de plantas crucial en la transición a tierra de la vida fotosintética. Están representadas por 13,000 a 20,000 especies distribuidas en más de 1200 géneros, y son el segundo grupo de plantas terrestres más diversas, después de las angiospermas (Estébanez *et al.* 2011).

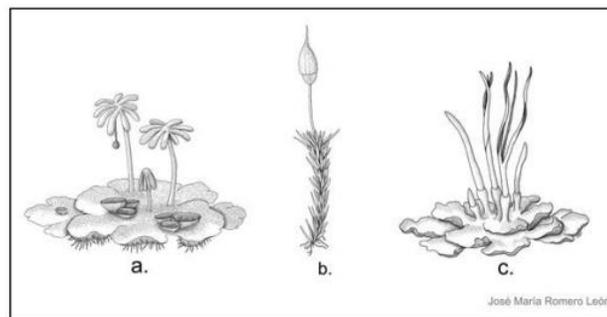


Figura 5. Representación de los tres grupos de biofritos: (a) hepáticas, (b) musgos y (c) antocerotas.

2.9.1 Estructuras morfológicas de los briofitos

En general, el gametofito se origina a partir de una fase juvenil, escasamente diferenciada filamentoso o laminar, llamada protonema. Etimológicamente significa “primer filamento”, puede tener una morfología filamentosa en la mayoría de los musgos y les permite diferentes estrategias de colonización del medio (Nehira 1983, Crum 2001). Sus paredes celulares son de celulosa y carecen de lignina, por lo que presentan en comparación con el resto de las plantas terrestres una talla mucho más pequeña. El anclaje al sustrato se realiza mediante sencillos filamentos llamados rizoides, los cuales son multicelulares con paredes oblicuas o diagonales, normalmente de color marrón y en ocasiones pueden presentar papilas (Oliván *et al.* 2010).

2.9.2 Uso de musgos como bioindicadores de contaminantes atmosféricos

El monitoreo activo de los contaminantes atmosféricos no siempre es posible debido a los costos generados por la adquisición y mantenimiento de los equipos tecnológicos necesarios (Ares *et al.* 2012, Barandovski *et al.* 2015). Para contrarrestar esta situación, una alternativa es el uso de organismos biológicos que además actúan como bioindicadores de los contaminantes (Malizia *et al.* 2012, Salo 2014, Stankovic *et al.* 2014). Los musgos han demostrado ser buenos bioindicadores de la contaminación del aire (Qarri *et al.* 2014, Salo 2014, Zepeda-Gómez *et al.* 2014) y desde hace varios años se han empleado en estudios para evaluar la calidad del aire (De Nicola *et al.* 2013, Salo y Mäkinen *et al.* 2015)

Los musgos han sido ampliamente utilizados en los últimos 30 años para monitorear y mapear la depositación de contaminantes atmosféricos, especialmente trazas de metales, en diferentes partes del mundo, debido a la alta correlación entre las tasas de depósito y los niveles más elevados en los tejidos. Estos organismos se han utilizado para determinar patrones de variación en las regiones, identificar las principales áreas contaminadas y desarrollar la comprensión de la contaminación transfronteriza de largo alcance (Zarazua *et al.* 2013).

Se ha discutido si el musgo también puede ser utilizado para muestrear otros tipos de contaminantes, como contaminantes orgánicos persistentes (COP) y HAP. Previamente se observó que las muestras ambientales pueden servir como muestreadores pasivos de contaminantes orgánicos. A principios de 1980 se descubrió que el musgo y el líquen colectaban con éxito plaguicidas clorados y HAP. Actualmente es un área de oportunidad para diferentes proyectos de investigación (Foan *et al.* 2015).

2.10 Diseño de experimentos 2^3 centrado

El diseño experimental es una técnica estadística que permite identificar y cuantificar las causas de un efecto dentro de un estudio experimental. En un diseño experimental se manipulan deliberadamente una o más variables, vinculadas a las causas, para medir el efecto que tienen en otra variable de interés. El diseño experimental prescribe una serie de pautas relativas como el tipo de variables que se deben manipular, cómo hay que hacerlo, cuántas veces hay que repetir el experimento y en qué orden para establecer un grado de confianza predefiniendo la necesidad de una presunta relación causa-efecto.

La naturaleza de las variables permite suponer que existe dependencia entre ellas, es decir, que los valores de una variable Y (variable dependiente o endógena) dependen o están influidos por los valores de otra variable, X (variable independiente o exógena). En el caso en que pueda suponer una relación lineal de dependencia, ésta podrá sintetizarse mediante un modelo de regresión.

La deseabilidad individual y compuesta evalúa qué tan bien una combinación de variables satisface las metas que se definieron para las respuestas. La deseabilidad individual (d) evalúa la manera en que la configuración optimiza una respuesta individual; la deseabilidad compuesta (D) evalúa la manera en que la configuración optimiza un conjunto de respuestas en general. La deseabilidad tiene un rango de cero a uno. Uno representa la situación ideal; cero indica que una o más respuestas están fuera de los límites aceptables.

El análisis de regresión es un proceso estadístico para estimar las relaciones entre variables. Incluye la relación entre una variable dependiente y una o más variables independientes (o predictoras). El análisis de regresión ayuda a entender cómo cambia el valor de la variable dependiente en función de una de las variables independientes, manteniendo el valor de las otras variables independientes fijas. En el análisis de regresión, también es de interés caracterizar la variación de la variable dependiente en torno a la función de regresión, la cual puede ser descrita por una distribución de probabilidad.

Las gráficas de respuestas en un diseño de experimentos forman contorno para explorar la relación potencial entre tres variables. Las gráficas de contorno muestran la relación tridimensional graficando los factores en X y Y (predictores) y los valores de respuesta, como contornos.

Una gráfica de superficie 3D nos da una vista tridimensional de la superficie. Son útiles para establecer los valores de respuesta y las condiciones de extracción en caso de este estudio.

2.11 Análisis por dilución isotópica

El análisis por dilución isotópica usa patrones internos análogos al analito, pero con la abundancia isotópica alterada, denominadas comúnmente trazadores o “spikes”. La cantidad de analito en una muestra se determina mediante espectrometría de masas, a partir del cambio en las abundancias isotópicas del elemento presente en dicha muestra inducido por la adición del spike (Heumann 1986). El trazador, por tanto, será el propio elemento enriquecido en un isótopo minoritario en el caso del análisis elemental inorgánico, o una molécula análoga al analito, pero marcada isotópicamente en alguno de los átomos que la conforman (D, ^{13}C , ^{15}N , generalmente) en el caso del análisis de compuestos orgánicos (Ussing 1939).

3. OBJETIVOS

3.1 General

Determinar las mejores condiciones de extracción para la determinación de hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAP) en el aerosol atmosférico, ad/absorbidos en musgos utilizados como bioindicadores y la aplicación para determinar los HAP en el Área Metropolitana del Valle de México.

3.2 Particulares

- Determinar las mejores condiciones de extracción de los HAP ad/absorbidos en los musgos, aplicando un diseño de experimentos 2³ centrado.
- Determinar la eficiencia y la reproducibilidad del método analítico para la determinación de los HAP ad/absorbidos en los musgos.
- Determinar la concentración de HAP adsorbidos, absorbidos y totales en los musgos.
- Determinar la distribución espacio-temporal de los HAP en el Área Metropolitana del Valle de México.
- Evaluar posibles fuentes de emisión de los HAP utilizando tasas de diagnóstico de HAP.

4. HIPÓTESIS

Debido a que la absorción es el mecanismo por el que los musgos adquieren sus nutrientes, habrá diferencias en el tipo de HAP ad/absorbidos como función de su presión de vapor y afinidad por el agua. Debido a que la concentración de los contaminantes atmosféricos se incrementa en la época de secas, también se espera encontrar mayor concentración de HAP en secas y menor en lluvias.

5. METODOLOGÍA

5.1 Colecta y preparación del musgo nativo

La colecta del musgo nativo se llevó a cabo en Chignahuapan, ubicado en la Sierra Norte del Estado Puebla. El musgo y el sustrato se cortaron y colocaron en bolsas negras. Su transporte al laboratorio fue a temperatura ambiente. En el laboratorio, los musgos se colocaron en una cámara a 18 °C y humedad relativa a 18%. Se pesaron alrededor de 500 g de musgo con sustrato. Se colocaron en bolsas de tule como se muestran en la **figura 6**.



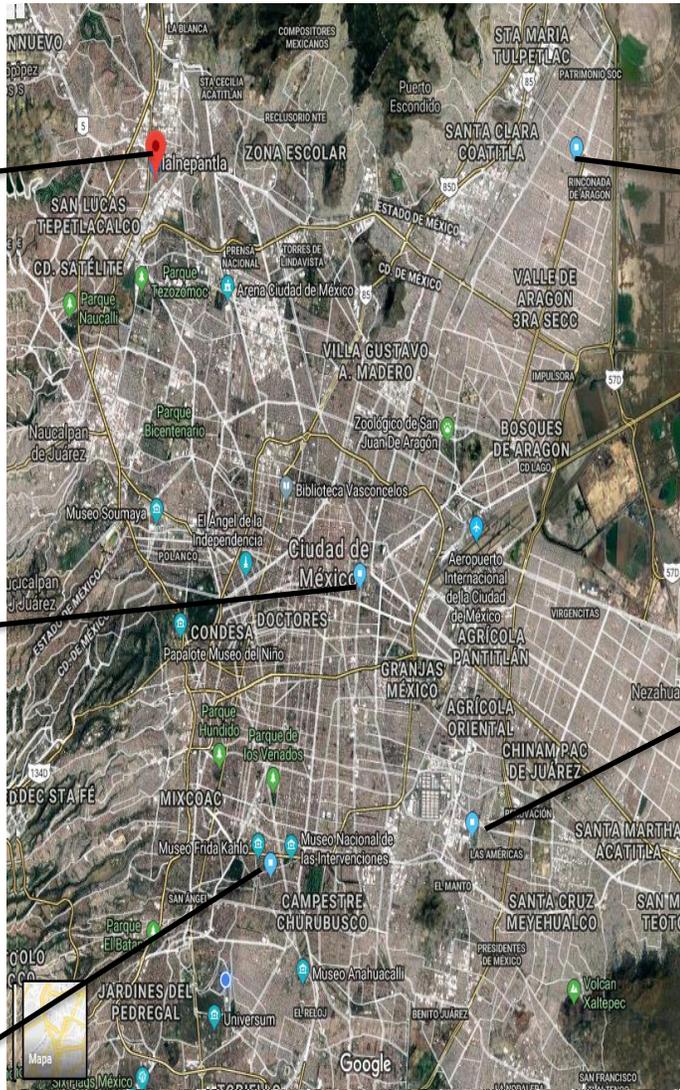
Figura 6. Musgo nativo de Puebla (izquierda) y musgo colocado en bolsas de tule en el sitio de muestreo (derecha).

5.2 Colecta del aerosol atmosférico y muestreo

La colecta del aerosol atmosférico se llevó a cabo en cinco sitios de la Zona Metropolitana del Valle de México (**Figura 7**): Tlalnepantla (noroeste), San Agustín (noreste), Merced (centro), UAM Iztapalapa (sureste) y Coyoacán (suroeste). El periodo de colecta fue noviembre 2016 a diciembre 2017. Se colocó una bolsa con 500 g musgo + sustrato en cada sitio. Las colectas fueron mensuales.



Noroeste: Tlalnepantla



Noreste: San Agustín



Centro: Merced



Sureste: UAM-I



Suroeste: Coyoacán

Figura 7. Ubicación geográfica de los sitios de muestreo en el AMVM.

Al concluir el mes de muestreo, los musgos con el aerosol atmosférico se colocaron en frascos de vidrio de 2 L, herméticamente cerrados (**figura 8**). Se colocaron en hieleras y se transportaron al laboratorio a 4 °C. Se almacenaron entre 5 y 10 °C, hasta su extracción y análisis.



Figura 8. Almacenamiento del musgo con el aerosol colectado.

5.3 Determinación de la masa seca del musgo

Con el objeto de determinar la masa absoluta del musgo, se pesaron 5 g de musgo nativo por triplicado. Se dejaron en vasos de precipitados cubiertos con papel aluminio horadado a temperatura ambiente en una cámara con desecante para evitar su rehidratación. Cada 24 h se pesaron en una balanza analítica. Este procedimiento se llevó a cabo durante ocho días consecutivos. Posteriormente, se determinó el porcentaje de masa seca del musgo, de acuerdo con la ecuación 1.

$$\frac{\text{Masa musgo}}{\text{Masa inicial}} \times 100 = \text{Porcentaje de masa seca de musgo} \quad \text{Ec. 1}$$

5.4 Determinación de las mejores condiciones de extracción de HAP en los musgos

Los métodos analíticos se deben optimizar para determinar de manera eficiente y reproducible los compuestos de interés, minimizando la generación de residuos y los tiempos de extracción, bajo la filosofía de determinar contaminantes sin generar otros.

En este estudio, se determinaron HAP adsorbidos, absorbidos y totales. Para recuperar los HAP adsorbidos al tejido, los musgos se lavaron con agua tridestilada, que posteriormente se extrajo con diclorometano mediante una extracción líquido-líquido.

El musgo remanente se utilizó para recuperar los HAP absorbidos. Se llevó a cabo una extracción líquido-sólido, utilizando una modificación de las celdas de extracción a microescala asistida por ultrasonido con reflujo (CEMAUF) (Patente No. 325624) (Amador-Muñoz *et al.* 2014).

El musgo completo, sin lavar, también se extrajo mediante el procedimiento líquido-sólido para determinar tanto los HAP adsorbidos, como los absorbidos, llamados HAP totales.

Para extraer los HAP absorbidos y totales, la extracción líquido-sólido se optimizó con un diseño de experimentos 2^3 centrado. Mientras que para extraer los HAP adsorbidos, sólo se empleó una metodología utilizada en el laboratorio para determinar plaguicidas organoclorados en agua. En ambos procesos, se evaluó la eficiencia y la reproducibilidad.

El diseño de experimentos 2^3 centrado consistió en nueve tratamientos integrados por tres variables (temperatura, tiempo y potencia de extracción), dos niveles (bajo y alto) y uno centrado (Berinstain-Montiel *et al.* 2016). Cada uno de los nueve tratamientos (**Tabla VI**) se llevó a cabo por triplicado, para un total de veintisiete experimentos, más cuatro blancos.

Tabla VI. Diseño de experimentos 2^3 centrado, para optimizar las condiciones de extracción líquido-sólido de HAP en los musgos.

Tratamiento	Temperatura (°C)	t (min)	Potencia (%), 37 KHz	Fecha de extracción
T1	30	5	40	23/11/2016
T2	60	5	40	28/02/2017
T3	30	15	40	17/11/2016
T4	60	15	40	26/01/2017
T5	30	5	80	11/11/2016
T6	60	5	80	23/02/2017
T7	30	15	80	17/11/2016
T8	60	15	80	26/01/2017
T9 (centrado)	45	10	60	28/02/2017

Las mejores condiciones de extracción se aplicaron para extraer los musgos remanentes y los musgos completos.

Los HAP absorbidos a los musgos se extrajeron utilizando una modificación de la celda de extracción a microescala patentada por Amador-Muñoz *et al.* (2014), en la que se extrajo aproximadamente 10 g de musgo fortificado con 300 ng de una disolución estándar de HAP nativos 24 hr antes de la extracción. Se utilizaron 50

mL de diclorometano como disolvente de extracción y un baño de ultrasonido Elma ultrasonic P 300 H con frecuencia de ultrasonido de 37/80 kHz, potencia nominal 1580 W, con dimensiones internas (568/340/321 mm).

Antes de la extracción, el musgo y los HAP se dejaron en contacto veinticuatro horas. Posteriormente, el musgo se maceró con 5 g de sulfato de sodio anhidro y se extrajo utilizando las diferentes condiciones de extracción indicadas en el diseño de experimentos.

5.5 Determinación de la eficiencia del método analítico para la recuperación de los HAP de los musgos

La eficiencia de las extracciones para recuperar tanto a los HAP absorbidos como a los adsorbidos se calcularon basados en los HAP-d (ecuación 3).

$$\% Rec_{HAP-d} = \frac{A_{r\ fort} - A_{r\ no\ fort}}{A_{r\ referencia\ HAP-d}} * 100 \quad Ec. 3$$

$\%Rec_{HAP-d}$ = Recuperación de HAP-d extraídos, %

$A_{r\ fort}$ = Área relativa del HAP-d con respecto al HAP fluorado inmediato anterior indicado en la **tabla VII**, fortificado y extraído del musgo. Adimensional.

$A_{r\ no\ fort}$ = Área relativa del HAP-d con respecto al HAP fluorado inmediato anterior indicado en la **tabla VII**, no fortificado y extraído del musgo (Blanco). Adimensional.

$A_{r\ referencia\ HAP-d}$ = Área relativa del HAP-d con respecto al HAP fluorado inmediato anterior indicado en la **tabla VII** del estándar de referencia. Adimensional.

5.6 Extracción de HAP del aerosol atmosférico colectado

5.6.1 Fortificación de los musgos con HAP deuterados (HAP-d)

Se utilizó el método de dilución isotópica para el análisis cuantitativo de los HAP en musgos. Para ello, cada musgo expuesto al aerosol atmosférico se fortificó con una disolución de 16 HAP-d a 250 ng (**Tabla VII**). Esta disolución se utilizó para llevar a cabo la cuantificación de 16 HAP y la estimación de otros 12 HAP (**Tabla VIII**). La fortificación se realizó 24 h previas a la extracción, almacenando los musgos enriquecidos a -20 ° C.

Tabla VII. HAP, HAP-deuterados (HAP-d) (subrogados) y HAP fluorados (estándares internos, EI). Tiempos de retención (min), masa molecular (g mol^{-1}), ión principal (subrayado) y secundarios (m/z).

No.	Marcado	Compuesto	tr (min)	Target, Q1, Q2, Q3
1	EI	1-Fluoronaftaleno	12.44	<u>146</u> , 120, 75
2	HAP-d	Naftaleno-d8	12.6	136, 137, 68
3	HAP	Naftaleno	12.71	128, 129, 102, 64
4	EI	4-Fluorobifenilo	17.19	<u>172</u> , 171, 152, 85
5	HAP-d	Acenaftileno-d8	19.88	160, 80, 161
6	HAP	Acenaftileno	20	152, 153, 126, 76
7	HAP-d	Acenafteno-d10	20.45	164, 165, 88
8	HAP	Acenafteno	20.6	154, 155, 77
9	HAP-d	Fluoreno-d10	22.95	176, 177, 88
10	HAP	Fluoreno	23.1	166, 165, 83
11	EI	3-Fluorofenantreno	27.64	<u>196</u> , 98, 170
12	HAP-d	Fenantreno-d10	28.25	188, 189, 94
13	HAP	Fenantreno	28.39	178, 179, 89
14	HAP-d	Antraceno-d10	28.5	188, 189, 94
15	HAP	Antraceno	28.6	178, 179, 89
16	HAP	2-Metilantraceno	30.51	192, 193, 165
17	HAP	1-Metilantraceno	30.68	192, 193, 165
18	HAP	4,5-Metilenfenantreno	31.06	190, 189, 191
19	HAP	9-Metilantraceno	31.93	192, 193, 165
20	HAP	3,6-Dimetilfenantreno	32.07	206, 207, 189
21	HAP-d	Fluoranteno-d10	34.49	212, 213, 106
22	HAP	Fluoranteno	34.6	202, 203, 101
23	HAP	9,10-Dimetilantraceno	34.49	206, 207, 189
24	EI	1-Fluoropireno	35.22	<u>220</u> , 110, 91
25	HAP-d	Pireno-d10	35.92	212, 213, 106
26	HAP	Pireno	36.02	202, 203, 101
27	HAP	Reteno	36.2	219, 234, 235
28	HAP	Tripticeno	36.26	254, 253, 255
29	EI	3-Fluorocriseno	41.54	<u>246</u> , 123, 91
30	HAP-d	Benzo[a]antraceno-d12	41.86	240, 120, 241
31	HAP	Benzo[a]antraceno	41.98	228, 229, 114
32	HAP-d	Criseno-d12	42.14	240, 120, 241

33	HAP	Trifenileno	42.2	228, 229, 114
34	HAP	Criseno	42.25	228, 229, 114
35	EI	9-Fluorobenzo[<i>k</i>]fluoranteno	45.76	<u>270</u>, 135
36	HAP-d	Benzo[<i>b</i>]fluoranteno-d12	46.2	264, 132, 265
37	HAP	Benzo[<i>b</i>]fluoranteno	46.3	252, 253, 126
38	HAP-d	Benzo[<i>k</i>]fluoranteno-d12	46.3	264, 132, 265
39	HAP	Benzo[<i>k</i>]fluoranteno	46.47	252, 253, 126
40	HAP	Benzo[<i>j</i>]fluoranteno	46.47	252, 253, 126
41	HAP	Benzo[<i>e</i>]pireno	47.52	252, 253, 126
42	HAP-d	Benzo[<i>a</i>]pireno-d12	48	264, 132, 265
43	HAP	Benzo[<i>a</i>]pireno	48.13	252, 253, 126
44	HAP-d	Dibenzo[<i>a,h</i>]antraceno-d14	53.87	292, 293, 146
45	HAP	Dibenzo[<i>a,h</i>]antraceno	53.89	278, 279, 139
46	HAP-d	Indeno[<i>1,2,3-cd</i>]pireno-d12	54.11	288, 289, 144
47	HAP	Dibenzo[<i>a,c</i>]antraceno	54.16	278, 279, 139
48	HAP	Indeno[<i>1,2,3-cd</i>]pireno	54.28	276, 277, 138
49	HAP-d	Benzo[<i>ghi</i>]perileno-d12	56.35	288, 289, 144
50	HAP	Benzo[<i>ghi</i>]perileno	56.62	276, 277, 138

Tabla VIII. HAP cuantificados y estimados con los HAP-d

N°	HAP-d	HAP cuantificados	HAP estimados
d-1	Naftaleno-d8	Naftaleno	
d-2	Acenaftileno-d8	Acenaftileno	
d-3	Acenafteno-d10	Acenafteno	
d-4	Fluoreno-d10	Fluoreno	
d-5	Fenantreno-d10	Fenantreno	
d-6	Antraceno-d10	Antraceno	2-Metilantraceno 1-Metilantraceno 4,5-Metilenfenantreno 9-Metilantraceno 3,6-Dimetilfenantreno
d-7	Fluoranteno-d10	Fluoranteno	9,10-dimetilantraceno
d-8	Pireno-d10	Pireno	Reteno Tripticeno
d-9	Benzo[a]antraceno-d12	Benzo[a]antraceno	
d-10	Criseno-d12	Criseno	Trifenileno
d-11	Benzo[b]fluoranteno-d12	Benzo[b]fluoranteno	
d-12	Benzo[k]fluoranteno-d12	Benzo[k]fluoranteno	Benzo[j]fluoranteno Benzo[e]pireno
d-13	Benzo[a]pireno-d12	Benzo[a]pireno	
d-14	Dibenzo[a,h]antraceno-d14	Dibenzo[a,h]antraceno	Dibenzo[a,c]antraceno
d-15	Indeno[1,2,3-cd]pireno-d12	Indeno[1,2,3-cd]pireno	
d-16	Benzo[ghi]perileno-d12	Benzo[ghi]perileno	

5.6.2 HAP adsorbidos al musgo

La extracción líquido-líquido, también conocida como extracción con disolventes es un proceso empleado para separar una mezcla de líquidos aprovechando la diferencia de su solubilidad entre dos líquidos inmiscibles o parcialmente miscibles.

El procedimiento se realizó pesando tres cantidades de musgo de 20 g cada una. Se lavaron por duplicado con 500 mL de agua desionizada. Los enjuagues se colocaron en matraces de separación donde se les adicionó una disolución con 250 ng de 16 HAP-d

Se adicionaron 30 mL de diclorometano (DCM). La extracción líquido-líquido se llevó a cabo durante tres minutos por lapsos de un minuto para desfogar la presión acumulada. Esto se llevó a cabo por duplicado. Las fases orgánicas se acumularon en un matraz donde el exceso de disolvente se eliminó mediante un rotaevaporador a 90 RPM, 30° C y 15 mm Hg de vacío, hasta un volumen aproximado de 1 mL (**Figura 9**). El extracto orgánico se filtró (PTFE, 0.2 µm, diámetro de 13 mm), se pasó por sulfato de sodio anhidro y se llevó a un volumen final de 1.0 mL. Se tomó una alícuota de 80 µL y se adicionó otra de 20 µL con 6 HAP fluorados utilizados como estándares internos a 2000 ng/mL. Los viales se etiquetaron y almacenaron hasta su análisis por cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (CG-EM). Cada extracto se analizó por duplicado. Para determinar los HAP adsorbidos a los musgos en agua, se utilizó la ecuación 2.

$$C_{HAP} = \frac{A_{HAP}}{A_{HAP-d}} \times M_{HAP-d} - Blanco \times \frac{1}{M_{musgo}}$$

Ec. 2

Donde:

C_{HAP} = Concentración del HAP en el musgo, ng g⁻¹

A_{HAP} = Área del HAP, cuentas

A_{HAP-d} = Área del HAP deuterado, cuentas

M_{HAP-d} = Masa del HAP deuterado, ng

Blanco = Concentración de HAP en musgo nativo, ng g⁻¹

M_{musgo} = Masa del musgo seco, g



Figura 9. Extracción líquido-líquido en embudos de separación (izquierda) y extractos de los HAP en diclorometano (derecha).

5.6.3 HAP absorbidos y totales en el musgo

Para extraer los HAP absorbidos, se utilizaron los musgos que ya habían sido lavados previamente (musgos remanentes). Su extracción, se llevó a cabo con los 20 g de musgo húmedo. Se maceraron con sulfato de sodio anhidro para eliminar el agua y se colocaron en celdas de extracción modificadas de alto volumen (**Figura 10**). Se fortificaron 24 horas antes de su extracción con 250 ng de 16 HAP-d (**Tabla VII**).

Para extraer los HAP totales de los musgos, se pesaron tres cantidades de musgo de 20 g cada una y se adicionó una disolución con 250 ng de 16 HAP-d (**Tabla VII**).

La extracción de los analitos se llevó a cabo en celdas de extracción a microescala asistida por ultrasonido con reflujo (CEMAUF) modificadas al volumen del musgo (**Figura 10**) (Amador-Muñoz *et al.* 2014, Patente No. 325624). Se añadieron 50 mL de diclorometano (grado HPLC, cromatográfico) a las condiciones óptimas sugeridas por el diseño de experimentos. Las extracciones se llevaron a cabo por duplicado. Los dos fracciones se reunieron en un matraz bola de 125 mL y se redujo en rotavapor (Büchi B-480) a 90 RPM, 30° C y 15 mm Hg de vacío hasta un volumen aproximado de 1.0 mL. Los extractos orgánicos se filtraron a través de un acrodisco (PTFE 0.2 µm, 13 mm de diámetro). Se llevaron al aforo de 1 mL. El análisis instrumental se llevó a cabo tomando previamente una alícuota de 80 µL, más 20 µL de una disolución con 6 HAP fluorados como estándares internos (**Tabla VIII**) a 2000 ng/mL. Los blancos (musgos vírgenes no muestreados) se trataron de la misma manera que los musgos muestreados. Los viales se etiquetaron y almacenaron hasta su análisis por CG-EM. Cada extracto se analizó por duplicado. Para obtener la concentración de los HAP absorbidos y totales en el musgo seco, se utilizó la ecuación 2, descrita anteriormente.



Figura 10. Extracción de los HAP en musgo aplicando la CEMAUF modificada.

5.7 Análisis instrumental

El análisis instrumental se llevó a cabo por cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas con filtro cuadrupolar (Agilent Technologies, 6890/5973N). Se inyectaron 1 μL de los extractos orgánicos en modo “splitless” (sin división) a 300 °C. La separación cromatográfica se llevó a cabo en una columna J&W 35 ms (60 m, 0.25 mm, 0.25 μm). Las temperaturas de la línea de transferencia, de la fuente de iones y del cuadrupolo fueron 300 °C, 230 °C y 150 °C, respectivamente. La ionización fue electrónica a 70 eV.

Tabla IX. Condiciones de operación en el CG-EM para el análisis de HAP, HAP-d y HAP-f.

Marca y modelo del CG-EM	Agilent Technologies. Cromatógrafo de Gases plus (6890) acoplado a un espectrómetro de masas (5973N) con inyector automático (7863).
Columna capilar	J & W Scientific, DB-35MS, fase estacionaria de 35 % fenil polidimetil-siloxano, longitud de 60 m, diámetro interno de 0.250 mm y espesor de fase estacionaria de 0.25 μm
Modo de inyección	Sin división
Temperatura del inyector	300 °C
Volumen de inyección	1 μL
Gas acarreador	Helio, 99.98 % pureza
Flujo	1.2 mL min ⁻¹
Programa de temperatura del horno	Temperatura inicial a 40 °C durante un minuto, primer incremento a 110 °C (0 min) con tasa de 50 °C min ⁻¹ , segundo incremento a 303 °C (0 min) con tasa de 5 °C min ⁻¹ y tercer incremento a 335 °C (14.5 min) con tasa de 20 °C min ⁻¹ .
Temperatura de la fuente de iones	230 °C
Temperatura del cuadrupolo	150 °C
Modo de Adquisición	Monitoreo de iones seleccionados “SIM” 7 grupos, 157 iones

5.8 Parámetros meteorológicos

Los datos meteorológicos utilizados para la descripción de las temporadas mediante el análisis de temperatura y humedad relativa; se obtuvieron de la Red Meteorológica y Radiación Solar (REDMET). (<http://www.aire.cdmx.gob.mx/default.php?opc=%27aKBi%27>).

5.9 Análisis estadístico

Se realizó el análisis estadístico con el software Statistica 10 (Dell, OK, EUA). Se utilizó estadística no paramétrica, que es libre de distribución. Se empleó U de Mann-Whitney (U M-W) que compara dos medianas y Kruskal-Wallis (K-W) que compara dos o más medianas. Se empleó la prueba de rangos ordenados de Spearman para obtener las correlaciones entre las variables.

6. RESULTADOS

6.1 Pérdida de masa por deshidratación

Se evaluó la pérdida de agua de los musgos debido a su almacenamiento a temperatura ambiente. Se hicieron tres experimentos, pesando alrededor de 5 g. La **figura 11** muestra pérdidas (aproximadas) del 60 % de humedad en un día de almacenamiento, del 80 % en dos días y del 88 % en más de tres días de almacenamiento. Los resultados sugirieron que los musgos deberían ser hidratados cada tres días.

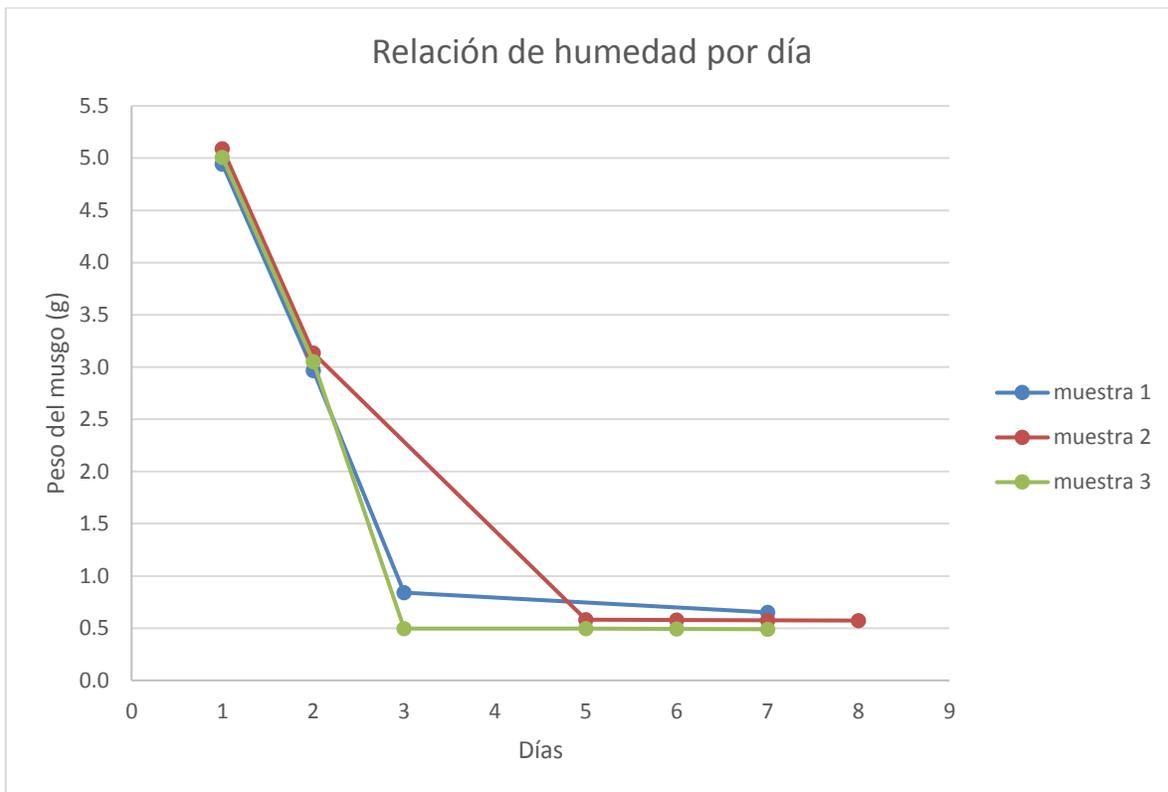


Figura 11. Pérdida de la masa del musgo colectado en desecador a temperatura ambiente.

6.2 Optimización del método de extracción para la recuperación de los HAP

El diseño de experimentos 2^3 centrado llevado a cabo con 27 experimentos, ofreció los diagramas de superficie ilustrados en la **figura 12**. Las zonas rojas indican los valores máximos de deseabilidad, relacionados con las mayores recuperaciones de los HAP en musgo completo. Las mejores condiciones de extracción fueron 80 % (37 Hz), 65 °C y 5 min, sin embargo, a 65 °C fue difícil controlar la evaporación del disolvente, por lo que se seleccionó la segunda mejor condición con menor temperatura donde no se observó evaporación del disolvente, siendo 80 % (37 Hz), 45 °C y 5 min.

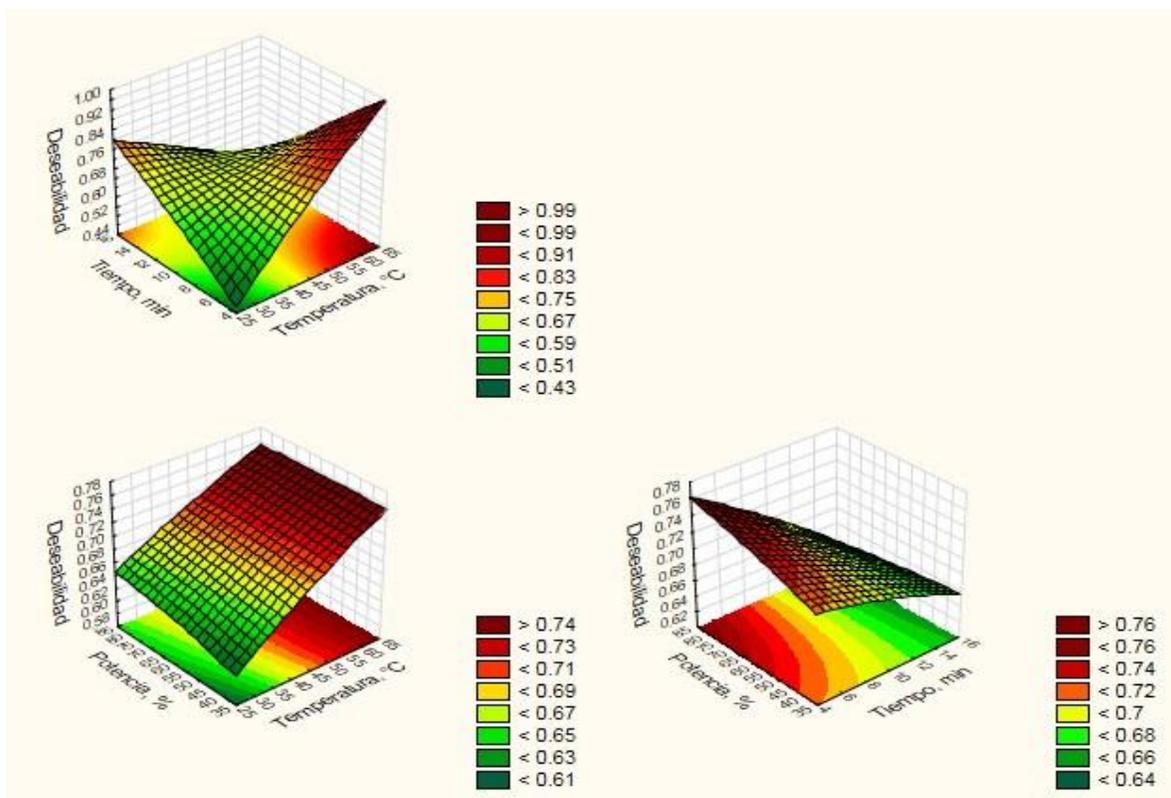


Figura 12. Gráficas de superficie de respuesta global (GSRG) obtenidas del diseño de experimentos 2^3 centrado para recuperar HAP en musgos.

Las GSRG muestran la relación de las variables con los porcentajes de recuperación. Se observa que la relación de la temperatura fue directamente proporcional con la eficiencia en la extracción. Por el contrario, el tiempo fue inversamente proporcional, mientras que la potencia mostró poco efecto sobre los recobros.

Tabla X. Porcentajes de recuperación promedio (%P), desviación estándar (%DE) y coeficientes de variación (%CV) de los 9 tratamientos (T), N=3 en cada uno de los nueve tratamientos (T) de acuerdo con la **Tabla VI** del diseño de experimentos 2³ centrado.

HAP	T1			T2			T3			T4			T5			T6			T7			T8			T9		
	P	DE	CV	P	DE	CV	P	DE	CV	P	DE	CV	P	DE	CV	P	DE	CV	P	DE	CV	P	DE	CV	P	DE	CV
Naftaleno	66	1	2	20	1	6	102	9	9	106	2	2	81	5	6	70	7	10	103	5	4	112	3	3	95	4	4
Acenaftileno	57	1	2	57	6	10	83	6	7	68	1	2	52	2	4	56	4	8	86	11	13	96	6	6	86	10	12
Acenafteno	47	2	4	27	0	1	79	6	7	63	4	7	70	3	4	68	2	4	75	3	4	84	5	6	94	8	8
Fluoreno	56	5	9	61	0	1	93	10	11	69	10	15	58	7	12	74	1	1	84	5	6	95	3	3	85	11	13
Fenantreno	17	0	2	22	0	2	64	6	10	67	9	13	49	5	10	57	7	12	86	6	7	96	9	9	79	3	4
Antraceno	71	3	5	9	0	5	52	5	10	59	7	13	47	3	6	48	4	8	77	7	10	90	6	6	72	9	12
Fluoranteno	30	1	4	28	1	2	77	8	11	69	10	15	51	6	12	44	6	13	81	5	7	81	4	5	65	5	8
Pireno	53	6	11	57	0	1	89	7	8	70	6	9	50	6	12	52	8	14	81	6	8	95	11	11	66	1	2
Benzo[<i>a</i>]antraceno	69	2	3	57	0	0	88	4	4	75	3	4	46	6	12	64	2	4	99	1	1	84	9	10	78	8	10
Trifenileno	85	4	5	87	5	6	72	3	5	69	5	7	48	5	11	74	5	7	93	8	8	89	8	10	94	4	4
Criseno	88	1	1	84	4	4	70	3	5	72	9	12	47	3	7	73	6	8	92	6	6	90	10	11	96	3	3
Benzo[<i>b</i>]fluoranteno	95	1	1	66	2	4	84	5	6	61	9	14	46	7	16	52	2	3	92	5	5	115	4	3	61	4	6
Benzo[<i>k</i>]fluoranteno	77	1	1	58	1	1	73	3	4	52	6	11	41	5	12	48	4	8	88	7	8	95	2	2	58	4	8

En términos generales, las variaciones de los porcentajes de recobro de los 9 tratamientos fueron menores al 15 %, lo que muestra la reproducibilidad de la celda para la extracción de los HAP presentes en los musgos. El **Anexo I** muestra la eficiencia de cada uno de los 27 tratamientos.

La figura 13 muestra tres ejemplos de gráficas de Pareto: fenantreno, pireno y fluoreno. En los tres casos, la interacción temperatura y tiempo presentó el mayor efecto positivo sobre sus porcentajes de recuperación. La temperatura tuvo fuerte efecto sobre el recobro del fenantreno, la potencia sobre el del pireno, pero para el fluoreno sólo las interacciones tuvieron efecto.

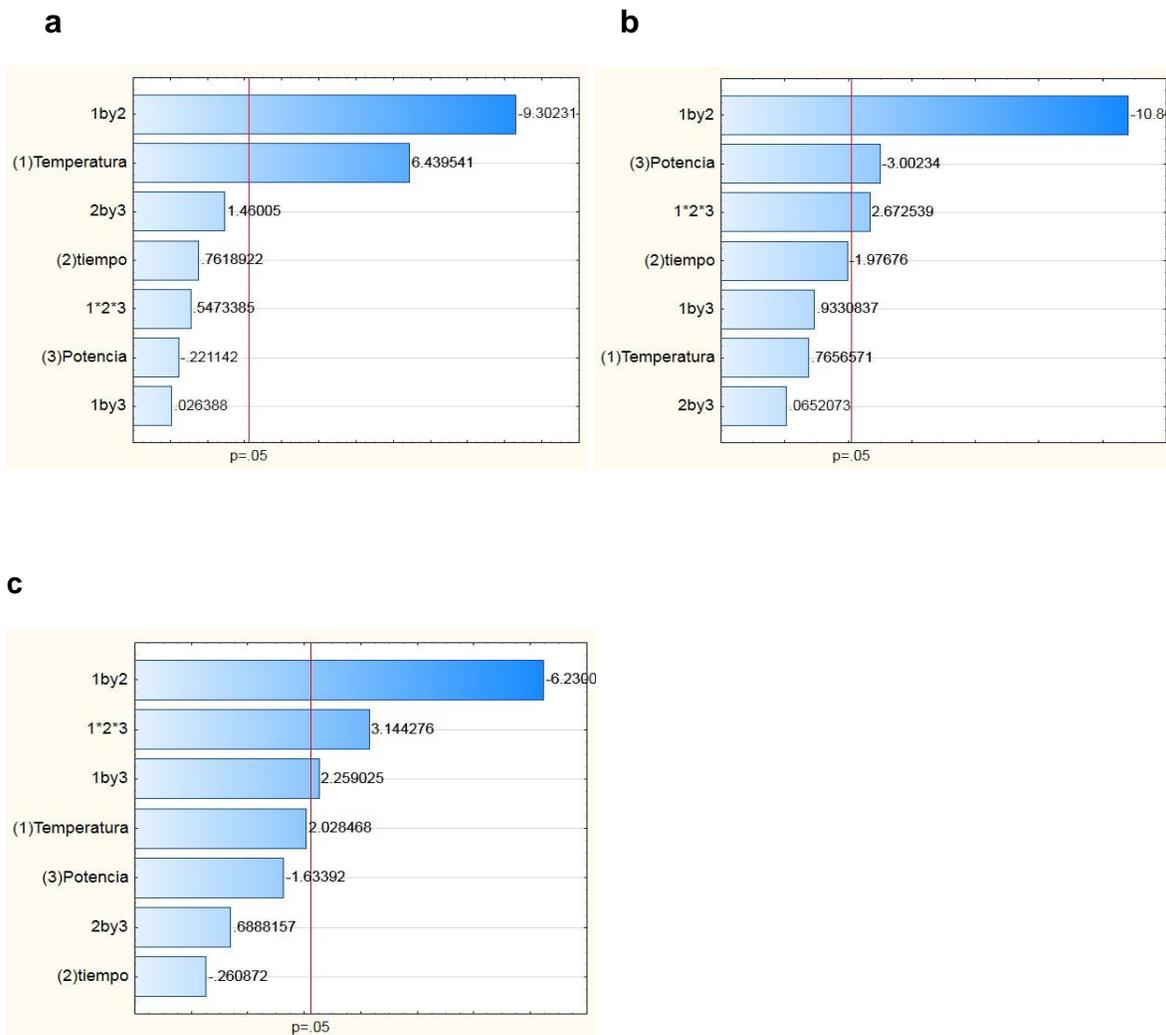


Figura 13. Gráficas de Pareto de a. Fenantreno, b. Pireno y c. Fluoreno

6.3 Eficiencia del método analítico para la recuperación de los HAP de los musgos

La **figura 14** muestra un cromatograma del estándar de referencia de los HAP-d. Se observan los iones de los HAP-d frecuentemente encontrados en las muestras analizadas.

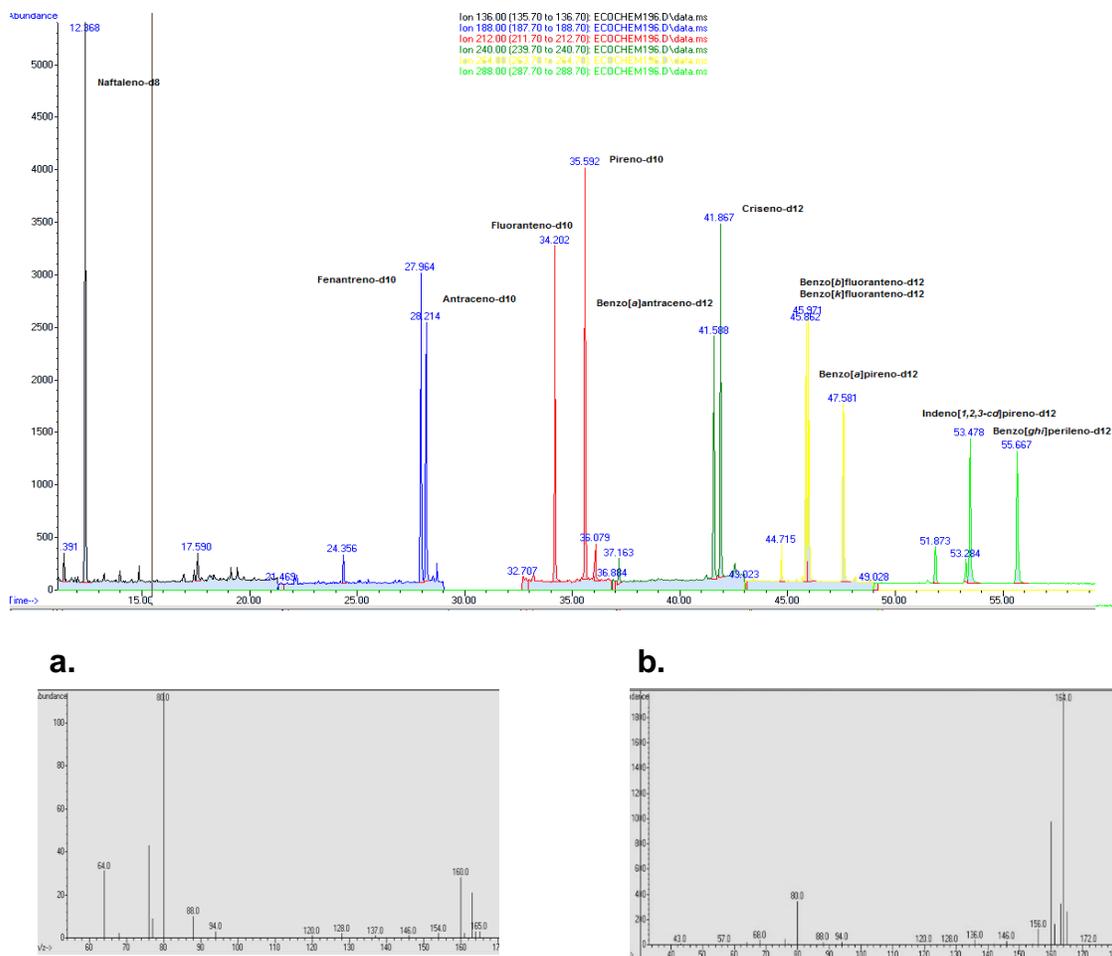


Figura 14. Cromatograma de iones seleccionados del estándar de referencia. Naftaleno-d8 (136 m/z), fluoreno-d10 (176 m/z), fenantreno-d10 y antraceno-d10 (188 m/z), fluoranteno-d10 y pireno-d10 (212 m/z), benzo[a]antraceno-d12 y criseno-d12 (240 m/z), benzo[b]fluoranteno-d12, benzo[k]fluoranteno-d12 y benzo[a]pireno-d12 (264 m/z) e indeno[1,2,3-cd]pireno-d12 y benzo[ghi]perileno-d12 (288 m/z). **a.** Espectro de masas del acenafileno-d8 y **b.** del acenafteno-d10 (tomados como ejemplo).

La **figura 15** muestra los porcentajes de recuperación de los 16 HAP-d extraídos por líquido-líquido para evaluar el procedimiento de adsorción.

Se ilustran los recobros con intervalos entre $80\pm 4\%$ (Acenaftileno) y $93\pm 6\%$ (Criseno) (N=40). La variación expresada como los coeficientes de variación oscilaron entre 3% y 10%.

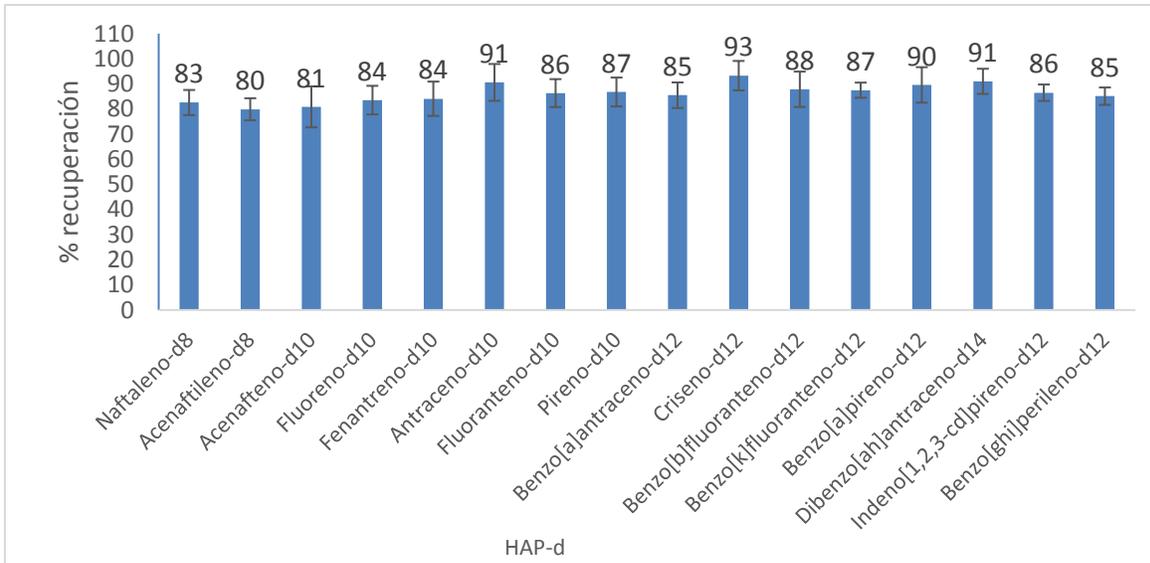


Figura 15. Porcentajes de recuperación de HAP-d adsorbidos (extracción líquido-líquido) en musgo colectado durante noviembre 2016 a junio 2017, N=40.

La **figura 16** muestra los porcentajes de recuperación de los 16 HAP-d en los musgos remanentes y extraídos por CEMAUF, para evaluar el proceso de absorción. Las recuperaciones se encontraron entre $81\pm 9\%$ (Acenafteno) y $95\pm 5\%$ (Criseno), N=40, con variaciones entre 5% y 12%.

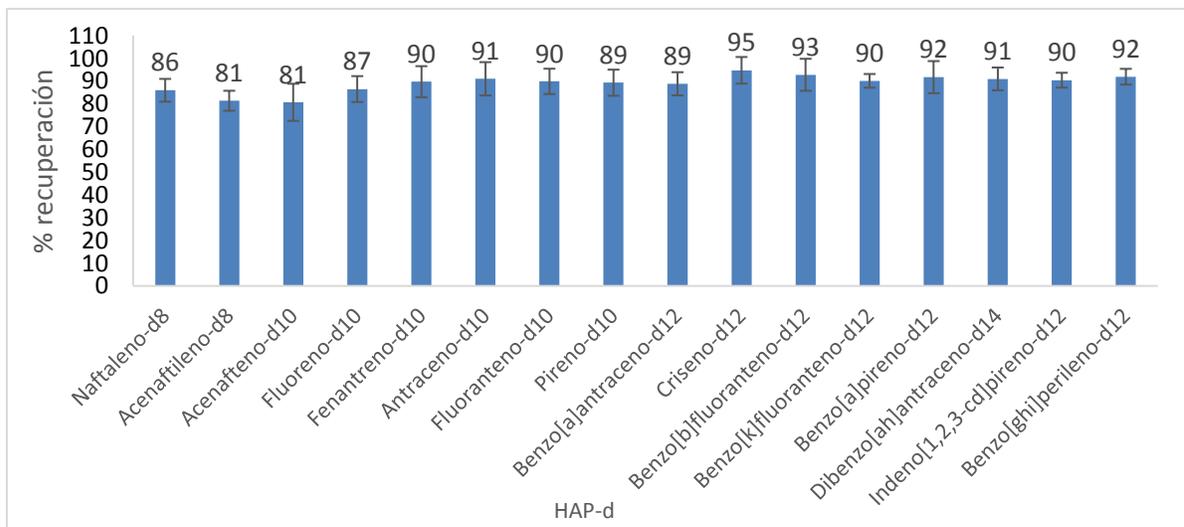


Figura 16. Porcentajes de recuperación de HAP-d (250 ng) absorbidos (extracción con CEMAUF) en musgo remanente colectado durante noviembre 2016 a junio 2017, N=40.

La **figura 17** ilustra los porcentajes de recuperación de los 16 HAP-d extraídos del musgo completo, usando la CEMAUF, para evaluar los HAP totales en los musgos. Se muestran porcentajes de recobro entre $86\pm 5\%$ (Acenaftileno) y $94\pm 4\%$ (Criseno), $N=40$, con variaciones entre 3 y 9%.

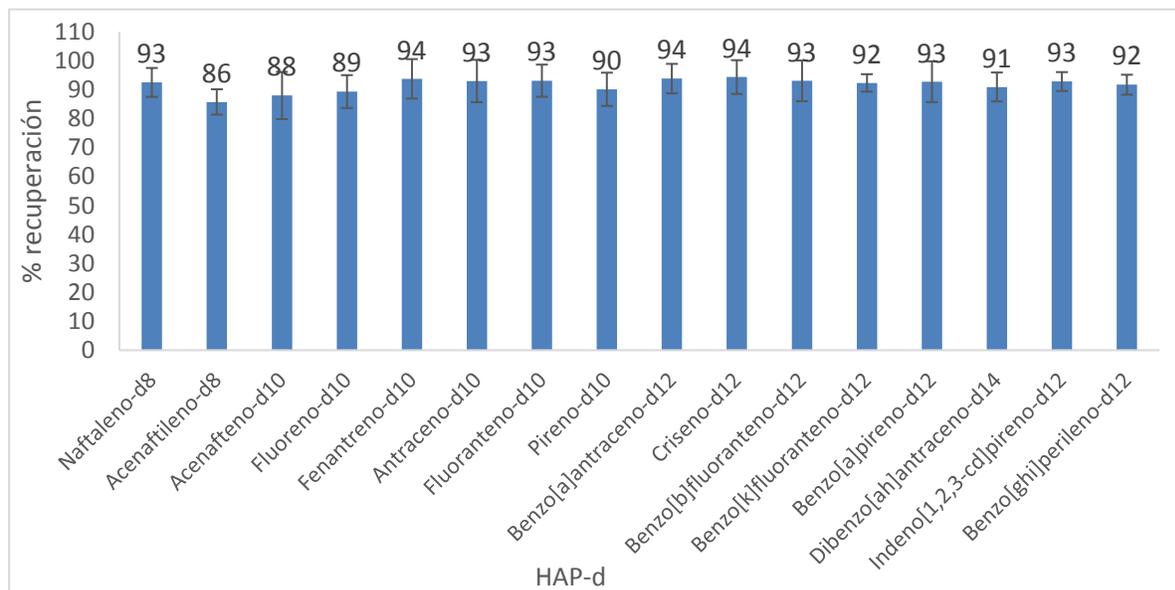


Figura 17. Porcentajes de recuperación de HAP-d en musgo completo colectado durante noviembre 2016 a junio 2017, $N=40$.

Los resultados sugieren que los procedimientos de extracción líquido-líquido para HAP adsorbidos y líquido-sólido para HAP absorbidos y completos usando la CEMAUF, fueron eficientes y reproducibles. Los porcentajes de recuperación fueron superiores a los determinados por Ötvös *et al.* (2004) y Gerdol *et al.* (2002), que también emplearon ultrasonido como fuente de extracción, similares a las recuperaciones obtenidas por Skert *et al.* (2010) y Doigwoska y Migaszewski (2011), empleando Soxhlet, pero inferiores a los recobros reportados por Houlonbek *et al.* (2000) quienes usaron Soxhlet como técnica de extracción. La ventaja de la CEMAUF sobre las otras técnicas de extracción empleadas por otros autores (Houlonbek *et al.* 2000, Kozák *et al.* 2003, Zechmeister *et al.* 2006, Roy *et al.* 1996, Skert *et al.* 2010, Augusto *et al.* 2010, Doigwoska y Migaszewski (2011) fue la disminución de aproximadamente el 50 % del volumen de disolvente y la reducción en el tiempo de extracción (30 min hasta 16 horas) a 10 min.

Los resultados muestran la CEMAUF es un método eficiente, reproducible, rápido, menos contaminante y más económico para determinar HAP en el aerosol atmosférico colectado en musgos, comparado con las técnicas empleadas en otros estudios.

6.4 Comportamiento temporal de temperatura y humedad relativa

La **figura 18** ilustra el comportamiento temporal de la humedad relativa (HR). La tendencia positiva indica la presencia de lluvia, mientras que la negativa, indica su ausencia. De esta forma la disminución de la HR a partir de diciembre sugiere que la época de secas comenzó en noviembre, mientras que el incremento de la HR a partir de mayo, indica que la época de lluvias comenzó en abril.

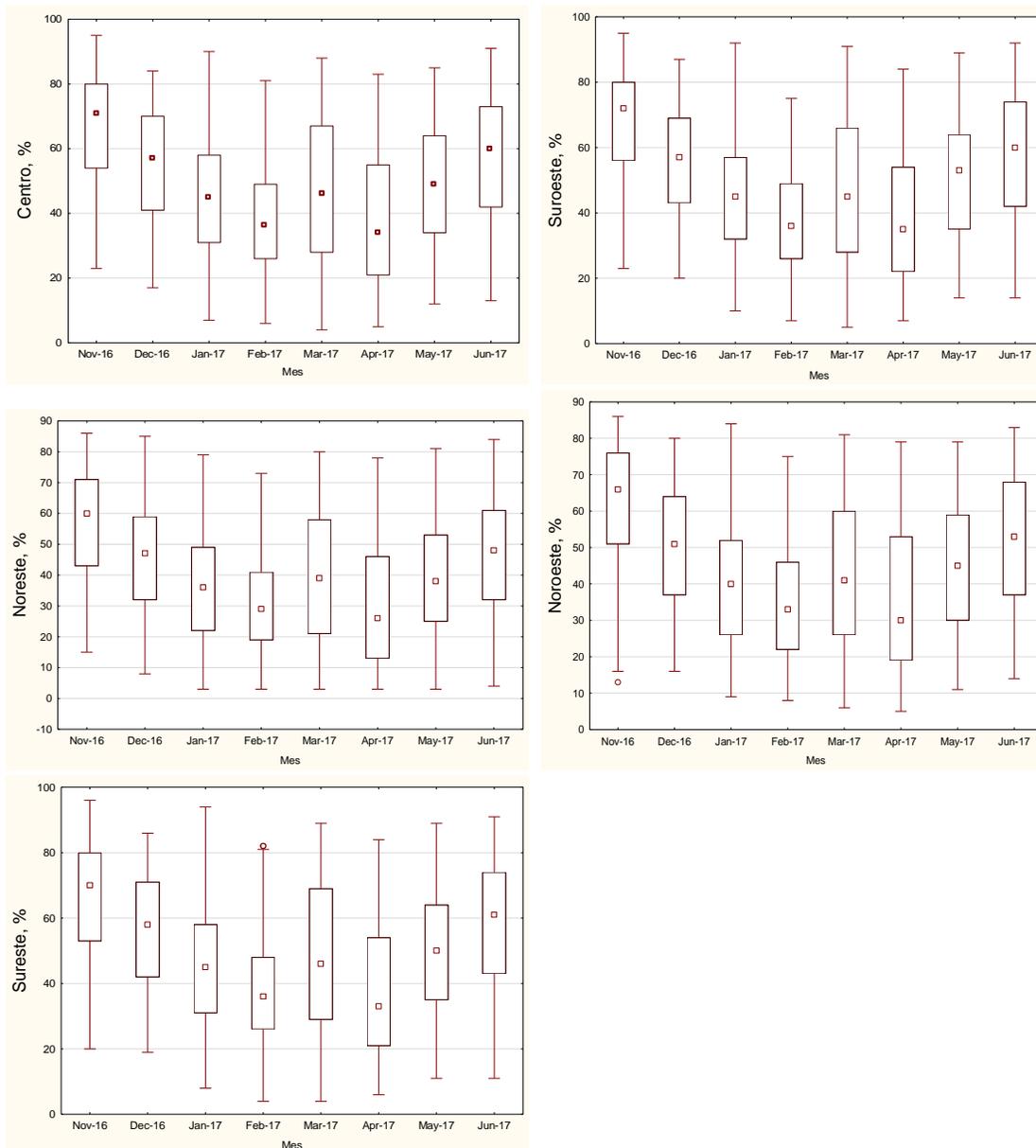


Figura 18. Medianas (cuadros internos) de la humedad relativa ambiental (%) en los cinco sitios del AMVM de noviembre 2016 a junio 2017. Cajas - primer y tercer cuartiles, bigotes - valores mínimo y máximo.

La **figura 19** muestra el comportamiento temporal de la temperatura. En todos los sitios se observan valores menores a 18 °C de noviembre a marzo, mientras que, de abril a junio, las temperaturas fueron ≥ 18 °C, siendo los meses más calientes del periodo de estudio.

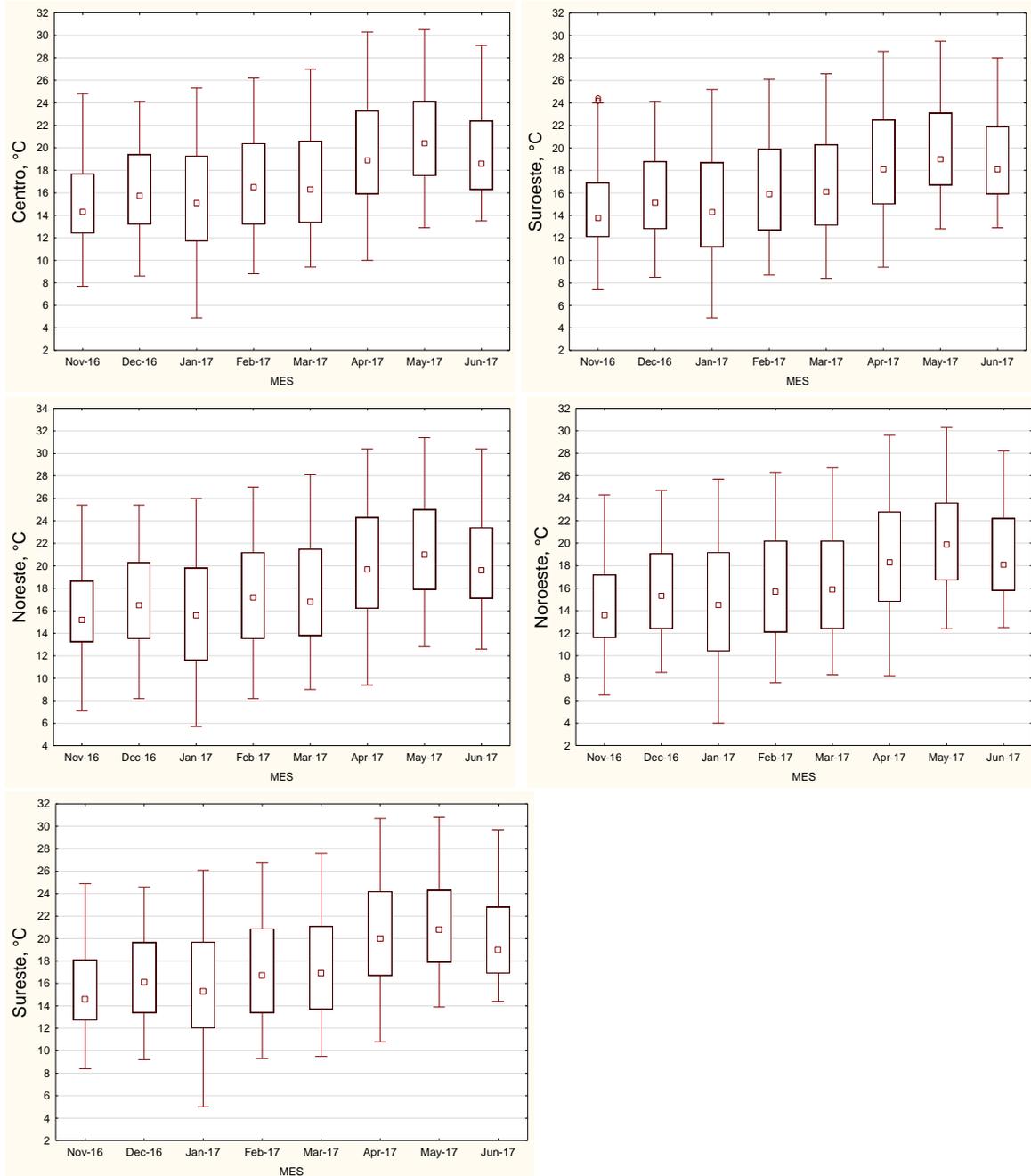


Figura 19. Medianas (cuadros internos) de la temperatura ambiental (°C) en los cinco sitios del AMVM de noviembre 2016 a junio 2017. Cajas - primer y tercer cuartiles, bigotes – valores mínimo y máximo.

La **figura 20** muestra la comparación de las medianas de la temperatura entre las temporadas del año: SF – Secas frías (noviembre-2016 a enero 2017), SC – Secas cálidas (febrero y marzo 2017) y LL – Lluvias (abril a junio 2017). El análisis estadístico mostró que la época de lluvias fue la más calurosa en todos los sitios (KW, $p < 0.01$).

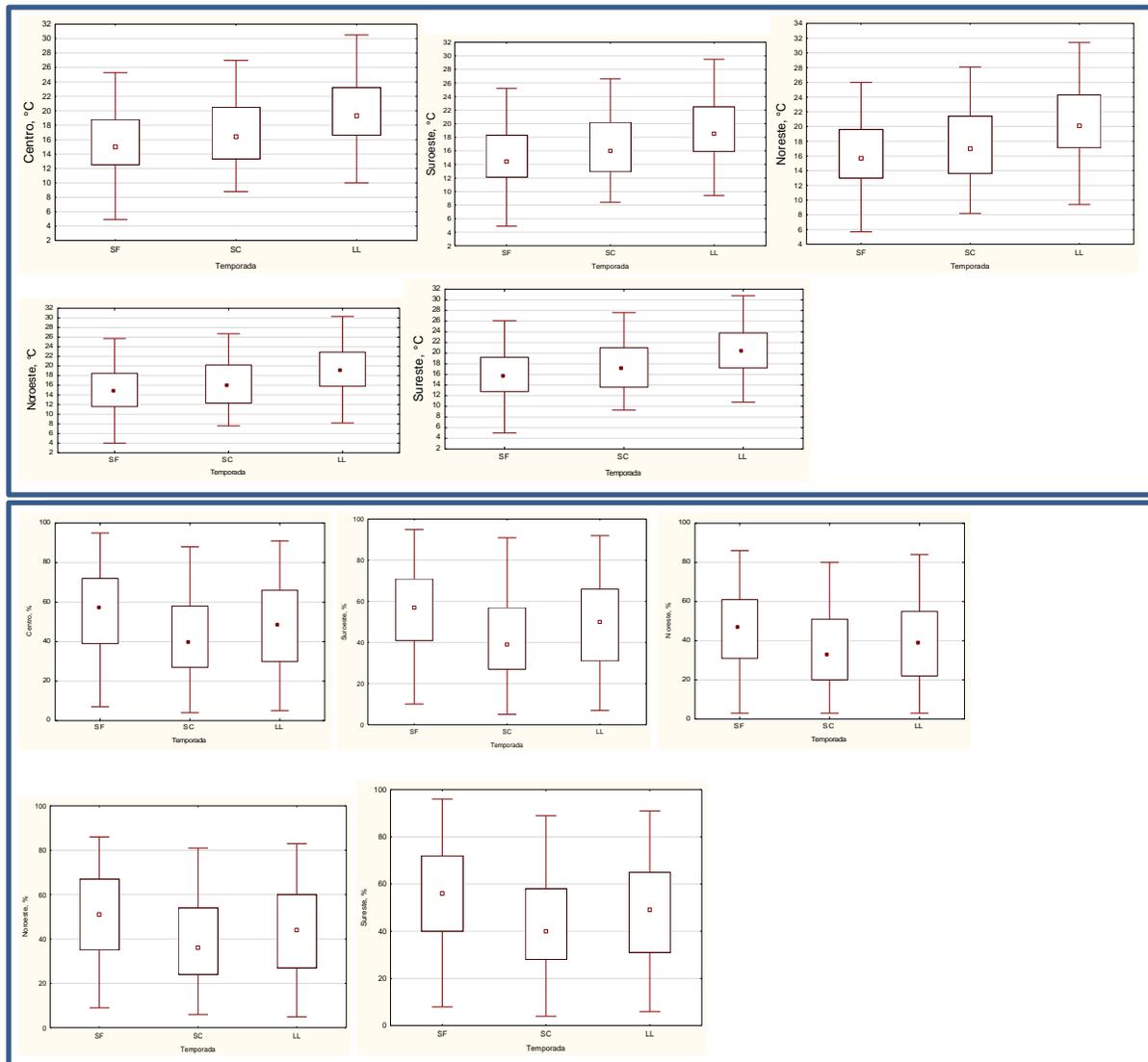


Figura 20. Comparación de las medianas (cuadros internos) de la temperatura ambiental (°C, cuadro superior) y de la humedad relativa (% , cuadro inferior) entre secas frías (SF), secas cálidas (SC) y lluvias (LL), en el AMVM. Cajas - primer y tercer cuartiles, bigotes – valores mínimo y máximo.

6.5 Comportamiento temporal de HAP en el AMVM

6.5.1 HAP adsorbidos al musgo

La **figura 21** muestra un cromatograma de los HAP encontrados en la muestra colocada en el centro (Merced) durante abril 2017, así como sus deuterados.

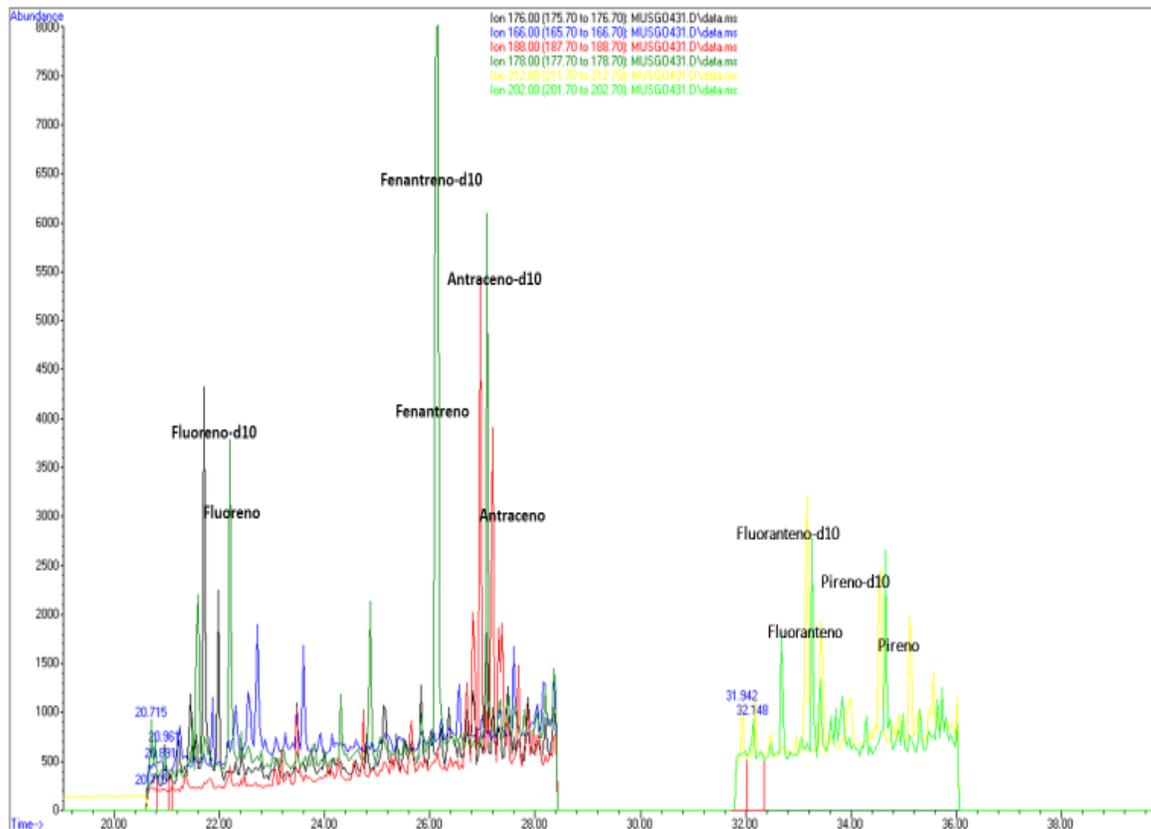


Figura 21. Cromatograma iónico de los HAP adsorbidos al musgo colocado en el centro (Merced) del AMVM durante abril 2017. Fluoreno-d10 (176 m/z), fluoreno (166 m/z), fenantreno-d10 y antraceno-d10 (188 m/z), fenantreno y antraceno (178 m/z), fluoranteno-d10 y pireno-d10 (212 m/z), fluoranteno y pireno (202 m/z).

La **figura 22** muestra las concentraciones de HAP adsorbidos en los musgos, en las tres temporadas. Se identificaron 14 de 28 HAP analizados. Los HAP más frecuentes y abundantes fueron los de 3 anillos aromáticos. 9-metil antraceno con la mayor concentración en secas frías (1.2 ng g^{-1}), fluoreno con la mayor concentración en secas cálidas (1.8 ng g^{-1}), mientras que fluoreno y antraceno en lluvias (3.4 ng g^{-1} , ambos).

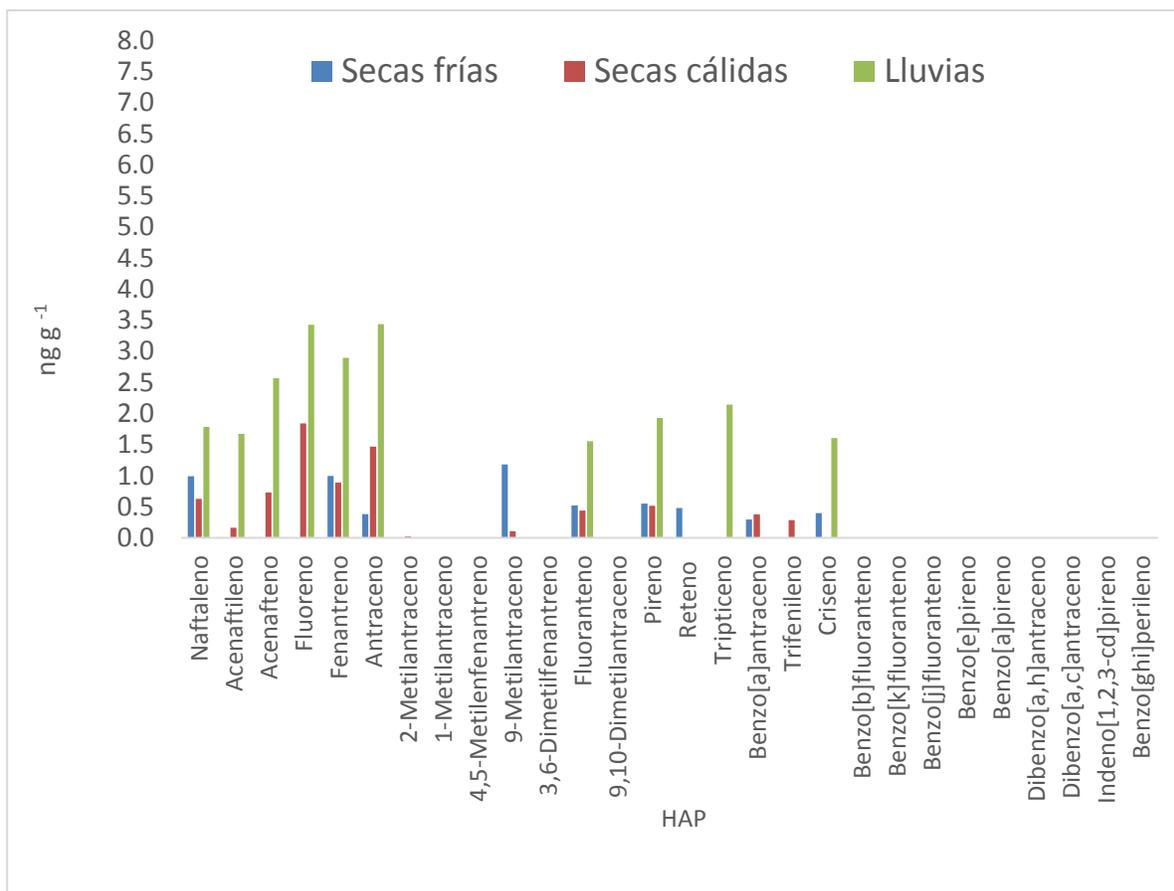


Figura 22. Medias de la concentración de HAP adsorbidos al musgo (lavado) durante la época de secas frías, secas cálidas y lluvias en el AMVM, N=40.

La **figura 23** ilustra la comparación de las medianas de la suma de los HAP adsorbidos en el musgo entre los meses de noviembre 2016 y junio 2017. Se observó mayor abundancia de $\text{HAP} \leq 228 \text{ gmol}^{-1}$ respecto a $\text{HAP} > 228 \text{ gmol}^{-1}$ (KW, $p < 0.02$). Abril mostró la mayor concentración de $\text{HAP} \leq 228 \text{ gmol}^{-1}$ (20 ng g^{-1}) que el resto de los meses ($p < 0.01$), mientras que los $\text{HAP} > 228 \text{ gmol}^{-1}$ fueron más abundantes en junio (9 ng g^{-1}) del 2017 ($p < 0.01$).

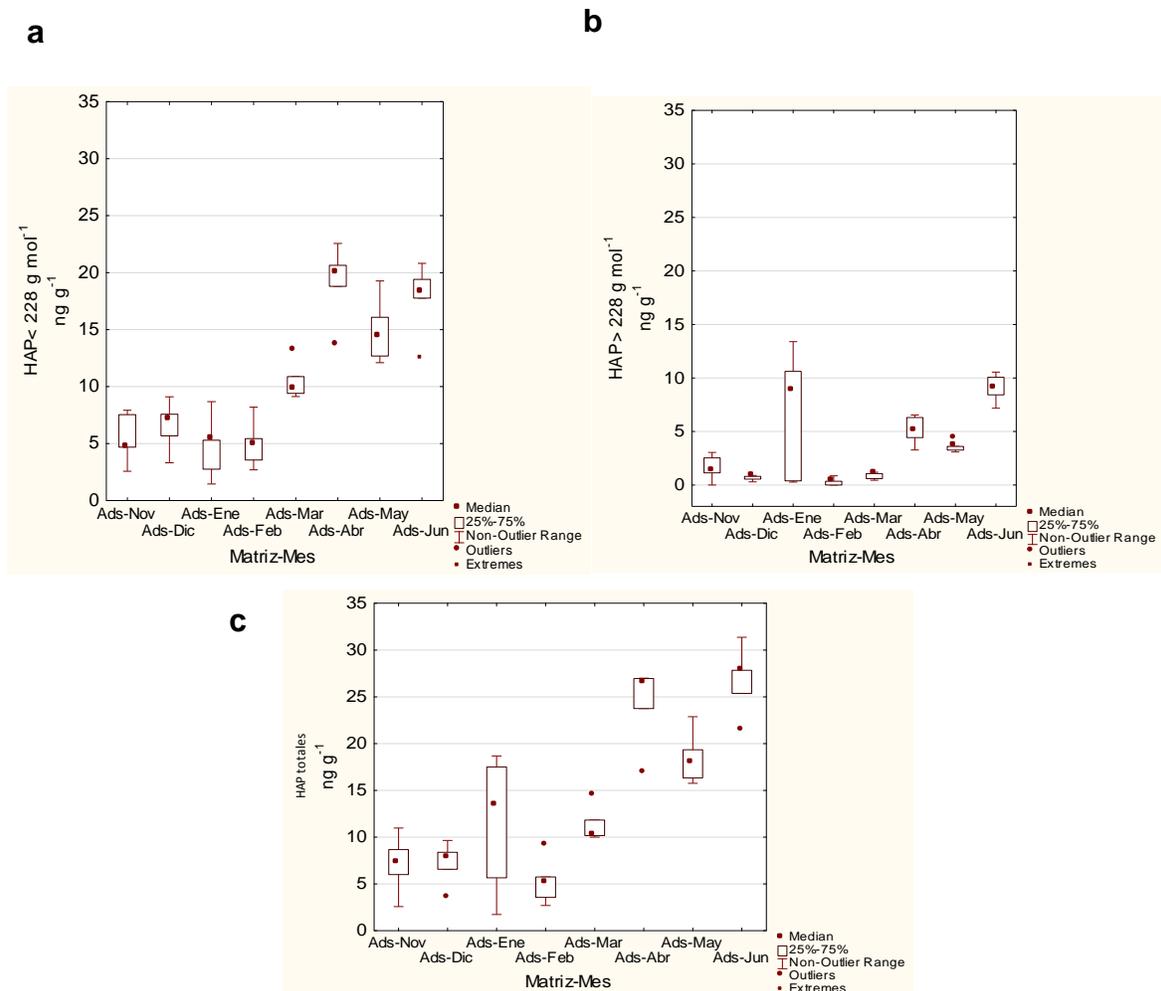


Figura 23. Comparación temporal de las medianas de la suma de HAP adsorbidos al musgo entre noviembre 2016 a junio 2017. a. HAP ≤ 228 g mol⁻¹, b. HAP > 228 g mol⁻¹ y c. HAP totales, N=5.

La comparación de las medianas por temporada mostró que la temporada de lluvias (abril a junio) presentó la mayor concentración de HAP comparada con las dos temporadas de secas (KW, p<0.01) (**Figura 24**).

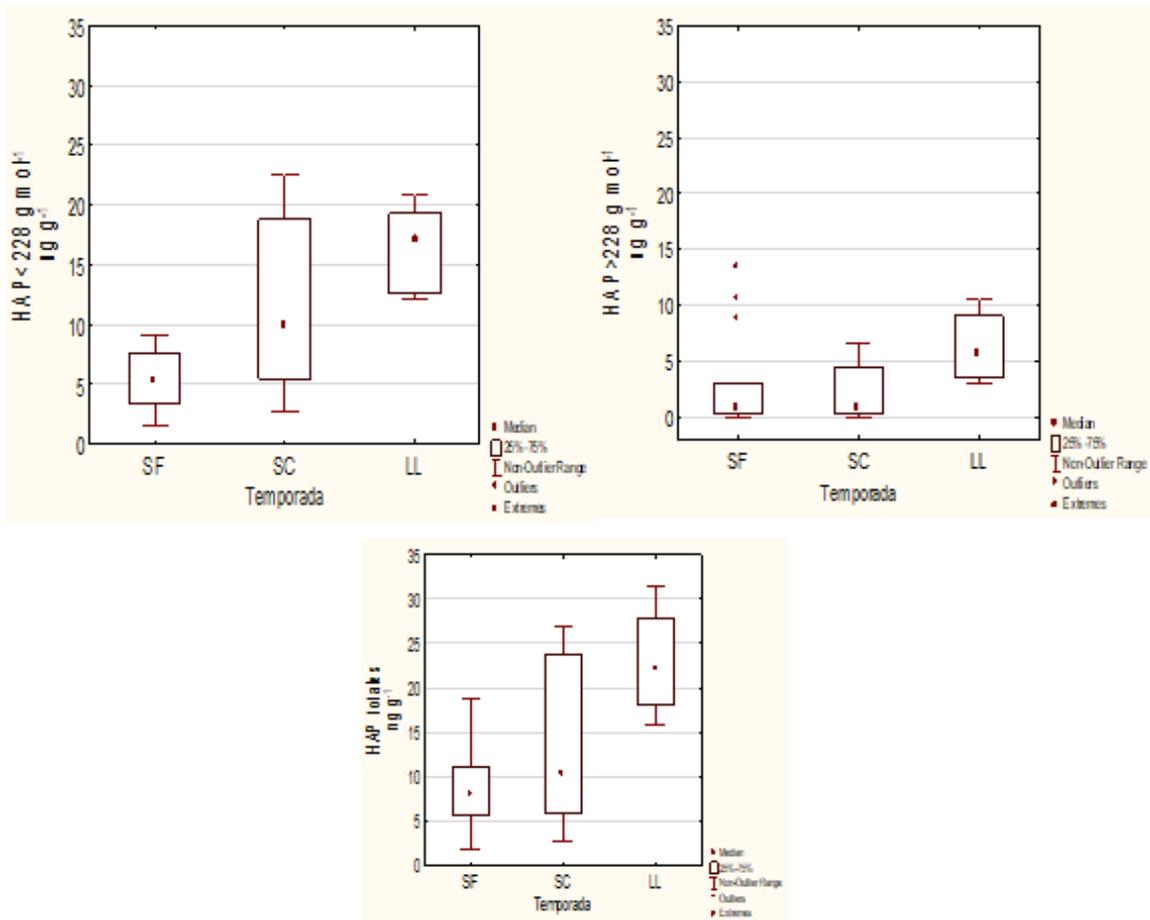


Figura 24. Comparación temporal de las medianas de HAP agrupados por peso molecular y totales adsorbidos al musgo (lavado) en el AMVM, N= 15 para SF, N= 10 para SC y N=15 para L.

6.5.2 HAP absorbidos al musgo

La **figura 25** muestra un cromatograma de los HAP encontrados en la muestra colocada en el noreste en el mes de abril de 2017, así como sus deuterados.

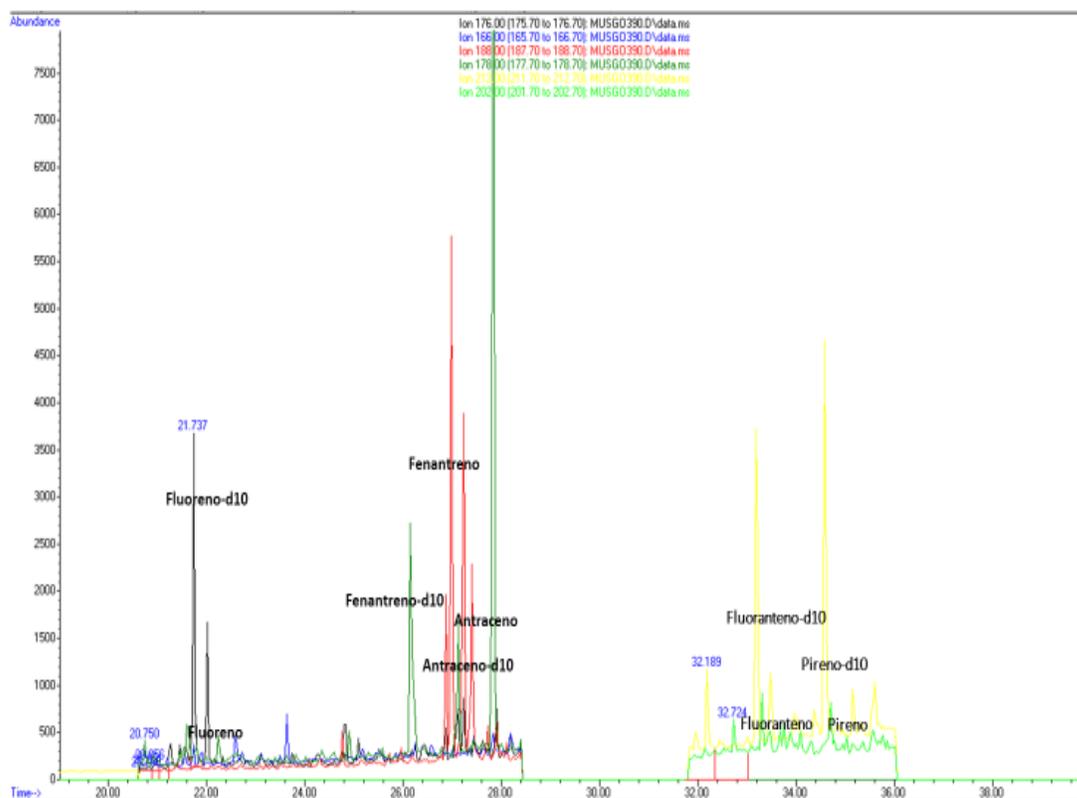


Figura 25. Cromatograma iónico de los HAP absorbidos en el musgo colocado en el noreste (San Agustín) del AMVM durante abril 2017. Fluoreno-d10 (176 m/z), fluoreno (166 m/z), fenantreno-d10 y antraceno-d10 (188 m/z), fenantreno y antraceno (178 m/z), fluoranteno-d10 y pireno-d10 (212 m/z), fluoranteno y pireno (202 m/z).

La **figura 26** muestra las medianas de las concentraciones de HAP por temporada en musgos remanentes. Es decir, HAP absorbidos. El fenantreno mostró la mayor concentración (1.9 ng g⁻¹) en secas frías y en secas cálidas (1.7 ng g⁻¹), mientras que antraceno, criseno y trifenileno fueron los HAP con mayor concentración (~5.5 ng g⁻¹) en época de lluvias.

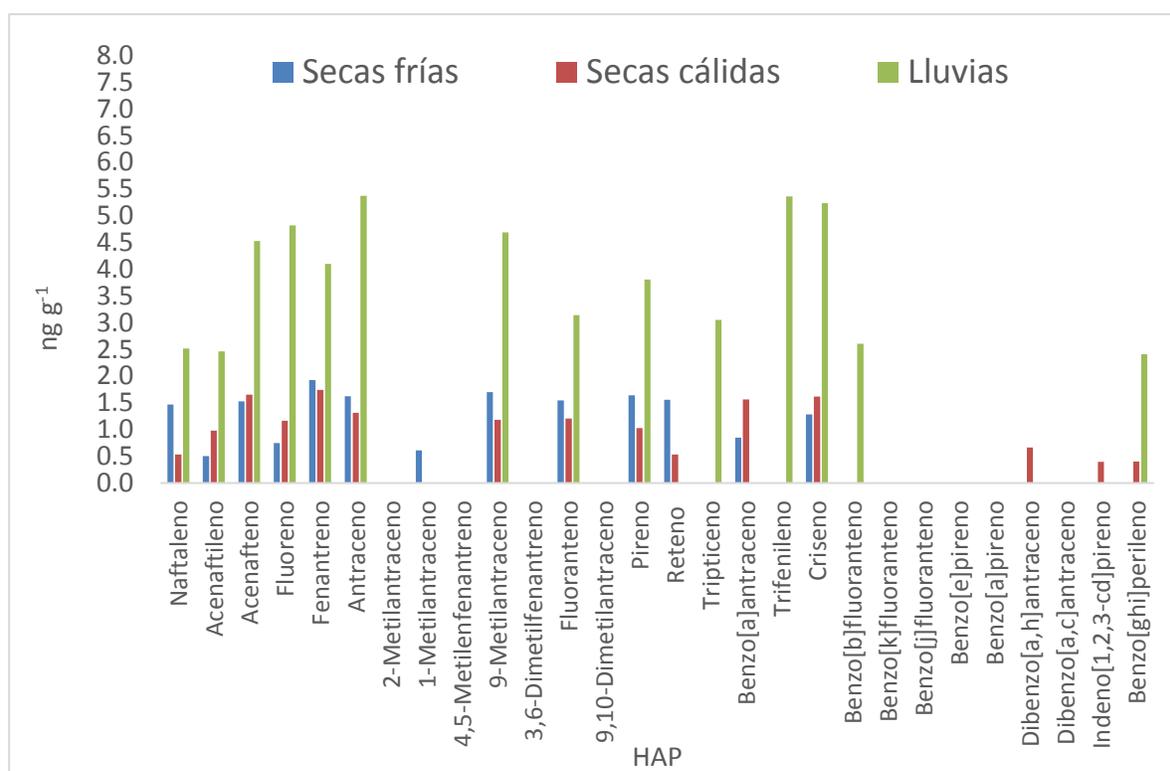


Figura 26. Medianas de la concentración de HAP absorbido al musgo (remanente) durante la época de secas frías, secas cálidas y lluvias en el AMVM, N=40.

Las mayores concentraciones tanto de HAP ≤ 228 g mol⁻¹ (47 ng g⁻¹), como de HAP > 228 g mol⁻¹ (26 ng g⁻¹) se observaron en junio 2017 ($p < 0.01$).

La **figura 27** ilustra la comparación de las medianas de los HAP absorbidos en musgo entre noviembre 2016 y junio 2017.

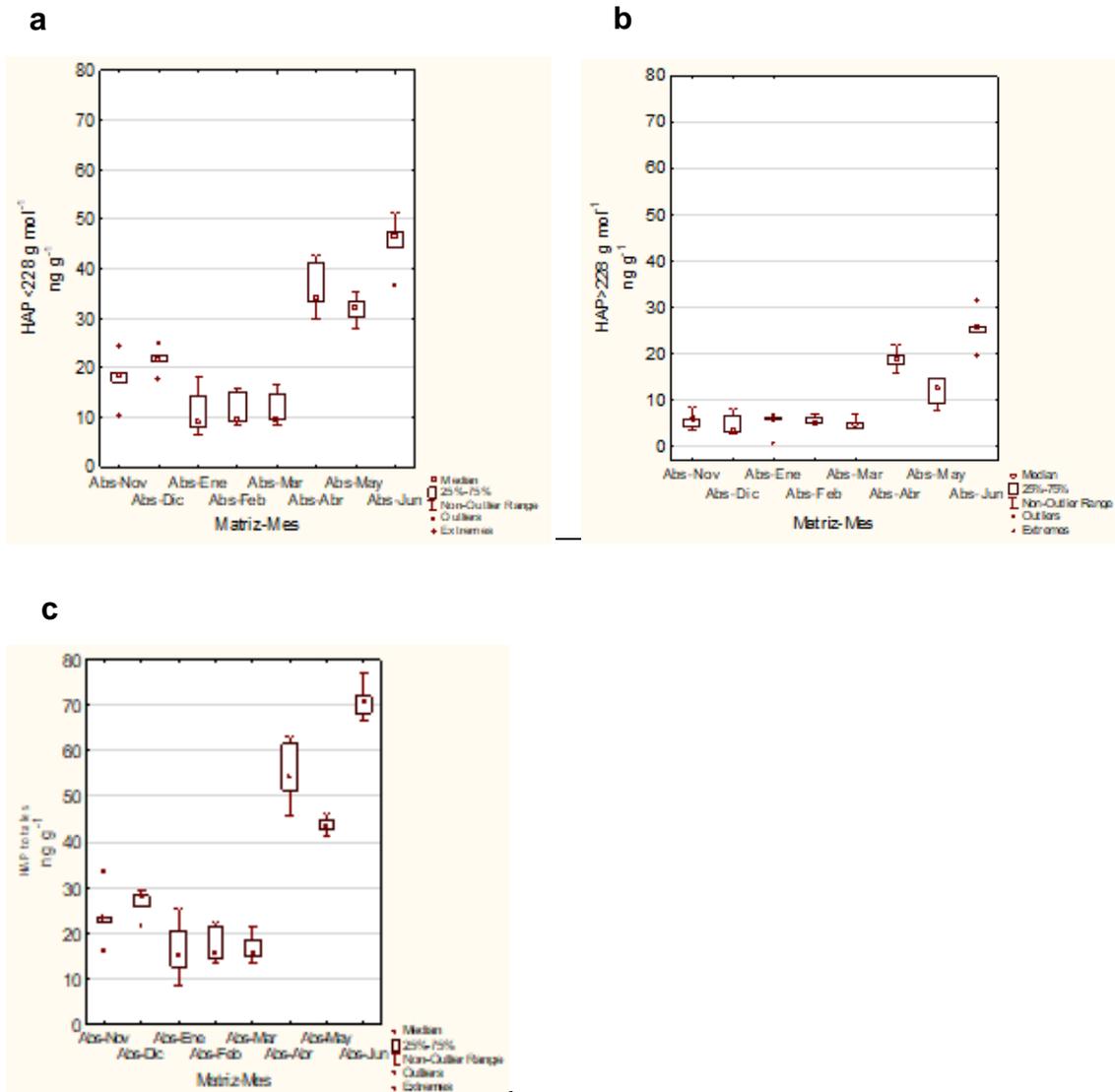


Figura 27. Comparación temporal de las medianas de la suma de HAP absorbidos al musgo entre noviembre 2016 a junio 2017. a. HAP ≤ 228 g mol⁻¹, b. HAP > 228 g mol⁻¹ y c. HAP totales, N=5.

Se encontró mayor concentración de HAP ≤ 228 g mol⁻¹ que HAP > 228 g mol⁻¹. Nuevamente, la temporada de lluvias mostró mayor concentración con respecto a las dos temporadas de secas ($p < 0.01$).

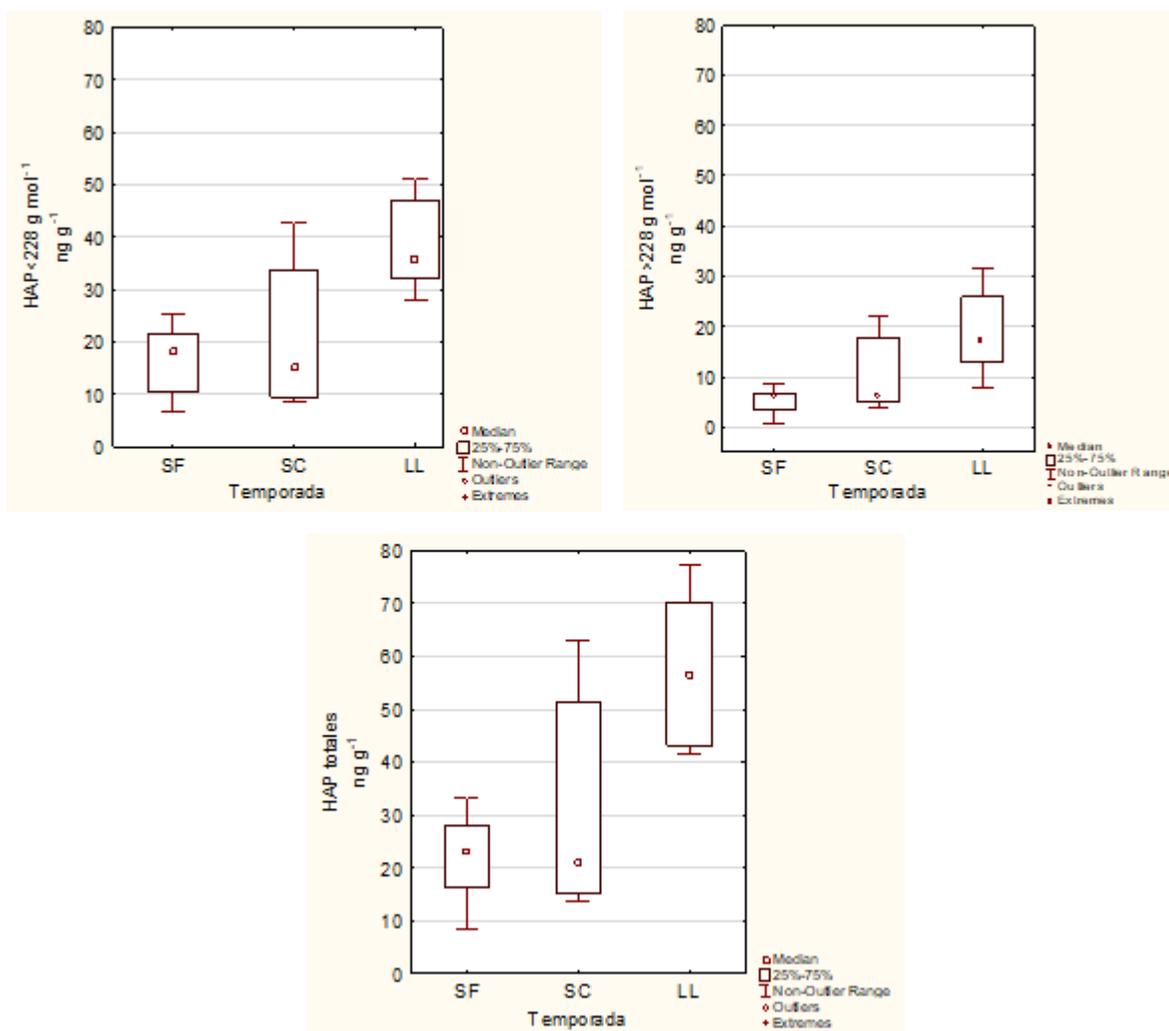


Figura 28. Comparación temporal de las medianas de HAP agrupados por peso molecular y totales absorbidos al musgo (remanente) en el AMVM, N= 15 para SF, N=10 para SC y N=15 para LL.

6.5.3 HAP totales

La **figura 29** muestra un cromatograma de los HAP encontrados en la muestra colocados en el sureste durante el mes de abril de 2017, así como sus deuterados.

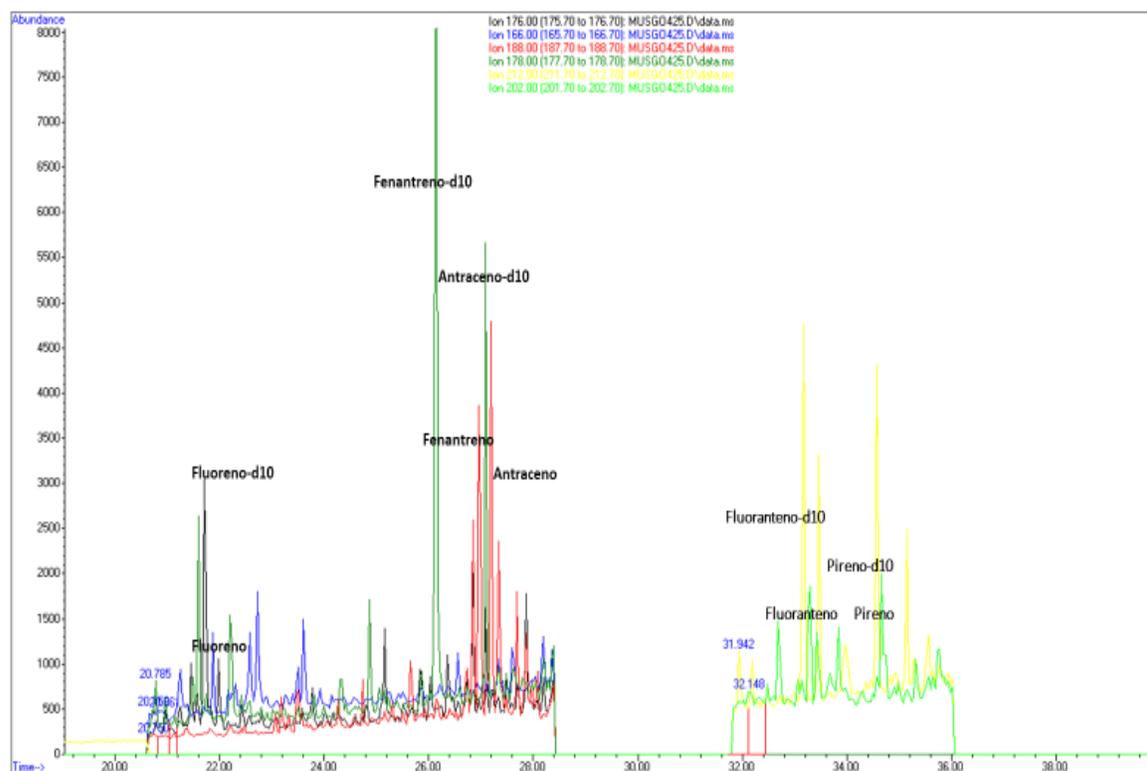


Figura 29. Cromatograma iónico de los HAP en el musgo completo colocado en el sureste (UAMI-I) del AMVM durante abril 2017. Fluoreno-d10 (176 m/z), fluoreno (166 m/z), fenantreno-d10 y antraceno-d10 (188 m/z), fenantreno y antraceno (178 m/z), fluoranteno-d10 y pireno-d10 (212 m/z), fluoranteno y pireno (202 m/z).

La **figura 30** muestra las medianas de las concentraciones de HAP totales extraídos del musgo completo. Fenantreno mostró la mayor concentración en secas frías (5 ng g^{-1}), mientras que diversos HAP mostraron similares concentraciones entre ellos tanto en la época de secas cálidas como en lluvias. No obstante, en lluvias se observó hasta el doble de la concentración de HAP que en las temporadas de secas.

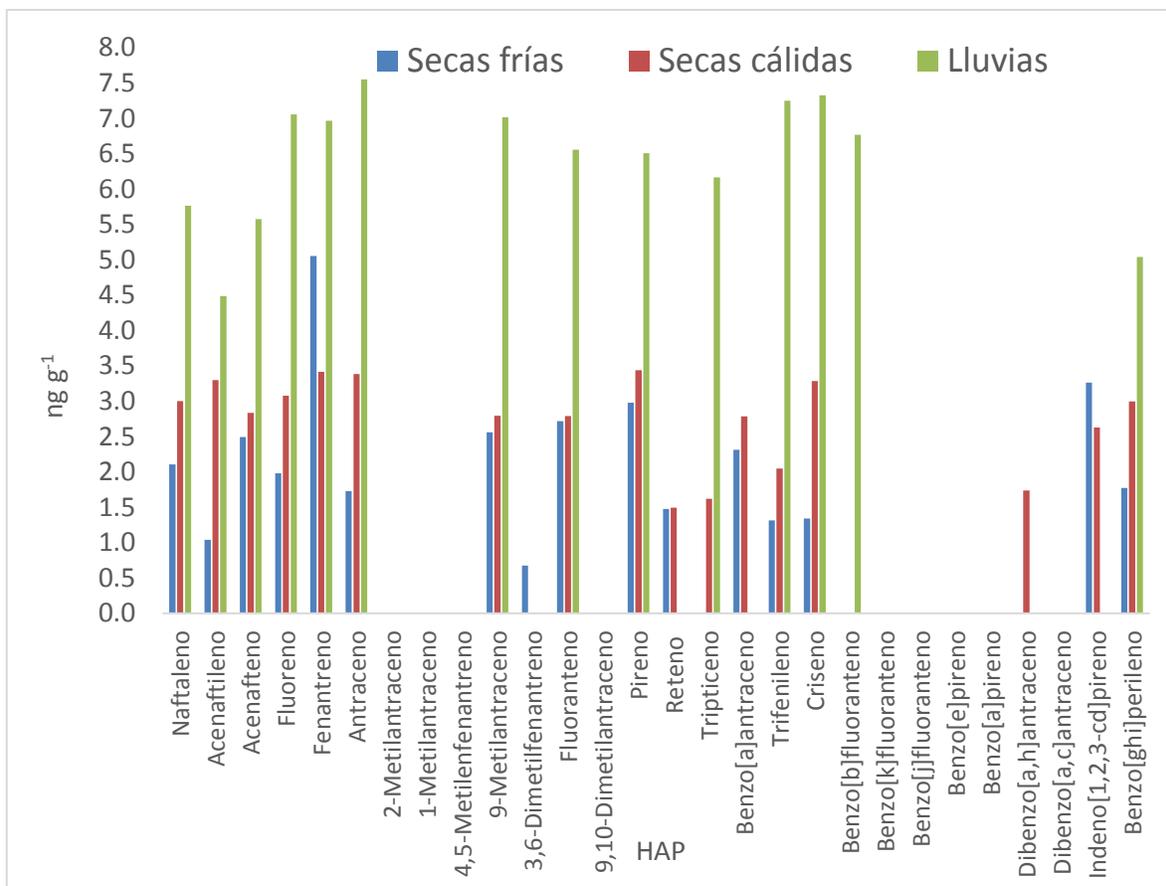


Figura 30. Medianas de la concentración de HAP en musgo completo durante la época de secas frías, secas cálidas y lluvias en el AMVM, N=40.

La **figura 31** ilustra la comparación de las medianas de los HAP entre los meses de noviembre 2016 a junio 2017 en musgo completo. Junio nuevamente fue el mes donde se observó la mayor concentración tanto de HAP $\leq 228 \text{ g mol}^{-1}$ (60 ng g^{-1}), de HAP $> 228 \text{ g mol}^{-1}$ (33 ng g^{-1}), como HAP totales (94 ng g^{-1}).

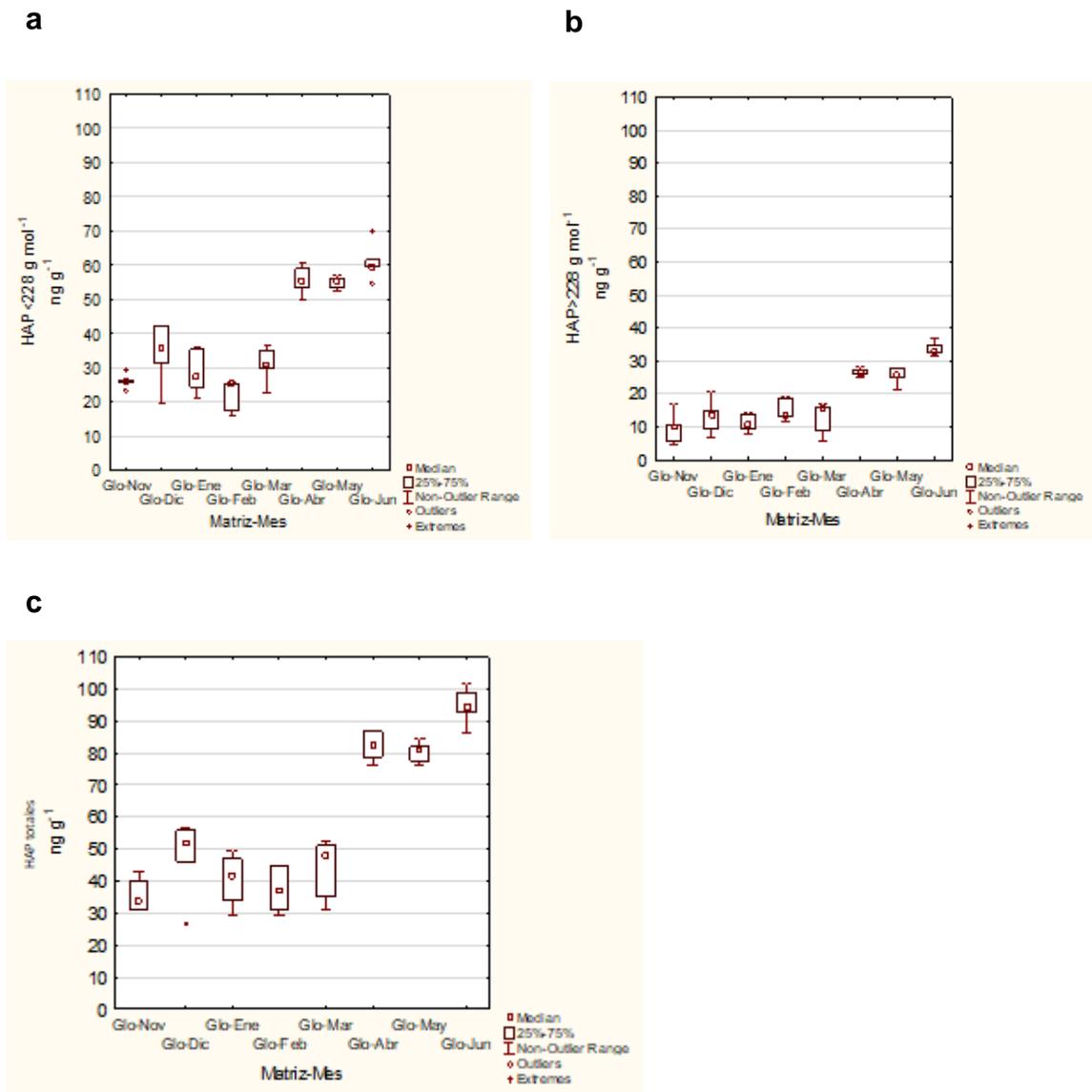


Figura 31. Comparación temporal de las medianas de la suma de HAP en musgo completo entre noviembre 2016 a junio 2017. a. HAP ≤ 228 g mol⁻¹, b. HAP > 228 g mol⁻¹ y c. HAP totales, N=5.

La temporada de lluvias nuevamente mostró la mayor concentración comparada con las dos temporadas de secas (p < 0.01).

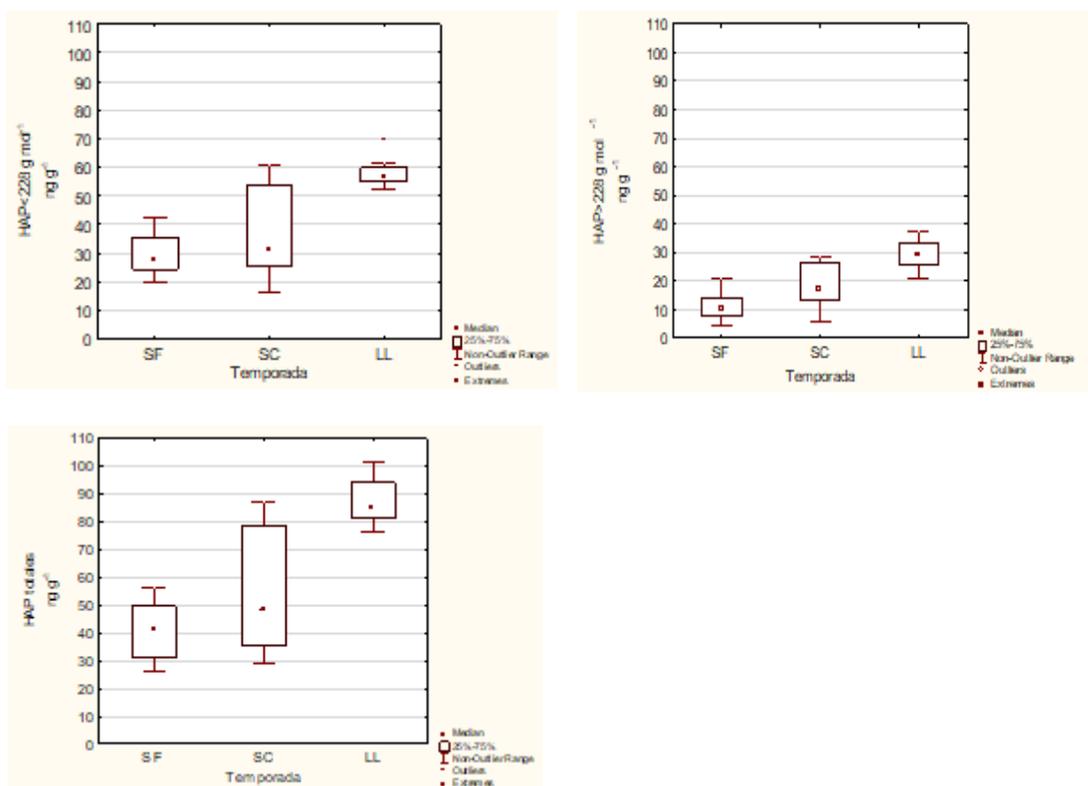


Figura 32. Comparación temporal de las medianas de HAP agrupados por peso molecular y totales en musgo completo en el AMVM, N= 15 para SF, N= 10 para SC y N= 15 para LL.

Los resultados muestran mayor abundancia de HAP $\leq 228 \text{ g mol}^{-1}$, tanto adsorbidos, absorbidos, como en musgo completo. También se observó mayor concentración en la temporada de lluvias para las dos familias de HAP y los HAP totales siendo junio, donde se observaron las mayores concentraciones.

Los HAP $\leq 228 \text{ g mol}^{-1}$ se encuentran principalmente en la fase gaseosa del aerosol atmosférico, mientras que los HAP $> 228 \text{ g mol}^{-1}$, se encuentran principalmente en la fase particulada. Ravindra *et al.* 2008a). El incremento de la temperatura promueve su partición hacia la fase gaseosa. La temporada de lluvias fue la más caliente del período de estudio (Figura 19) y la más húmeda, indicando mayor contenido de agua suspendida en el aire. Considerando que los HAP $\leq 228 \text{ g mol}^{-1}$ fueron más abundantes que los HAP $> 228 \text{ g mol}^{-1}$ tanto adsorbidos, absorbidos y en musgo completo, sugerimos que los HAP $\leq 228 \text{ g mol}^{-1}$ en fase gas promovidos por la temperatura, se disolvieron en el agua que fue absorbida por el musgo a través de sus rizoides.

6.6 Comportamiento espacial de HAP en el AMVM

No se encontraron diferencias significativas entre las medianas de los HAP ≤ 228 g mol⁻¹, HAP > 228 g mol⁻¹, ni HAP totales entre los cinco sitios estudiados ($p > 0.05$). Esto ocurrió tanto para los HAP adsorbidos (**Figura 33**), absorbidos (**Figura 34**) y HAP totales (**Figura 35**).

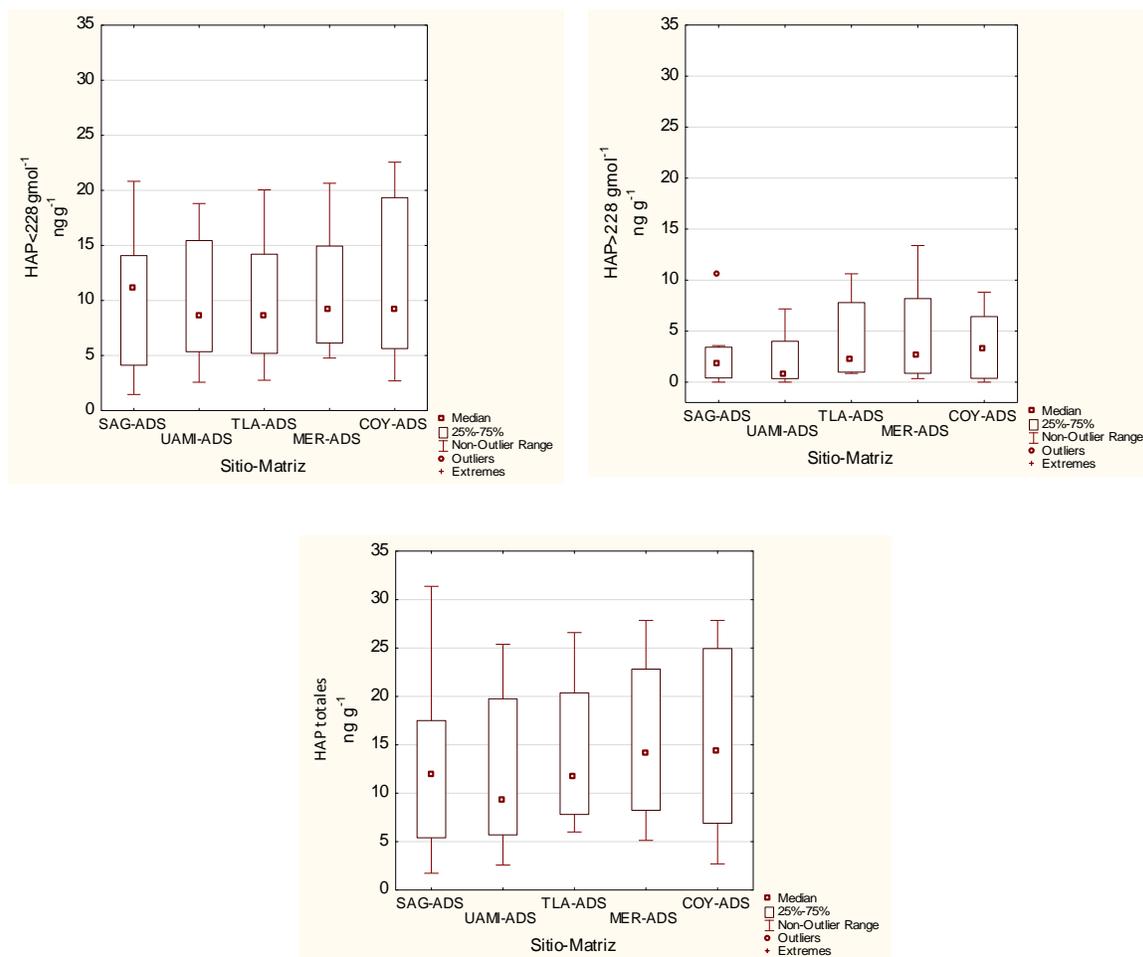


Figura 33. Comparación espacial de las medianas de HAP entre los cinco sitios del AMVM en musgo adsorbido colectado entre noviembre 2016 a junio 2017. Agrupados por peso molecular, N=8.

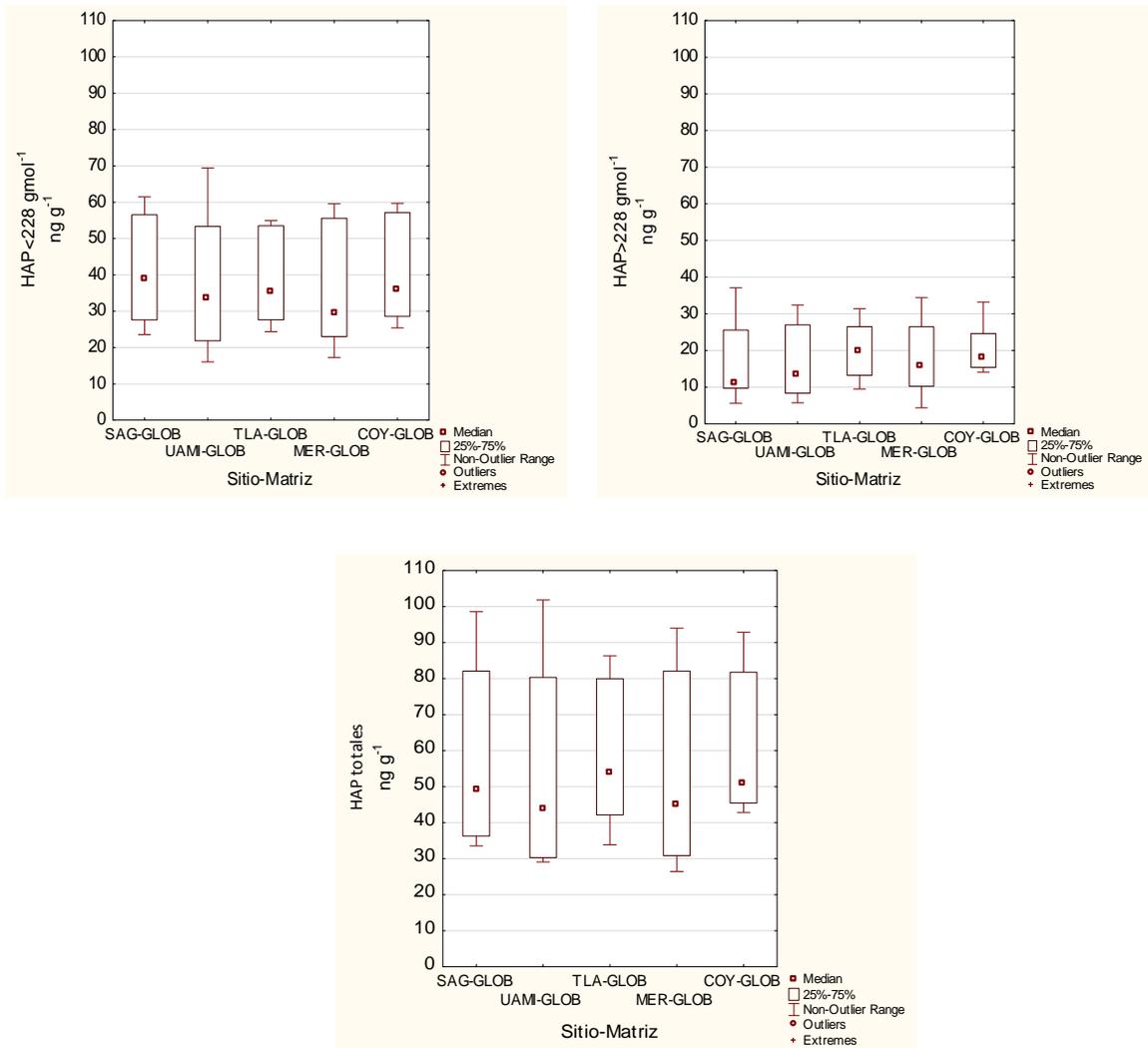


Figura 34. Comparación espacial de medianas de HAP entre los cinco sitios del AMVM en musgo absorbido colectado entre noviembre 2016 a junio 2017. Agrupados por peso molecular, N=8.

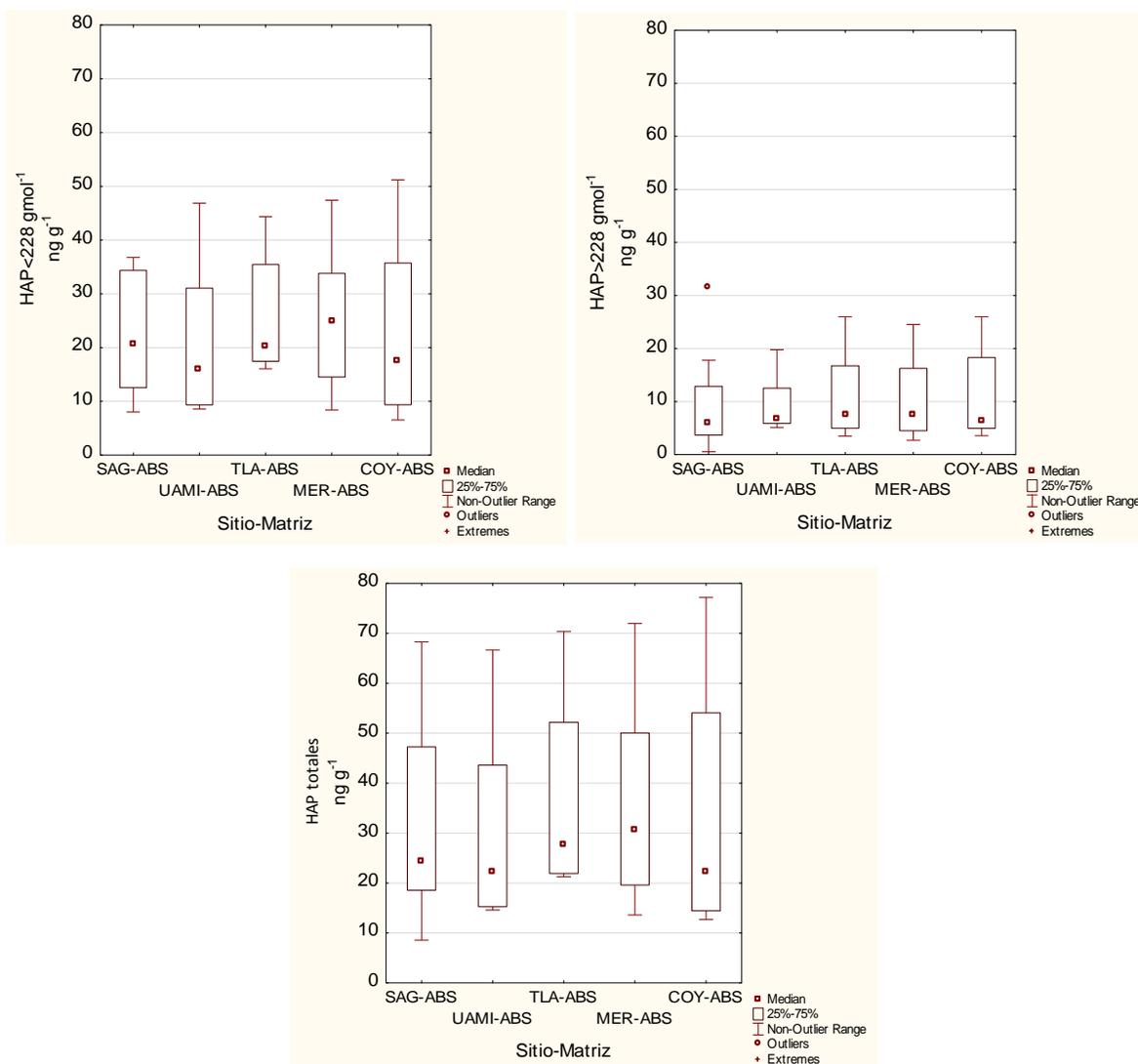


Figura 35. Comparación espacial de medianas de HAP entre los cinco sitios del AMVM en musgo completo colectado entre noviembre 2016 a junio 2017. Agrupados por peso molecular, N=8.

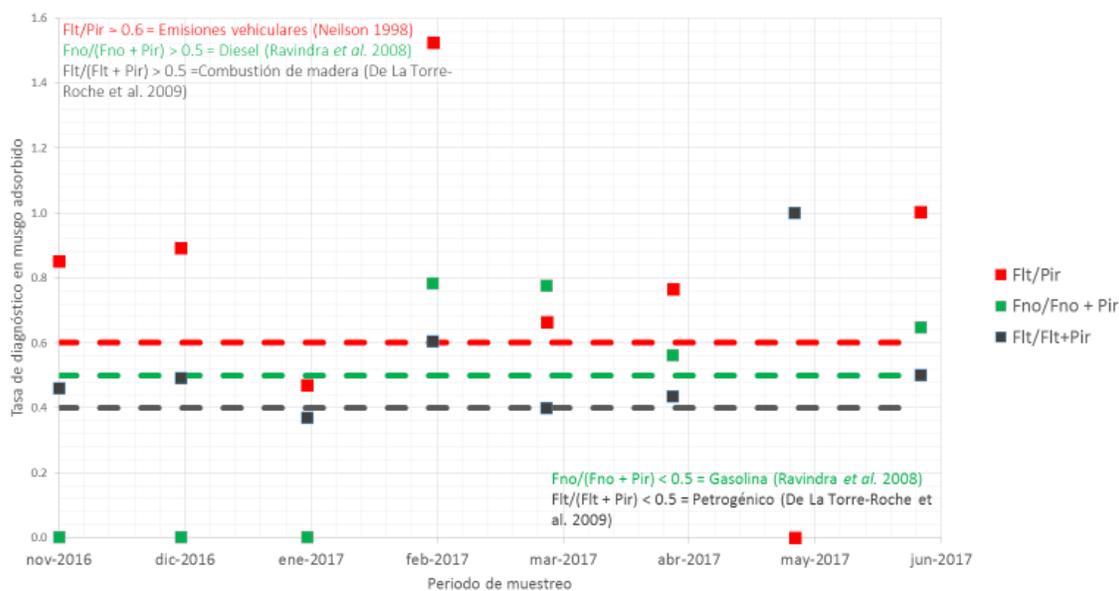
Esta homogeneidad en la concentración de HAP en el AMVM es diferente a la observada por Amador-Muñoz *et al.* (2011), quienes encontraron diferencias significativas entre los sitios al determinar HAP en partículas menores a 2.5 μm , en colectas de 24 h. Esto sugiere, que la capacidad del musgo para retener aerosol atmosférico se saturó. Probablemente periodos de colecta más cortos permitan observar variabilidad espacial.

6.7 Tasas de diagnóstico

Los HAP siempre se emiten como mezclas complejas, las relaciones entre ellos son una herramienta que permite identificar fuentes de emisión y/o procesos de formación o degradación. La mayoría de las relaciones de diagnóstico consideran pares de HAP con la misma masa molar y propiedades fisicoquímicas similares (Mackay *et al.* 2006).

Se calcularon tres tasas de diagnóstico tanto para HAP adsorbidos, absorbidos como en musgos completo (**Figura 36**). Aparentemente, las principales fuentes son combustión petrogénica y por biomasas, sin embargo, el análisis indica que las tasas de diagnóstico en esta matriz deben manejarse con cuidado, debido a la bioacumulación de HAP por el largo periodo de colecta.

a.



b.



c.

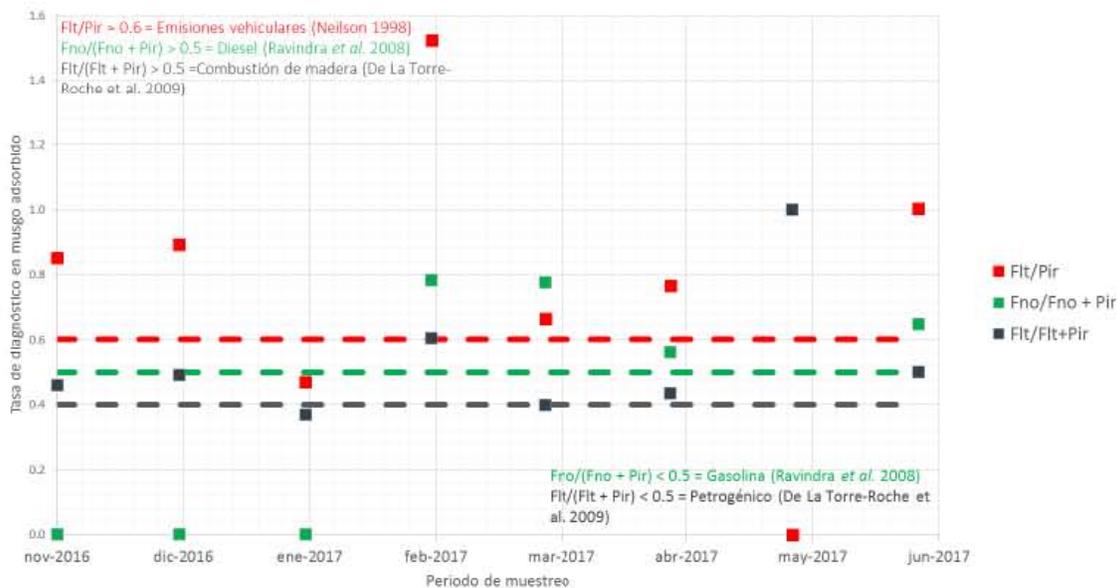


Figura 36. Tasas de diagnóstico en musgos a. adsorbido, b. absorbido y c. totales.

6.8 Comparación con otros estudios

Las **tablas XI a XIII** compilan diversos estudios donde entre otros aspectos, se compara la eficiencia en la extracción de nuestra técnica con respecto a la utilizada por dichos trabajos, así como las concentraciones de HAP. Los resultados se reportan por gramo seco de musgo. En general nuestra técnica ofrece buenos porcentajes de recuperación, siendo en algunos casos mayores a la obtenida en otros estudios. Como se aprecia, la concentración de la suma de HAP es muy diversa, la concentración de HAP en la Ciudad de México es menor.

Tabla XI. Análisis de HAP por medio de técnica de extracción Soxhlet.

Compuesto	Especie	Características	Purificación	Determinación	Recobro (%)	Lugar	Concentración ngg-1	Referencia
16 HAP	Fontinalis antypiretica	200 mL ACN, 24 hrs	Florisil, Elusión 30 mL ACN	CLAR-DF	60-100	Portugal	NM	Augusto <i>et al.</i> 2011
11 HAP	Fontinalis antypiretica	200 mL DCM, 16 hrs	Cartucho Florisil	CLAR-DF	65-78	Finlandia	6-42	Roy <i>et al.</i> 1996
9 HAP	Hypnum cupressiforme	20 mL Hex., 2 hrs	-	CLAR-DF	81-98	Italia	200-258	Skert <i>et al.</i> 2010
17 HAP	Hylocomium splendens, Pleurozium scheberi	200 mL DCM	-	CG-EM	74-96	España	0.5-150	Doigwoska <i>et al.</i> 2011
15 HAP	Pleurozium Scheberi	200 mL DCM, 16 hrs	Columna de Alumina, 10 mL DCM	CG-EM	NM	Finlandia	12-133	Roy <i>et al.</i> 1996
16 HAP	Pleurozium Scheberi, Hypnum cupressiforme, Scleropodium purum	200 mL Hex.	PAH soil catridges 1.5 g, DCM:eter de petróleo (1:4)	CG-EM	47-100	Austria	120-160	Zechmeister <i>et al.</i> 2006
16 HAP	Hypnum cupressiforme	200 mL DCM, 8 hrs	Columna Florisil	CG-EM	80-98	Rep. Checa	609-3020	Houlonbek <i>et al.</i> 2000
16 HAP	Hypnum cupressiforme	200 mL DCM, 16 hrs	Columna de Silica	CLAR-UV	NM	Hungria	7-84	Kozák <i>et al.</i> 2003

CG-EM: Cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas. CLAR-DF: Cromatografía de líquidos de alta resolución con detector de fluorescencia. CLAR-UV: Cromatografía de líquidos de alta resolución acoplada a ultravioleta

Tabla XII. Análisis de HAP por medio de técnica de extracción fluidos presurizados.

Compuesto	Especie	Características	Purificación	Determinación	Recobro (%)	Lugar	Concentración ngg-1	Referencia
13 HAP	Hypnum cupressiforme, Isotheccium myosuroides	Hex. 80°C, 5 min, 2 ciclos	Cartucho Florisil 1 g, Hex:DCM (60:40)	CLAR-DF	68-70	Francia	233	Foan <i>et al.</i> 2015
15 HAP, 8 nHAP	Hypnum cupressiforme	DSASE, 0.2 g, 2 mL Hex.	Florisil 0.05 g + 0.5 g NH ₂ -SPE	CGPA-Q-TOF-EM	79-98	España	188-1733	Domeño <i>et al.</i> 2012
16 HAP	Hylocomuim splendens, Pleurozium scheberi, Thundium tamariscinum	DCM	-	CG-EM	74-96	Polonia	188-822	Galuzka. 2007
16 HAP	Hypnum plumaeformae	DCM:A (1:1), 5 min, 2 ciclos 100°C	5 g Alumina + 5 g Florisil + 10 g Silica, 60 mL DCM	CG-EM	49-99	China	310-134	Liu <i>et al.</i> 2005
12 HAP y POCs	Pleurozium Scheberi	40-120°C, 3-10 min	15 g Florisil, 160 mL DCM:Hex (1:1)	CG-EM	25-78	Alemania	11-97	Wenzel <i>et al.</i> 1998

CG-EM: Cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas. CLAR-DF: Cromatografía de líquidos de alta resolución con detector de fluorescencia. CGPA-Q-TV-EM: Cromatografía de gases a presión atmosférica con cuadrupolo a tiempo de vuelo acoplado a espectrometría de masas.

Tabla XIII. Análisis de HAP por medio de técnica de extracción de ultrasonido.

<i>Compuesto</i>	<i>Especie</i>	<i>Características</i>	<i>Purificación</i>	<i>Determinación</i>	<i>Recobro (%)</i>	<i>Lugar</i>	<i>Concentración ngg¹</i>	<i>Referencia</i>
16 HAP	Hypnum cupressiforme	100 mL Hex:A (1:1), 2 veces	Columna de Silica	CLAR-DF	65-85	Hungria	1567-10450	Ötvös <i>et al.</i> 2004
18 HAP	Tortula murails	100 mL Hex, 30 min	-	CG-EM	70	Italia	NM	Gerdol <i>et al.</i> 2002
16 HAP	Leptodon smithii	100 mL DCM:A (1:1), 3 veces	-	CG-EM	NM	Italia	125-381	DeNicola <i>et al.</i> 2013
16 HAP	Hypnum amabile	50 mL DCM, 5 min, 45 °C, 80% (37 Hz)	-	CG-EM	86-94	México	24-39	Este estudio

CG-EM: Cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas. CLAR-DF: Cromatografía de líquidos de alta resolución con detector de fluorescencia.

7. CONCLUSIONES

El diseño de experimentos propuesto ofreció las mejores condiciones para extraer eficiente y reproduciblemente los HAP en musgo tanto adsorbidos, absorbidos como en musgo completo, aplicando una tecnología patentada y modificada para los propósitos de nuestro estudio.

Las mejores condiciones de extracción fueron: 5 min, 60 °C, 80 % a una frecuencia de 37 KHz, pero debido a la dificultad en el control del disolvente se decidió disminuir a 45° C, viendo que no afectaba los recobros.

La eficiencia y la reproducibilidad de la CEMAUF oscilaron entre 80 y 93 % con variaciones entre 3 y 10 % para los HAP-d adsorbidos al musgo. Para los HAP-d absorbidos al musgo, los recobros se encontraron entre 81 y 95 % con variaciones entre 5 y 12 %. Finalmente, los porcentajes de recobro para los HAP-d en musgo completo se encontraron entre 86 y 94 %, con variaciones entre 3 y 9 %.

Se identificaron 19 de 28 HAP analizados. Los HAP $\leq 228 \text{ g mol}^{-1}$ fueron los más abundantes en los cinco sitios del AMVM y en todo el periodo de estudio (noviembre 2016 a junio 2017). La temporada de lluvias presentó la mayor concentración de HAP seguido de secas cálidas y secas frías, contrario a la hipótesis planteada y al comportamiento histórico observado de los HAP sobre partículas atmosféricas

Las concentraciones de HAP absorbidos fueron al menos el doble de aquellos adsorbidos. Hubo consistencia entre los HAP totales con la suma de los HAP $\leq 228 \text{ g mol}^{-1}$ y HAP $> 228 \text{ g mol}^{-1}$, determinados independientemente. Esto confirma que la técnica patentada CEMAUF es eficiente para extraer los HAP en el aerosol atmosférico colectado en musgos.

Los HAP en los musgos se distribuyeron homogéneamente en el AMVM, debido probablemente a la saturación durante el mes de colecta. Los musgos no son una buena matriz para sugerir fuentes de emisión.

8. RECOMENDACIONES

Se recomienda comparar los HAP encontrados en este estudio con los colectados en muestreadores activos.

Se debe reducir el periodo de colecta para evitar saturar a los musgos.

9. BIBLIOGRAFÍA

Abbas I., Badran G., Verdin A., Ledoux F. y Garçon G. (2018). Review: Polycyclic aromatic hydrocarbon derivatives in airborne particulate matter: sources, analysis and toxicity. *Environmental Chemistry Letters* 16, 439-475.

Amador-Muñoz O., Villalobos-Pietrini R., Agapito-Nadales M.C., Munive-Colín Z., Hernández-Mena L., Sánchez-Sandoval M., Gómez-Arroyo S., Bravo-Cabrera J. L. y Guzmán-Rincón J. (2010). Solvent extracted organic matter and polycyclic aromatic hydrocarbons distributed in size-segregated airborne particles in a zone of México City: Seasonal behavior and human exposure. *Atmospheric Environment*, 44 122-130.

Amador-Muñoz O., Villalobos-Pietrini R., Miranda J. y Vera L. (2011). Organic compounds of PM_{2.5} in Mexico Valley: spatial and temporal patterns, behavior and sources. *Science of the Total Environment* 409, 1453-1465.

Amador-Muñoz O., Bazán-Torija S., Villa-Ferreira S.A., Villalobos-Pietrini R., Bravo-Cabrera J.L., Munive-Colín Z., Hernández-Mena L., Saldarriaga-Noreña H. y Murillo-Tovar M.A. (2013). Opposing seasonal trends for polycyclic aromatic hydrocarbons and PM₁₀, health risk and sources in Southwest Mexico City. *Atmospheric Research* 122, 199-212.

Amador-Muñoz, O. Santos-Medina G. L., Jazcilevich-Diamant A. y Valle-Hernández B. L. (2014). Celda de extracción a microescala, asistida por ultrasonido, con y sin reflujo, acoplada a un sistema de filtración. Título de patente No. 325624. IMPI. Clasificación: Int. Cl.8: B01D3/00; B01D33/00; G01N1/00. Vigencia 20 años, Titular: UNAM.

Agudo A. (2010). Los Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos (HAP), acercamiento a su problemática como riesgo laboral. Madrid. Secretaria de Salud Laboral y Medio Ambiente MCA-UGT, 25-30,

Andreae M. (2007). ATMOSPHERE: Aerosols Before Pollution. *Science*, 315(5808), 50-51.

Ardiles, V., Cuvertino J, y F. Osorio (2008). Guía de Campo Briófitas de los Bosques Templados Australes de Chile. Una Introducción al Mundo de los Musgos, Hepáticas y Antocerotes que habitan los bosques de Chile. Ed. Corporación Chilena de la Madera, Concepción, Chile 168

Ares A., Aboal J., Carballeira A., Giordano S., Adamo P. y Fernández J. (2012). Moss bag biomonitoring: a methodological review. *The Science of the Total Environment* 432, 143- 158.

Armstrong B., Hutchinson E., Unwin J. y Fletcher T. (2004). Lung cancer risk after exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons: a review and meta-analysis. *Environmental Health Perspective* 112, 970-978.

Arruti A., Fernández-Olmo I. y Irabien A. (2012). Evaluation of the urban / rural particle-bound PAH and PCB level in the northern Spain (Cantabria region). *Environ Monit Assess* 184, 6513-6526.

ATSDR (1995). US Department of Health and Human Services. Toxicological profile for polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) (Update). Atlanta, GA, US.

Augusto S., Gonzalez C., Vieira R., Maguas C., Branquinho C., (2011) *Environmental Science & Technology* 45, 3731–3738.

Bateman D. (1997). *Ellenhorn Medical Toxicology: Diagnosis and Treatment of Human Poisoning* Matthew J Ellenhorn, Second Edition Williams & Wilkins, Human & Experimental Toxicology 1, 287.

Barandovski L., Frontasyeva M., Stafilov T., Sajn R. y Ostrovnaya T. (2015). Multi-element atmospheric deposition in Macedonia studied by the moss biomonitoring technique. *Environmental Science and Pollution Research*, 22, 16077-16097.

Baron P. y Willeke K. (2001). *Aerosol measurement. Principles, techniques and applications*. 2nd Ed., Wiley Interscience.

Beristain-Montiel E., Villalobos-Pietrini R., Arias-Loaiza G.E., Gómez-Arroyo S.L., Amador-Muñoz, O. (2016). An innovative ultrasound assisted extraction micro-scale cell combined with gas chromatography / mass spectrometry in negative chemical ionization to determine persistent organic pollutants in air particulate matter. *journal of chromatography A* 1477, 100-107.

Björseth, A. y Ramdahl, T. (1985). Sources and emissions of PAH. In: *Handbook of polycyclic aromatic hydrocarbons*, 2, 1-20

Caricchia A., Chiavarini S. y Pezza M. (1999). Polycyclic aromatic hydrocarbons in the urban atmospheric particulate matter in the city of Naples (Italy). *Atmospheric Environmental* 33, 3731–3738.

Cajander A.K. (1926). The theory of forest types. *Acta Forestalia Fennica*, 29, 3.

Chow J.C., Watson J.G., Edgerton S.A., Vega E. y Ortíz, E. (2002). Spatial Differences in Outdoor PM10 Mass and Aerosol Composition in Mexico City. *J. Air Waste Manage Association* 52, 423–434.

Connell J. H, Hughes T.P. y Wallace C.C. (1997). A 30-year study of coral abundance, recruitment, and disturbance at several scales in space and time. *Ecological Monographs*, 67, 461–488.

Crum H. (2001). Structural diversity of bryophytes. University of Michigan Herbarium, Ann Arbor. 379

DeNicola F., Spagnuolo V., Baldantoni D., Sessa L., Alfani A., Bargagli R., Monaci F. Terracciano S. y Giordano S. (2013). *Chemosphere* 92, 1224–1230.

De La Torre-Roche, R.J., Lee, W.-Y. y Campos-Díaz, S.I., (2009). Soil-borne polycyclic aromatic hydrocarbons in El Paso, Texas: analysis of a potential problem in the United States/Mexico border region. *Journal of Hazardous Materials* 163, 946-958.

Doigowska S. y Migaszewski Z. (2011). PAH concentrations in the moss species *Hylocomium splendens* (Hedw.) BSG and *Pleurozium schreberi* (Brid.) Mitt. from the Kielce area (south-central Poland), *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 74, 1636–1644.

Domeño C., Canellas E., Alfaro P., Rodríguez-Lafuente A. y Nerín C., J. (2012). Atmospheric pressure gas chromatography with quadrupole time of flight mass spectrometry for simultaneous detection and quantification of polycyclic aromatic hydrocarbons and nitro-polycyclic aromatic hydrocarbons in mosses *Chromatography* 1252, 146–154.

EPA (1996). Environmental Protection Agency, sampling of ambient air for total suspended particulate matter (SPM). Compendium of methods for the determination of inorganic compounds in ambient air". EPA/625/R-96/010A.

EPA (1998). Environmental Protection Agency. Quality assurance handbook for air pollution measurement systems, 2, ambient air quality monitoring program quality system development, EPA-454/R-98-004.

EPA (2010). Environmental Protection Agency. Integrated science assessment for particulate matter. compendium of methods for the determination of inorganic compounds in ambient air. EPA/600/R-08/139F

EPA (2016). Environmental Protection Agency, <http://www.epa.gov/airscience/quick-finder/particulate-matter-image.htm>
Consultado 15 de noviembre 2017.

Estébanez B., Draper I. de Atauri D. y Medina R. (2011). Briófitos: una aproximación a las plantas terrestres más sencillas. Memorias Real Sociedad Española de Historia Natural 2, 9.

European Commission (2004), Second position paper on particulate matter. CAFE Working Group on Particulate Matter. http://ec.europa.eu/environment/archives/cafe/pdf/working_groups/2nd_position_paper_pm.pdf Consultado 12 de agosto de 2018.

Fishbein, L. (2000). General scientific principles of chemical safety. Geneva: World Health Organization.

Foan L., Domercq M., Bermejo R., Santamaría J.M. y Simon V. (2015). Mosses as an integrating tool for monitoring PAH atmospheric deposition: Comparison with total deposition and evaluation of bioconcentration factors. A year-long case-study Chemosphere, 119, 452–458.

Furton K. y Pentzke G. (1998). Polycyclic Aromatic Hydrocarbons. In chromatographic analysis of environmental and food toxicants, Editor Takayuki Shibamoto, Marcel Dekker Inc, Nueva York.

Galuzka A. (2007). Distribution patterns of PAHs and trace elements in mosses *Hylocomium splendens* (Hedw.) B.S.G. and *Pleurozium schreberi* (Brid.) Mitt. from different forest communities: A case study, south-central Poland Chemosphere, 67, 1415–1422.

Gerdol R., Bragazza L., Marchesini R., Medici A., Pedrini P., Benedetti S., Bovolenta A. y Coppi S. (2002). Atmosphere Environmental 36, 4069–4075.

Guo, J., Wu, F., Luo, X., Liang, Z., Liao, H., Zhang, R., Li, W., Zhao, X., Chen, S., Mai y B. (2003). Anthropogenic input of polycyclic aromatic hydrocarbons into five lakes in Western China. Environmental Pollution 158, 2175-2180.

Heumann K. (1986). Isotope dilution mass spectrometry of inorganic and organic substances, Fresenius Journal of Analytical Chemistry, 325, 661-666.

Hespanhol H, Vieira C y Séneca A (2008) Briófitas. Ribeiro S. Pedro de Moel, Marinha Grande. Vertigem - Associação para Promoção do Património.

Holoubek I. y Korinek P., Seda Z., Schneiderova E., Holoubkova I., Pacl A., Triska J., Cudlin P., Caslavsky J. (2000). Environmental Pollution 109, 283–292.

IARC. (International Agency for Research on Cancer). (2010). Some non-heterocyclic polycyclic aromatic hydrocarbons and some related exposures, Monogr Eval Carcinog Risk Hum. 92, 765-771.

IARC. (International Agency for Research on Cancer). (2018). Agents classified by the IARC. <https://monographs.iarc.fr/agents-classified-by-the-iarc/> consultado 29 de octubre de 2018.

INE-SEMARNAT (2009), “Estudio sobre la variabilidad estacional de la composición y toxicidad de partículas finas en el valle de México”. Segundo Reporte Técnico. <https://studylib.es/doc/5189774/qu%C3%A9-son-c%C3%B3mo-son-y-c%C3%B3mo-se-originan-las-part%C3%ADculas> consultado 3 de agosto de 2018

Inomata Y., Kajino M., Sato K., Ohara T., Kurokawa J., Ueda H., Tang N., Hayakawa K., Ohizumi T. y Akimoto H. (2012). Emission and atmospheric transport of particulate PAHs in Northeast Asia. *Environmental Science Technology* 46,4941-4949.

Jones, K.C. y de Voogt, P. (1999). Persistent organic pollutants (POPs): state of the science. *Environmental Pollution* 100, 209 – 221. Elsevier, Great, Britain.

Karickhoff S.W. (1981). Semiempirical estimation of sorption of hydrophobic pollutants on natural sediments and soils. *Chemosphere*. 10, 833–846. Elsevier, Netherland.

Kavouras I., Koutrakis P., Tsapakis M., Lagoudaki E., Euripides G., Stephanou D. y Oyola, P. (2001). Source apportionment of urban particulate aliphatic and polynuclear aromatic hydrocarbons (PAHs) using multivariate methods. *Environmental Science and Technology* 35, 2288–2294.

Kozák I., Kozák M., Fekete J. y Sharma V. (2003). *Journal of Environmental Science and Health, Part A* 38, 2613–2619.

LGEEPA (2016), Ley General del Equilibrio Ecológico y la Protección al Ambiente

Liu X., Zhang G., Jones K., Li X., Peng X. y Qi S. (2005) *Atmosphere Environmental* 39, 5490–5499.

Mackay D. y Calcott D. (1998). Partitioning and physical chemical properties of PAHs. In: PAHs and related compounds. The handbook of environmental chemistry. Neilson, A.H. (Ed) Springer, Berlin, Germany, 325–446.

Mackay D., Shiu W., Ma K. y Lee S. (2006). *Handbook of Physical-Chemical Properties and Environmental Fate for Organic Chemicals*.

- Malizia D., Giuliano G. Ortaggi y Masotti A. (2012). Common plants as alternative analytical tools to monitor heavy metals in soil. *Chemistry Central Journal* 6, 6.
- Manahan S. (2007). *Environmental science and technology*. Boca Raton: CRC/Taylor & Francis.
- Mastandrea C., Chichizola C., Ludueña B., Sánchez H., Álvarez H. y Gutiérrez A. (2005). Hidrocarburos aromáticos policíclicos. Riesgos para la salud y marcadores Biológicos. *Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana* 39, 27-36
- Mastrangela, G., Fadda E. y Marzia E. (1997). Polycyclic aromatic hydrocarbons and cancer in man. *Environmental Health and Perspectives* 104, 1166-1170.
- Martínez-Ataz E. y Mera-Morales D. (2004). *Contaminación atmosférica*. Cuenca: Ediciones de la Universidad de Castilla-La Mancha. Ediciones de la Universidad de Castilla-La Mancha.
- Meharg A. A., Wright J., Dyke H. y Osborn D. (1998). Polycyclic aromatic hydrocarbon (PAH) dispersion and deposition to vegetation and soil following a large scale chemical fire. *Environmental Pollution* 99, 29 – 36.
- Nadal M., Schuhmacher M. y Domingo, J. L. (2004). Levels of PAHs in soil and vegetation samples from Tarragona Country, Spain. *Environmental Pollution* 132, 1–11.
- Nehira K., (1983). Spore germination, protonema development and sporeling development in R. M. *New manual of Bryology* 1, 343-385.
- Neilson A.H. (1998). *PAHs and related compounds*. Springer, Berlin.
- Olaguer E. (2017). Particulate matter and surface deposition. *Atmospheric impacts of the oil and gas industry*. Chapter 5, 47-53.
- Oliván G., Valdevenito C. L., Larraín J., Vargas R., Benitez-Mora A., Rondanelli-Reyes M., y Fuentes E. (2010). Bonos de turbera: una forma efectiva de cooperación al desarrollo. *En* G. Echagüe, A. Torrego, and M. Seoane, editores. *Conama10: Congreso Nacional del Medio Ambiente*, Fundación Conama, Madrid, Spain
- Ötvös E., Kozák I., Fekete J., Sharma V. y Tuba Z. (2004). *Science Total Environment* 330, 89–99.
- Park S., Kim Y. y Kang C. (2002). Atmospheric polycyclic aromatic hydrocarbons in Seoul, Korea. *Atmospheric Environment* 36, 2917–2924.

- Pies C., Hoffmann B., Petrowsky J., Yang Y., Ternes T. y Hofmann T. (2008). Characterization and source identification of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in river bank soils. *Chemosphere* 72, 1594-1601
- Qarri F., Lazo P., Bekteshi L., Stafilov T., Frontasyeva M. y Harmens H. (2014). The effect of sampling scheme in the survey of atmospheric deposition of heavy metals in Albania by using moss biomonitoring. *Environmental Science and Pollution Research* 22, 2258-2271.
- Ravindra K., Sokhi R. y Van Grieken R. (2008a). Atmospheric polycyclic aromatic hydrocarbons: source attribution, emission factors and regulation. *Atmospheric Environmental* 42, 2895-2921.
- Ravindra K., Wauters E. y Van Grieken R. (2008b). Variation in particulate PAHs levels and their relation with the transboundary movement of the air masses. *Science of the Total Environment* 396, 100-110.
- Rajput N. y Lakhani A. (2012). Particle associated polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in urban air of agra. *Polycyclic Aromatic Compounds* 32, 48-60.
- Roy S., Sen C. y Hanninen O. (1996). Monitoring of polycyclic aromatic hydrocarbons using 'moss bags': Bioaccumulation and responses of antioxidant enzymes in *Fontinalis antipyretica* Hedw. *Chemosphere* 32, 2305–2315.
- Salo H. (2014). Preliminary comparison of the suitability of three sampling materials to air pollution monitoring. *Fennia*, 192, 154-163.
- Salo H. y Mâkinen J. (2014). Magnetic biomonitoring by moss bags for industry-derived air pollution in SW Finland. *Atmospheric Environment* 97, 19-27.
- Shaw A. J. y Renzaglia K. S. (2004). Phylogeny and diversification of bryophytes. *American Journal of Botany* 91, 1557–1581.
- Skert N., Falomo J., Giorgini L, Acquavita A., Capriglia L., Grahonja R. y Miani N. (2010). *Water Air Soil Pollution* 206, 95–103.
- SMA (2009). Sistema Nacional de Información de Calidad del Aire. <http://sinaica.ine.gob.mx/>, Consultado el 15 de noviembre de 2017
- Smith J.E. (1979). Towards an experimental approach to bryophyte taxonomy. In: G.C.S. Clarke & J.G.Duckett. *Bryophyte systematics* 195–206.

Sosa G. (2009), Recent studies in the mcma and their implications on air quality management. Trabajo presentado en el Seminario Internacional sobre Calidad del Aire y Efectos a la Salud. Diciembre 2-3, México, D.F.

Spivack S., Hurteau G. y Reilly A. (2001). Aldours K. CYP1B1 expresion in human lung. Drug MetabDispos

Stankovic S., Kalaba P. y Stankovic A. (2014). Biota as toxic metal indicators. Environmental Chemistry Letters 12, 63-84.

Stellman J y McCan M. (1998). Hidrocarburos poliaromáticos. En: Enciclopedia de Salud y Seguridad en el Trabajo. 3ª edición. Madrid: Organización Internacional del Trabajo. Ministerio de Trabajo y Asuntos Sociales, Subdirección General de Publicaciones, 310-319.

Thiele S. y Brummer G. (2002). Bioformation of polycyclic aromatic hydrocarbons in soil under oxigen deficient conditions. Soil Biology and Biochemistry 34, 733-735.

Ussing H. (1939) Analysis of protein by means of deuterium-containing aminoacids, Nature 144, 977.

Villalobos-Pietrini R., Hernández-Mena L., Amador-Muñoz O., Munive-Colín Z., Bravo-Cabrera J., Gómez-Arroyo J., Frías-Villegas A., Waliszewski S., Ramírez-Pulido J., y Ortiz-Muñiz R. (2007). Biodirected mutagenic chemical assay of PM10 extractable organic matter in southwest Mexico City. *Mutat. Res.* 634,192–204.

Wenzel K., Hubert A., Manz M., Weissflog L., Engewald W. y Schuurmann G. (1998) Analytical Chemistry, 70, 4827-4835.

WHO Europe (2005), World Health Organization Europe Air Quality Guidelines. Particulate Matter, Ozone, Nitrogen Dioxide and Sulfur Dioxide. https://wedocs.unep.org/bitstream/handle/20.500.11822/22218/Perspective_No_28_web.pdf?sequence=1 Consultado 16 de septiembre de 2017.

Yu J., Garfinkel A.B. y Wolfner M.F. (2002). Interaction of the essential Drosophila nuclear protein YA with P0/AP3 in the cytoplasm and in vitro: implications for developmental regulation of YA's subcellular location 244, 429-431

Zarazúa-Ortega G., Poblano-Bata J., ITejeda-Vega S., Ávila-Pérez P., Zepeda-Gómez C., Ortiz-Oliveros H. y Macedo-Miranda G. (2013). Assessment of spatial variability of heavy metals in metropolitan zone of toluca valley, mexico, using the biomonitoring technique in mosses and TXRF analysis. The Scientific World Journal 7.

Zechmeister H, Dullinger S., Hohenwallner D., Riss A., Hanus-Ilmar A. y Scharf S. (2006) *Environment Science Pollution* 13, 398–405.

Zepeda-Gómez, C., Ávila-Pérez P., Díaz-García U., Alanís-Martínez Y., Zarazúa-Ortega G. y Amaya-Chávez A. (2014). Diversidad de musgos epifitos de la zona metropolitana del valle de Toluca, México. *Revista Mexicana de Biodiversidad* 85, 108-124.

Zhang W., Zhang S., Wan C., Yue D. Ye Y. y Wang, X. (2008). Source diagnostics of polycyclic aromatic hydrocarbons in urban road runoff, dust, rain and canopy throughfall. *Environmental Pollution* 153, 594-601.

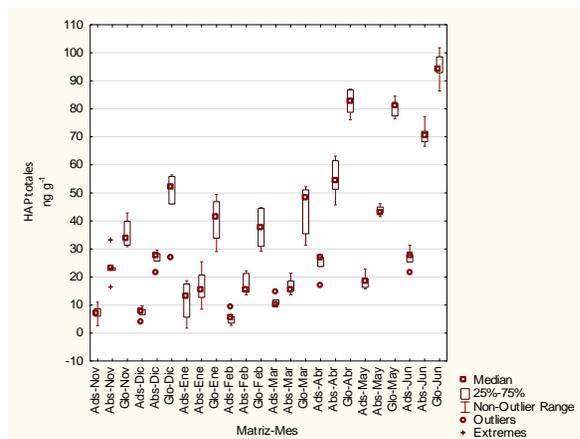
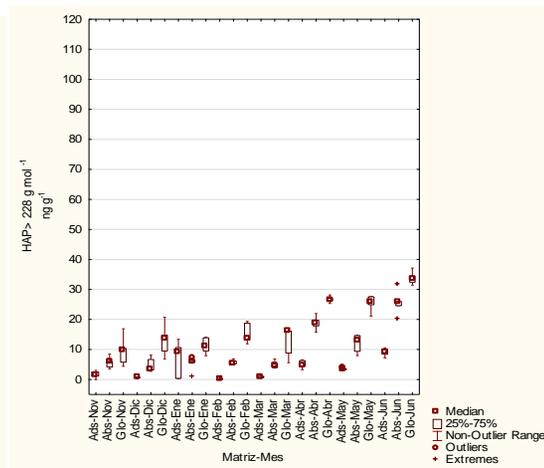
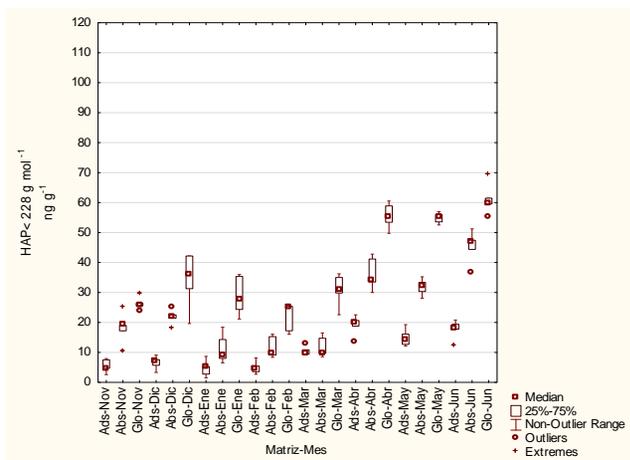
10.ANEXOS

Anexo I. Valores de porcentaje de recobro utilizado en el diseño de experimento 2³ centrado utilizando 13 HAP nativos.

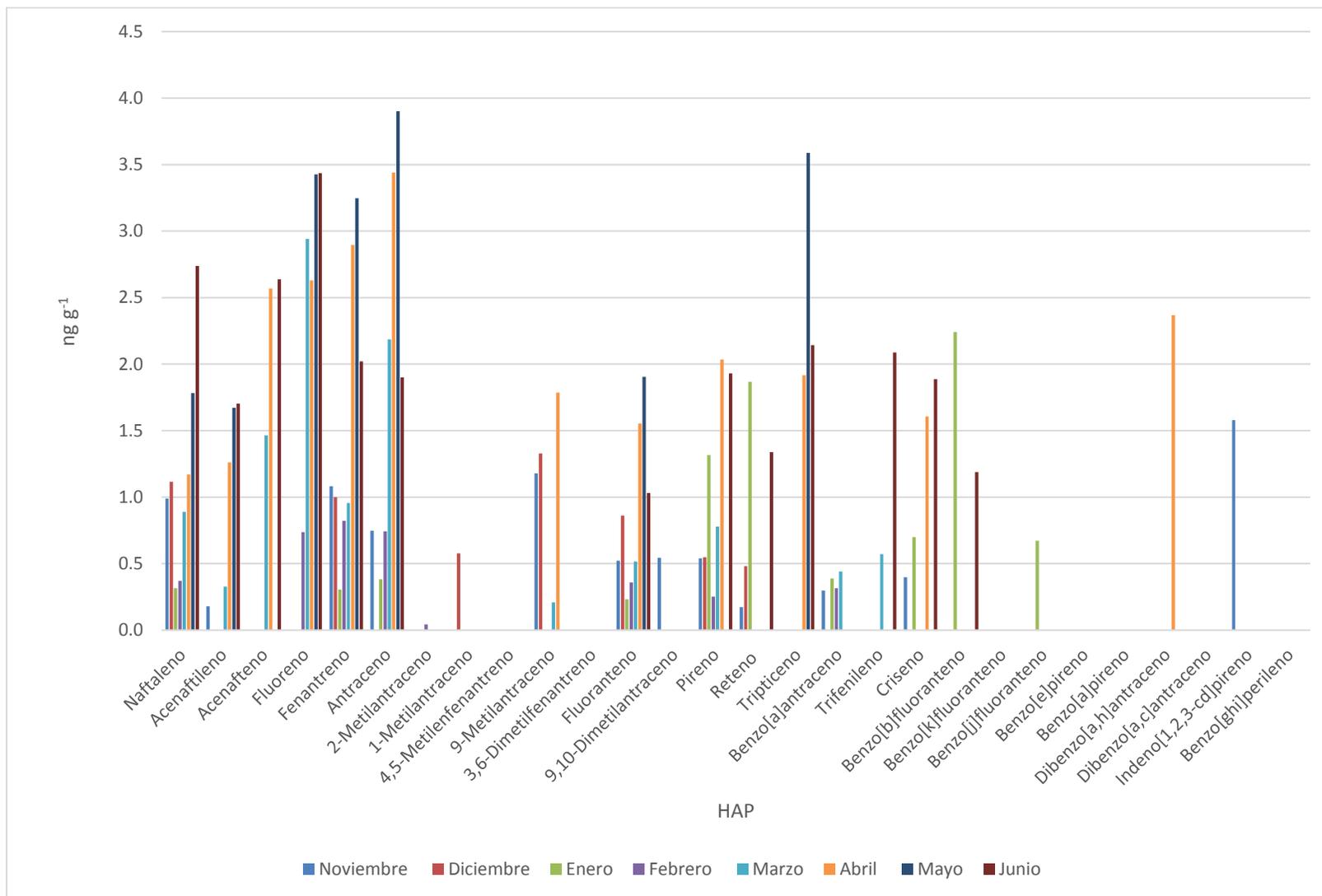
Experimento	Temperatura (°C)	tiempo (min)	Potencia (%)	Naf	Actil	Acno	Fno	Fen	Ant	Flt	Pir	BaA	Tri	Cris	BbF	BkF
E11	30	5	80	66.85	58.36	49.24	61.15	16.48	67.79	28.69	58.45	67.11	89.84	88.67	93.85	76.44
E12	30	5	80	64.65	55.96	45.73	50.92	17.01	74.66	31.00	47.06	70.95	81.04	86.61	95.83	78.00
E13	30	5	80	65.75	57.16	47.48	56.04	16.75	71.23	29.85	52.76	69.03	85.44	87.64	94.84	77.22
E21	30	5	40	18.78	62.71	26.61	61.62	21.46	9.74	28.75	56.88	57.60	81.73	80.80	63.14	57.26
E22	30	5	40	21.36	51.05	27.33	60.93	22.45	8.81	27.72	56.26	57.34	92.40	87.90	68.10	58.76
E23	30	5	40	20.07	56.88	26.97	61.28	21.95	9.28	28.24	56.57	57.47	87.07	84.35	65.62	58.01
E31	30	15	40	94.75	78.17	80.39	95.90	63.90	49.23	84.52	81.26	90.01	75.32	69.05	89.07	75.72
E32	30	15	40	112.47	82.89	83.59	100.46	70.57	57.35	78.46	93.97	89.41	70.96	73.45	84.01	71.83
E33	30	15	40	98.95	89.19	72.33	81.47	58.00	47.94	67.79	92.56	83.19	68.84	66.68	78.90	70.18
E41	30	15	80	106.03	68.07	63.66	73.95	74.23	66.08	78.66	74.38	76.59	71.50	74.26	69.04	57.95
E42	30	15	80	107.88	67.39	67.33	76.65	70.22	58.31	70.03	73.58	77.24	71.57	80.27	62.97	51.49
E43	30	15	80	103.18	69.47	58.48	57.77	56.97	51.37	58.64	63.49	71.58	63.22	62.87	52.25	46.29
E51	60	15	40	76.72	54.70	66.76	49.72	47.29	44.36	50.81	52.05	49.57	45.72	46.25	51.46	45.46
E52	60	15	40	81.25	50.88	72.56	62.37	53.98	49.14	56.81	54.81	48.42	54.08	51.15	47.84	42.06
E53	60	15	40	86.43	51.17	71.63	60.70	44.96	48.75	44.32	43.51	39.36	44.17	44.67	37.75	35.50
E61	60	15	80	69.69	52.46	68.37	73.13	49.33	48.49	41.10	46.37	67.07	74.30	74.83	50.83	44.15
E62	60	15	80	64.01	54.18	64.96	73.88	62.48	51.04	40.84	49.15	62.47	78.76	77.76	54.04	52.19
E63	60	15	80	77.57	60.88	69.61	74.55	58.82	43.19	51.34	60.60	63.70	68.38	66.85	51.92	49.08
E71	60	5	80	97.82	72.84	73.31	83.83	85.41	69.31	75.15	74.06	98.44	84.70	87.84	92.69	84.25
E72	60	5	80	104.68	90.93	78.66	78.20	80.23	78.08	85.49	81.76	99.45	100.36	98.52	86.92	83.32
E73	60	5	80	106.65	93.42	72.74	88.56	92.87	83.99	83.33	86.70	98.54	92.95	90.62	96.64	96.65

E81	60	5	40	115.35	90.64	78.69	92.14	88.29	89.41	83.78	83.60	93.81	97.74	99.08	109.98	94.69
E82	60	5	40	112.21	101.82	85.59	97.55	94.14	95.44	82.43	105.15	81.49	81.18	79.29	117.44	96.85
E83	60	5	40	109.49	97.00	88.40	96.00	105.72	83.89	75.97	95.17	77.21	86.82	92.17	116.20	92.18
EC1	45	10	60	91.81	74.25	84.98	72.62	81.29	65.38	60.16	67.83	72.57	90.68	96.51	64.63	60.78
EC2	45	10	60	93.23	90.35	95.46	92.89	75.74	68.41	70.96	65.99	87.41	97.88	99.41	60.69	52.79
EC3	45	10	60	99.65	93.01	100.30	89.89	78.57	82.08	64.58	65.17	74.08	92.97	92.75	57.25	60.36

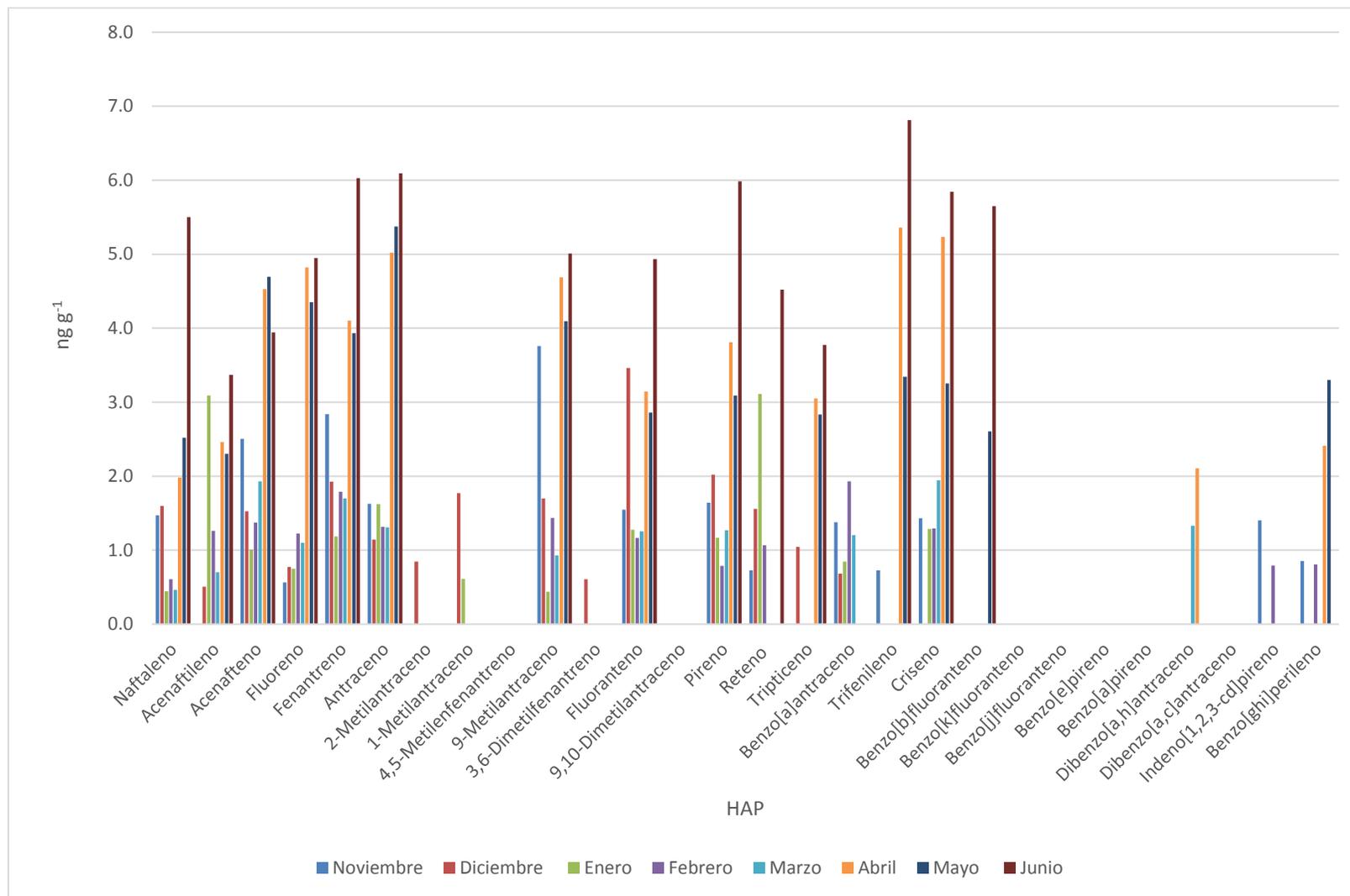
Anexo II. Variación temporal de adsorción, absorción y global en HAP de bajo (< 228 g mol⁻¹) y alto peso molecular (< 228 g mol⁻¹) y total de HAP en ng g⁻¹ de musgo colectado en el AMVM, N=40 p<0.01.



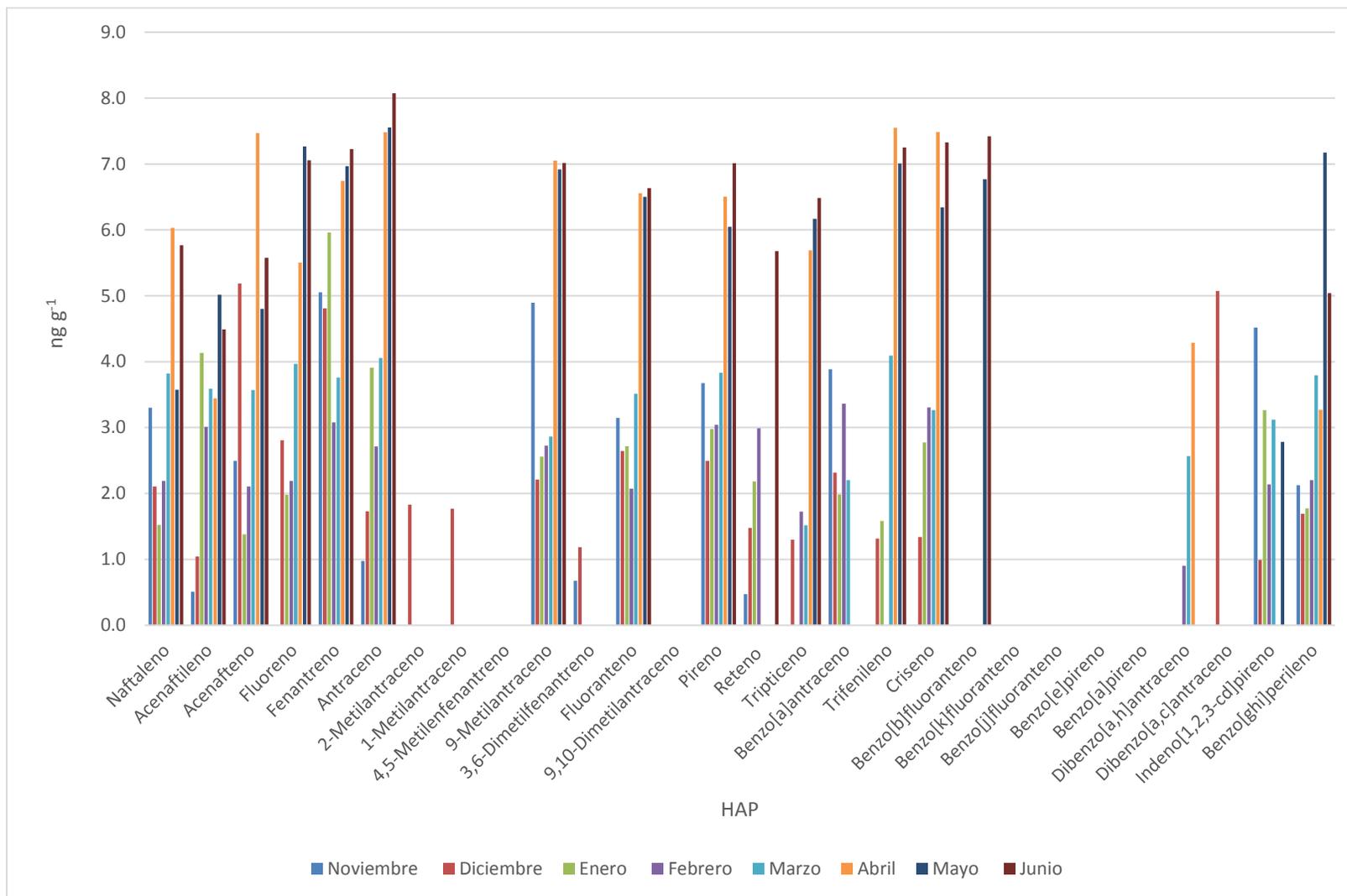
Anexo III. Medianas de la concentración de HAP adsorbidos al musgo en AMVM.



Anexo IV. Medianas de la concentración de HAP absorbidos al musgo en AMVM.



Anexo V. Medianas de la concentración de HAP en el musgo completo en AMVM.



11.PRODUCTOS CIENTÍFICOS GENERADOS

Congresos Nacionales

García-Ibarra A., Gómez-Arroyo S., Amador-Muñoz O., Optimización de las condiciones de extracción mediante un diseño de experimentos 2^3 centrado, para la determinación de hidrocarburos aromáticos policíclicos en musgo. 20-24 jun 2017. AMQA. Nuevo León, Guanajuato.

García-Ibarra A., Gómez-Arroyo S., Amador-Muñoz O., Optimización y aplicación de un método analítico para la determinación de hidrocarburos aromáticos policíclicos ad/absorbidos en musgos usados como bioindicadores y su análisis espacio-temporal. 8-10 oct 2018. REDCAM. Centro de Ciencias de la Atmósfera, CDMX.