

UNIVERSIDAD AUTONOMA DE NUEVO LEON

FACULTAD DE MEDICINA



DETERMINACION DE HIDROCARBUROS AROMATICOS
POLICICLICOS EN EL RIO PESQUERIA EN
NUEVO LEON, MEXICO

Por

M.C. ALICIA RAMIREZ MEDRANO

Como requisito parcial para obtener el Grado
de DOCTOR EN CIENCIAS con
Especialidad en Química Biomédica

JULIO 2008

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN
FACULTAD DE MEDICINA**



**DETERMINACIÓN DE HIDROCARBUROS AROMÁTICOS POLICÍCLICOS
EN EL RÍO PESQUERÍA EN NUEVO LEÓN, MÉXICO.**

Por

M.C. ALICIA RAMÍREZ MEDRANO

**Como requisito parcial para obtener el Grado
de DOCTOR EN CIENCIAS con
Especialidad en Química Biomédica**

Julio 2008

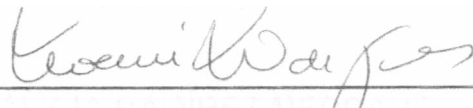
**DETERMINACIÓN DE HIDROCARBUROS AROMÁTICOS POLICÍCLICOS
EN EL RÍO PESQUERÍA EN NUEVO LEÓN, MÉXICO.**

Aprobación de la Tesis:



DRA. ROCÍO CASTRO RÍOS

Directora de Tesis



DRA. NOEMI WAKSMAN DE TORRES

Co-Directora de Tesis



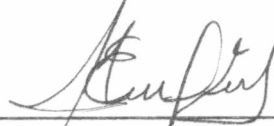
DRA. MA. DE LA LUZ SALAZAR CAVAZOS

Comisión de Tesis

1A/Ulcu) CM 2

DRA. NORMA CECILIA CAVAZOS ROCHA

Comisión de Tesis



DRA. NORA EMMA DIAZ MOROLES

Comisión de Tesis

M'VA h-

DR. DIONICIO A. GALARZA DELGADO

Subdirector de Estudios de Posgrado

DETERMINACIÓN DE HIDROCARBUROS AROMÁTICOS POLICÍCLICOS EN EL RÍO PESQUERÍA EN NUEVO LEÓN, MÉXICO.

Presentado por:

M.C. ALICIA RAMÍREZ MEDRANO

Este trabajo se realizó en los Laboratorios del Departamento de Química Analítica de la Facultad de Medicina, de la Universidad Autónoma de Nuevo León, bajo la dirección de la Dra. Rocío Castro Ríos y la codirección de la Dra. Noemí Waksman de Torres.

FIRMAS

DIRECTORA



Dra. Rocío Castro Ríos

CO DIRECTORA

Dra. Noemí Waksman de Torres

TABLA DE CONTENIDO

Capítulo	Página
I. INTRODUCCIÓN	1
1.1. El Agua	2
1.2. Contaminantes Orgánicos Persistentes	3
1.2.1. Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos	4
1.2.1.1. Toxicidad de los PAHs	7
1.2.2. Legislación de COPs	8
1.3. Zona Metropolitana de Monterrey	10
1.3.1. Fuentes de contaminación en la ZMM	11
1.3.2. Sistema hidrográfico en Nuevo León	12
II. ANTECEDENTES	13
2.1. Análisis de PAHs	13
2.2. Estudios de PAHs en México	19
2.2.1. Estudios de PAHs en el Departamento de Química Analítica, UANL	21
2.3. Justificación	22
2.4. Objetivo General	23
2.5. Objetivos específicos	23
III. MATERIAL Y MÉTODOS	25
3.1. Equipo, material y reactivos	25
3.1.1. Equipos	25
3.1.2. Materiales	26
3.1.3. Reactivos	28
3.2. Metodología	30
3.2.1. Preparación de soluciones utilizadas en el análisis de PAHs por HPLC	30
3.2.2. Ajuste de condiciones cromatográficas para el análisis de PAHs	31
3.2.2.1. Método cromatográfico	31

3.2.2.2. Evaluación del sistema cromatográfico utilizado para la valoración del desempeño de los métodos de extracción de PAHs en agua	33
3.3. Desarrollo de métodos de extracción para agua	34
3.3.1. Microextracción líquido-líquido de gota en modalidad de inmersión (SDME-INM)	34
3.3.2. Microextracción líquido-líquido de gota en modalidad de headspace (SDME-HS)	36
3.3.3. Microextracción en fase sólida en modalidad de headspace (SPME-HS)	39
3.4. Evaluación del desempeño de métodos de extracción para agua	41
3.4.1. Condiciones experimentales de SPE	41
3.4.2. Condiciones experimentales de SPME-INM	43
3.4.3. Evaluación del desempeño de los métodos de extracción de PAHs en agua	44
3.5. Validación del método de extracción en agua	46
3.5.1. Linealidad	47
3.5.2. Límite de detección	48
3.5.3. Límite de cuantificación	48
3.5.4. Exactitud y Presición	49
3.6. Implementación de métodos de extracción para sedimento	50
3.6.1. Soxhlet-Columna de Sílice	51
3.6.2. Sonicación-Columna de Sílice	53
3.6.3. Sonicación-Extracción en fase sólida Ci ₈	55
3.6.4. Evaluación del desempeño de los métodos de extracción de PAHs en sedimento	56
3.7. Validación del método de extracción para sedimento	57
3.7.1. Linealidad	57
3.7.2. Límite de detección	58
3.7.3. Límite de cuantificación	59
3.7.4. Exactitud y Presición	59

3.8. Muestreo y Aplicación de los Métodos de Extracción	60
IV. RESULTADOS	65
4.1. Método cromatográfico	65
4.2. Desarrollo de los procesos de extracción para PAHs en agua	68
4.2.1. Microextracción líquido-líquido de gota en modalidad de inmersión (SDME-INM)	68
4.2.2. Microextracción líquido-líquido de gota en modalidad de headspace (SDME-HS)	71
4.2.3. Microextracción en fase sólida en modalidad de headspace (SPME-HS)	73
4.3. Evaluación del desempeño de métodos de extracción de agua	75
4.4. Validación del método de extracción en agua	78
4.5. Desarrollo de métodos de extracción en sedimento	81
4.5.1. Soxhlet-Columna de Sílice	83
4.5.2. Sonicación-Columna de Sílice	83
4.5.3. Sonicación-Extracción en fase sólida C_{18}	84
4.6. Evaluación del desempeño de los métodos de extracción de PAHs en sedimento	86
4.7. Validación del método de extracción para sedimento	89
4.8. Muestreo en el río Pesquería	91
V. DISCUSIÓN	102
5.1. Método cromatográfico	102
5.2. Extracción de PAHs en agua	104
5.2.1. Microextracción líquido-líquido de gota en modalidad de inmersión (SDME-INM)	104
5.2.2. Microextracción líquido-líquido de gota en modalidad de headspace (SDME-HS)	106
5.2.3. Microextracción en fase sólida en modalidad de headspace (SPME-HS)	107
5.2.4. Desempeño de métodos de extracción para agua	108
5.2.5. Validación del método de extracción SPME-INM en agua	109

5.3. Extracción de PAHs en sedimento	110
5.3.1. Soxhlet-Columna de Sílice	111
5.3.2. Sonicación-Columna de Sílice	111
5.3.3. Sonicación-Extracción en fase sólida C_{18}	112
5.3.4. Desempeño de los métodos de extracción en sedimento	113
5.3.5. Validación del método de extracción Sonicación- SPECis para sedimento	114
5.4. Muestreo en el río Pesquería	115
5.4.1. Resultados de las muestras de agua y sedimento en el río Pesquería	118
VI. CONCLUSIONES Y PERSPECTIVAS	123
6.1. Conclusiones	123
6.2. Perspectivas	124
BIBLIOGRAFÍA	125

LISTA DE FIGURAS

Figura		Página
1.	Transferencia de los PAHs en las diversas matrices ambientales	4
2.	Estructura de los 16 PAHs considerados como contaminantes prioritarios	6
3.	Zona Metropolitana de Monterrey	11
4.	Esquema de SDME-INM	35
5.	Montaje experimental de la extracción SDME-INM	36
6.	Esquema de SDME-HS	37
7.	Montaje experimental de la extracción SDME-HS	39
8.	Diagrama de experimentos SPME-HS para la elección de la fibra de trabajo	40
9.	Fotografía del montaje experimental de la SPME-HS	41
10.	Fotografía de la realización SPE en muestras de agua	42
11.	Fotografía de la realización de SPME-INM en muestras de agua	44
12.	Fotografía de los sitios de toma de muestra de agua en los ríos de la región y su ubicación geográfica	45
13.	Ubicación del punto de muestreo y características fisicoquímicas de la muestra de sedimento empleada en pruebas preliminares	50
14.	Ubicación del punto de muestreo y características fisicoquímicas de la muestra de sedimento empleada en pruebas de extracción en sedimento	51
15.	Montaje experimental del procedimiento Soxhlet	52
16.	Procedimiento de Sonicación- Columna de Sílice para la extracción de PAHs en sedimento de río.	54
17.	Montaje experimental de la técnica de extracción Sonicación- Columna de Sílice	54
18.	Diagrama de flujo del procedimiento de extracción Sonicación- SPEds en sedimento de río.	56
19.	Puntos de muestreo en el río Pesquería	60
20.	Mapa satelital de los puntos de muestreo	61

21.	Fotografía de los puntos de muestreo en el cauce del río Pesquería y su sedimento correspondiente	62
22.	Muestreo de agua y sedimento	63
23.	Cromatogramas de estándares internos y mezclas	66
24.	Cromatograma UV de la mezcla de PAHs con nitrobenzeno y p- terfenilo	67
25.	Separación cromatográfica de la mezcla de PAHs incluido el p- terfenilo como estándar interno	67
26.	Cromatogramas de extracción SDME-INM, pruebas de solventes	69
27.	Cromatogramas de extracción SDME-INM, pruebas de volumen de extracción	69
28.	Cromatogramas de extracción SDME-INM, pruebas de adición de NaCl	70
29.	Cromatograma obtenido por SDME-INM	70
30.	Cromatogramas de extracción SDME-HS, pruebas de solventes	71
31.	Cromatogramas de extracción SDME-HS, pruebas de temperatura de extracción	72
32.	Cromatograma obtenido por SDME-HS	73
33.	Cromatogramas de extracción SPME-HS, pruebas de fibras	73
34.	Cromatogramas de extracción SPME-HS, pruebas de temperatura de extracción	74
35.	Cromatograma obtenido por SPME-HS	75
36.	Cromatogramas fortificados con PAHs correspondientes a los procesos de extracción de agua	76
37.	Cromatogramas de PAHs por SPME-INM	80
38.	Cromatograma correspondiente al sedimento proveniente del río Pilón utilizado como blanco	81
39.	Cromatogramas de sedimentos, pruebas de interacción de matriz	82
40.	Cromatograma obtenido por Soxhlet-Columna de Sílice	83
41.	Cromatograma obtenido por Sonicación-Columna de Sílice	83
42.	Cromatogramas de sedimento, pruebas de agitación	84
43.	Cromatogramas de sedimento, escalamiento del proceso Sonicación-SPEds	85
44.	Cromatograma obtenido por extracción Sonicación-SPEds	85

45.	Cromatogramas fortificados con PAHs correspondientes a los procesos de extracción de sedimento	86
46.	Cromatogramas de PAHs en sedimento por Sonicación-SPEds	91

LISTA DE TABLAS

Tabla		Página
I.	Parámetros de Calidad de Aguas Superficiales y Subterráneas. NOM-001-ECOL-1996.	3
II.	Propiedades fisicoquímicas de los Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos.	5
III.	Límites máximos permisibles para PAHs marcados en la Ley Federal de Derechos.	9
IV.	Límites máximos permisibles para hidrocarburos específicos en suelo.	10
V.	Reportes encontrados de PAHs en diversas matrices ambientales en México.	20
VI.	Concentraciones de PAHs en las diferentes soluciones de trabajo.	30
VII.	Método cromatográfico empleado para la separación de los PAHs	32
VIII.	Programa de fluorescencia empleado para la detección de los PAHs	32
IX.	Niveles de concentración de las curvas de calibración para PAHs por HPLC UV/FLU	33
X.	Condiciones iniciales de prueba para la extracción de PAHs en agua utilizando SDME-INM	35
XI.	Condiciones finales de prueba para la extracción de PAHs en agua utilizando SDME-INM	36
XII.	Condiciones iniciales de prueba para la extracción de PAHs en agua utilizando SDME-HS	37
XIII.	Condiciones finales de prueba para la extracción de PAHs en agua utilizando SDME-HS	38
XIV.	Condiciones iniciales de prueba para la extracción de PAHs en agua utilizando SPME-HS	39

XV.	Condiciones finales de prueba para la extracción de PAHs en agua utilizando SPME-HS	41
XVI.	Condiciones para la extracción de PAHs por SPE	43
XVII.	Condiciones de extracción para PAHs por SPME-INM	43
XXVIII.	Resultados del análisis fisicoquímico de las aguas de río empleadas en la evaluación del desempeño de las técnicas de extracción de PAHs en agua	45
XIX.	Concentración de PAHs en los estándares y muestras adicionadas	47
XX.	Niveles de concentración de las curvas de calibración obtenidas por HPLC UV/FLU	58
XXI.	Concentraciones adicionadas a las muestras de sedimento para la evaluación de la recuperación en las técnicas de extracción evaluadas	59
XXII.	Ubicación geográfica de los puntos de muestreo	61
XXIII.	Evaluación del sistema cromatográfico	68
XXIV.	Criterios aplicados en la selección de la técnica de extracción para PAHs en agua	75
XXV.	Resultados de recuperación para las técnicas de extracción en agua	77
XXVI.	Resultados del porcentaje desviación estándar relativa para las técnicas de extracción en agua	78
XXVII.	Parámetros evaluados para la validación del método para análisis de PAHs en agua por HPLC UV/FLU extraídos por SPME-INM	79
XXVIII.	Resultados de recuperación para las técnicas de extracción en sedimento	87
XXIX.	Desviaciones estándar relativas para muestras de sedimento de río con las técnicas de extracción evaluadas	88
XXX.	Parámetros evaluados para la validación del método para análisis de PAHs en sedimento por HPLC UV/FLU extraídos por Sonicación-SPEds	90

XXXI.	Resultados del análisis fisicoquímico en muestras de agua y sedimento provenientes del río Pesquería correspondientes al mes de marzo 2008.	92
XXXII.	Resultados del análisis fisicoquímico en muestras de agua y sedimento provenientes del río Pesquería correspondientes al mes de abril 2008.	92
XXXIII.	Resultados del análisis fisicoquímico en muestras de agua y sedimento provenientes del río Pesquería correspondientes al mes de mayo 2008.	93
XXXIV.	Resultados del análisis de PAHs en muestras de agua y sedimento correspondientes a la estación 1 de muestreo en el cauce del río Pesquería	94
XXXV.	Resultados del análisis de PAHs en muestras de agua y sedimento correspondientes a la estación 2 de muestreo en el cauce del río Pesquería	95
XXXVI.	Resultados del análisis de PAHs en muestras de agua y sedimento correspondientes a la estación 3 de muestreo en el cauce del río Pesquería	96
XXXVII.	Resultados del análisis de PAHs en muestras de agua y sedimento correspondientes a la estación 4 de muestreo en el cauce del río Pesquería	97
XXXVIII.	Resultados del análisis de PAHs en muestras de agua y sedimento correspondientes a la estación 5 de muestreo en el cauce del río Pesquería	98
XXXIX.	Resultados del análisis de PAHs en muestras de agua y sedimento correspondientes a la estación 6 de muestreo en el cauce del río Pesquería	99
XL.	Resultados del análisis de PAHs en muestras de agua y sedimento correspondientes a la estación 7 de muestreo en el cauce del río Pesquería	100
XLI.	Resultados del análisis de PAHs en muestras de agua y sedimento correspondientes a la estación 8 de muestreo en el cauce del río Pesquería	101

APÉNDICES

Figura		Página
A.	Cromatogramas de muestras de agua y sedimento, provenientes de la estación 1 de muestreo establecida en el cauce del río Pesquería.	135
B.	Cromatogramas de muestras de agua y sedimento, provenientes de la estación 2 de muestreo establecida en el cauce del río Pesquería.	136
C.	Cromatogramas de muestras de agua y sedimento, provenientes de la estación 3 de muestreo establecida en el cauce del río Pesquería.	137
D.	Cromatogramas de muestras de agua y sedimento, provenientes de la estación 4 de muestreo establecida en el cauce del río Pesquería.	138
E.	Cromatogramas de muestras de agua y sedimento, provenientes de la estación 5 de muestreo establecida en el cauce del río Pesquería.	139
F.	Cromatogramas de muestras de agua y sedimento, provenientes de la estación 6 de muestreo establecida en el cauce del río Pesquería.	140
G.	Cromatogramas de muestras de agua y sedimento, provenientes de la estación 7 de muestreo establecida en el cauce del río Pesquería.	141
H.	Cromatogramas de muestras de agua y sedimento, provenientes de la estación 8 de muestreo establecida en el cauce del río Pesquería.	142

ABREVIACIONES Y SÍMBOLOS

°C	Grados Celsius
ACN	Acetonitrilo
ATSDR	Agency for toxic substances and disease registry
CE	Comunidad Europea
CG	Cromatografía de Gases
CONAGUA	Comisión Nacional del Agua
COPs	Contaminantes Orgánicos Persistentes
DBO	Demanda Bioquímica de Oxígeno
DIF	Detector de Ionización de Flama
DQO	Demanda Química de Oxígeno
DVB	Divinilbenceno
EPA	Agencia de Protección Ambiental de Estados Unidos
FLU	Fluorescencia
HPLC	Cromatografía de Líquidos de Alta Resolución
HS	headspace
IARC	Agencia Internacional de Investigación del Cáncer
INEGI	Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática
kg	Kilogramo
km²	Kilómetro cuadrado
L	Litros
LC	Límite de cuantificación
LD	Límite de detección
LLE	Extracción líquido-líquido
LPME	Microextracción en fase líquida
m	Metro
m³/s	Metro cúbico por segundo
mg/kg	Miligramos por kilogramo
min	Minutos
mL	Mililitros
mm	Milímetros
MS	Espectrometría de masas

mS	miliSiemens
N	Norte
N.L.	Nuevo León
ng/L	Nanogramos por litro
nm	Nanómetros
NOM	Norma Oficial Mexicana
O	Oeste
OMS	Organización Mundial de la Salud
PAHs	Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos
PDMS	Polidimetilsiloxano
PNUMA	Programa de las Naciones Unidas para el Medio Ambiente
PTFE	Politetrafluoroetileno
r.p.m.	Revoluciones por minuto
RSD	Desviación estándar relativa
SEMARNAT	Secretaría del Medio Ambiente y Recursos Naturales
SPE	Extracción en fase sólida
S-SIL	Sonicación-Columna de Sílice
S-SPE	Sonicación-Extracción en fase sólida
SX-SIL	Soxhlet-Columna de Sílice
THF	Tetrahidrofurano
UANL	Universidad Autónoma de Nuevo León
UV	Ultravioleta
ZMM	Zona Metropolitana de Monterrey
ng/L	Microgramos por litro
pL	Microlitros

RESUMEN

M.C. Alicia Ramírez Medrano
Universidad Autónoma de Nuevo León
Facultad de Medicina

Fecha de graduación: Julio 2008

**Título de la Tesis: DETERMINACIÓN DE HIDROCARBUROS AROMÁTICOS POLICÍCLICOS
EN EL RÍO PESQUERÍA EN NUEVO LEÓN, MÉXICO.**

Número de páginas: 142

Candidato para el grado de Doctor en
Ciencias con especialidad en Química
Biomédica.

Área de estudio: Química Biomédica

Propósito y Método de Estudio:

Los hidrocarburos aromáticos policíclicos (PAHs), son generados por una gran variedad de procesos antropogénicos, principalmente por procesos industriales. La importancia de estos compuestos radica, en que son capaces de causar daño a la salud humana en concentraciones del orden de ng/L, y que permanecen en el ambiente por largos periodos de tiempo sin alterar sus propiedades tóxicas, además sus propiedades fisicoquímicas los hacen ubicuos en el medio ambiente. El problema principal en la detección de este tipo de compuestos en matrices ambientales, es la buena elección de las técnicas de extracción, ya que muchos de los métodos disponibles están basados en procesos laboriosos, largos, que necesitan gran cantidad de muestra y que además generan más residuos al ambiente a partir del proceso mismo. Nuestro objetivo en este trabajo fue el desarrollo y evaluación de diversos métodos de extracción para agua de río y sedimento de río a la extracción de hidrocarburos aromáticos policíclicos utilizando HPLC con detector de ultravioleta y fluorescencia para la detección.

Conclusiones y Contribuciones:

Fueron evaluados cinco procesos de extracción para agua de río y otros tres para sedimento. En el caso del agua se eligió la SPME-INM como la mejor técnica para la determinación de PAHs en esta matriz, el método fue validado y aplicado a las muestras de agua analizadas durante el muestreo. Por otra parte, en el sedimento, se seleccionó la técnica de Sonicación-SPEde como la más adecuada para la extracción de PAHs en esta matriz, el procedimiento fue validado y aplicado a las muestras provenientes del río Pesquería.

Se realizó un muestreo de 8 puntos a lo largo del río Pesquería en los meses de marzo, abril y mayo del 2008, las muestras fueron procesadas con los métodos de extracción previamente optimizados y validados en este estudio y fueron analizadas por HPLC UV/FLU.

Los resultados del muestreo hacen evidente la presencia de PAHs en el río Pesquería, en todas las muestras de agua y sedimento se encontró por lo menos una señal correspondiente a un PAHs. En las muestras de agua correspondientes al mes de abril se encontró fluoreno en concentraciones de 0.390, 0.527, 0.455, 0.660, 0.390, 0.365, 0.620 y 0.722 pg/L en las estaciones 1ª a 8 respectivamente. El fenanteno fue encontrado en concentraciones de 0.520, 0.115 y 0.235 pg/L en las muestras de agua colectadas en el mes de abril de las estaciones 4, 6 y 8. Por otra parte, el sedimento en la estación 5 en el mes de mayo fue el más contaminado, se encontraron 4 PAHs en concentraciones de 0.32 mg/kg para B[b]F, 0.058 mg/kg para B[k]F, 0.085 mg/kg para el B[a]P y de 0.070 mg/kg para el B[ghi]P. El B[b]F fue encontrado también en la estación 7 en las muestras correspondientes al mes de mayo.

**FIRMA
DIRECTORA**

Dra. Rocío Castro Ríos

CAPÍTULO I

INTRODUCCIÓN

“El medio ambiente y los seres humanos son innegablemente, entidades inseparables”

Está suficientemente probado que el cambio ambiental global tiene su origen en la actividad humana; pues si bien los cambios ambientales se han producido durante millones de años, éstos se han exacerbado en las últimas décadas.

El medio ambiente es el entorno que afecta y condiciona las circunstancias de vida de las personas o la sociedad en su conjunto. Comprende valores naturales, sociales y culturales existentes en un lugar y un momento determinado que influyen en la vida del ser humano y en las generaciones venideras. Es decir, no se trata sólo del espacio en el que se desarrolla la vida sino que también abarca seres vivos, objetos, agua, suelo, aire y las relaciones entre ellos [1],

1.1. El Agua

Ser inodora, insípida e incolora son quizás las características más conocidas del agua, sin embargo, esto solo corresponde al agua químicamente pura, en la naturaleza ésta contiene sales minerales y otros compuestos en distintas proporciones.

Este elemento de la naturaleza es indispensable; no tiene sustituto y no se conoce forma de vida que prescindiera de ella. En nuestro planeta, el 69.7% del agua dulce se encuentra congelada en los polos y glaciares, 30% está bajo la tierra y solamente el 0.03% corresponde a la encontrada en ríos y lagos superficiales [2],

El agua es un recurso tipificado como renovable; por mucho tiempo, no existió preocupación sobre el destino final de los residuos generados en diversos procesos y se daba por hecho que la naturaleza “limpiaba” el ambiente; sin embargo, a medida que la naturaleza y composición de los residuos fue cambiando, al aumentar su cantidad y complejidad, esta capacidad degradativa y amortiguadora del ambiente empezó a alterarse. En la literatura se pueden encontrar diversos estudios sobre cómo contaminantes transmitidos a través del aire, suelo y el agua pueden generar daños a la salud [3-5],

La vida actual depende en gran medida de productos químicos, éstos son empleados para múltiples fines: proteger la salud, mejorar y aumentar la producción de alimentos, facilitar la vida diaria, etc. [1],

La contaminación de fuentes superficiales de agua, es el resultado de una sucesión de fenómenos asociados: la urbanización, prácticas agrícolas, prácticas pecuarias, descargas industriales, turismo y navegación, etc. [2],

Un litro de aguas residuales contamina 8 litros de agua dulce. En México, para el control de la calidad de fuentes superficiales de agua, la CONAGUA cuenta con la Red Nacional de Monitoreo, la cual lleva a cabo monitoreos sistemáticos y permanentes en aguas nacionales con el objetivo de obtener información representativa y confiable de la calidad del agua en el país según los parámetros considerados en la NOM-001-ECOL-1996. (Tabla 1) [2],

Tabla I. Parámetros de Calidad de Aguas Superficiales y Subterráneas. NOM-001-ECOL-1996.

* Temperatura	* Nitratos	* Potasio
* pH	* Nitritos	• Sodio
* Conductividad	* Amonio	* Sílice
* Turbiedad	* Nitrógeno Kjeldahl	• Mercurio
* Sólidos Disueltos	* Fosfatos	* Cadmio
* Sólidos Suspendidos	* Sulfatos	• Arsénico
Totales	* Cloruros	• Plomo
* DBO ₅	* Hierro	* Cobre
* DQO	* Manganeso	• Conformes Fecales y
* Oxígeno Disuelto	* Calcio	Totales
* Alcalinidad	* Magnesio	* Pesticidas

1.2. Contaminantes Orgánicos Persistentes

Los Contaminantes Orgánicos Persistentes (COPs), son un grupo de sustancias que poseen características particulares: persistencia (no se descomponen rápidamente), son compuestos orgánicos (con una estructura molecular basada en el carbono) y

contaminantes (en el sentido de ser muy tóxicos). Además, los COPs son solubles en grasas y por consiguiente se acumulan en los tejidos vivos. Estas sustancias se transportan a grandes distancias y se han dispersado por todo el mundo, encontrándose en el agua, suelo, sedimentos, animales y personas, incluso en el Ártico y en lugares muy alejados de donde originalmente fueron liberados.

La presencia de estas sustancias representa un riesgo para la salud humana y para el equilibrio ecológico [1,6,7].

1.2.1. Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos

Los hidrocarburos aromáticos policíclicos (PAHs), son considerados como COPs. Es un grupo de más de 100 compuestos formados al menos por dos anillos fusionados de benceno, los cuales difieren en el número y posición del anillo aromático.

Son generados a partir de la combustión incompleta de diversas sustancias como: carbón, aceite, gas, basura e incluso tabaco o carne asada. Debido a la diversidad de procesos que los generan, se consideran contaminantes ubicuos. En la figura 1, se muestra el movimiento de los PAHs en el ambiente. [6-8]

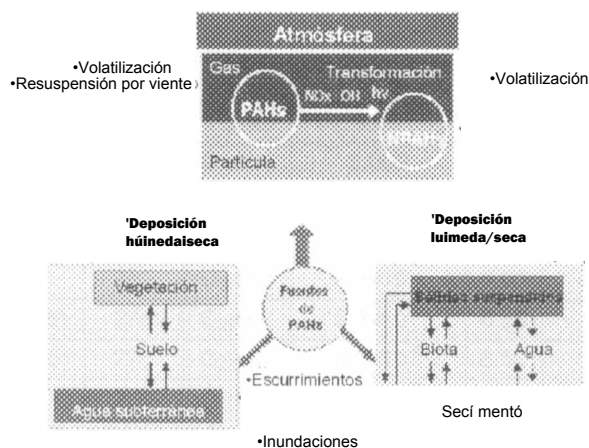



Figura 1. Transferencia de los PAHs en las diversas matrices ambientales.

La absorción de los PAHs en mamíferos ocurre por inhalación, contacto dérmico o, en menor frecuencia, por ingestión. En suelo, la absorción de PAHs es directamente proporcional al contenido de materia orgánica y al mayor peso molecular del PAHs e inversamente proporcional al tamaño de las partículas del suelo. Las plantas pueden absorberlos a través de las raíces en suelos contaminados. Los PAHs de menor peso molecular se absorben más rápidamente que los de mayor peso molecular [6],

Los PAHs individualmente poseen diferentes niveles de toxicidad y características fisicoquímicas, únicamente 16 de ellos son considerados por la EPA, la OMS y la CE, como contaminantes prioritarios debido a sus efectos carcinogénicos (tabla II) [6-8],

Tabla II. Propiedades fisicoquímicas de los Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos

Compuesto	PM	FM	Solubilidad mg/L	log Kow	Presión de vapor 25°C kPa	K _H atm m ³ /mol
Naftaleno (2)	128	C ₁₀ H ₈	31.0	3.37	0.012	4.5x10 ³
Acenaftileno (3)	152	C ₁₂ H ₈	3.5	3.98	0.004	-
Acenafteno (3)	154	C ₁₂ H ₁₀	3.9	4.07	5.81x10 ⁻⁴	2.4x10 ⁻⁴
Fluoreno (3)	166	C ₁₃ H ₁₀	1.98	4.18	4.16x10 ⁻⁵	7.4x10 ⁻⁵
Fenantreno (3)	178		0.073	4.45	2.26x10 ⁻⁶	2.7x10 ⁻⁴
Antraceno (3)	178	c-uH ₁₀	1.3	4.45	9.04x10 ⁻⁴	1.8x10 ⁻⁶
Fluoranteno (3)	202	C ₁₆ H ₁₀	0.26	4.90	0.0012 Pa	1.95x10 ⁻³
Pireno (4)	202	C ₁₆ H ₁₀	0.14	4.88	3.33x10 ⁻⁷	1.3x10 ⁻⁵
Benzo[a]antraceno (4)	228	C ₁₈ H ₁₂	0.04	5.61	2.93x10 ⁻⁹	1.2x10 ⁻⁶
Criseno (4)	228	C ₁₈ H ₁₂	0.002	5.16	8.38x10 ⁻⁸	-
Benzo[b]fluoranteno (5)	252	C ₂₀ H ₁₂	0.0002	6.04	6.66x10 ⁻⁸	-
Benzo[k]fluoranteno (5)	252	C ₂₀ H ₁₂	6.0x10 ⁻⁴	6.06	7.86x10 ⁻¹²	2.7x10 ⁻⁷
Benzo[a]pireno (5)	252	C ₂₀ H ₁₂	3.8x10 ⁻³	6.06	7.45x10 ⁻¹⁰	7.4x10 ⁻⁵
Indeno[1,2,3-cd]pireno (6)	276	C ₂₂ H ₁₂	5.3x10 ⁻²	6.58	1.33x10 ⁻¹²	-
Dibenzo[a,h]antraceno (5)	278	C ₂₂ H ₁₄	3.0x10 ⁻⁴	6.50	1.33x10 ⁻¹¹	2.0x10 ⁻⁹
Benzo[ghi]perileno (6)	276	C ₂₂ H ₁₂	5.3x10 ⁻²	6.84	1.39x10 ⁻¹¹	2.0x10 ⁻⁷

PM. Peso molecular, FM. Fórmula molecular, K_{ow} es el coeficiente partición octanol-agua, K_H la constante de Henry, el número entre paréntesis corresponde al número de anillos, - no se encontró

Su distribución y comportamiento en el ambiente dependen de sus características, son compuestos no polares o débilmente polares que tienen afinidad por las fases orgánicas, presentando una baja solubilidad en agua. Los PAHs de alto peso molecular son más resistentes a la biodegradación que aquellos constituidos por 2 ó 3 anillos. En la figura 2, se presentan las fórmulas estructurales de los 16 PAHs considerados como contaminantes prioritarios [6-8],

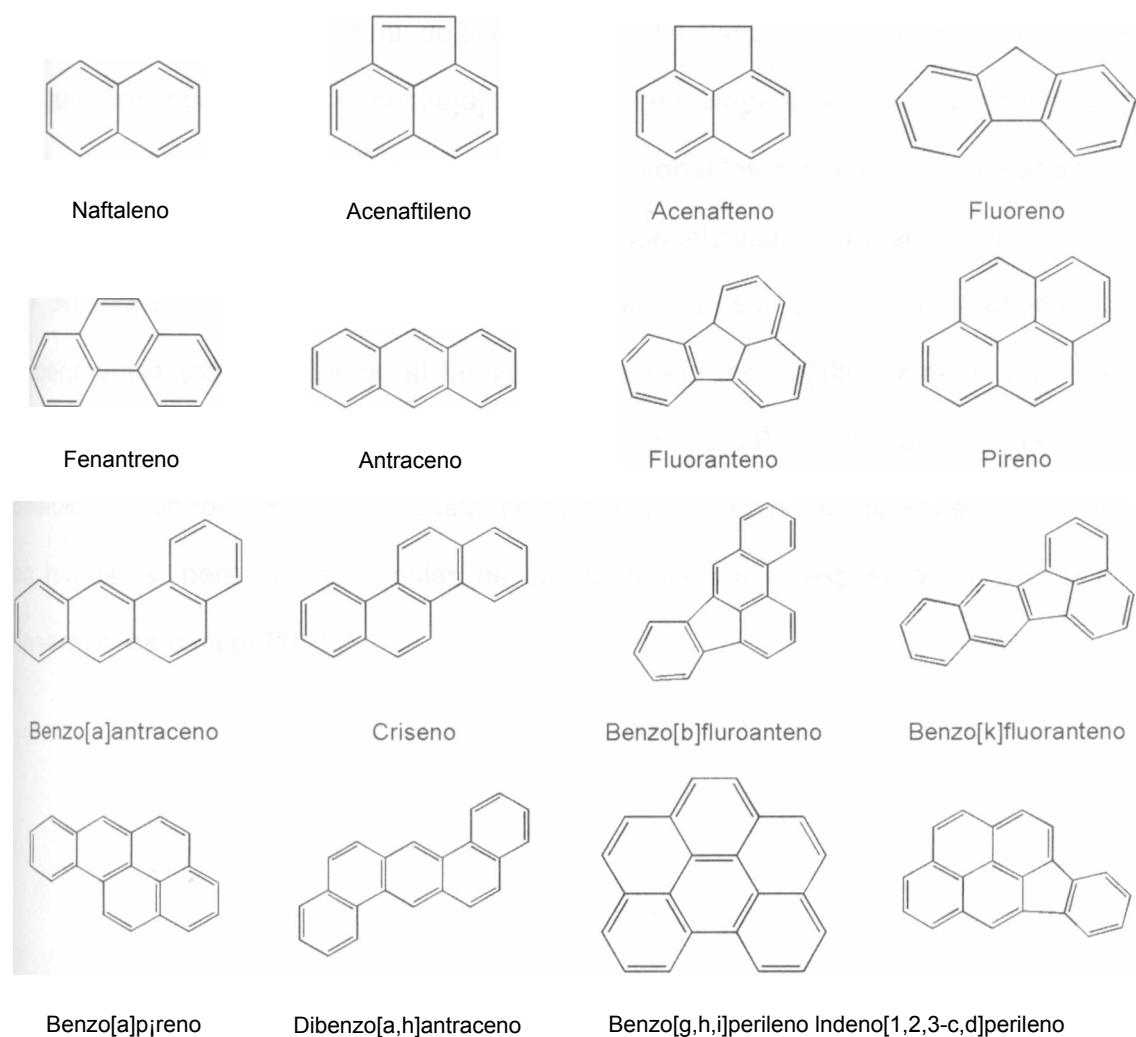


Figura 2. Estructura de los 16 PAHs considerados como contaminantes prioritarios.

1.2.1.1. Toxicidad de los PAHs

Los principales daños de los PAHs en la salud humana se centran en sus propiedades genotóxicas (teratogénicas, mutagénicas y carcinogénicas). Los más potentes carcinógenos son el benzo[a]antraceno, benzo[a]pireno y el dibenzo[a,h]antraceno. Otro tipo de alteraciones están poco probadas pero pueden incluir efectos adversos en la reproducción, desarrollo e inmunidad [9],

La IARC (Agencia Internacional de Investigación del Cáncer) incluye en su clasificación de químicos a seis PAHs. El benzo[a]antraceno, benzo[a]pireno y dibenzo[a,h]antraceno se encuentran enlistados en el grupo 2A como probables carcinógenos humanos, esto quiere decir que hay limitada evidencia de carcinogenicidad en humanos pero suficiente en animales y se ha demostrado su relación causal en múltiples especies en experimentos independientes; el benzo[b]fluoranteno, benzo[k]fluoranteno y el indeno [1,2,3-c,d]pireno se encuentran incluidos en el grupo 2B, en el que se agrupan los posibles carcinógenos, es decir sustancias para las cuales no existe evidencia suficiente en humanos, pero sí en animales de la relación entre la exposición al agente y el desarrollo de cáncer [10,11],

1.2.2. Legislación de COPs

Los contaminantes orgánicos persistentes cruzan las fronteras de los países y pueden alterar ecosistemas y afectar la salud humana en lugares distantes del lugar de origen e incluso en zonas más allá de la jurisdicción nacional, especialmente en el ambiente marino.

El Convenio de Estocolmo es el instrumento internacional que regula el tratamiento de las sustancias tóxicas auspiciado por el Programa de Naciones Unidas para el Medio Ambiente (PNUMA). Este convenio ha sido el resultado de años de negociación para obtener compromisos legales de los países que obliguen de manera urgente a la eliminación de todos los Compuestos Orgánicos Persistentes (COPs). El Convenio propone una lista de compuestos sobre los que es preciso emprender acciones de forma prioritaria.

México firmó el Convenio de Estocolmo en mayo del 2001, siendo ratificado por el Senado de la República en octubre del 2002 y notificado al Secretariado del Convenio en febrero del 2003. De este modo, nuestro país es parte contratante de este Convenio y los compromisos adquiridos son parte de nuestro marco normativo ambiental.

El carácter carcinogénico de algunos PAHs ha hecho necesaria su inclusión en la legislación ambiental. Los límites máximos permitidos difieren de acuerdo al organismo regulador y la matriz ambiental [6-8],

En México, en lo general, la NOM-052-SEMARNAT-1993 enlista las sustancias que por sus características específicas y toxicidad al ambiente son consideradas un residuo peligroso, en este listado no se hace referencia a los PAHs [12],

En lo concerniente a agua superficial, la normatividad que regula los niveles máximos permisibles de contaminantes en las descargas de aguas residuales en aguas y bienes nacionales es la NOM-001-ECOL-1996 (los parámetros considerados en esta norma, se enlistaron en la Tabla 1), los PAHs no se contemplan como parámetro en la evaluación de la calidad del agua [13],

La Ley Federal de Derechos (Capítulo VIII Artículo 224) contempla límites máximos permisibles para PAHs en descargas de agua residual que regresen a su fuente original o que sean vertidas en cualquier otro sitio; los PAHs se encuentran regulados en general y además se considera individualmente a dos de ellos. En la tabla III, se muestran los valores contemplados en esta ley para hidrocarburos aromáticos [14],

Tabla III. Límites máximos permisibles para PAHs marcados en la Ley Federal de Derechos.

Sustancia Química	1	2	3	4
Acenafteno	0.2	-	0.02	0.01
Naftaleno	-	-	0.02	0.02
Hidrocarburos aromáticos	0.0001	-		0.1

unidades mg/L

Uso 1. Fuente de abastecimiento para uso público urbano

Uso 2. Riego agrícola

Uso 3. Protección de vida acuática: agua dulce, incluye humedales

Uso 4. Protección a la vida acuática. Aguas costeras y estuarios.

En suelo, los PAHs están incluidos dentro de la NOM-138-SEMARNAT-2003, esta norma establece los límites máximos permisibles para PAHs de forma individual y uso específico de suelo. En la tabla IV, se muestran las concentraciones máximas permitidas para suelo. Los límites permisibles para PAHs en sedimento no se han establecido en la legislación mexicana [15],

Tabla IV. Límites máximos permisibles para hidrocarburos específicos en suelo.

Compuesto Químico	Uso de suelo		
	Agrícola [^]	Residenciad	Industrial
Benzo[a]pireno ⁴	2	2	10
Dibenzo[a,h]antraceno ⁴	2	2	10
Benzo[a]antraceno ⁴	2	2	10
Benzo[b]fluoranteno ⁴	2	2	10
Benzo[k]fluoranteno ⁴	8	8	80
Indeno[1,2,3-cd]pireno ⁴	2	2	10

unidades mg/kg

1. Para usos de suelo mixto, deberá aplicarse la especificación al menor valor de los usos de suelo involucrados.
2. Agrícola incluye suelo forestal, recreativo y de conservación.
3. Industrial incluye comercial.
- 4 La determinación de hidrocarburos aromáticos polinucleares deberá realizarse únicamente en los casos que se pretende demostrar que se está cumpliendo con los límites máximos permisibles.

Las normativas para aire NOM-044-SEMARNAT-2006, NOM-075-ECOL-1995, NOM-085-ECOL-1994, NOM-086-ECOL-1994, NOM-042-ECOL-1999, NOM-041-ECOL-1999, NOM-048-SEMARNAT-1993, regulan la cantidad de emisiones de hidrocarburos totales en forma de gas y particulada, pero no se mencionan específicamente los PAHs [16-22],

1.3. Zona Metropolitana de Monterrey (ZMM)

El importante desarrollo industrial de Nuevo León, ha contribuido de forma parcial al acelerado crecimiento demográfico en la ZMM. Esta zona está constituida por 11 municipios conurbados (Figura 3) y cuenta con una población superior a los tres y medio millones habitantes, representando el 81.7% de la población del Estado, distribuidos en una superficie equivalente a menos del 5% del territorio, lo que ha originado en las últimas dos décadas problemas de contaminación del aire, agua y suelo [23],

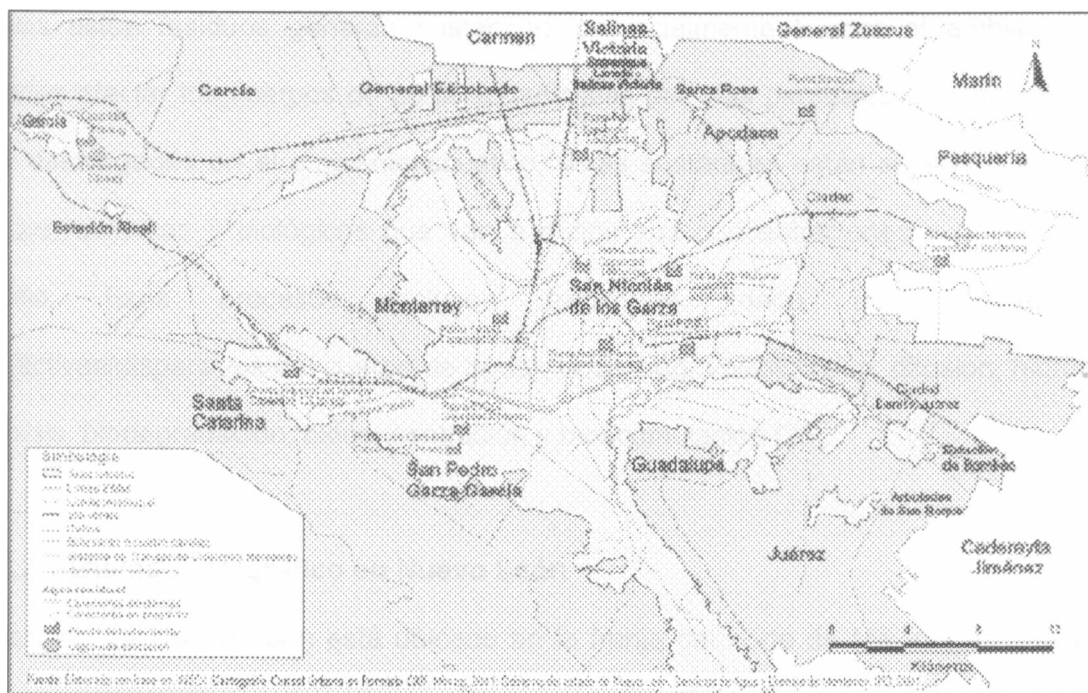


Figura 3. Zona Metropolitana de Monterrey.

1.3.1. Fuentes de contaminación en la ZMM

En la ZMM existen más de siete mil instalaciones industriales, entre las cuales destacan: la rama metalmecánica de maquinaria y equipo; química, hule y plásticos; madera y muebles; alimentos, bebidas y tabacos; vidrio, cerámica y material para la construcción; además, cuenta con una flota vehicular de más de 450 mil vehículos automotores. Todo lo anterior genera más de 1 000 toneladas diarias de emisiones a la atmósfera y anualmente alrededor de 800 mil toneladas de contaminantes, de los cuales, 51% corresponde a la industria y el 49% al parque vehicular, dando como resultado la concentración significativa de contaminantes.

Por otra parte, en la ZMM se generan aproximadamente 8.2 m³/s de aguas residuales, 2 120 toneladas diarias de residuos sólidos municipales y 4 500 toneladas diarias de residuos industriales [23,24],

Todos estos residuos generan sustancias potencialmente tóxicas al ambiente que pueden afectar los cuerpos de agua superficiales por vías puntuales o dispersas. Una vez descargadas en el ambiente acuático, estas sustancias están sujetas a procesos físicos, químicos y biológicos que van a definir sus concentraciones y destino en el medio. Esos procesos incluyen transporte (dado por características advectivas/dispersivas del cuerpo de agua), adsorción, volatilización, difusión, hidrólisis, fotólisis, biodegradación, bioconcentración y bioacumulación [25],

1.3.2.Sistema hidrográfico en Nuevo León

El estado de Nuevo León está ubicado en la franja del norte de México, es una zona árida y semiárida, moderada por la presencia de vientos húmedos provenientes del Golfo que tienen como barrera natural la Sierra Madre Oriental, ahí nacen los ríos que fluyen hacia la llanura del noreste.

México se divide en treinta y tres regiones hidrológicas; los ríos de Nuevo León se encuentran en las regiones de Río Bravo-Conchos, San Fernando-Soto La Marina, Pánuco y El Salado.

La ZMM está rodeada por seis afluentes superficiales de corriente continua: los ríos Salinas, Pesquería, Santa Catarina, San Juan, Ramos y Pílon.

De particular interés es el río Pesquería, ya que el 38.88% de sus 7 569 km² de extensión recorre la Zona Metropolitana de Monterrey; se origina en Coahuila y atraviesa los municipios de García, Apodaca, Pesquería, Los Ramones y Los Herreras; sus aguas desembocan en el río San Juan en los límites de China y Los Aldamas. Recibe por su margen derecha los arroyos Topo Chico y Ayancual y por su margen izquierda a los arroyos Salinas, Ramos y Mojarra [23,26,27],

CAPÍTULO II

ANTECEDENTES

2.1. Análisis de PAHs

Para la determinación de PAHs en matrices ambientales complejas han sido desarrolladas un gran número de técnicas analíticas. El mayor problema asociado con el análisis de estos compuestos en el “mundo real” son: el muestreo, la pérdida por almacenamiento, la preconcentración, la limpieza del extracto y la necesidad de procesos de extracción eficientes y selectivos.

Los procesos de extracción tienen por propósito separar al analito de interés del resto de la matriz, siendo imprescindibles en el análisis de muestras con matrices complejas y con analitos a concentraciones muy bajas. Este es un paso clave para la obtención de buenos resultados.

En el caso de los PAHs el procedimiento de extracción a utilizar dependerá del tipo de matriz de trabajo.

En la literatura existen múltiples reportes donde se prueban y experimentan diversos procedimientos para lograr una mayor eficiencia de extracción de PAHs en matrices ambientales.

En muestras de agua, una de las técnicas de extracción tradicionales es la extracción líquido-líquido (LLE) no obstante, posee la desventaja de consumir grandes volúmenes de solventes y mucho tiempo en el procesamiento de la muestra [28-31],

La Agencia de Protección Ambiental (EPA) apoya el desarrollo de nuevos procedimientos de prueba, con la finalidad de que los análisis sean llevados a cabo más fácilmente y se reduzcan los costos, la complejidad y el uso de sustancias peligrosas [31].

A continuación, se presenta un panorama de las técnicas de extracción que han sido reportadas para la determinación de PAHs en diversas matrices ambientales [32-51],

■ Agua

Powell en 1995 propuso la implementación de un procedimiento de SPE con fase amino para contaminantes orgánicos en agua por CG. Determinó naftaleno y fluoranteno por este procedimiento y comparó las recuperaciones obtenidas con la técnica de LLE. LLE dió mejores resultados para el naftaleno; el fluoranteno dio valores similares en ambos procedimientos [34],

En 1999 Madachie et al., reportaron los efectos de los surfactantes no iónicos en el análisis de contaminantes orgánicos en aguas naturales, para el estudio emplearon pre-concentración en línea con una columna ODS y el análisis fue realizado por HPLC-UV. Los analitos analizados fueron: naftaleno, acenaftileno, fluoreno, antraceno, fenantreno, pireno y criseno. Los límites de detección fueron cercanos a 1 $\mu\text{g/L}$ y las recuperaciones obtenidas se encontraron en el rango de 90-102%. Estos autores demostraron que la adición de surfactantes tiene efecto positivo en la extracción y recuperación de los PAHs de agua de río [35],

Urbe I. y Ruana J. en 1997 estudiaron tres sistemas de SPE, dos en disco y uno en columna con fase C_{18} para la extracción de seis PAHs en agua por HPLC-FLU. Las recuperaciones de la SPE en modalidad de cartucho estuvieron en rangos de 58 ± 14 a 105%, mientras que para los discos C_{18} de PTFE y fibra de vidrio fueron de 75 ± 15 a $93\pm 5\%$ [36],

Manoli E y Samara C., reportan en 1999, una revisión general de las opciones de análisis de PAHs en agua, mencionan la extracción líquido-líquido, la extracción en fase sólida, la microextracción en fase sólida e inmunosorbentes; y a los métodos de análisis como lo son CG-MS, CG-FID, HPLC UV-FLU, CCF-UV o FLU, CFC -UV o MS y HPLC-MS [28],

En el 2002 Hou et al., reportan la aplicación de la microextracción en fase líquida (LPME) estática y dinámica para la determinación de 6 PAHs en agua de río. En la LPME estática se recuperaron 4 PAHs con RSD de 4.7-9%, mientras que en la LPME dinámica recuperaron los 6 PAHs analizados con %RSD de 4.4 a 6%.

En cuanto a los límites de detección para la primera modalidad estuvieron en el rango de 1 a 3.5 $\mu\text{g/L}$, mientras que para la segunda de 0.35 a 0.60 $\mu\text{g/L}$ [37],

Marión y Hurtubise en el 2004, desarrollaron la microextracción líquido-líquido-líquido (LLLME en inglés) para la extracción de derivados hidroxilados de los PAHs utilizando electroforesis capilar-UV [38],

En el 2006 El-Beqqali et al., desarrollaron una técnica de microextracción en jeringa empacada (sílice- C_8) acoplada en línea con CG-MS. Describen el empacamiento en jeringa como una miniaturización de la SPE clásica y capaz de obtener buenos resultados de recuperación, alrededor el 70% [39],

Buseti F. et al. en el 2006 reportaron la determinación de 16 PAHs en aguas residuales en una planta de tratamiento en Italia. La técnica de extracción empleada fue la SPE y análisis por HPLC-UV/FLU. Los resultados muestran que las recuperaciones para todos los analitos son >70% con RSD de 5 al 13%. [40]

Fernández-González et al. en el 2007 reportaron la cuantificación de PAHs en agua con el empleo de la SPME CG-MS-MS. Los autores reportan la recuperación de prácticamente el 100% en todas las muestras, alcanzando límites de detección de 0.07 a 0.76 ng/L [41],

En el 2007 Lui et al. reportaron el empleo de la microextracción de flujo continuo acoplado a CG-MS para la determinación de PAHs en muestras de agua. En su estudio, los coeficientes de correlación de los analitos estuvieron en el rango de

0.886 a 0.999, alcanzando límites de detección de 0.001 pg/L con RSD de 6.7 a 25% [42],

Wu et al. en el 2008 reportaron la determinación de PAHs por SDME-HS combinada con HPLC-FLU para muestras ambientales, el artículo menciona la importancia de la saturación con p-ciclodextrina de la muestra de agua para la correcta extracción de los PAHs, pues su adición influye directamente en la eficiencia de la extracción y mejora la intensidad de fluorescencia. Los resultados mostraron límites de detección de 0.004 a 0.247 ng/L con RSD de 5.1 a 7.1% [43],

Suelo y sedimento

En 1995 Kootstra et al. reportaron el uso de SPE_Cs con detección HPLC UV/FLU para muestras de suelo. Los porcentajes de recuperación para los PAHs estuvieron en el rango de 80 a 105% con RSD de 0.8 a 9.1%. [44]

Cam D. et al. en el 2000 extrajeron exitosamente 7 PAHs de sedimento en medio acuoso empleando SPME con CG-MS. La fibra empleada fue de 100µm PDMS, los límites de detección alcanzados fueron de 1 ppb para naftaleno, acenafteno, fluoreno, antraceno y fluoranteno; y 1.5 ppb para el benzo[a]antraceno. [45]

Fedotov et al. en el 2004, publicaron una propuesta para la recuperación directa de PAHs de suelo, empleando una extracción dinámica en columnas rotatorias

enrolladas. La ventaja que los autores mencionan sobre esta técnica es que no son necesarios los pasos de filtración, homogenización y limpieza [46],

En el 2004 Criado et al. reportaron un monitoreo automático-directo de suelos para PAHs utilizando la extracción asistida por microondas y con detección por HPLC FLU alcanzando límites de detección de 0.0005 $\mu\text{g/g}$ con %RSD <5.4 [47],

Filipkowska et al. en el 2005 publican un recuento de análisis de PAHs en agua de mar, mejillones y sedimento marino por HPLC UV-FLU y CG-MS. Las muestras de agua fueron extraídas por LLE y SPE mientras que las de sedimento y mejillones fueron extraídas por sonicación empleando como solvente de extracción el acetonitrilo [48].

En el 2006 Sarrazín et al. reportaron la determinación de PAHs en sedimento de río extraído por sonicación y detectado por HPLC UV-FLU. Las recuperaciones de los 16 analitos estuvieron en el rango de 80 a 97%, mientras que los límites de detección en el rango de 10-15 $\mu\text{g/kg}$ [49],

Martin y Ruiz en el 2007 publicaron la determinación de PAHs empleando SPME acoplado a un dispositivo de extracción directo por CG-MS. En el trabajo se probaron tres tipos de fibra que fueron: PDMS 100 μm , PDME.DVB 65 μm y PA 85 μm , las cuales experimentalmente tuvieron reproducibilidades (%RSD) para 9 PAHs de 5.24 a 17.72%, de 8.16 a 18.25% y 5.68 a 9.33% respectivamente [50],

■ Biota

Fidalgo-Used et al., reportaron en el 2007 una revisión de las estrategias en el manejo de las muestras de biota para la determinación de compuestos orgánicos persistentes. Las técnicas de extracción revisadas fueron las comúnmente aplicadas en matrices sólidas y semisólidas, y fueron: la extracción Soxhlet, la sonicación, la extracción con fluidos supercríticos, la extracción asistida con microondas, la extracción de líquidos presurizada y la dispersión fase sólida en matriz. También dedican un apartado para destacar la importancia de los procesos de limpieza de los extractos, las alternativas y ventajas y desventajas [51].

2.2. Estudios de PAHs en México

De acuerdo con datos del Instituto Nacional de Ecología, en México se han llevado a cabo múltiples investigaciones para cuantificar el grado de contaminación en diversas matrices ambientales. En la tabla V se presentan los datos encontrados de concentración del PAHs totales y específicos, la matriz en la que fueron medidos, así como la localización del sitio y el método de análisis utilizado [6],

En los datos presentados es notable que mucho de lo que se ha hecho en suelos y sedimentos está relacionado con actividades petroleras y no con actividades industriales o asociadas a grandes densidades demográficas. Además no hay datos provenientes del noreste del país.

Tabla V. Reportes encontrados de PAHs en diversas matrices ambientales en México.

Concentraciones de HAP en diferentes matrices en México				
HAP	Concentración	Matriz	Localización	Método de análisis
EHAP	60-910 ng/m ³	Partículas en aerosoles	Cd. de México	EcoChemPAS 2000
EHAP	4.85-9.40 ng/m ³ abril-noviembre 1997	Aire PM10	Cd. de México	Sonicación/CG-MS
EHAP	6.91-53.91 (µg/g 2.57-10.97 jxg/g)	Suelo arcilloso Suelo arenoso	Samaría, Tabasco	Soxhlet/CG-FID
Cry Nap B[a]P Acy	4.21 ng/g 3.82 ng/g 3.60 ng/g 3.11 ng/g	Suelo	Morelia, Michoacán	Extracción/CG-FID
EHAP	92-208 mg/kg 252-478 mg/kg 0.03-20 mg/kg	Suelo con: Derrames antiguos Derrames recientes Nivel de fondo	Planicie aluvial en Tabasco	HPLC
EHAP	0.02-3.2 mg/g 0.67-8.9 µg/g	Sedimentos marinos	Salina Cruz, Oaxaca	Soxhlet/CG-FID
EHAP 2-3 anillos 4-5 anillos	0.09-0.56 µg/g 0.34- 8.34 µg/g	Sedimentos	Chetumal, Q Roo	Soxhlet/CG-FID
EHAP	1989-1990 <0.01 -43 jxg/g <0.01-31.1 pg/g	Sedimentos marinos	Península de Baja California	Sonicación/CG-MS SIM
EHAP	7.6-813 ng/g	Sedimentos marinos	Bahía Todos Santos, Baja California	Soxhlet/CG-FID
EHAP	0.4-1.93 p.g/g	Sedimentos	Costa de Baja California	Soxhlet/CG-FID
EHAP	8.1-16.8 jxg/g	Sedimentos	Sontecomapan, Veracruz	Soxhlet/CG-FID
EHAP	2.5-5.21 p.g/g 0.58-8.14 jxg/g 0.67-9.39 jxg/g 1.11-11.6 ng/g 0.6-12.4 jxg/g 3.8-11.3 jxg/g 2.2-18.2 jxg/g	Sedimentos en lagunas de Veracruz	Pueblo Viejo Tamiahua Tampamachoco Salada El Llano La Mancha Mandinga	Soxhlet/CG-FID
EHAP	0.22-3.2 ng/g	Sedimentos	Coatzacoalcos, Veracruz	Soxhlet/CG-MS
EHAP Pyr Cry Phe	102 ng/g R 563 ng/g I 19.3 ng/g R 118 ng/g I 18.3 ng/g R 84.8 ng/g I	Hojas de pino	Cd. de México en zonas Residenciales (R) e Industriales (I)	Extracción en columnas Abiertas/CG-MS
EHAP	0.01-0.24 µg/g	Bivalvos <i>Cassostrea</i>	Tabasco	Soxhlet/CG-FID
EHAP	77.06-762.24 µg/g	Virginica Peces	Chetumal, Q Roo	Soxhlet/CG-FID
EHAP	22.86 ng/g	<i>Ariopsis assimilis</i> Bivalvos <i>Cassostrea palmula</i> <i>Mytella strigata</i> <i>Cassostrea corteziensis</i> <i>Cassostrea iridiscens</i>	Pacífico subtropical mexicano	Soxhlet/CG-FID
EHAP	0.12-3.52 jxg/g	Bivalvos <i>Cassostrea corteziensis</i>	Pacífico mexicano	Soxhlet/CG-FID
EHAP	0.22-2.28 ja.g/L	Agua	Laguna de Michoacán, Tabasco	Agitación/CG-FID
EHAP HAP-Hidrocarburos aromáticos policíclicos	448-2000 mg/kg	Petróleo	Laguna de Michoacán, Tabasco	Soxhlet/CG-FID

2.2.1. Estudios de PAHs en el Departamento de Química Analítica, UANL

En el 2004 al Departamento de Química Analítica de la Facultad de Medicina, UANL le fue aprobado un proyecto en la convocatoria SEMARNAT-CONACYT con el título de Hidrocarburos Aromáticos Polinucleares en Fuentes de Abastecimiento de Agua Potable de la Ciudad de Monterrey. Caracterización, Evaluación y Alternativas de solución (SEMARNAT-2002-C01 -0643).

Dentro de este proyecto se realizó la Tesis doctoral de Díaz-Morales en el que se desarrolló un método cromatográfico aplicable a PAHs en fuentes de abastecimiento de agua potable, fueron monitoreadas 7 fuentes de abastecimiento de agua potable de la Zona Metropolitana de Monterrey, por un periodo de 12 meses. Las técnicas de extracción empleadas para la determinación de PAHs en agua fueron la extracción líquido-líquido y la extracción en fase sólida en modalidad de disco. Los resultados del muestreo demostraron la presencia de tres PAHs: el naftaleno, fenantreno y fluoreno en algunas de las muestras analizadas, pero todos en concentraciones por debajo del límite de cuantificación. Los límites de detección alcanzados fueron de 0.6 a 21 ng/L con RSD < 15% [30],

Como perspectiva de esta tesis se planteó investigar la presencia de PAHs en otras matrices ambientales, tales como sedimentos [52],

Por otra parte, en la búsqueda de mejores procesos de extracción Lucio-Gutiérrez como parte de su tesis de maestría optimizó las condiciones de SPME-INM para el análisis de PAHs en agua encontrando límites de detección en los rangos de 0.005 a 0.306 pg/L con RSD interdía < 6.48% [53,54],

2.3. Justificación

En los últimos años se ha tomado conciencia sobre las amenazas a la salud y al ambiente causados por el uso y desecho indiscriminado de sustancias químicas tóxicas, particularmente, por aquellas que requieren tiempos prolongados para su degradación en el ambiente.

La cultura ambiental es limitada en la región; la descarga de basura y desechos hacia afluentes superficiales por parte de la población aledaña a ellos es un hecho. Además, la Zona Metropolitana de Monterrey es una de las áreas industriales más importantes del país, lo que hace probable y posible la contaminación ambiental con PAHs.

Por lo tanto, conocer la presencia de PAHs en el río Pesquería en Nuevo León México, nos permitirá sentar precedente y buscar acciones correctivas de ser necesario.

2.4. Objetivo General

Desarrollar metodología analítica adecuada, para la determinación de PAHs en agua y sedimentos de río, con la finalidad de evaluar su presencia en el río Pesquería en Nuevo León, México.

2.5. Objetivos específicos

1. Desarrollar procedimientos de extracción para PAHs en agua: Microextracción en fase sólida en modalidad headspace (SPME-HS) y Microextracción de gota (SDME) en las modalidades de inmersión y headspace.
2. Comparar los procedimientos de extracción para agua desarrollados previamente en el Departamento de Química Analítica, con los desarrollados en el objetivo 1 y seleccionar el más adecuado.
3. Validar el procedimiento de extracción seleccionado para PAHs en agua.
4. Desarrollar los procedimientos para la extracción de PAHs en sedimentos por: Sonicación- Extracción en fase sólida (S-SPEC18), Soxhlet- columna de sílice (SX-SIL) y Sonicación-columna de sílice (S-SIL). Comparar su eficiencia y seleccionar el más adecuado.

5. Validar el procedimiento de extracción seleccionado para PAHs en sedimento.

6. Realizar el monitoreo y cuantificación de PAHs en el río Pesquería en Nuevo León, México utilizando los procedimientos de extracción seleccionados previamente.

CAPÍTULO III

MATERIAL Y MÉTODOS

3.1. Equipo, material y reactivos

3.1.1. Equipos

- Balanza analítica AND GR-120
 - Balanza semianalítica AND GX-200
 - Baño de Ultrasonido Branson 3510
 - Bomba de vacío Special Service Duty modelo SA55NXGTE-4870 Motor
División
 - Centrífuga IEC Centra CL3, Thermo Scientific
 - Conductímetro, pHmetro digital y medidor de temperatura. Conductronic PC18
 - Cromatógrafo de gases, Perkin Elmer
- * Cromatógrafo de Líquidos Waters Alliance 2695 con sistema desgasificador en línea, automuestreador Waters, sistema de bombeo cuaternario, horno para

columna, detectores: UV de arreglo de diodos Waters 2996 y de Fluorescencia Waters 2475

- Estufa Shell Lab Sheldon Manufacturing ,INC.
- Global Positioning System (GPS) Karmin GPS 60C
- MixerType 37600 Branstead-Thermolyne
- Mufla, West Instrument
- Placa de calentamiento y agitación Cimarec Branstead-Thermolyne
- Recirculador de agua Haake B3
- Rotavapor Büchi RE 121, equipado con baño de agua Büchi 461

)

3.1.2. Materiales

- Adaptadores de alto volumen para SPE Supelco
- Adaptadores de línea para SPE
- Algodón fibra de vidrio Pyrex
- Bolsas plásticas de doble cierre Ziploc (18 x 20 cm)
- Cartuchos de extracción en fase sólida SPE ENVI-18 C₁₈ 1g, Supelco
- Columna Supelcosil LC PAH (25 cm x 4.6 mm, 5 µm; Supelco)
- Columnas de vidrio 25 x 1 cm de diámetro interno
- Crisoles de porcelana
- Cristalizadores de Pyrex 125 x 65
- Cronómetro
- Embudo de filtración de vidrio
- Equipo de extracción Soxhlet
- Espátulas

* Estación de vacío para SPE con 12 posiciones, Supelco.

- Fibras para microextracción en fase sólida 100pm de PDMS
- Fibras para microextracción en fase sólida 65pm PDMS/DVB
- Filtros de membrana de PTFE modificada de 0.45pm Millex
- Frascos de vidrio ámbar con tapa de rosca de 1 litro
- Guantes de nitrilo
- Guardacolumna Symmetry Cía (20x3.9 mm, Waters)
- Insertos cónicos de vidrio de 150 pL con resortes al fondo, Waters
- Jeringa de vidrio de 10 ml_
- Llave de paso SPE
- Magnetos de 0.8 cm x 0.2 cm
- Matraces de aforación de 5, 10 y 50 mL
- Membranas de nylon 47 mm, 0.45 pm Pall Company
- Microjeringas Hamilton de 1, 2, 10, 25, 50, 100 pL
- Papel aluminio de alta calidad Kirkland Signatura RK611S
- Papel filtro Wathman 41
- Papel parafilm
- Pinzas para soporte
- Pinzas para termómetro
- Pipetas automáticas de 1 a 10 pL, de 20 a 200 pL y de 100 a 1000 pL
- Pipetas volumétricas de 5, 10 y 15 mL
- Probetas de 10, 100 y 500 mL
- Puntillas
- Sistema de filtración de solventes Milipore
- Soporte para fibras de microextracción en fase sólida
- Soportes universales

- Termómetro
- Tubos de ensayo de vidrio de 13 X 100 mm
- Tubos de ensayo de vidrio de 15 X 200 mm
- Vasos de precipitados de 50, 100, 250, 500, 1000 mL
- Viales de vidrio ámbar de 10 mL con tapón de rosca
- Viales de vidrio ámbar de 2; 15 y 40 mL con tapón de rosca y septum de PTFE/silicón
- Viales de vidrio ámbar de 5 mL con tapón de plástico a presión
- Viales de vidrio cónico de 50 mL con tapón de rosca y septum de PTFE/silicón
- Viales de vidrio de 2 mL con tapón de rosca y septum de PTFE/silicón

3.1.3. Reactivos

- Acetona grado HPLC Burdick & Jackson
- Acetonitrilo grado HPLC, Fisher Scientific
- Agua grado HPLC
- Alcohol bencílico grado ACS, J.T.Baker
- Benzo [e] pireno >99% Fluka
- Ciclohexano Fisher Scientific
- Cloruro de sodio, Sigma-Aldrich
- Diclorometano grado HPLC EMD Chemicals Inc
- Gel de sílice malla 100-200, 60 Å Mallinckrodt Chemicals
- Hexano grado HPLC EMD Chemicals Inc
- Isopropanol Fisher Scientific
- Mezcla certificada de 16 hidrocarburos aromáticos policíclicos (20-1000 µg/mL) en acetonitrilo-metanol 90:10, Supelco

Mezcla de Xilenos

Nitrobenzeno >99.7% Fluka

Nitrógeno gas Praxair

n-octanol grado ACS, Eastman Organic Chemicals

p-terfenilo >99.5% Sigma- Aldrich

Sulfato de sodio anhidro grado ACS, J.T.Baker

Tolueno grado HPLC Tedia. Fairfield

3.2. Metodología

3.2.1. Preparación de soluciones utilizadas en el análisis de PAHs por HPLC

Las soluciones de trabajo utilizadas en las pruebas iniciales, se prepararon a partir de la mezcla de los 16 PAHs (Supelco), esta mezcla contiene diferentes concentraciones para cada hidrocarburo en un intervalo de 20 a 1000 ($\mu\text{g}/\text{mL}$ en acetonitrilo-metanol 9:1).

Las concentraciones de la mezcla original y las diluciones realizadas en un volumen final de 1000 μL de acetonitrilo para los diferentes stocks de trabajo, se muestran en la tabla VI.

Tabla VI. Concentraciones de PAHs en las diferentes soluciones de trabajo.

PAHs	Stock original ng/mL	1ª dilución ug/mL	2ª dilución ug/mL	3ª dilución ug/mL
Naftaleno	500	25.0	6.250	1.5625
Acenaftileno	500	25.0	6.250	1.5625
Acenafteno	1000	50.0	12.500	3.1250
Fluoreno	100	5.0	1.250	0.3125
Fenantreno	40	2.0	0.500	0.1250
Antraceno	20	1.0	0.250	0.0625
Fluoranteno	50	2.5	0.625	0.1563
Pireno	100	5.0	1.250	0.3125
Benzo(a)antraceno	50	2.5	0.625	0.1563
Criseno	50	2.5	0.625	0.1563
Benzo(b)fluoranteno	20	1.0	0.250	0.0625
Benzo(k)fluoranteno	20	1.0	0.250	0.0625
Benzo(a)pireno	50	2.5	0.625	0.1563
Dibenzo(a,h)antraceno	200	10.0	2.500	0.6250
Benzo(ghi)perileno	80	4.0	1.000	0.2500
Indeno(1,2,3-cd)pireno	50	2.5	0.625	0.1563

3.2.2. Ajuste de condiciones cromatográficas para el análisis de PAHs

Se probó subir la temperatura de la columna a 30, 32 y 35°C, conservando las demás condiciones del análisis. Sin embargo, no se obtuvo buena resolución para algunos de los picos, razón por la cual se decidió variar ligeramente las proporciones de la fase móvil.

Otra de las mejoras propuestas al método de referencia empleado, fue el agregar un estándar interno al análisis. Se evaluaron tres compuestos: nitrobenceno, p-terfenilo y benzo[e]pireno.

Los compuestos fueron adquiridos de forma pura, y todos mostraron problemas para solubilizarse en metanol y acetonitrilo, por lo que fueron disueltos en hexano en concentraciones de 1.96 mg/mL para el nitrobenceno, 9.6 mg/mL para p-terfenilo y 1 mg/mL para el benzo[e]pireno. Para su análisis cromatográfico fue necesario evaporar el hexano y resuspender en acetonitrilo. Cada uno de los estándares fue analizado por HPLC UV/FLU de forma individual y posteriormente en mezcla con un estándar de PAHs.

3.2.2.1. Método cromatográfico

La separación cromatográfica de PAHs fue realizada bajo las condiciones enlistadas en la tabla VII. El programa de fluorescencia utilizado para la detección de los PAHs se muestra en la tabla VIII. El acenaftileno fue detectado por ultravioleta a una longitud de onda de 228 nm.

Tabla VII. Método cromatográfico empleado para la separación de los PAHs.

Cromatógrafo de líquidos	Waters Alliance 2695		
Detectores	Fluorescencia W 2475 UV DAD W2996		
Columna	Supelcosil LC PAH, 25 cm x 4.6 mm, 5 µm		
Fase móvil	A Agua B Acetonitrilo		
Elución	Gradiente		
Programa de gradiente	Tiempo (min)	%A	%B
	1	42	58
	13	0	100
	20	0	100
	23	42	58
	26	42	58
Temperatura	30°C		
Flujo	1.5 mL/min		
Tiempo de corrida*	23 min		
Volumen de inyección	20 µL		

*el tiempo de equilibrio entre corridas es de 5 min.

Tabla VIII. Programa de Fluorescencia empleado para la detección de los PAHs

Tiempo (min)	AEX (nm)	Em (nm)	Compuestos detectados
0.0	224	330	Naftaleno
7.2	254	323	Acenafteno, Fluoreno
10.9	252	400	Fenantreno
12.3	235	420	Antraceno, Fluoranteno
14.2	270	385	Pireno
15.0	280	435	p-terfenil, Benzo(a)antraceno, Criseno, E3enzo(b)fluoranteno, Benzo(k)fluoranteno, Benzo(a)pireno, Dibenzo(a,h)antraceno
21.0	290	430	Benzo(ghi)perileno
22.0	305	480	Indeno(1,2,3-cd)pireno

3.2.2.2. Evaluación del sistema cromatográfico utilizado para la valoración del desempeño de los métodos de extracción de PAHs en agua

Para la evaluación del sistema cromatográfico se tomó como parámetro la linealidad del método desarrollado en el apartado 3.2.2.1. Se analizaron por triplicado los estándares de calibración, los cuales se prepararon por triplicado a seis niveles de concentración a partir de la tercera dilución de la mezcla de PAHs. La tabla IX muestra los niveles de concentración empleados para la obtención de las curvas de calibración para cada hidrocarburo. Se adicionaron a cada uno de ellos 100 µL de p-terfenilo para obtener una concentración final de 96 µg/L; cada estándar fue llevado a un volumen final de 1000 µL con acetonitrilo.

Tabla IX. Niveles de concentración de las curvas de calibración para PAHs por HPLC

UV/FLU

Analito	Std. 1 MQ/L	Std. 2 rtg/L	Std. 3 Mf/L	Std. 4 rtg/L	Std. 5 pg/L	Std. 6 pg/L
Naftaleno	15.6250	23.4375	31.2500	46.8750	62.5000	78.1250
Acenaftileno	15.6250	23.4375	31.2500	46.8750	62.5000	78.1250
Acenafteno	31.2500	46.8750	62.5000	93.7500	125.0000	156.2500
Fluoreno	3.1250	4.6875	6.2500	9.3750	12.5000	15.6250
Fenantreno	1.2500	1.8750	2.5000	3.7500	5.0000	6.2500
Antraceno	0.6250	0.9375	1.2500	1.8750	2.5000	3.1250
Fluoranteno	1.5625	2.3438	3.1250	4.6875	6.2500	7.8125
Pireno	3.1250	4.6875	6.2500	9.3750	12.5000	15.6250
Benzo(a)antraceno	1.5625	2.3438	3.1250	4.6875	6.2500	7.8125
Criseno	1.5625	2.3438	3.1250	4.6875	6.2500	7.8125
Benzo(b)fluoranteno	0.6250	0.9375	1.2500	1.8750	2.5000	3.1250
Benzo(k)fluoranteno	0.6250	0.9375	1.2500	1.8750	2.5000	3.1250
Benzo(a)pireno	1.5625	2.3438	3.1250	4.6875	6.2500	7.8125
Dibenzo(a, h)antraceno	6.2500	9.3750	12.5000	18.7500	25.0000	31.2500
Benzo(ghi)perileno	2.5000	3.7500	5.0000	7.5000	10.0000	12.5000
Indeno(1,2,3-cd)pireno	1.5625	2.3438	3.1250	4.6875	6.2500	7.8125

Se realizó un análisis de regresión por mínimos cuadrados y se obtuvo la ecuación de la recta del área del analito de interés en relación al área del p-terfenilo (estándar interno) vs. la concentración, en cada uno de los estándares de las diferentes concentraciones; se calculó la desviación estándar relativa de los factores de respuesta y se obtuvieron el coeficiente de correlación (r) y el coeficiente de determinación (r^2) para cada hidrocarburo.

3.3. Desarrollo de métodos de extracción para agua

3.3.1. Microextracción líquido-líquido de gota en modalidad de inmersión

(SDME-INM)

Para el establecimiento de las condiciones de experimentación en la extracción de PAHs por SDME-INM se revisó lo publicado por otros autores utilizando esta técnica de extracción [55-63],

El primer paso para el desarrollo de esta técnica de extracción fue la selección del solvente de extracción.

Para probar los solventes de extracción en muestras de agua se utilizó agua bidestilada adicionada con PAHs. Las condiciones iniciales de experimentación para SDME-INM se enlistan en la tabla X y en la figura 4 se observa el esquema general de la técnica.

Los solventes probados para la extracción de los PAHs fueron: hexano, ciclohexano, diclorometano y tolueno.

Tabla X. Condiciones iniciales de prueba para la extracción de PAHs en agua utilizando SDME-INM

Volumen de muestra de agua	5 mL
Volumen de la gota	1 μ L
Tiempo de extracción	20 min
Agitación	\approx 700 r.p.m.
Jeringa	1 μ L
Concentración de PAHs	1.2- 96 μ g/L
Volumen de resuspensión	25 μ L

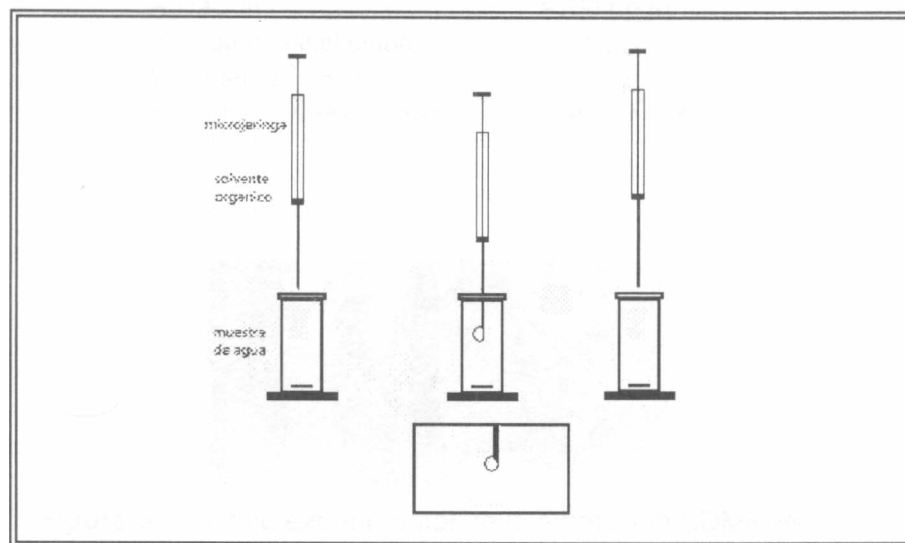


Figura 4. Esquema de SDME-INM

El criterio principal en la selección del solvente fue la recuperación de todos los analitos de interés, una vez seleccionado, se procedió a establecer los parámetros para optimizar la técnica de extracción. Los parámetros evaluados fueron: el volumen de la gota, se utilizaron gotas de 1 y 5 μ L; el porcentaje de cloruro de sodio, se experimentó con adiciones de 0 y 4% y el tiempo de extracción, se probaron 20 y 40 minutos. A partir de lo anterior se hizo un diseño factorial de 2 niveles utilizando las variables antes mencionadas. Los criterios de selección para las condiciones de trabajo fueron la recuperación y la reproducibilidad.

Las condiciones finales de extracción se enlistan en la tabla XI, en la figura 5, se muestran fotografías del montaje de la técnica SDME-INM.

Tabla XI. Condiciones finales de SDME-INM para la extracción de PAHs

Parámetro	Condición seleccionada
Solvente de extracción	Tolueno
Volumen de muestra	5 mL
Volumen de la gota	1 μ L
Tiempo de extracción	20 min
Agitación	=700 r.p.m.
Jeringa de bisel plano	2 μ L
Volumen de resuspensión	25 (0.L)

*el solvente se evapora a sequedad con nitrógeno antes de resuspender

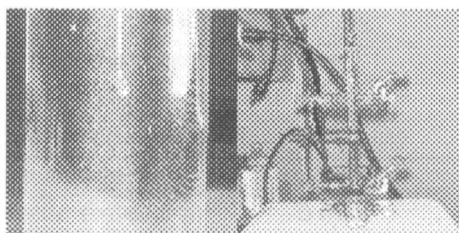


Figura 5. Montaje experimental de la extracción SDME-INM.

3.3.2. Microextracción líquido-líquido de gota en modalidad de headspace

(SDME-HS)

Las condiciones de experimentación en la extracción de PAHs por SDME-HS se establecieron con base en la revisión de lo publicado por otros autores que utilizaron esta técnica de extracción [65-69],

Nuevamente el primer paso para el desarrollo de la técnica de extracción fue la selección del solvente de extracción. Los solventes probados para la extracción de los PAHs fueron: alcohol bencílico, n-octanol, mezcla de xilenos y tolueno.

^TNCÍares, tfe BxpetTnex\BCloT\ para 'StMt-VIS>, s'n embargo, inmediatamente después de iniciar las pruebas experimentales, fue necesario replantear algunas de estas condiciones debido a problemas técnicos, como la inestabilidad de la gota en el headspace, la evaporación del solvente durante la extracción, entre otros. En la tabla XII, se enlistan las condiciones preliminares de prueba para esta técnica, una vez realizados los ajustes para superar los inconvenientes iniciales. La matriz utilizada para las pruebas fue agua bidestilada, en la figura 6 se observa el esquema general de la técnica SDME-HS.

Tabla XII. Condiciones iniciales de prueba para la extracción de PAHs en agua utilizando SDME-HS

Volumen de muestra	10 mL
Volumen de headspace	5 mL
Volumen de la gota	2.5 μ L
Temperatura de extracción	ambiente
Tiempo de equilibrio	30 min
Tiempo de extracción	5 min
Agitación	=1200 r.p.m.
Jeringa biselada	25 μ L
Concentración de PAHs	1.2- 96 μ g/L
Volumen de resuspensión	25 μ L

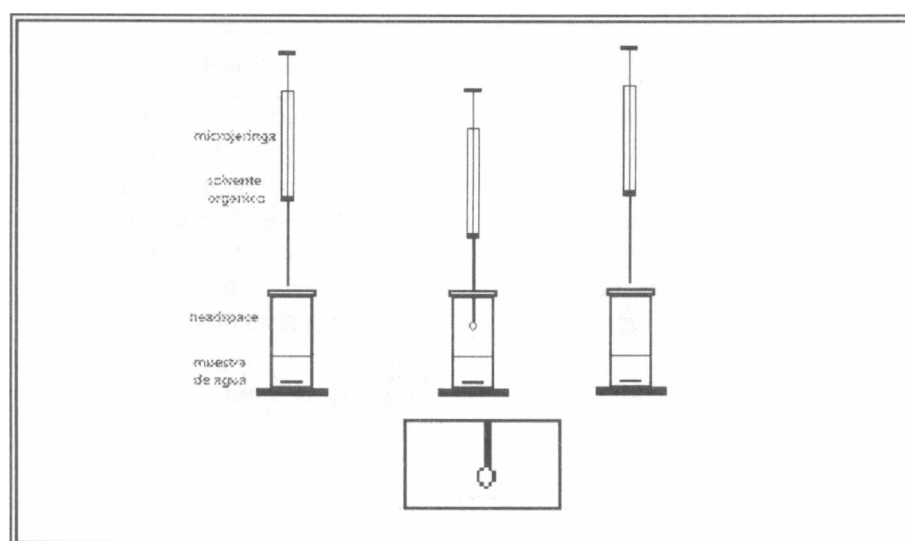


Figura 6. Esquema de SDME-HS

i

A partir de las condiciones enlistadas, se probaron los solventes propuestos. En el caso del tolueno y el xileno, el solvente fue evaporado con nitrógeno antes de resuspender en acetonitrilo.

El criterio para la selección del solvente fue la recuperación el mayor número de analitos de interés. Elegido el solvente, se probaron tres diferentes temperaturas: ambiente (23°C), 50°C y 70°C.

Una vez establecida la temperatura de extracción, se evaluó la adición de cloruro de sodio. Se prepararon y analizaron muestras con concentraciones de 0, 10, 20 y 30% de NaCl.

En todos los pasos, la selección de las condiciones de trabajo fue hecha con base en la mayor intensidad de respuesta de los analitos y la precisión.

A partir de los resultados se establecieron condiciones de SDME-HS para la extracción de PAHs en muestras de agua, estas condiciones se enlistan en la tabla XIII. En la figura 7 se muestra una fotografía del montaje experimental de la técnica.

Tabla XIII. Condiciones finales de SDME-HS para la extracción de PAHs

Parámetro	Condición seleccionada
Volumen de muestra	10 mL
Agitación	=1 200 r.p.m.
Solvente de extracción	n-octanol
Volumen de extracción	2.5 nL
Temperatura de extracción	50°C
Tiempo de equilibrio	30 min
Tiempo de extracción	5 min
% NaCl	10
Volumen de resuspensión	25 (µL)

Figura 7. Montaje experimental del proceso de extracción SDME-HS para PAHs en agua.

3.3.3. Microextracción en fase sólida en modalidad de headspace (SPME-HS)

Las variables experimentales optimizadas en la extracción de PAHs por SPME-HS se establecieron con base en la revisión de lo publicado por otros autores que utilizaron esta técnica de extracción [70-72],

El primer factor evaluado en esta técnica, fue el tipo de fibra a utilizar para la extracción de PAHs en agua. Se probaron 2 fibras, una de 100µm de PDMS y otra de 65µm PDMS/DVB. Las condiciones iniciales de experimentación se enlistan en la tabla XIV.

Tabla XIV. Condiciones iniciales de prueba para la extracción de PAHs utilizando SPME-HS

Volumen de muestra	10 mL
Concentración de NaCl	0-10%
Agitación	= 1200 r.p.m.
Temperatura de extracción	50°C
Tiempo de equilibrio	30 min
Tiempo de extracción	15 min
Volumen de desorción	110 M.L de acetonitrilo x 5 min

Las condiciones de acondicionamiento de la fibra fueron las recomendadas por el fabricante:

1. Colocar la fibra en el puerto de inyección del cromatógrafo de gases a 250°C durante 30 min con un flujo de 2 mL/min de Helio.
2. Sumergir la fibra por 15 minutos en acetonitrilo.

3. Sumergir por 10 minutos en una mezcla acetonitrilo:agua (58:42)
4. Sumergir en agua por 5 minutos.

Para seleccionar el tipo de fibra a utilizar en la optimización de la técnica, se realizaron los experimentos preliminares mostrados en la figura 8. Fueron evaluados dos tipos de fibra, la mixta PDMS/DVB en referencia a los resultados previamente obtenidos por Lucio-Gutiérrez [53,54] y la de PDMS por ser, en referencias bibliográficas, una de las más utilizadas para la extracción de los compuestos de interés. Para ambas fibras se evaluó la eficiencia en la extracción de los PAHs en muestras de agua bidestilada con y sin adición de NaCl.

Tipo de fibra		
<i>i</i>		
I		1
65µm PC MS/DVB		100µm de PDMS
1 _r		1
NaCl		NaCl
1		1
r	1	1 1
0%	10%	0% 10%

Figura 8. Diagrama de experimentos SPME-HS para la elección de la fibra de trabajo.

El criterio principal para la elección de la fibra fue la recuperación del mayor número de analitos; la fibra elegida fue la fibra mixta de 65 µm de PDMS/DVB. Una vez decidido lo anterior, se realizó un diseño factorial de 2 niveles donde los parámetros a optimizar fueron: la temperatura de extracción, se probaron 50°C y 70°C; el tiempo de equilibrio,

30 y 60 min y el tiempo de extracción en 15 y 30 minutos. Los criterios de selección para las condiciones de trabajo fueron la recuperación y precisión.

Las condiciones finales para la extracción de PAHs empleando SPME-HS se muestran en la tabla XVI, en la figura 9 se muestra una fotografía del montaje experimental de la técnica.

Tabla XV. Condiciones finales de SPME-HS para la extracción de PAHs

Parámetro	Condición seleccionada
Volumen de muestra	10 mL
Agitación	=1 200 r.p.m.
Tipo de fibra	PDMS/DVB 65 μ m
Temperatura de extracción	50°C
Tiempo de equilibrio	30 min
Tiempo de extracción	15 min
Volumen de desorción	110 (j.L de acetonitrilo x 5 min

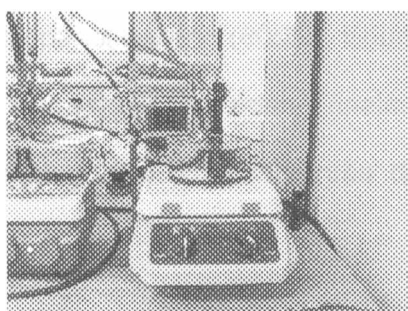


Figura 9. Montaje experimental de la SPME-HS

3.4. Evaluación del desempeño de métodos de extracción para agua

3.4.1. Condiciones experimentales de SPE

Las condiciones experimentales utilizadas en este trabajo para evaluar la eficiencia de la extracción de PAHs en agua utilizando SPE, fueron establecidas previamente en el

Departamento de Química Analítica de la Facultad de Medicina, UANL por la Est. Q.C.B. Marsela Garza Tapia y se enlistan en la tabla XVI.

Tabla XVI. Condiciones de extracción para PAHs por SPE

Volumen de muestra	200 mL
Concentración PAHs	1.2- 60 ng/L
Cartucho	ENVI18 1 g
Flujo	5 mL/min
Acondicionamiento	5mL de Acetonitrilo:Agua 15:85
Elución	4mL de Isopropanol:Hexano 80:20

En el montaje de esta técnica, el cartucho de fase sólida es colocado en la estación de vacío, utilizando los adaptadores SPE y las llaves de paso, posteriormente se conecta la bomba de vacío. El cartucho de extracción en fase sólida se acondiciona con al menos 5 ml_ de una mezcla ACN:H₂O (15:85); en este punto el flujo es ajustado a 5 mL/min utilizando un matraz de aforación de 5 ml_ , tomando la precaución de no dejar secar la fase; en la segunda etapa del procedimiento, el agua adicionada con PAHs se pasa a través del cartucho, y por último se procede a la elución de los compuestos de interés con una mezcla isopropanol:hexano (80:20). El primer mililitro es descartado y se colectan los siguientes 3 ml_ , éstos se mezclan y finalmente se toma una alícuota de 1 mL para su análisis cromatográfico. Una fotografía del montaje de la técnica se presenta en la figura 10.

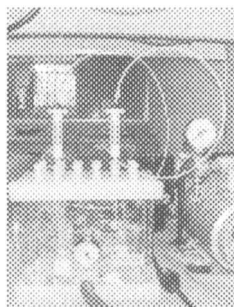


Figura 10. Fotografía de la realización de SPE en muestras de agua

3.4.2. Condiciones experimentales de SPME-INM

Las condiciones de trabajo experimentales empleadas para las extracciones de PAHs en agua empleando SPME-INM, fueron establecidas en el Departamento de Química Analítica de la Facultad de Medicina, UANL por Lucio Gutiérrez en su trabajo de Tesis de Maestría [53] y se muestran en la tabla XVII.

Tabla XVII. Condiciones de extracción para PAHs por SPME-INM

Volumen de muestra	15 mL
Agitación	alta
Fibra	PDMS/DVB 65 nm
Temperatura de extracción	70°C
Tiempo de extracción	60 min
Volumen de desorción	110 pL de acetonitrilo x 5 min

Para la realización de este procedimiento de extracción es necesario primeramente hacer el acondicionamiento de la fibra, así como montar el baño de agua a temperatura controlada sobre una placa de agitación y calentamiento, y preparar la muestra a extraer. Una vez acondicionada la fibra, se coloca el vial con la muestra en un baño de agua a 70°C, se fija con la pinzas de sostén y se inicia la agitación magnética a una velocidad aproximada de 1200 r.p.m.; hecho lo anterior, se inserta la fibra cuidadosamente y una vez que la visualizamos dentro del vial, es expuesta para iniciar el proceso de extracción. Trascurrido el tiempo de extracción, la fibra es retraída y retirada del vial. La segunda etapa de este procedimiento consiste en la desorción de los analitos en acetonitrilo; esto es llevado a cabo colocando 110 pL de acetonitrilo en un vial cónico y exponiendo la fibra dentro del solvente, pasado el tiempo establecido se retira la fibra y el contenido del vial es analizado por HPLC. En la figura 11, se muestra una fotografía del montaje de la técnica.

Figura 11. Fotografía de la realización de SPME-INM en muestras de agua

3.4.3. Evaluación del desempeño de los métodos de extracción de PAHs en agua

Para seleccionar el método de extracción para PAHs en agua de río, los procedimientos de extracción desarrollados en este trabajo y los previamente desarrollados en el Departamento de Química Analítica, Facultad de Medicina, UANL, fueron evaluados en función de: el número de analitos detectados, su porcentaje de recuperación, desviación estándar relativa de los mismos, tiempo de análisis y costo.

Para la evaluación del desempeño en estos procedimientos, se emplearon tres diferentes tipos de agua: agua bidestilada, agua proveniente del río Pílon (considerado como “no contaminado”) y agua del río Pesquería (afluente presumiblemente contaminado). Las muestras de agua proveniente de los ríos, fueron refrigeradas a 4°C hasta su análisis y fueron caracterizadas fisicoquímicamente por el Laboratorio de Servicio del Departamento de Química Analítica, LASEQA, Facultad de Medicina, UANL.

En la figura 12, se muestra una fotografía de los lugares de muestreo de agua, se marca su ubicación geográfica y fecha y hora de toma de la muestra, los resultados de la caracterización se muestran en la tabla XVIII.

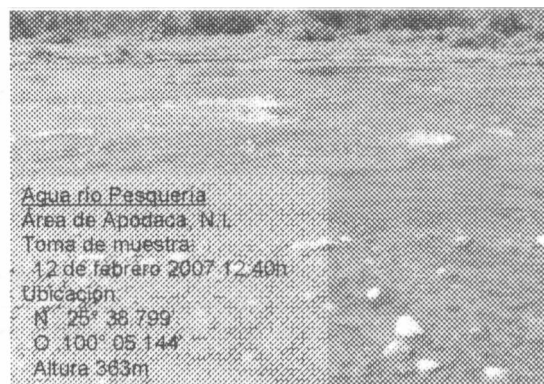


Figura 12. Fotografía de los sitios de toma de muestra de agua en los ríos de la región y su ubicación geográfica.

Tabla XVIII. Resultados del análisis fisicoquímico de las aguas de río empleadas en la evaluación del desempeño de las técnicas de extracción de PAHs en agua.

Parámetro	Río Pilón	Río Pesquería
PH	7.2	8.4
Temperatura	23.1°C	20.6°C
Conductividad	675 ms/m	950 ms/m
Sólidos totales	457 mg/L	637 mg/L
Alcalinidad total (como Na ₂ CO ₃)	145 mg/L	245 mg/L
Dureza total (como CaCO ₃)	311 mg/L	400 mg/L
Sulfatos	137 mg/L	139 mg/L
Nitratos (como N)	<0.6 mg/L	7 mg/L

Antes de ser sometidas al procedimiento de extracción, todas las muestras de agua fueron filtradas a través de una membrana de 0.45 µm, posteriormente fueron fortificadas para obtener una concentración final de PAHs en un rango de 1.2- 60 µg/L en cada una de ellas y una concentración final de estándar interno de 96 µg/L. En total se analizaron cuatro muestras de cada tipo de agua con cada una de las técnicas: un blanco y tres muestras fortificadas con PAHs.

El cálculo de la recuperación para cada analito en los diferentes procesos de extracción se realizó en función del estándar interno p-terfenilo, de acuerdo al método EPA 8000C [72] con la siguiente fórmula:

$$\% \text{ recuperación} = \frac{\text{Relación área analito/área estándar interno en la muestra extraída}}{\text{relación área analito/área estándar interno en el estándar}} \times 100$$

ecuación 1

3.5. Validación del método de extracción en Agua

Para la validación del procedimiento de extracción seleccionado para PAHs en agua de río, se realizó por estándar externo los parámetros evaluados fueron: la linealidad, la precisión, exactitud, límites de detección y de cuantificación [72-75], En la tabla XIX, se muestran las concentraciones de trabajo para cada uno de los PAHs y la concentración añadida a las muestras de agua provenientes del río Pesquería.

Tabla XIX. Concentración de PAHs en los estándares y muestras adicionadas

Analito	Concentración (µg/L)					Muestras
	Estándar	Estándar	Estándar	Estándar	Estándar	
	1	2	3	4	5	
Naftaleno	16.667	31.250	45.833	62.500	79.167	41.667
Acenaftileno	16.667	31.250	45.833	62.500	79.167	41.667
Acenafteno	33.333	62.500	91.667	125.000	158.333	83.333
Fluoreno	3.333	6.250	9.167	12.500	15.833	8.333
Fenantreno	1.333	2.500	3.667	5.000	6.333	3.333
Antraceno	0.667	1.250	1.833	2.500	3.167	1.667
Fluoranteno	1.667	3.125	4.583	6.250	7.917	4.167
Pireno	3.333	6.250	9.167	12.500	15.833	8.333
Benzo(a)antraceno	1.667	3.125	4.583	6.250	7.917	4.167
Criseno	1.667	3.125	4.583	6.250	7.917	4.167
Benzo(b)fluoranteno	0.667	1.250	1.833	2.500	3.167	1.667
Benzo(k)fluoranteno	0.667	1.250	1.833	2.500	3.167	1.667
Benzo(a)pireno	1.667	3.125	4.583	6.250	7.917	4.167
Dibenzo(a,h)antraceno	6.667	12.500	18.333	25.000	31.667	16.667
Benzo(ghi)perileno	2.667	5.000	7.333	10.000	12.667	6.667
Indeno(1,2,3-cd)pireno	1.667	3.125	4.583	6.250	7.917	4.167

3.5.1. Linealidad

Se prepararon soluciones estándar en agua en viales de 15 ml_ en el rango de concentraciones enlistadas en la tabla XIX a partir de la mezcla de los 16 PAHs. Todas las soluciones se prepararon por triplicado para construir las curvas de calibración. Se utilizó el programa Excel para manejar los datos. Para establecer el rango lineal se evaluó el coeficiente de determinación y el coeficiente de variación de los factores de respuesta (FR), el cual fue calculado de la siguiente manera:

$$FR = \text{Área} / \text{Concentración}$$

ecuación 2

Con los factores de respuesta obtenidos de los estándares, se calculó la desviación estándar relativa como:

$$\% \text{ RSD} = (\text{SD} * 100) / \text{promedio FR}$$

ecuación 3

donde

SD representa la desviación estándar

RSD es la desviación estándar relativa

3.5.2. Limite de detección

Para determinar los límites de detección se emplearon los datos obtenidos de las curvas de calibración de los cinco niveles de concentración por triplicado.

El cálculo fue realizado basado en la desviación estándar de la respuesta y la pendiente, criterio de la *International Conference on Harmonisation (ICH)*[74,75], y se expresa como:

$$\text{LD} = 3.3\text{SD}/m$$

ecuación 4

donde:

SD es la desviación estándar de la línea de regresión

m es la pendiente de la curva de calibración

3.5.3. Limite de cuantificación

El límite de cuantificación fue estimado conforme a los criterios de la ICH [74,75], a partir de los datos obtenidos de las curvas de calibración por triplicado. Utilizando la siguiente ecuación:

$$\text{LC} = 10\text{SD}/m$$

ecuación 5

donde:

SD es la desviación estándar residual de la línea de regresión

m es la pendiente de la curva de calibración

3.5.4. Exactitud y Precisión

Se trabajó con muestras de agua fortificadas a concentraciones de 1.2- 60 µg/L. Los porcentajes de recuperación y sus desviaciones estándar relativas fueron calculados a partir del análisis por triplicado de estas muestras.

$$\text{Concentración del analito} = \frac{(\text{área del analito}) (\text{concentración del estándar interno})}{\text{área del estándar interno}} \quad |$$

ecuación 6

donde:

a es la pendiente de la curva de la calibración

b es el intercepto de la curva de calibración

$$\% \text{ de Recuperación} = \frac{\text{concentración calculada}}{\text{concentración añadida}} \times 100$$

ecuación 7

3.6. Implementación de métodos de extracción para sedimento

Para la implementación de los métodos de extracción para sedimentos, fue necesario realizar algunas pruebas previas para garantizar la interacción de los analitos adicionados con la matriz; los ensayos se llevaron a cabo con sedimento de río colectado en el río Pílon (figura 13). Antes del procesamiento de las muestras, fue necesario cribar el sedimento en una malla de 0.2 x 0.2 cm para asegurar su homogenización.

Sedimento río Pílon

Ubicación:

N 25° 02.524'

O 099° 55.885'

Altura 668m

Análisis fisicoquímico

pH 7.64

Temperatura 25.5°C

Conductividad 0.61 mS

Humedad del sedimento 56.63%



Figura 13. Ubicación del punto de muestreo y características fisicoquímicas de la muestra de sedimento de río empleada en las pruebas preliminares.

La evaluación consistió en probar tres tiempos de reposo después de la adición a 5g de sedimento de PAHs con un intervalo final de concentraciones de 0.318 a 15.903 mg/kg y se realizaron las extracciones 2, 12 y 24h después [77],

Para la evaluación de los procesos de extracción se utilizó sedimento proveniente del río Pesquería. Una fotografía del sitio, su ubicación geográfica y los parámetros fisicoquímicos analizados se muestran en la figura 14.

Sedimento río Pesquería

Ubicación:

N 25° 38.799'
O 100° 05.144'
Altura 363m

Análisis fisicoquímico

pH 8.20
Temperatura 24°C
Conductividad 0.8 mS
Humedad del sedimento 39.29%



Figura 14. Ubicación del punto de muestreo y características fisicoquímicas de la muestra de sedimento de río empleada en las pruebas de extracción en sedimento.

3.6.1. Soxhlet-Columna de Sílice (SX-SIL)

Para la implementación de esta técnica, se partió del método EPA 3540C [78], Para llevar a cabo la extracción de PAHs, se tomaron 10g de sedimento, el cual fue mezclado homogéneamente con igual cantidad de sulfato de sodio anhidro (previamente secado a 400°C por 4h) y colocado en un dedal de celulosa y éste en el equipo Soxhlet. El equipo Soxhlet fue adaptado a un refrigerante y a un matraz bola en el que se colocaron previamente 300 mL de la mezcla de acetona:hexano 1:1; el sistema fue montado sobre una placa de calentamiento y conectado a un recirculador

de agua. La temperatura que se estableció para alcanzar una velocidad de flujo de 4-6 ciclos/h fue de 200°C.

La segunda etapa de procedimiento es la concentración del extracto. El método EPA 3540C [78] recomienda el uso del dispositivo Kuderna-Danish para esta función, sin embargo, su empleo excedió las 2h en a concentración de cada muestra; lo anterior fue visto como desventaja y se buscaron alternativas para esta etapa del procedimiento.

Delhomme et al.[79], proponen el uso de la presión reducida (rotaevaporación) utilizando un baño de agua a 30°C y no más de 15 mbar para la concentración de muestras extraídas de PAHs. Se decidió el uso del rotavapor como recomienda este autor.

La etapa final es la limpieza, ésta fue llevada a cabo en una columna de sílice, la cual fue preparada con algodón fibra de vidrio comprimido, 2g de sílice de malla 160 (activada previamente por 12h a 130°C) y una capa final de 2g de sulfato de sodio anhidro, el acondicionamiento fue hecho con 20 mL de una mezcla acetona:hexano 1:1. Una vez preparada la columna se cargó la muestra y la elución fue hecha con 2 mL de la misma mezcla de acondicionamiento, finalmente el eluato fue evaporado con una corriente suave de nitrógeno y posteriormente reconstituido con 1 mL de acetonitrilo, filtrado en una membrana de nylon de 0.45µm [80] y analizado por HPLC UV/FLU. En la figura 15 se muestra el montaje experimental de la técnica.

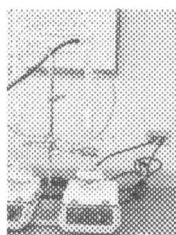


Figura 15. Montaje experimental del procedimiento de Soxhlet.

3.6.2. Sonicación-Columna de Sílica (S-SIL)

La metodología seguida fue la descrita en el método EPA 3550C [80] para la extracción de los PAHs y al procedimiento de limpieza según el método EPA 3630C [81]. Se utilizaron columnas de vidrio de 20 X 1 cm, a las que se colocó una capa bien comprimida de 2 cm de fibra de vidrio (previamente lavada con una mezcla de acetona:hexano 1:1), una capa de 5g de sílice (malla 100-200, activada por 16h a 130°C) uniformemente empacada y para finalizar una última capa de 2g de sulfato de sodio anhidro (secado por 4h a 400°C).

El procedimiento fue reproducido satisfactoriamente, no obstante, debido a que la velocidad de flujo era sumamente baja e irregular fue necesario conectar la columna de sílice a una estación de vacío. El acoplamiento de la columna en la estación de vacío, permitió controlar el flujo a una velocidad de 2 mL/min.

Para la evaluación del procedimiento se analizaron por triplicado muestras de sedimento fortificadas con niveles de PAHs de 0.76-3.817 mg/kg y 1.22 mg/kg de p-terfenilo más un blanco.

En la figura 16, se muestra un diagrama del procedimiento seguido en esta técnica y en la figura 17 el montaje experimental de la técnica.

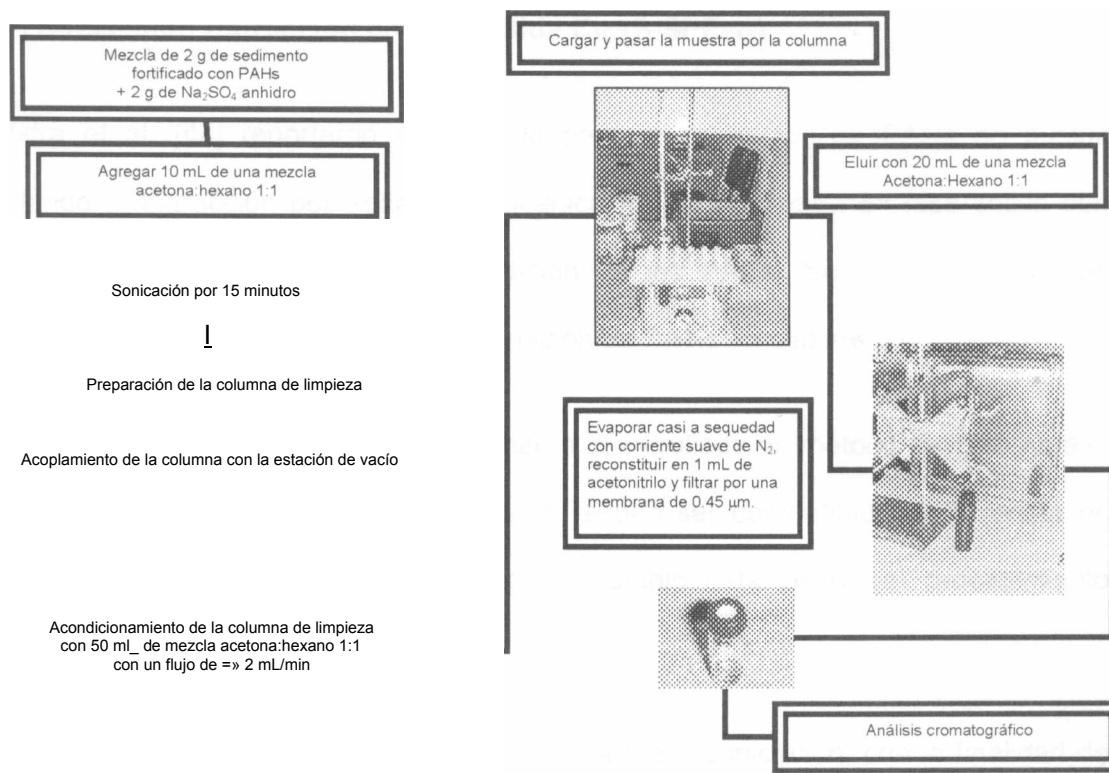


Figura 16. Procedimiento de Sonicación- Columna de Sílice para la extracción de PAHs en sedimento de río.

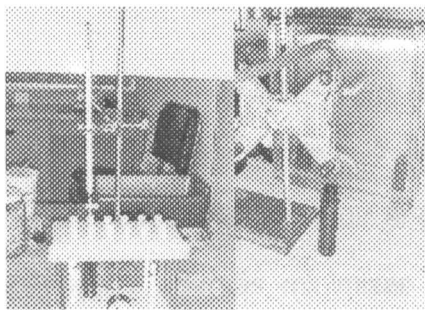


Figura 17. Montaje experimental de la técnica de extracción Sonicación- Columna de Sílice

3.6.3. Sonicación-Extracción en fase sólida C_{18} (S-SPE $_{C_{18}}$)

Kootstra et al. [44] reportaron un método para la extracción de PAHs en suelos acoplado la extracción por agitación mecánica a una extracción en fase sólida con cartuchos C_{18} utilizando THF para la elución de los PAHs. Se decidió ajustar las condiciones para su empleo en la determinación de PAHs en sedimento.

Anteriormente, en nuestro laboratorio se había desarrollado un método de SPE para el análisis de agua de río; este procedimiento resultó ser compatible con la etapa de extracción para sedimentos, por lo que se cambió este paso del procedimiento originalmente descrito para suelos.

Por otro lado, se probaron la agitación mecánica y por sonicación, con la finalidad de elegir la modalidad de mejor eficiencia. Lo anterior fue realizado analizando por duplicado muestras de 5g de sedimento provenientes del río Pílon, fortificadas en niveles de PAHs de 0.76-3.817 mg/kg y 1.22 mg/kg de p-terfenilo y evaluando tiempos de extracción de 20 minutos.

Ya seleccionado el sistema de agitación, se evaluó la posibilidad de escalar el procedimiento a la mitad con la finalidad de disminuir el gasto de estándar de PAHs empleado para las fortificaciones y además minimizar la generación de residuos peligrosos.

Las condiciones de extracción Sonicación-SPE $_{C_{18}}$ utilizadas se resumen en la figura

18.

3.6.3. Sonicación-Extracción en fase sólida C_{18} (S-SPE $_{C_{18}}$)

Kootstra et al. [44] reportaron un método para la extracción de PAHs en suelos acoplando la extracción por agitación mecánica a una extracción en fase sólida con cartuchos C_{18} utilizando THF para la elución de los PAHs. Se decidió ajustar las condiciones para su empleo en la determinación de PAHs en sedimento.

Anteriormente, en nuestro laboratorio se había desarrollado un método de SPE para el análisis de agua de río; este procedimiento resultó ser compatible con la etapa de extracción para sedimentos, por lo que se cambió este paso del procedimiento

«Vgnalmente descrito para suelos.

Por otro lado, se probaron la agitación mecánica y por sonicación, con la finalidad de elegir la modalidad de mejor eficiencia. Lo anterior fue realizado analizando por duplicado muestras de 5g de sedimento provenientes del río Pílon, fortificadas en niveles de PAHs de 0.76-3.817 mg/kg y 1.22 mg/kg de p-terfenilo y evaluando tiempos de extracción de 20 minutos.

seleccionado el sistema de agitación, se evaluó la posibilidad de escalar el procedimiento a la mitad con la finalidad de disminuir el gasto de estándar de PAHs empleado para las fortificaciones y además minimizar la generación de residuos peligrosos.

Las condiciones de extracción Sonicación-SPE $_{C_{18}}$ utilizadas se resumen en la figura

18.

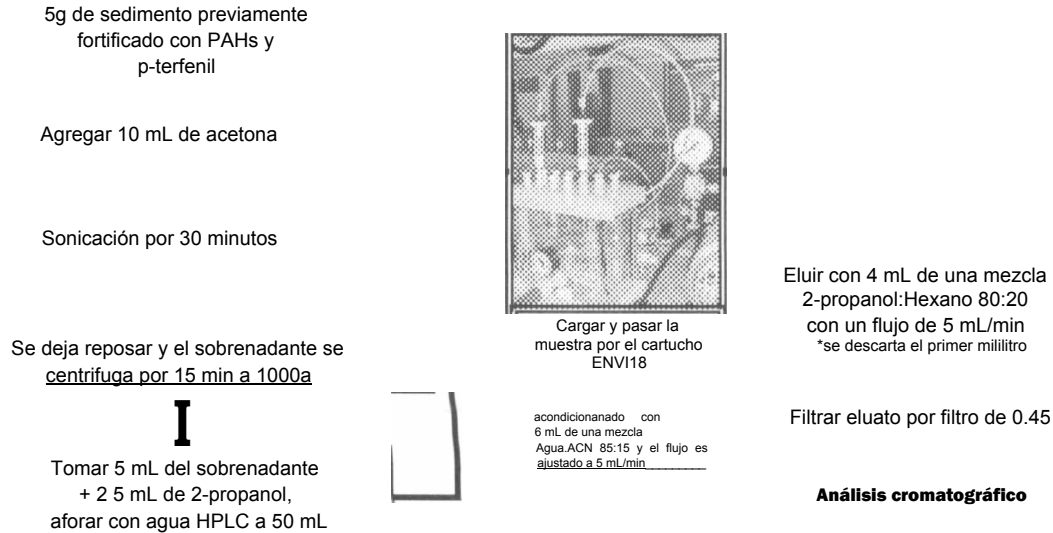


Figura 18. Diagrama de flujo del procedimiento de extracción S-SPEcis en sedimento de río.

3.6.4. Evaluación del desempeño de los métodos de extracción de PAHs en sedimento

Para la selección del método de extracción para PAHs en sedimento de río, los procedimientos de extracción desarrollados en este trabajo fueron evaluados tomando en cuenta: el número de analitos detectados por cada técnica, el porcentaje de recuperación, las desviaciones estándar relativas, tiempo de análisis y costo.

Para la evaluación del desempeño en estos procedimientos, se empleó sedimento proveniente de dos sitios; del río Pesquería (colectado en N 25° 38.799' O 100° 05.144' Altura 363m) y del río Pílon (colectado en N 25° 02.524' O 099° 55.885' Altura 668m), ambos sedimentos fueron refrigerados a 4°C hasta su análisis. Veinticuatro horas antes de iniciar el procedimiento de extracción, las muestras de sedimento fueron

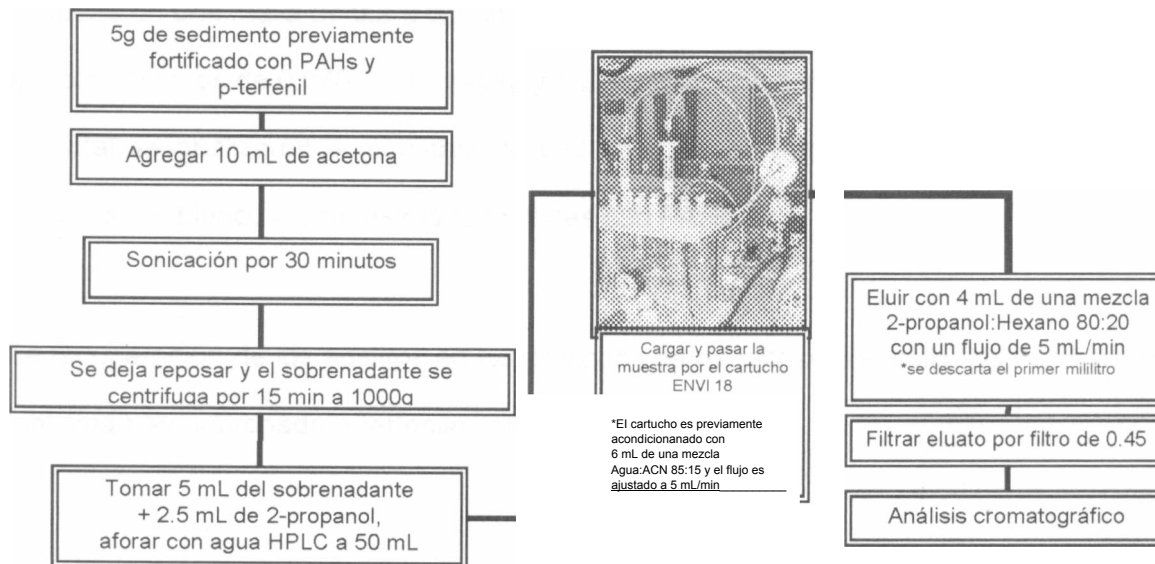


Figura 18. Diagrama de flujo del procedimiento de extracción S-SPE_C18 en sedimento de río.

3.6.4. Evaluación del desempeño de los métodos de extracción de PAHs en sedimento

Para la selección del método de extracción para PAHs en sedimento de río, los procedimientos de extracción desarrollados en este trabajo fueron evaluados tomando en cuenta: el número de analitos detectados por cada técnica, el porcentaje de recuperación, las desviaciones estándar relativas, tiempo de análisis y costo.

Para la evaluación del desempeño en estos procedimientos, se empleó sedimento proveniente de dos sitios; del río Pesquería (colectado en N 25° 38.799' O 100° 05.144' Altura 363m) y del río Pión (colectado en N 25° 02.524' O 099° 55.885' Altura 668m), ambos sedimentos fueron refrigerados a 4°C hasta su análisis. Veinticuatro horas antes de iniciar el procedimiento de extracción, las muestras de sedimento fueron

cribadas en una malla de 0.2 x 0.2 cm, pesadas y fortificadas con PAHs en un rango de concentraciones de 0.076-3.817 mg/kg y 1.22 mg/kg de p-terfenilo.

En total se analizaron 4 muestras de cada tipo de sedimento con cada una de las técnicas, un blanco y 3 muestras fortificadas con PAHs.

La recuperación de los analitos en los procesos de extracción fue calculada en función del estándar subrogado p-terfenilo utilizando la ecuación 1.

3.7 Validación del método de extracción para sedimento

En la validación del procedimiento de extracción seleccionado para PAHs en agua de río, se evaluaron los parámetros de linealidad, precisión y exactitud, límites de detección y de cuantificación [73-75],

3.7.1. Linealidad

Se utilizaron cinco estándares de calibración, que fueron preparados por triplicado para la construcción de las curvas de calibración. Las soluciones estándar se prepararon a partir de la mezcla de los 16 PAHs en un rango de concentraciones de 0.064-8.909 mg/kg y una concentración de p-terfenilo de 1.22 mg/kg. En la tabla XX, se presentan los rangos de concentración empleados para cada analito.

Tabla XX. Niveles de concentración de las curvas de calibración obtenidas por HPLC UV/FLU

PAHs	Std 1 mg/kg	Std 2 mg/kg	Std 3 mg/kg	Std 4 mg/kg	Std 5 mg/kg
Naftaleno	0.636	1.272	1.909	3.181	4.455
Acenaftileno	0.636	1.272	1.909	3.181	4.455
Acenafteno	1.272	2.545	3.817	6.361	8.909
Fluoreno	0.127	0.254	0.382	0.636	0.891
Fenantreno	0.051	0.102	0.153	0.254	0.356
Antraceno	0.025	0.051	0.076	0.127	0.178
Fluoranteno	0.064	0.127	0.191	0.318	0.445
Pireno	0.127	0.254	0.382	0.636	0.891
Benzo(a)antraceno	0.064	0.127	0.191	0.318	0.445
Criseno	0.064	0.127	0.191	0.318	0.445
Benzo(b)fluoranteno	0.025	0.051	0.076	0.127	0.178
Benzo(k)fluoranteno	0.025	0.051	0.076	0.127	0.178
Benzo(a)pireno	0.064	0.127	0.191	0.318	0.445
Dibenzo(a,h)antraceno	0.254	0.509	0.763	1.272	1.782
Benzo(ghi)perileno	0.102	0.204	0.305	0.509	0.713
indeno(1,2,3-cd)pireno	0.064	0.127	0.191	0.318	0.445

El manejo de los datos, se realizó con el programa Excel. Para el establecimiento del rango lineal, se calculó el coeficiente de determinación y el coeficiente de variación de los factores de respuesta (FR), el cual fue calculado de la siguiente manera:

$$FR = \frac{\sqrt{\frac{\sum (A_i - \bar{A})^2}{n-1}}}{\bar{A}} \quad \text{ecuación 8}$$

^ (área del analito) (concentración del estándar subrogado)
(área del estándar subrogado) (concentración del analito)

Con los factores de respuesta obtenidos de los estándares, se calculó la desviación estándar relativa de acuerdo a la ecuación 3.

3.7.2. Limite de detección

El cálculo se realizó con base en la desviación estándar de la respuesta y la pendiente, de acuerdo a las recomendaciones de la *International Conference on Harmonisation (ICH)* [74-75], y se realizó el cálculo de acuerdo a la ecuación 4.

3.7.2. Limite de cuantificación

Para establecer los límites de cuantificación se emplearon los datos obtenidos de las curvas de calibración de los seis niveles de concentración por triplicado.

El límite de cuantificación fue calculado de acuerdo a los criterios de la ICH [74-75], utilizando la ecuación 5.

3.7.3. Exactitud y Precisión

Se determinó analizando muestras de sedimento fortificadas a concentraciones de 0.076-3.817 mg/kg y 1.22 mg/kg de p-terfenilo. Los porcentajes de recuperación y sus desviaciones estándar relativas fueron calculados a partir del análisis por triplicado de estas muestras. En el cálculo de los porcentajes de recuperación se emplearon las ecuaciones 6 y 7. En la tabla XXI, se muestran las concentraciones adicionadas de cada analito en la muestra de sedimento.

Tala XXI. Concentraciones adicionadas a las muestras de sedimento para la evaluación de la recuperación en las técnicas de extracción evaluadas.

Analito	Concentración Adicionada mg/kg	Analito	Concentración Adicionada mg/kg
Naftaleno	1.909	Benzo(a)antraceno	0.191
Acenaftileno	1.909	Criseno	0.191
Acenafteno	3.817	Benzo(b)fluoranteno	0.076
Fluoreno	0.382	Benzo(k)fluoranteno	0.076
Fenantreno	0.153	Benzo(a)pireno	0.191
Antraceno	0.076	Dibenzo(a,h)antraceno	0.763
Fluoranteno	0.191	Benzo(ghi)perileno	0.305
Pireno	0.382	Indeno(1,2,3-cd)pireno	0.191

3.8 Muestreo y Aplicación de los Métodos de Extracción

Se realizó un muestreo durante los meses de marzo, abril y mayo del 2008, en 10 puntos del río Pesquería previamente seleccionados en conjunto con personal regional de la CONAGUA. En la figura 19 se muestra un diagrama de flujo linealizado de la cuenca del río San Juan donde se marcan los puntos de muestreo elegidos y en la figura 20, un mapa satelital de la localización de las estaciones de muestreo. Una panorámica de cada punto de muestreo se presenta en la figura 21, su ubicación geográfica se muestra en la tabla XXII. Las muestras de agua y sedimento colectadas fueron analizadas aplicando los métodos seleccionados previamente en este trabajo.

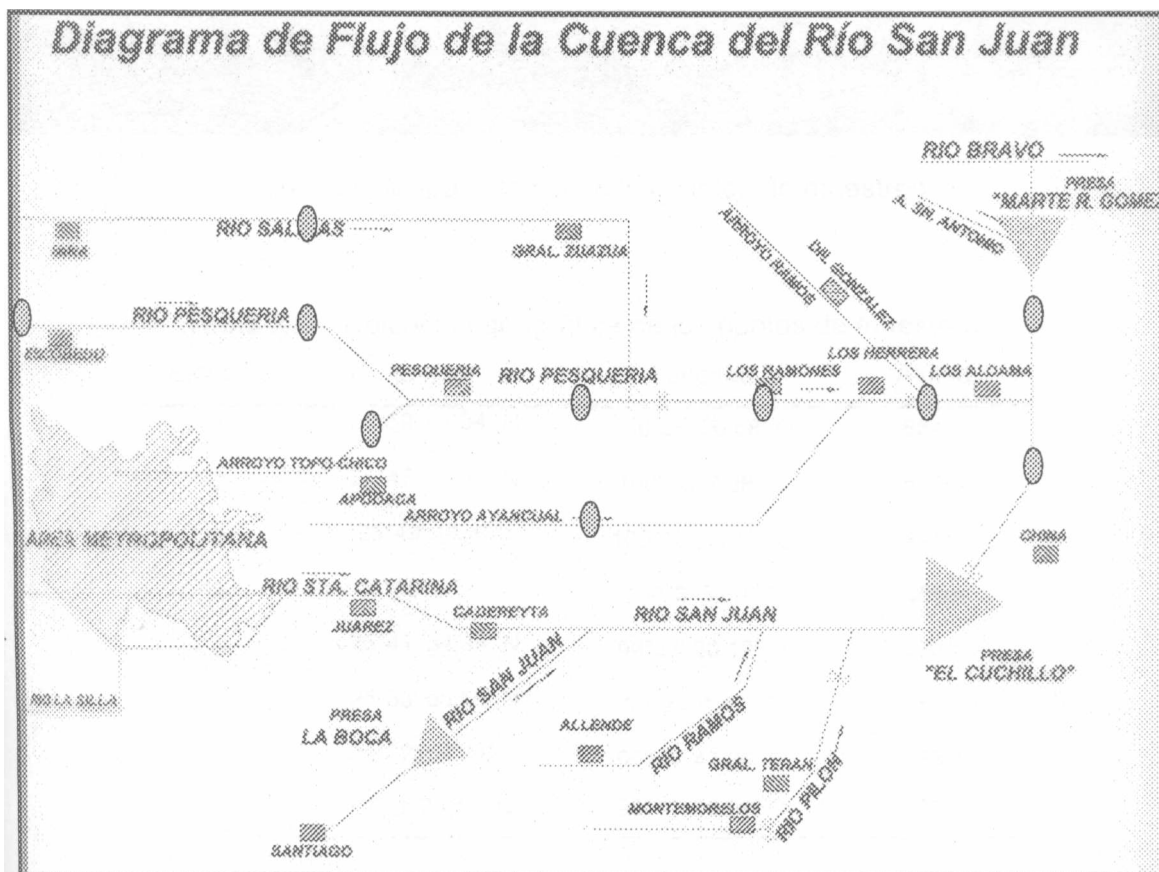


Figura 19. Puntos de muestreo en el río Pesquería



Figura 20. Mapa satelital de los puntos de muestreo.

Tabla XXII. Ubicación geográfica de los puntos de muestreo

Estación	Latitud	Longitud	Altitud
1	25°59' 41.34" N	100°25' 56.58" O	664m
2	25°47' 52.31" N	100°23' 7.98" O	572m
3	25°49' 16.4" N	100° 13' 33.16" O	445m
4	25°46' 5.70" N	100°3' 5.69" O	365m
5	25°41' 34.34" N	99°37' 30.12" O	233m
6	25°53' 56.56" N	99°24' 1.43" O	153m
7	25°52' 54.34" N	99° 11' 43.06" O	133m
8	26°3' 28.11" N	99°11' 36.98" O	105m



Figura 21. Fotografía de los puntos de muestreo en el cauce del río Pesquería y su sedimento correspondiente

Para el muestreo de agua y sedimento se tomaron en cuenta las recomendaciones del manual de “Técnicas de muestreo para manejadores de recursos naturales”, publicado por el Instituto Uacru de Ecología. Para la recolección de muestras de agua, fueron empleados frascos de vidrio ámbar con capacidad para 1 litro; mientras que las muestras de sedimento fueron colectadas en vasos de precipitado de vidrio de 400 mL. Todas las muestras fueron conservadas en hielo para su transporte y se guardaron en refrigeración a 4° C hasta el momento de la extracción. Las extracciones de PAHs en ambas matrices y el análisis cromatográfico de las muestras se llevaron a cabo en un periodo no mayor de una semana a partir del muestreo. En la figura 22, se muestra una representación de la forma de tomar las muestras de agua y sedimento [82],

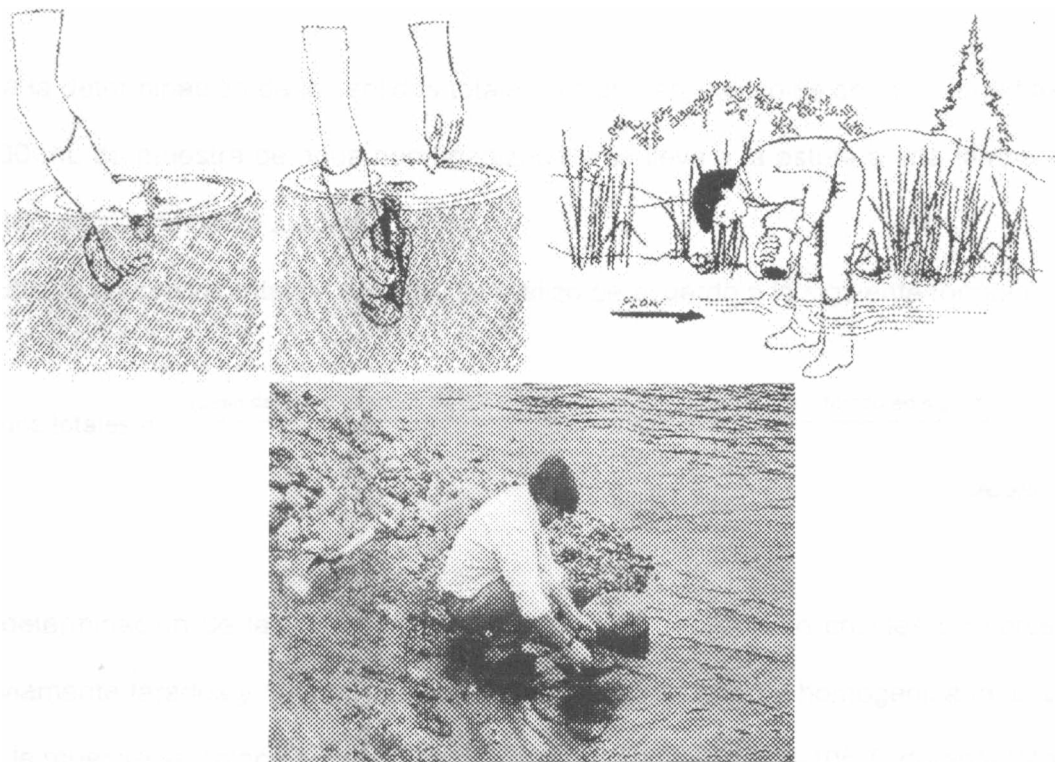


Figura 22. Muestreo de agua (parte superior) y sedimento (fotografía en la parte inferior).

Para el muestreo de agua y sedimento se tomaron en cuenta las recomendaciones del manual de “Técnicas de muestreo para manejadores de recursos naturales”, publicado por el Instituto Nacional de Ecología. Para la recolección de muestras de agua, fueron empleados frascos de vidrio ámbar con capacidad para 1 litro; mientras que las muestras de sedimento fueron colectadas en vasos de precipitado de vidrio de 400 mL. Todas las muestras fueron conservadas en hielo para su transporte y se guardaron en refrigeración a 4° C hasta el momento de la extracción. Las extracciones de PAHs en ambas matrices y el análisis cromatográfico de las muestras se llevaron a cabo en un periodo no mayor de una semana a partir del muestreo. En la figura 22, se muestra una representación de la forma de tomar las muestras de agua y sedimento [82],

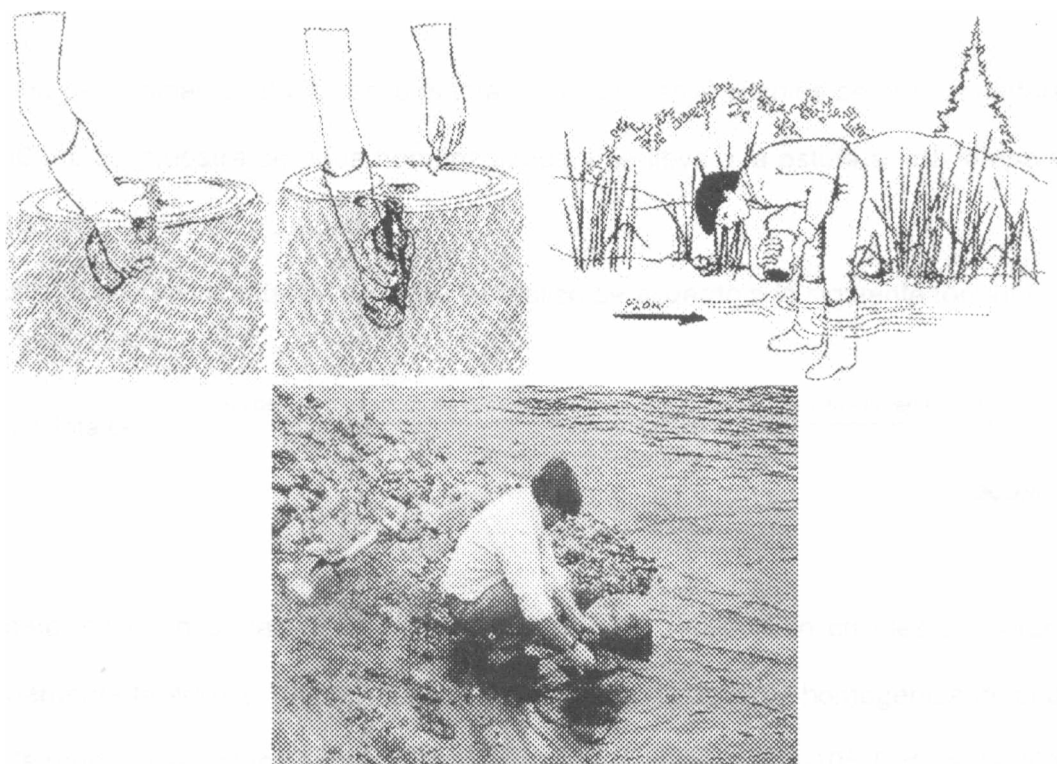


Figura 22. Muestreo de agua (parte superior) y sedimento (fotografía en la parte inferior).

Adicionalmente, en cada punto de muestreo se tomaron los siguientes parámetros fisicoquímicos: pH, temperatura y conductividad del agua. El equipo utilizado fue un conductímetro, pHmetro digital y medidor de temperatura marca Conductronic PC18. Previamente a cada muestreo este equipo fue calibrado de acuerdo a las recomendaciones del fabricante.

Cada una de las muestras recolectadas fue analizada por triplicado. También se determinó la cantidad de sólidos totales a todas las muestras de agua de acuerdo a la NMX-AA-034-SCFI-2001[83] y el contenido de humedad a las muestras de sedimento siguiendo la metodología descrita en la NOM-021-RECNAT-2000 [84],

Para la determinación de los sólidos totales, se utilizaron crisoles de porcelana tarados y 100 ml_ de muestra de agua homogenizada y se lleva a la estufa a una temperatura de 103-105°C hasta sequedad.

El cálculo de sólidos totales en mg/L se realizó de acuerdo a la siguiente fórmula:

$$\text{Sólidos totales} = \frac{(\text{peso del crisol después de la evaporación en mg} - \text{peso del crisol tarado en mg}) \times 1000}{\text{Volumen de la muestra en mL}}$$

ecuación 9

La determinación de la humedad en sedimento, se realizó con crisoles de porcelana previamente tarados y 10g de muestra de sedimento cribado y homogenizado, el crisol con la muestra se colocó en la estufa a una temperatura de 103-105°C durante 24h.

El cálculo del porcentaje de humedad se realizó con la siguiente fórmula:

$$\% \text{ Humedad} = \frac{(\text{peso del crisol mas muestra húmeda} - \text{peso del crisol mas muestra seca}) \times 100}{\text{gramos de muestra de sedimento}}$$

ecuación 10

Adicionalmente, en cada punto de muestreo se tomaron los siguientes parámetros fisicoquímicos: pH, temperatura y conductividad del agua. El equipo utilizado fue un conductímetro, pHmetro digital y medidor de temperatura marca Conductronic PC18. Previamente a cada muestreo este equipo fue calibrado de acuerdo a las recomendaciones del fabricante.

Cada una de las muestras recolectadas fue analizada por triplicado. También se determinó la cantidad de sólidos totales a todas las muestras de agua de acuerdo a la NMX-AA-034-SCFI-2001[83] y el contenido de humedad a las muestras de sedimento siguiendo la metodología descrita en la NOM-021-RECNAT-2000 [84],

Para la determinación de los sólidos totales, se utilizaron crisoles de porcelana tarados y 100 mL de muestra de agua homogenizada y se lleva a la estufa a una temperatura de 103-105°C hasta sequedad.

El cálculo de sólidos totales en mg/L se realizó de acuerdo a la siguiente fórmula:

$$\text{Sólidos totales} = \frac{(\text{peso del crisol después de la evaporación en mg} - \text{peso del crisol tarado en mg}) \times 1000}{\text{Volumen de la muestra en mL}}$$

ecuación 9

La determinación de la humedad en sedimento, se realizó con crisoles de porcelana previamente tarados y 10g de muestra de sedimento cribado y homogenizado, el crisol con la muestra se colocó en la estufa a una temperatura de 103-105°C durante 24h.

El cálculo del porcentaje de humedad se realizó con la siguiente fórmula:

$$\% \text{ Humedad} = \frac{(\text{peso del crisol mas muestra húmeda} - \text{peso del crisol mas muestra seca}) \times 100}{\text{gramos de muestra de sedimento}}$$

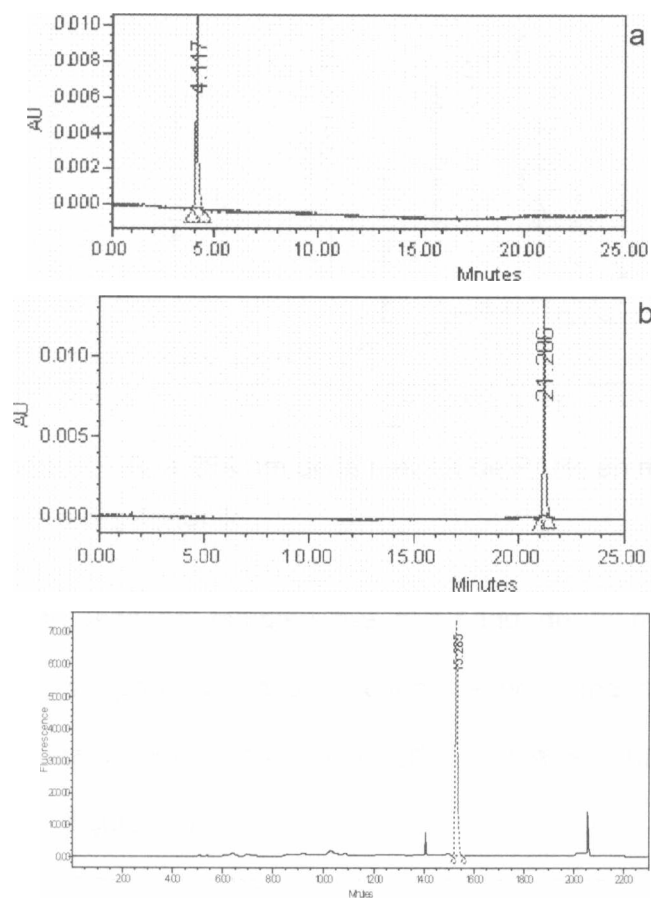
ecuación 10

CAPÍTULO IV

RESULTADOS

4.1. Método cromatográfico

Los cromatogramas de cada uno de los compuestos probados como estándares internos: benzo[e]pireno, nitrobenceno y p-terfenilo y en mezcla con los PAHs se muestran en la figura 23.



VdJJI 1/YA

Figura 23. a. Cromatograma UV a 254 nm del nitrobenzeno, b. Cromatograma UV a 254 nm del benzo[e]pireno, d. cromatograma FLU del p-terfenilo, d. Mezcla de PAHs con los estándares internos.

De los resultados de estos experimentos, se decidió no incluir al benzo[e]pireno, debido a que su presencia en el cromatograma interfirió con los PAHs de interés. El nitrobenzeno y el p-terfenilo fueron bien identificados y separados de los PAHs de estudio y fueron incluidos en la mezcla de estándares (figura 24).

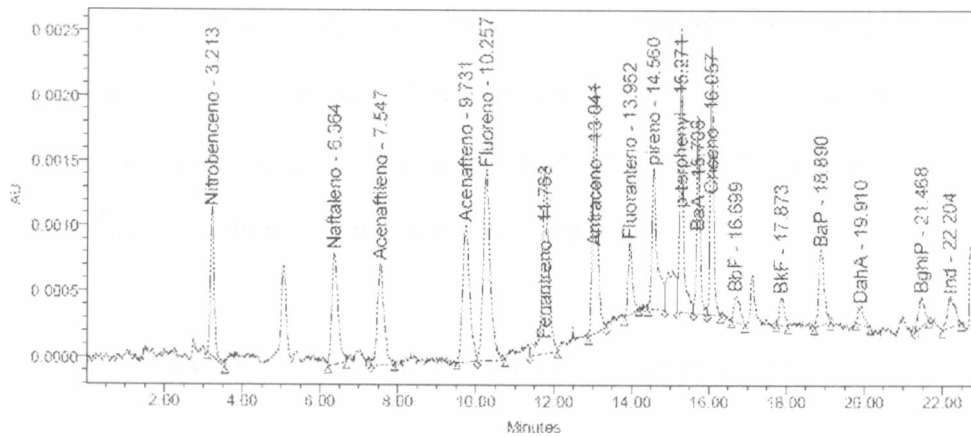


Figura 24. Cromatograma UV a 254 nm de la mezcla de PAHs en mezcla con el nitrobenzeno y el p-terfenilo.

Posteriormente el nitrobenzeno también fue eliminado de la mezcla, debido a su inestabilidad, el pico se parte en dos al cabo de aproximadamente 1 día de la preparación de la mezcla. Finalmente el p-terfenilo fue el único estándar interno utilizado en el estudio, (figura 25).

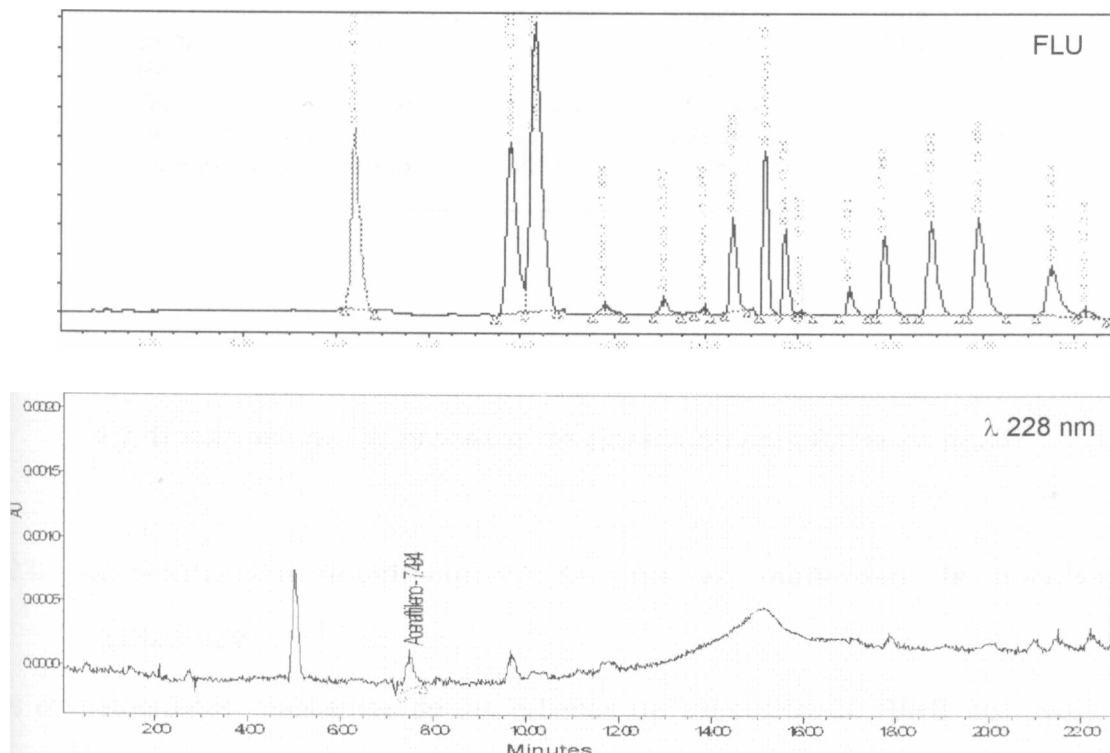


Figura 25. Separación cromatográfica de la mezcla de PAHs incluido el p-terfenil como estándar interno.

Para evaluar los resultados de estos procesos se realizó una validación parcial del sistema cromatográfico descrito en el apartado 3.2.2.1., se analizaron curvas de calibración en un rango de concentraciones de 0.6250-78.1250 $\mu\text{g/L}$ de PAHs y 96 $\mu\text{g/L}$ de p-terfenilo. Los resultados se muestran en la tabla XXIII.

Tabla XXIII. Evaluación del sistema cromatográfico

PAHs	t_R (min)	r^2	DER del FR(%)
Naftaleno	6.31	0.99249	3.15
Acenaftileno	7.56	0.99560	7.81
Acenafteno	9.84	0.99622	3.31
Fluoreno	10.37	0.99604	3.58
Fenantreno	11.85	0.99078	3.92
Antraceno	13.12	0.99378	2.30
Fluoranteno	14.00	0.99730	10.05
Pireno	14.61	0.99000	3.18
Benzo(a)antraceno	15.73	0.99022	2.54
Criseno	16.08	0.99279	5.87
Benzo(b)fluoranteno	17.16	0.99297	3.05
Benzo(k)fluoranteno	17.93	0.99456	3.51
Benzo(a)pireno	18.96	0.99553	2.70
Dibenzo(a,h)antraceno	19.98	0.99544	3.67
Benzo(ghi)perileno	21.53	0.99646	3.60
Indeno(1,2,3-cd)pireno	22.37	0.99679	3.36

n=6

4.2. Desarrollo de los procesos de extracción para PAHs en agua

4.2.1. Microextracción líquido-líquido de gota en modalidad de inmersión

(SDME-INM)

Los cromatogramas resultantes de las pruebas de extracción de PAHs con hexano, ciclohexano, diclorometano y tolueno se muestran en la figura 26.

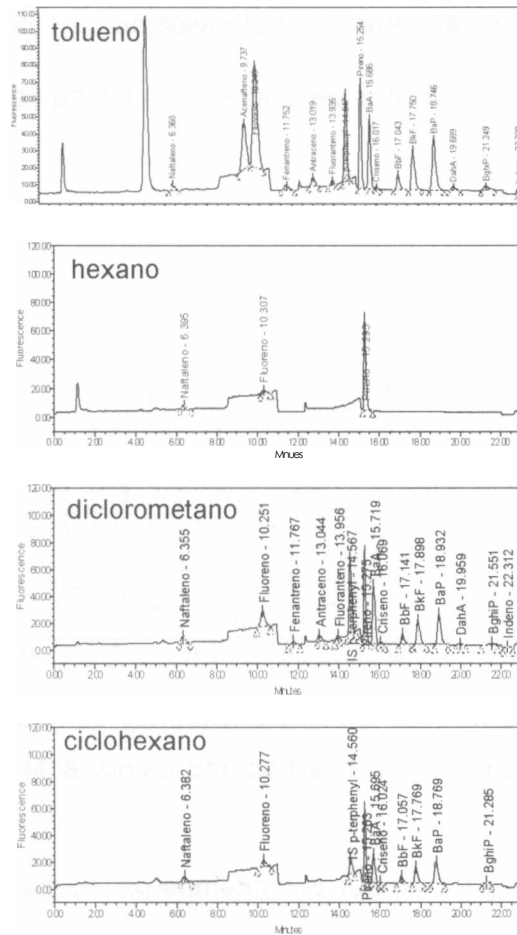


Figura 26. Cromatogramas de extracción SDME-INM de PAHs con diversos solventes.

Los cromatogramas correspondientes a los volúmenes de extracción de 1 y 5 (xL utilizando tolueno como solvente de extracción, se muestran en la figura 27.

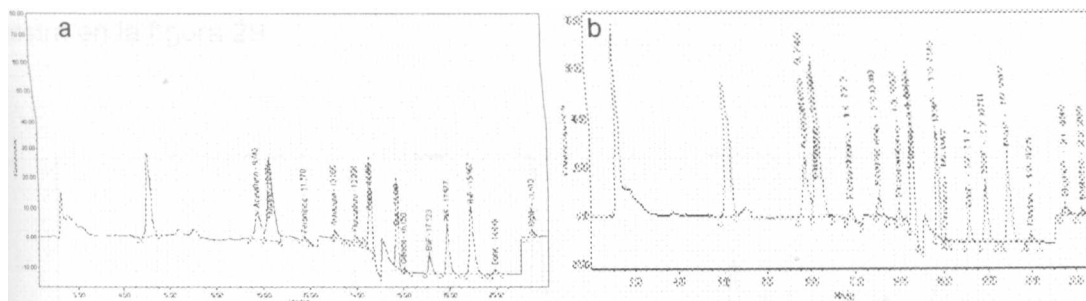


Figura 27. Cromatogramas correspondientes a los volúmenes de extracción probados para SDME-INM, a. 1.0 mL, b. 5.0 mL.

Las pruebas utilizando 1 μ L de solvente mostraron menor variación que las de 5 μ L, por lo que en experimentos posteriores se empleó 1 μ L de tolueno.

Los cromatogramas correspondientes a la adición de NaCl se muestran en la figura 28.

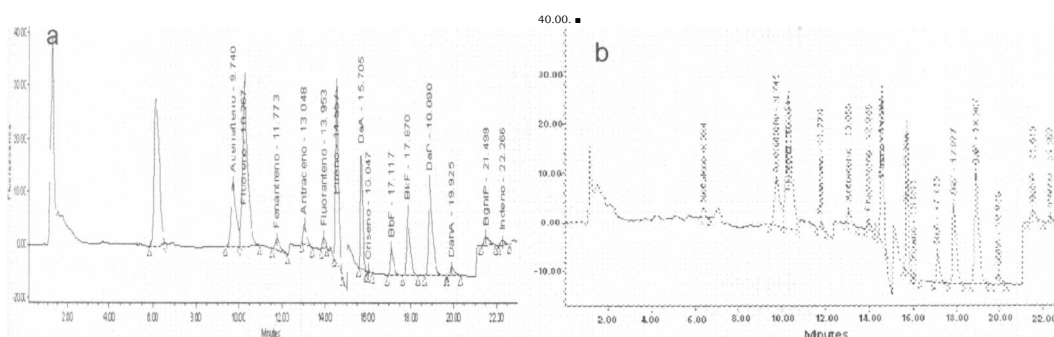


Figura 28. Cromatogramas correspondientes a las pruebas con adición de NaCl para SDME-INM, a. sin adición de NaCl; b. con adición de NaCl.

Los tiempos de extracción experimentados fueron 20 y 30 minutos; se eligió utilizar 20 minutos para la extracción, debido a que en 30 minutos las cantidades recuperadas de solvente fueron muy variables y en consecuencia la respuesta en las pruebas no fue reproducible.

El cromatograma obtenido bajo las condiciones finales de extracción establecidas, se muestra en la figura 29.

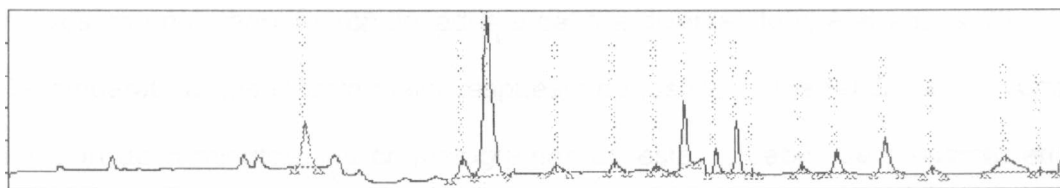


Figura 29. Cromatograma una muestra de agua adicionada con PAHs obtenido bajo las condiciones experimentales de la extracción SDME-INM

4.2.2. Microextracción líquido-líquido de gota en modalidad de headspace

(SDME-HS)

Los cromatogramas correspondientes a las pruebas con diferentes solventes para SDME-HS se muestran en la figura 30.

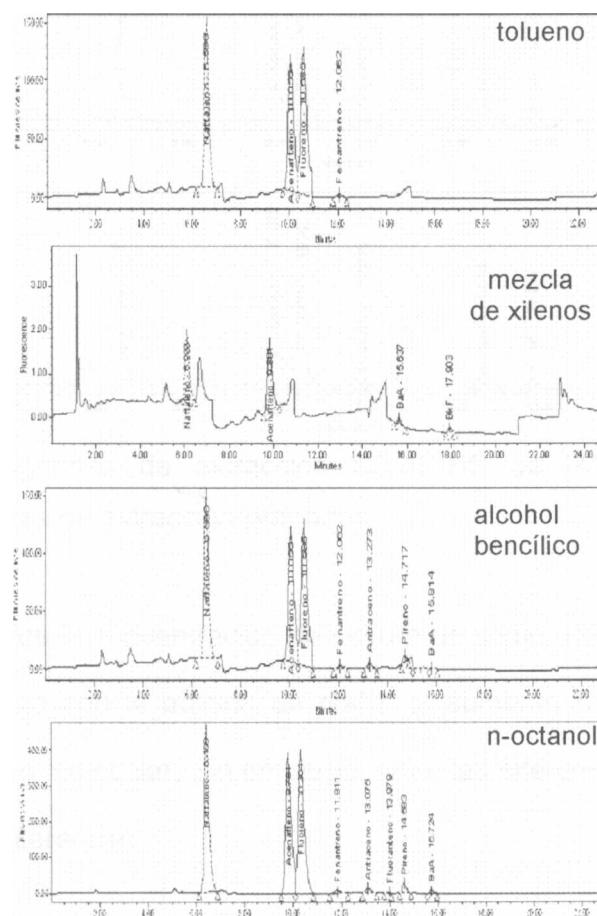


Figura 30. Cromatogramas de extracción SDME-HS de PAHs con diversos solventes.

Los ensayos con n-octanol fueron llevados a cabo a diversas temperaturas, a 23, 50 y 70°C; la temperatura que mostró mejor respuesta de los PAHs fue 50°C con un tiempo de extracción de 5 minutos, los cromatogramas de estas pruebas se muestran en la figura 31.

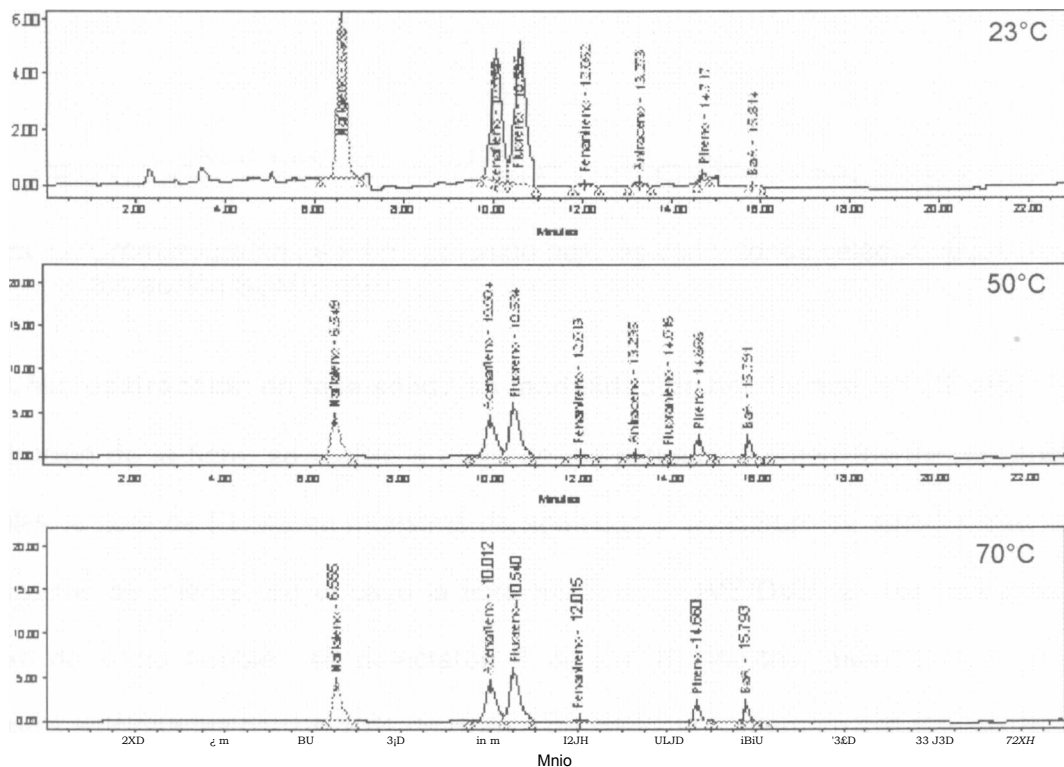


Figura 31. Cromatogramas de extracción SDME-HS de PAHs a las diferentes temperaturas de extracción probados.

Otro factor evaluado fue la concentración de cloruro de sodio adicionado. La intensidad de la respuesta mejoró con la adición de NaCl, el aumento fue de « 15% para los analitos de mayor peso molecular. Sin embargo, entre las diferentes concentraciones de NaCl no se observó diferencia.

A partir de los resultados obtenidos se establecieron las condiciones óptimas de SDME-HS para la extracción de PAHs en muestras de agua, estas condiciones se enlistaron en la tabla XIII. En la figura 32 se muestra el cromatograma obtenido bajo estas condiciones de experimentación.

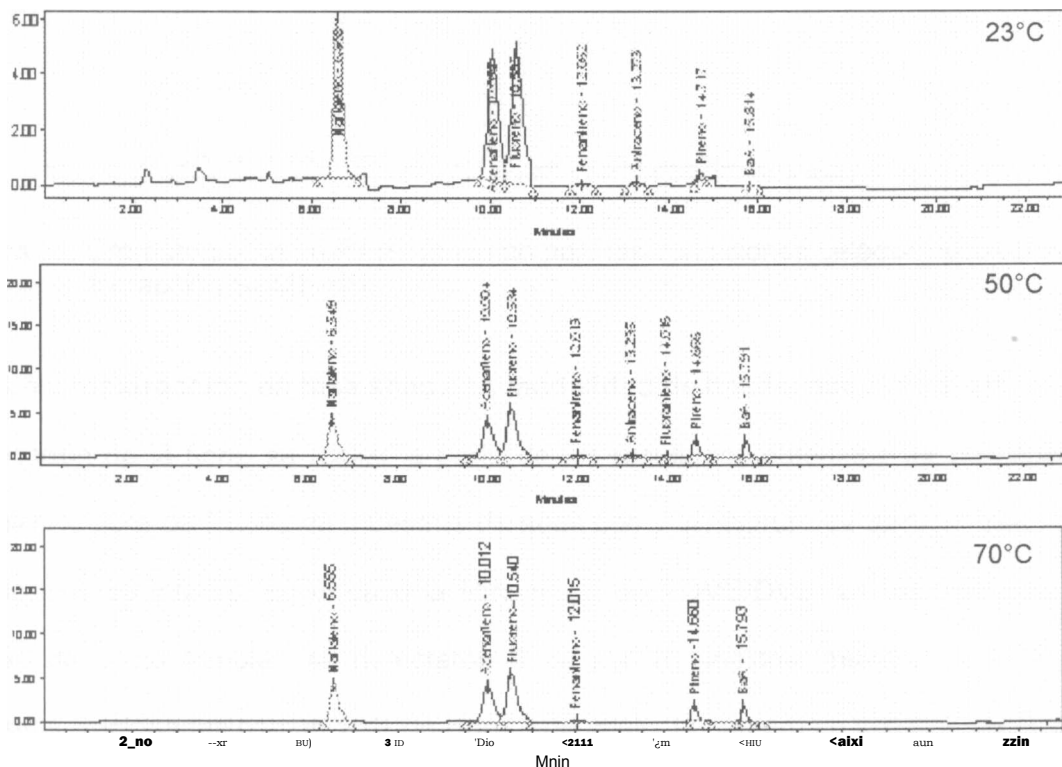


Figura 31. Cromatogramas de extracción SDME-HS de PAHs a las diferentes temperaturas de extracción probados.

Otro factor evaluado fue la concentración de cloruro de sodio adicionado. La intensidad de la respuesta mejoró con la adición de NaCl, el aumento fue de = 15% para los analitos de mayor peso molecular. Sin embargo, entre las diferentes concentraciones de NaCl no se observó diferencia.

A partir de los resultados obtenidos se establecieron las condiciones óptimas de SDME-HS para la extracción de PAHs en muestras de agua, estas condiciones se enlistaron en la tabla XIII. En la figura 32 se muestra el cromatograma obtenido bajo estas condiciones de experimentación.

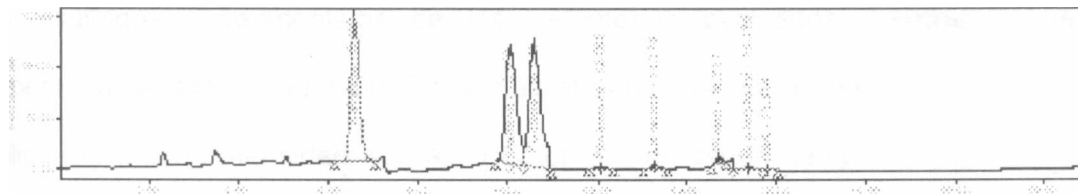


Figura 32. Cromatograma de PAHs obtenido bajo las condiciones seleccionadas para la extracción SDME-HS.

4.2.3. Microextracción en fase sólida en modalidad de headspace (SPME-HS)

La elección de la fibra, se realizó a partir de los resultados obtenidos de las pruebas iniciales; la fibra de PDMS en muestras de agua con y sin cloruro de sodio extrajo 8 de los analitos de interés. En el caso la fibra mixta de PDMS/DVB, en las muestras sin cloruro de sodio también se detectaron 8 de los 16 analitos, mientras que en las muestras adicionadas con un 10% de cloruro de sodio, el número de señales aumentó a 14.

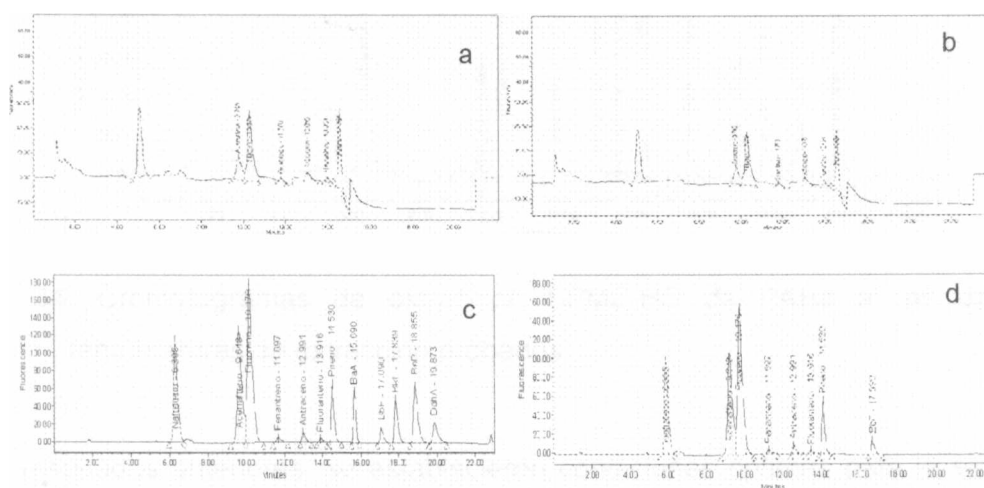


Figura 33. Cromatogramas de extracción SPME-HS de PAHs; a. Fibra PDMS 100µm sin NaCl, b. Fibra PDMS 100µm con NaCl, c. Fibra PDMS/DVB 65µm con NaCl, d. Fibra PDMS/DVB 65µm sin NaCl.

La fibra seleccionada para fue la de 65 µm PDMS/DVB adicionando 10% de NaCl a la muestra de agua.

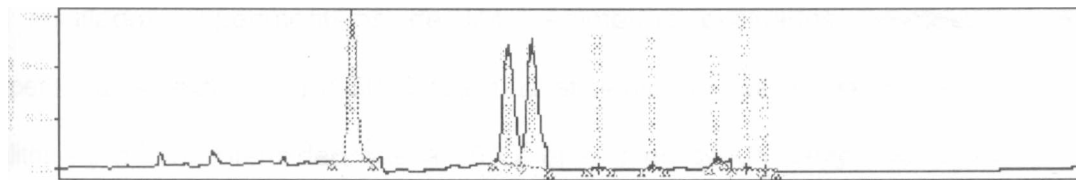


Figura 32. Cromatograma de PAHs obtenido bajo las condiciones seleccionadas para la extracción SDME-HS.

4.2.3. Microextracción en fase sólida en modalidad de headspace (SPME-HS)

La elección de la fibra, se realizó a partir de los resultados obtenidos de las pruebas iniciales; la fibra de PDMS en muestras de agua con y sin cloruro de sodio extrajo 8 de los analitos de interés. En el caso la fibra mixta de PDMS/DVB, en las muestras sin cloruro de sodio también se detectaron 8 de los 16 analitos, mientras que en las muestras adicionadas con un 10% de cloruro de sodio, el número de señales aumentó a 14.

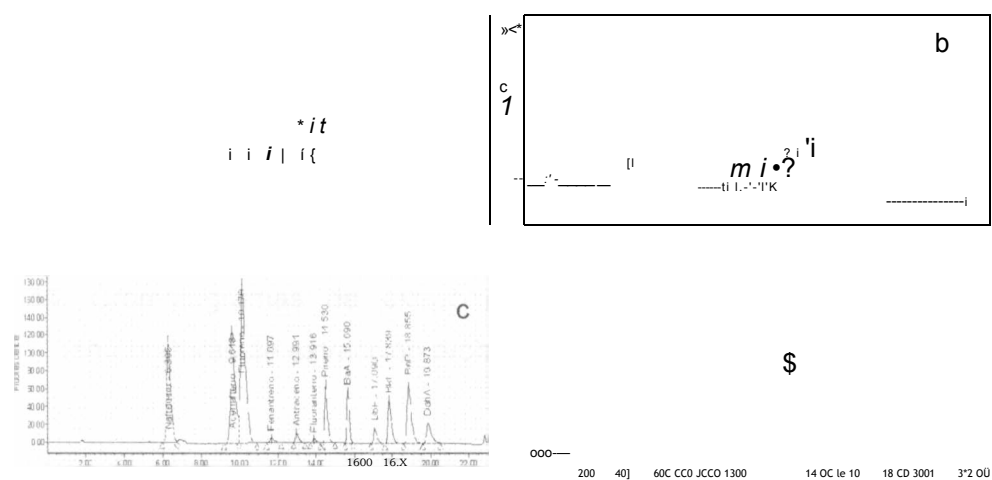


Figura 33. Cromatogramas de extracción SPME-HS de PAHs; a. Fibra PDMS 100(im sin NaCl, b. Fibra PDMS 100pm con NaCl, c.Fibra PDMS/DVB 65pm con NaCl, d. Fibra PDMS/DVB 65pm sin NaCl.

La fibra seleccionada para fue la de 65 pm PDMS/DVB adicionando 10% de NaCl a la muestra de agua.

Los resultados experimentales de los parámetros evaluados, mostraron que la temperatura de extracción a 50°C fue más eficiente, ya que presentó señales de los analitos de mayor intensidad que a 70°C; el empleo de un tiempo de equilibrio más largo (60 minutos) disminuyó la intensidad de las señales y finalmente para el tiempo de extracción no hubo diferencia importante en la intensidad de la respuesta al duplicarlo de 15 a 30 min.

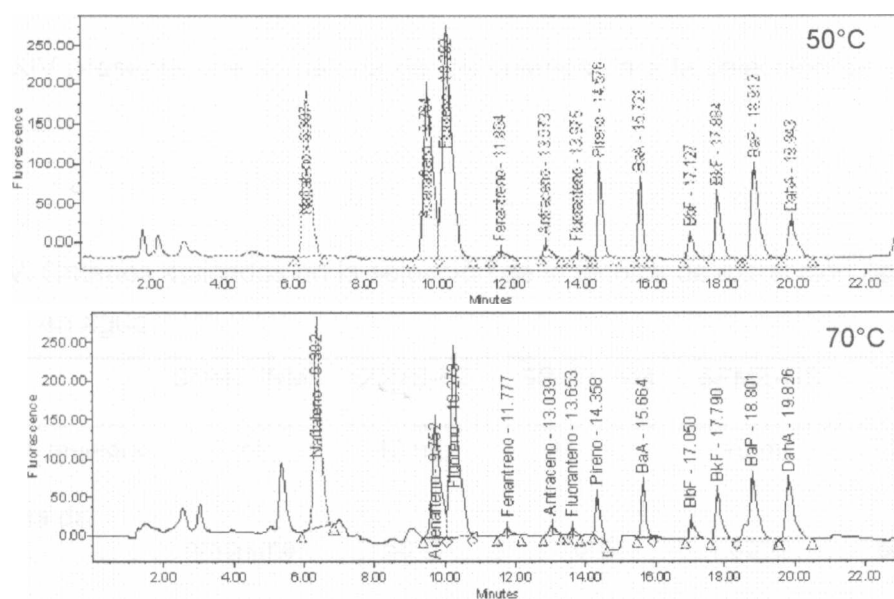


Figura 34. Cromatogramas de extracción SPME-HS de PAHs a las diferentes temperaturas de extracción probados.

De los resultados anteriores, se establecieron condiciones óptimas para la extracción SPME-HS de PAHs (enlistadas en la tabla XV), en la figura 35 se muestra un cromatograma obtenido bajo estas condiciones de experimentación.

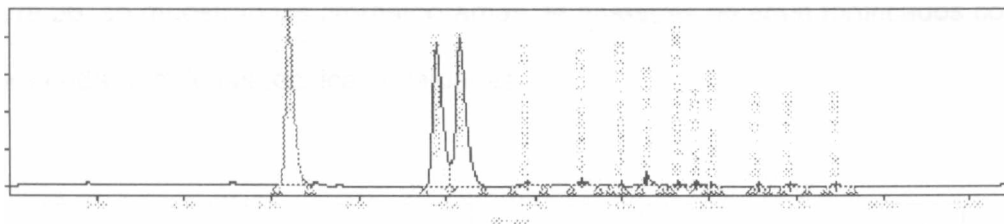


Figura 35. Cromatograma de la extracción SPME-HS de PAHs obtenido bajo las condiciones de experimentación seleccionadas.

4.3. Evaluación del desempeño de métodos de extracción para agua

La tabla XXIV presenta una sumatoria de los criterios para la selección de las técnicas de extracción.

Tabla XXIV. Criterios aplicados en la selección de la técnica de extracción para PAHs en agua

	SDME-INM	SDME-HS	SPME-INM	SPME-HS	SPE
Volumen de muestra	5 ml	10 mL	15 mL	10 mL	200 mL
Temperatura de extracción	ambiente	50°C	70°C	50°C	ambiente
Tiempo de extracción	20 min	5 min	60 min	15 min	= 40 min
Tiempo total de análisis	25 min	35 min	2h 5 min	1h 35 min	1h
Analitos detectados	16	8	16	13	16
Costo	+	+	++	++	+++

Siendo el criterio principal el número de analitos detectados, las técnicas de headspace fueron eliminadas del proceso de evaluación.

En la figura 36, se muestran los cromatogramas de muestras de agua fortificadas con PAHs para cada una de las técnicas evaluadas.

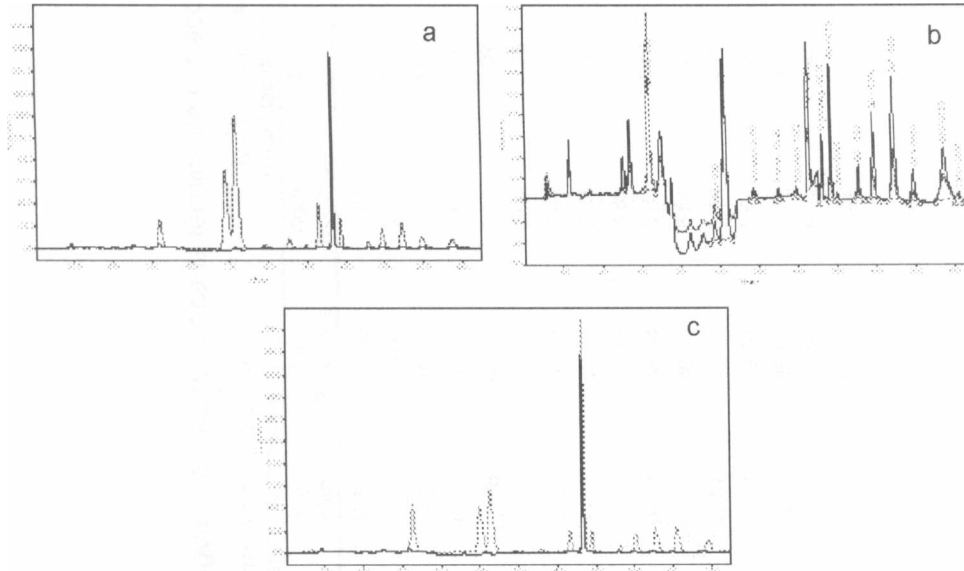


Figura 36. Cromatogramas de muestras de agua fortificadas con PAHs; a. SPE, b. SDME-INM c. SPME-INM

En la figura 36, se muestran los cromatogramas de muestras de agua fortificadas con PAHs para cada una de las técnicas evaluadas.

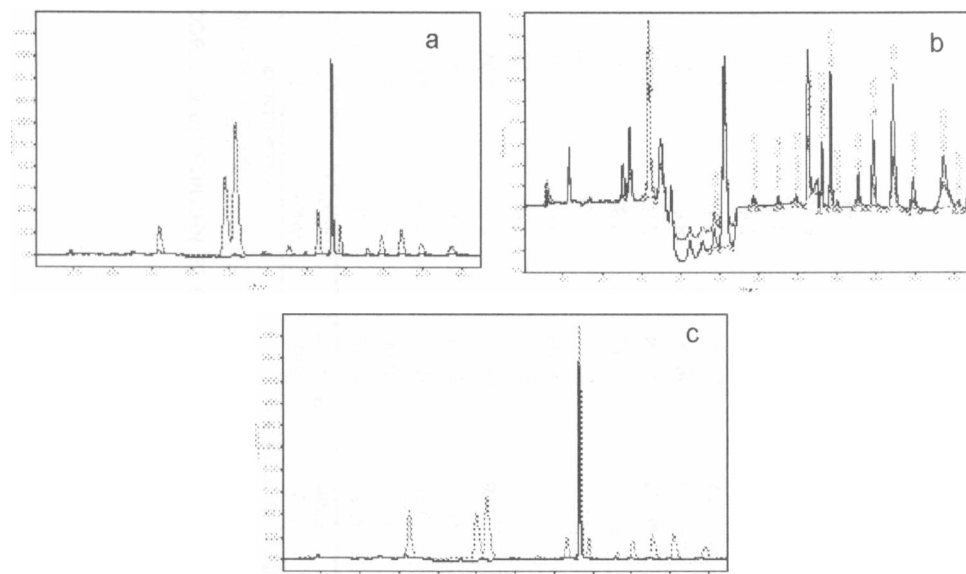


Figura 36. Cromatogramas de muestras de agua fortificadas con PAHs; a. SPE, b. SDME-INM c. SPME-INM

Los resultados de la eficiencia de extracción de RAHs en agua expresados como porcentaje de recuperación y los correspondientes analizados por HPLC UV/FLU, se presentan en las tablas XXV y XXVI, los valores presentados son el promedio de tres réplicas.

Tabla XXV. Recuperación (%) para cada uno de los tipos de agua analizados por cada técnica de extracción

PAHs	Conc. añadida pg/L	Extracción en fase sólida			Microextracción en fase sólida modalidad de inmersión			Microextracción de gota modalidad de inmersión		
		Agua destilada	Río Pilón	Río Pesquería	Agua destilada	Río Pilón	Río Pesquería	Agua destilada	Río Pilón	Río Pesquería
Naftaleno	30.00	63.64	62.87	66.77	92.05	98.85	99.10	7.01	14.58	12.72
Acenaftileno	60.00	80.30	70.73	69.60	57.42	65.78	59.06	2.37	2.87	2.58
Acenafteno	6.00	54.71	55.93	78.09	60.51	59.89	78.98	2.95	4.61	5.51
Fluoreno	2.40	79.40	81.94	86.14	40.21	39.57	55.01	7.66	2.16	1.96
Fenantreno	1.20	87.99	91.62	92.02	49.39	46.78	66.37	5.53	4.07	5.40
Antraceno	3.00	78.23	86.66	97.21	81.05	79.56	81.76	7.59	3.25	5.31
Fluoranteno	6.00	95.35	94.17	81.52	50.45	41.93	66.93	6.44	7.77	6.72
Pireno	96.00	79.93	60.70	61.47	55.97	53.13	53.20	5.58	8.57	7.63
Benzo(a)antraceno	3.00	53.77	54.47	65.65	74.17	65.44	70.12	8.89	11.49	11.38
Criseno	300	89.83	94.93	84.92	77.37	89.07	68.04	3.83	5.60	6.88
Benzo(b)fluoranteno	1.20	78.15	86.37	88.78	35.47	55.65	46.90	8.54	9.04	10.57
Benzo(k)fluoranteno	1.20	76.13	94.80	75.82	42.53	42.07	42.58	2.34	4.00	5.79
Benzo(a)pireno	3.00	88.12	95.47	66.31	42.14	23.56	69.84	6.64	9.94	12.94
Dibenzo(a,h)antraceno	12.00	86.03	86.33	80.90	89.92	83.80	86.67	6.22	6.70	7.37
Benzo(ghi)perileno	4.80	82.77	85.05	87.15	36.51	34.52	78.28	5.32	7.50	7.06
Indeno(1,2,3-cd)pireno	3.00	69.00	85.15	82.83	58.97	39.37	60.12	1.72	5.12	4.45

n=3

Tabla XXVI. RSD para muestras de agua del río Pesquería con las técnicas de extracción evaluadas.

PAHs	Río Pesquería		
	SPE	SPME-INM	SDME-INM
Naftaleno	9.8	10.2	42.5
Acenaftileno	13.7	5.5	33.2
Acenafteno	6.3	7.6	25.4
Fluoreno	7.7	9.7	27.1
Fenantreno	12.3	5.4	15.2
Antraceno	4.5	5.6	18.5
Fluoranteno	8.2	6.5	15.9
Pireno	4.7	3.9	19.8
Benzo(a)antraceno	9.3	3.47	10.7
Criseno	16.2	14.9	16.2
Benzo(b)fluoranteno	7.0	6.7	18.1
Benzo(k)fluoranteno	6.9	8.0	17.0
Benzo(a)pireno	5.3	4.2	18.2
Dibenzo(a,h)antraceno	6.3	4.5	17.2
Benzo(ghi)perileno	8.7	6.6	19.3
Indeno(1,2,3-cd)pireno	7.5	8.7	26.7

n=3

4.5. Validación del método de extracción en Agua

En la tabla XXVII se presenta un resumen de los resultados de la validación de la extracción de PAHs usando SPME-INM por HPLC UV/FLU, se incluye el intervalo de trabajo utilizado para construir las curvas de calibración de cada analito, el coeficiente de determinación de la curva de calibración como parámetro de linealidad, el porcentaje de la desviación estándar relativa como indicador de la precisión, y los límites de detección (LD) y de cuantificación (LC), así como los porcentajes de recuperación de muestras de agua provenientes del río Pesquería con su correspondiente desviación estándar relativa.

Tabla XXVII. Parámetros evaluados para la validación del método para análisis de

PAHs por HPLC UV/FLU extraídos por SPME-INM.

Analito	Intervalo de trabajo Mg/L	r ²	Factor Respuesta			Recuperación (n=3)	
			(% DER, n=15)	LD pg/L	LC pg/L	%	% DER
Naftaleno	16.667-79.167	0.99249	3.15	1.142	3.460	89.56	7.15
Acenaftileno	16.667-79.167	0.99452	9.23	0.469	1.420	66.34	8.47
Acenafteno	33.333-158.333	0.99900	4.22	0.977	2.960	82.41	3.93
Fluoreno	3.333-15.833	0.99604	5.23	0.066	0.200	63.9	5.48
Fenantreno	1.333-6.333	0.99078	3.82	0.030	0.090	72.33	4.71
Antraceno	0.667-3.167	0.99120	3.08	0.017	0.050	84.01	3.47
Fluoranteno	1.667-7.917	0.99731	13.30	0.116	0.350	70.24	14.91
Pireno	3.333-15.583	0.99900	5.89	0.106	0.320	60.78	4.73
Benzo(a)antraceno	1.667-7.917	0.99631	5.75	0.036	0.110	77.3	4.95
Criseno	1.667-7.917	0.98319	6.08	0.363	1.100	75.29	5.84
Benzo(b)fluoranteno	0.667-3.167	0.99831	4.13	0.007	0.020	52.62	3.83
Benzo(k)fluoranteno	0.667-3.167	0.99914	3.88	0.020	0.060	50.84	4.47
Benzo(a)pireno	1.667-7.917	0.99422	5.04	0.053	0.160	73.87	4.60
Dibenzo(a,h)antraceno	6.667-31.667	0.99718	5.76	0.215	0.650	89.95	4.97
Benzo(ghi)perileno	2.667-12.667	0.99473	7.49	0.083	0.250	83.41	6.22
Indeno(1,2,3-cd)pireno	1.667-7.917	0.99679	4.33	0.056	0.170	63.71	5.34

En la figura 37 se muestran los cromatogramas obtenidos después de la extracción SPME-INM de los diversos estándares (comparativo), una solución de estándares del nivel 2 de concentración y de una muestra de agua del río Pesquería adicionada.

k

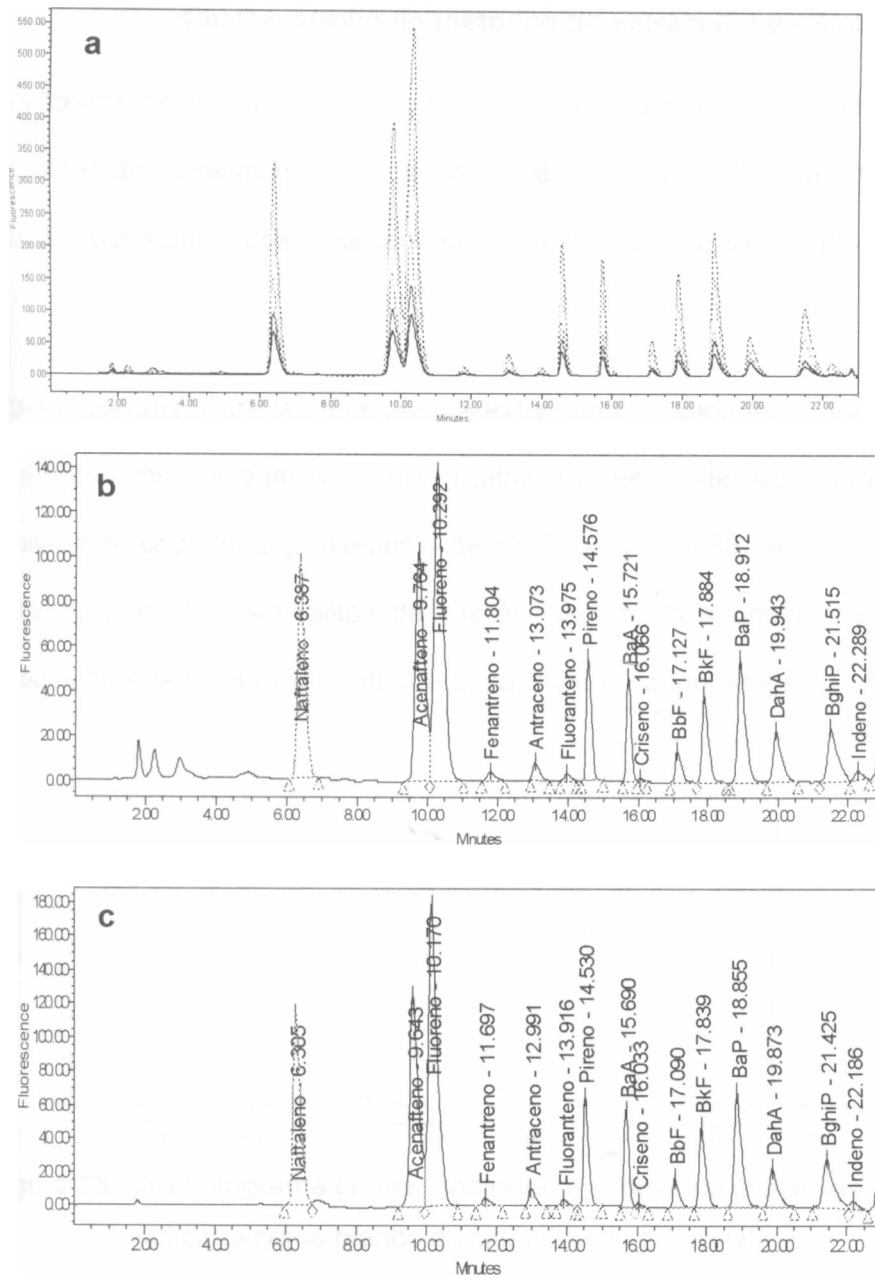


Figura 37. Cromatograma obtenido para la extracción por SPME-INM para (a) comparativo de estándares, (b) una solución de estándares de PAHs a un nivel de 1.25 a 62.5 pg/L y (c) una muestra de agua del río Pesquería adicionada a un nivel de 1.66 a 83.33 pg/L.

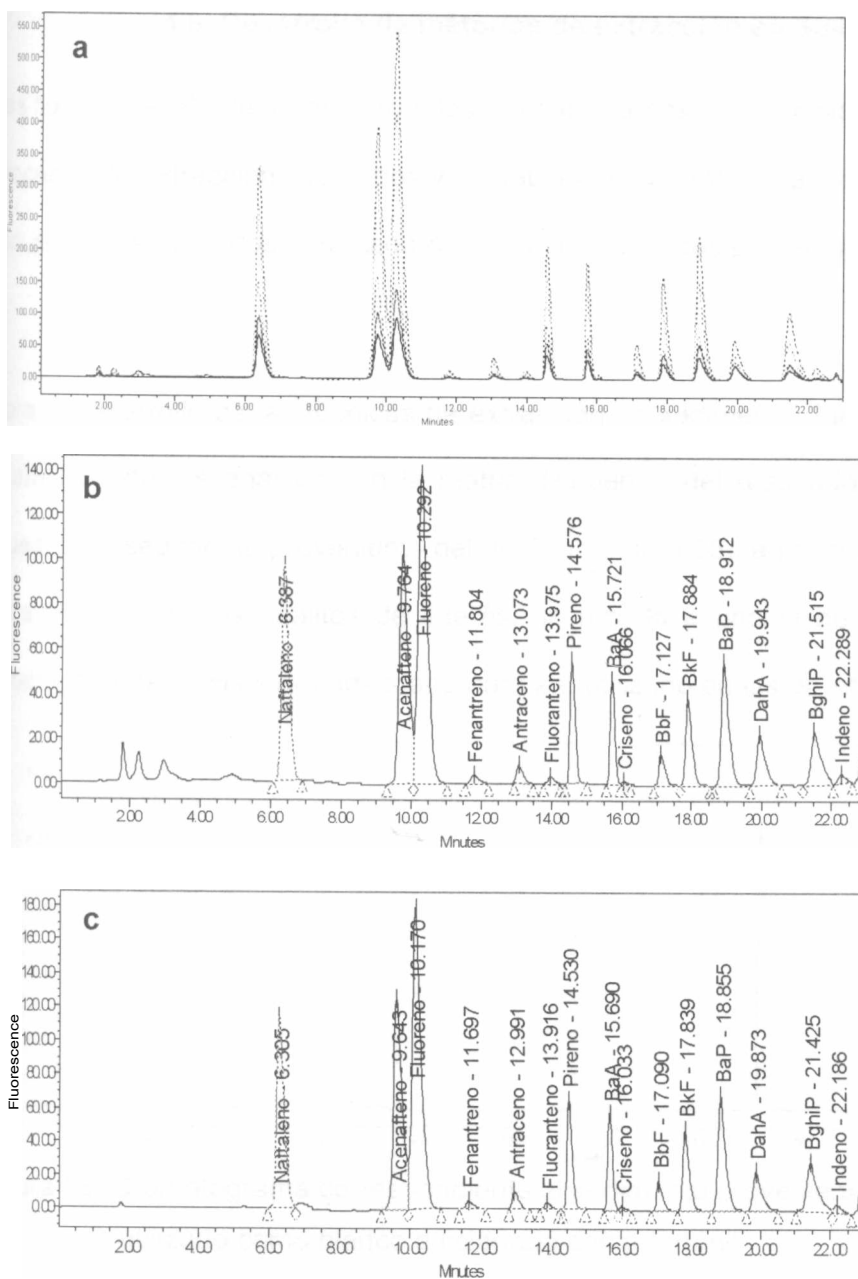


Figura 37. Cromatograma obtenido para la extracción por SPME-INM para (a) comparativo de estándares, (b) una solución de estándares de PAHs a un nivel de 1.25 a 62.5 pg/L y (c) una muestra de agua del río Pesquería adicionada a un nivel de 1.66 a 83.33 pg/L.

4.6. Desarrollo de métodos de extracción en Sedimento

Las figuras de 38 a la 45 muestran los cromatogramas correspondientes a los diferentes procesos de extracción evaluados y las tablas de la XXVIII a la XXIX los porcentajes de recuperación obtenidos para cada proceso, así como sus porcentajes de recuperación

Para el desarrollo de las técnicas de extracción de sedimento, fue necesario evaluar la interacción de los analitos con la matriz. Partiendo del resultado del análisis de una muestra de sedimento proveniente del río Pílon (figura 38), en el cual no hubo respuesta para ninguno de los analitos de interés, se hizo la asunción de que este sedimento estaba libre de PAHs y era adecuado para ser utilizado en las pruebas iniciales.

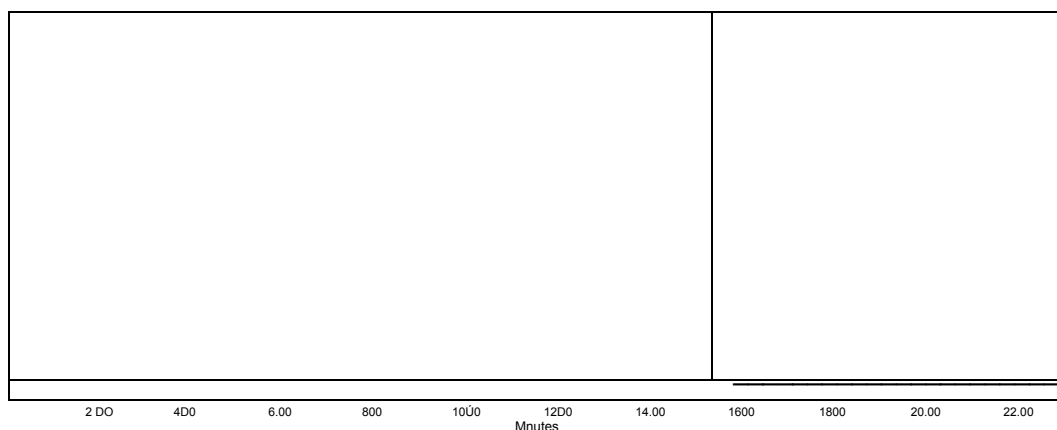


Figura 38. Cromatograma correspondiente al sedimento proveniente del río Pílon utilizado como blanco adicionado con p-terfenil.

En todos los experimentos realizados fue posible recuperar los 16 PAHs; no obstante, el tiempo seleccionado para asegurar la adsorción de los analitos fue de 24h, ya que mostró una mejor reproducibilidad en los resultados. Por esa razón, en todos los experimentos siguientes el estándar subrogado p-terfenilo y el stock de PAHs (en caso requerido) fueron adicionados 24h previas al procedimiento de extracción. En la figura

39 se muestran los cromatogramas superpuestos de las tres extracciones realizadas, después de los diferentes tiempos evaluados utilizando la técnica de sonicación-extracción en fase sólida C_{18} .

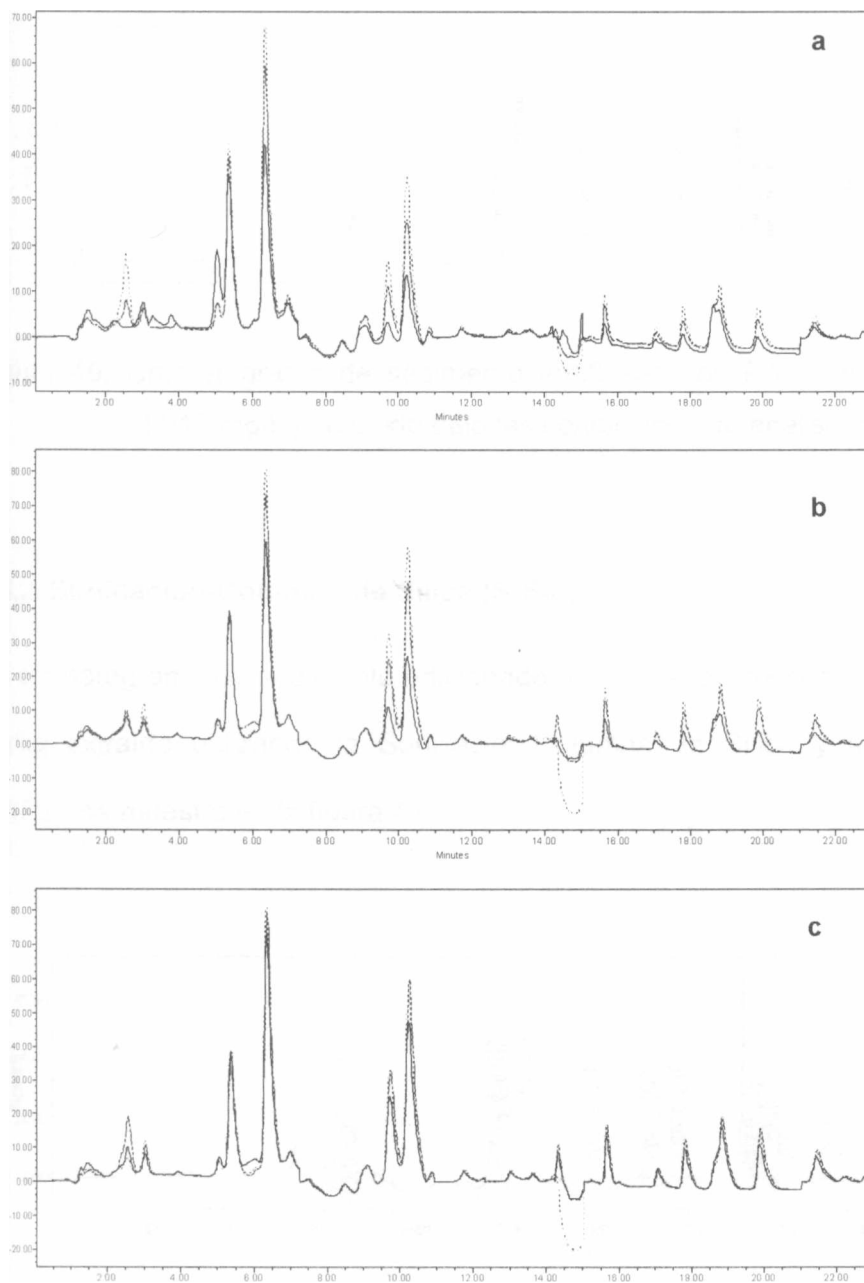


Figura 39. Cromatogramas superpuestos obtenidos para la extracción de PAHs en sedimento adicionado con un tiempo de reposo de (a) 2 h, (b) 12h y (c) 24 h.

4.6.1. Soxhlet-Columna de Sílice (SX-SIL)

El cromatograma obtenido utilizando el procedimiento de extracción Soxhlet-Columna de Sílice modificado y analizado por HPLC UV/FLU, se muestra en la figura 40.

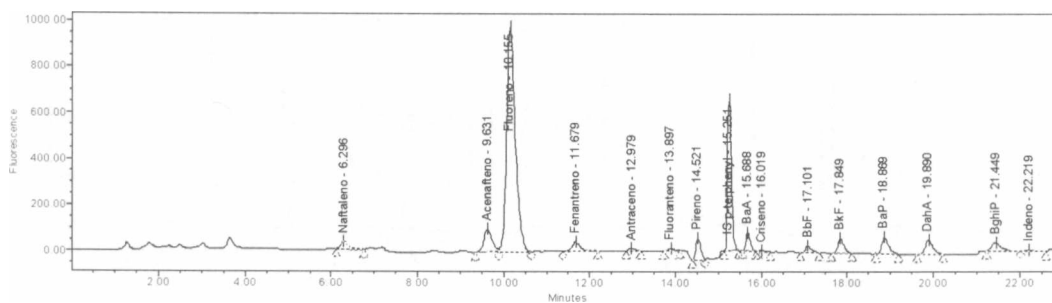


Figura 40. Cromatograma de sedimento fortificado con PAHs en un nivel de 0.076-3.817 mg/kg obtenido bajo las condiciones de análisis seleccionadas.

4.6.2. Sonicación-Columna de Sílice (S-SIL)

Un cromatograma de sedimento adicionado a un nivel de concentración de 0.076-3.817 mg/kg extraído utilizando la Sonicación-Columna de Sílice y analizado por HPLC UV/FLU se muestra en la figura 41.

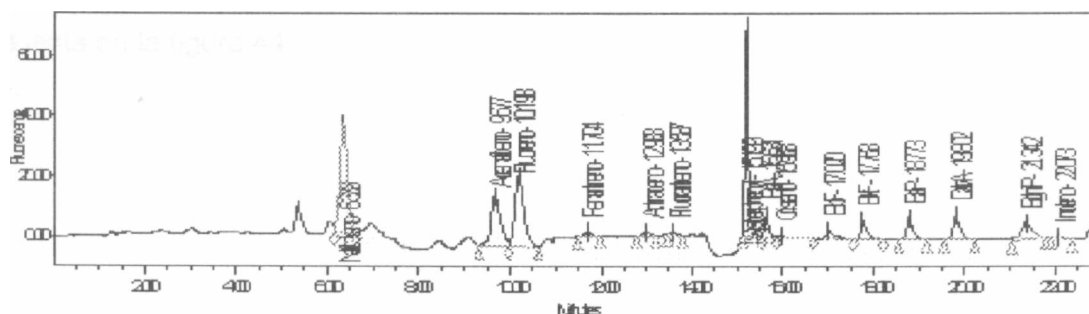


Figura 41. Cromatograma obtenido de la extracción de PAHs en sedimento utilizando la extracción S-SIL

4.6.3. Sonicación-Extracción en fase sólida C₁₈ (S-SPEds)

Las pruebas iniciales de esta metodología involucraron la evaluación de la eficiencia de extracción de dos modos diferentes de agitación, la agitación mecánica y la sonicación, en la figura 42, se muestran los cromatogramas de ambos experimentos.

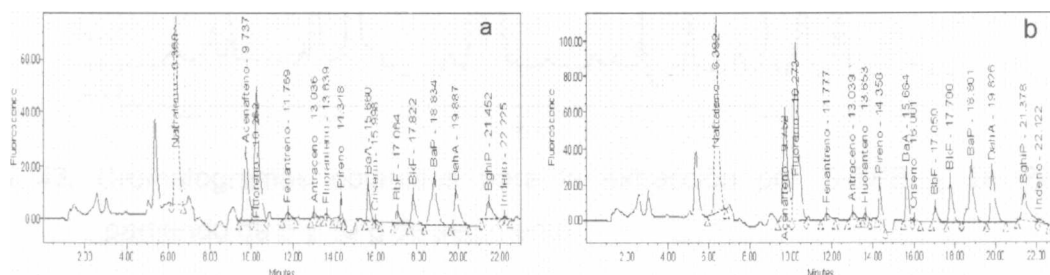


Figura 42. Cromatogramas obtenidos para la extracción de PAHs en sedimento
Agitación-SPEds (a) agitación mecánica (b) sonicación.

Debido a que la sonicación mostró una mayor intensidad de respuesta para todos los analitos, en los experimentos subsecuentes fue la modalidad de agitación utilizada.

Seleccionado el sistema de agitación, se escaló el procedimiento a la mitad. En la figura 43 pueden observarse los cromatogramas obtenidos. Los experimentos siguientes utilizando esta técnica de extracción fueron hechos utilizando 5g de sedimento. Un cromatograma de una muestra de sedimento extraída utilizando esta metodología se presenta en la figura 44.

4.6.3. Sonicación-Extracción en fase sólida C_{18} (S-SPEcis)

Las pruebas iniciales de esta metodología involucraron la evaluación de la eficiencia de extracción de dos modos diferentes de agitación, la agitación mecánica y la sonicación, en la figura 42, se muestran los cromatogramas de ambos experimentos.

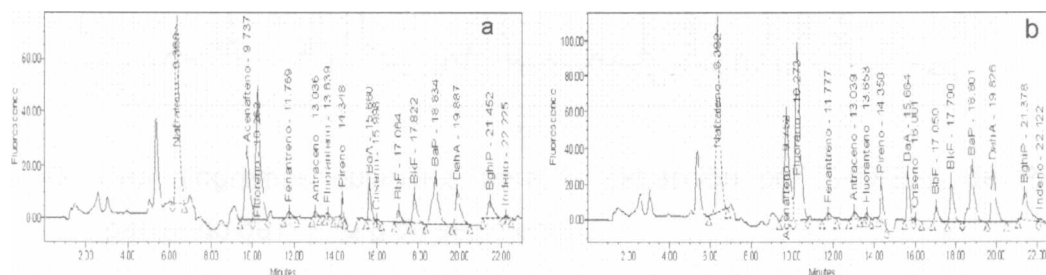


Figura 42. Cromatogramas obtenidos para la extracción de PAHs en sedimento
Agitación-SPEds (a) agitación mecánica (b) sonicación.

Debido a que la sonicación mostró una mayor intensidad de respuesta para todos los analitos, en los experimentos subsecuentes fue la modalidad de agitación utilizada.

Seleccionado el sistema de agitación, se escaló el procedimiento a la mitad. En la figura 43 pueden observarse los cromatogramas obtenidos. Los experimentos siguientes utilizando esta técnica de extracción fueron hechos utilizando 5g de sedimento. Un cromatograma de una muestra de sedimento extraída utilizando esta metodología se presenta en la figura 44.

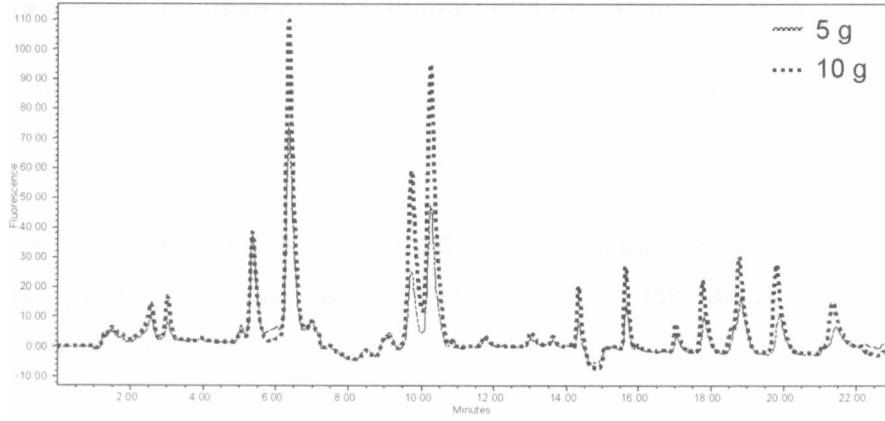


Figura 43. Cromatogramas obtenidos para la extracción por S-SPE_{C18} de PAHs partiendo de 5 y 10 g de sedimento.

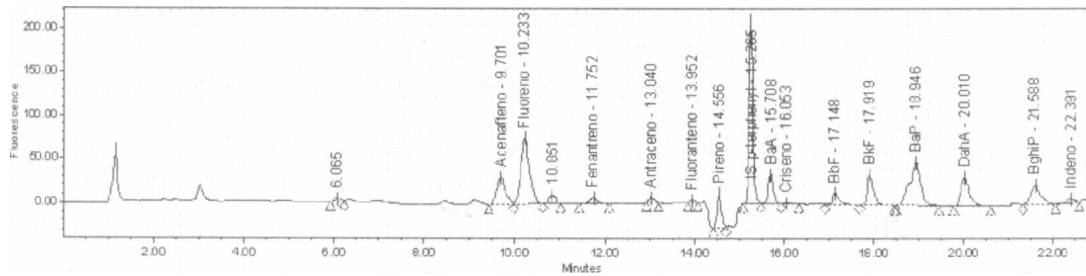


Figura 44. Cromatograma correspondiente a la extracción Sonicación-SPE_{C18} de PAHs en sedimento adicionados a un nivel de concentración de 0.076-3.817 mg/kg.

4.7. Evaluación del desempeño de métodos de extracción para sedimento

Para los experimentos se emplearon dos muestras de sedimento diferentes, una proveniente del río Pilón y la otra del río Pesquería.

En la figura 45 se muestran los cromatogramas obtenidos con los tres procedimientos de extracción para la muestra del río Pesquería y en las tablas XXVIII y XXIX el resumen de resultados.

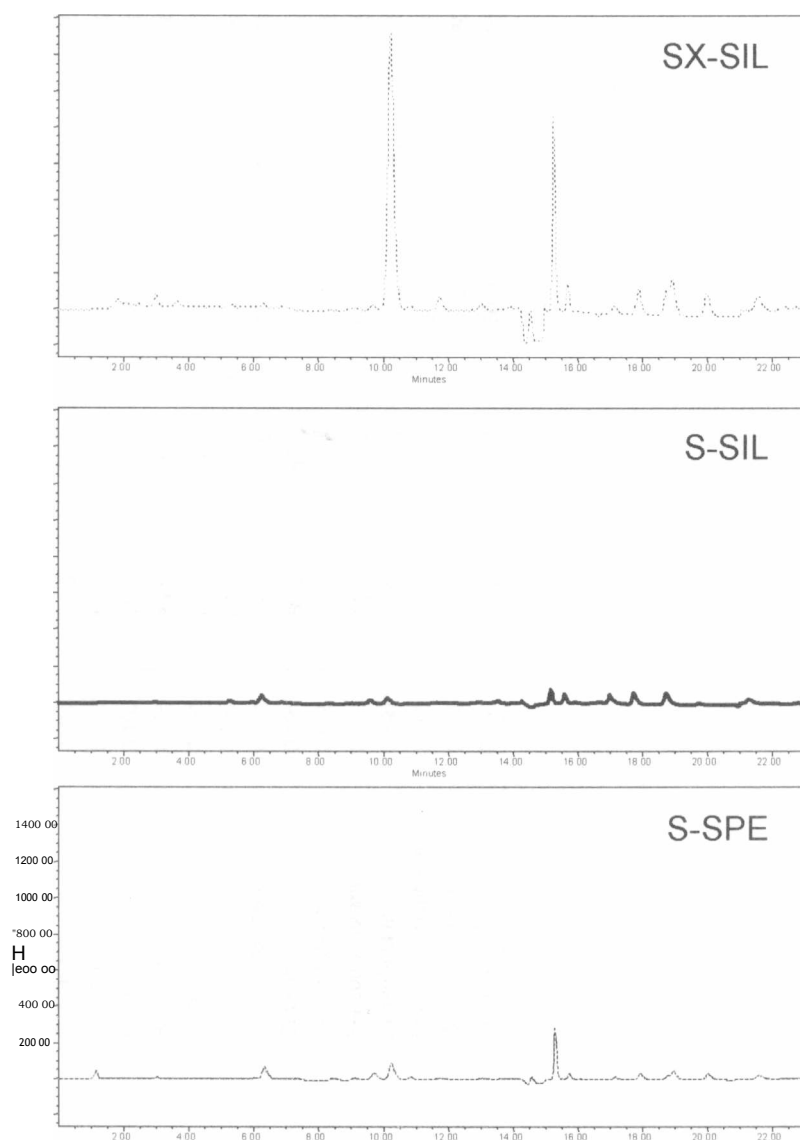


Figura 45. Cromatogramas obtenidos para los diferentes procesos de extracción de PAHS en sedimento de río.

Tabla XXVIII. Porcentajes de recuperación para las muestras de sedimentos por los procesos de extracción evaluados.

PAHs	Conc. añadida mg/kg	Soxhle - Sílica		Sonicación Sílica		Sonicación- SPEcie	
		Río Pílon	Río Pesquería	Río Pílon	Río Pesquería	Río Pílon	Río Pesquería
Naftaleno	1.909	53.0	62.0	66.9	72.0	85.0	89.0
Acenaftileno	1.909	64.0	61.0	72.0	61.0	60.0	66.0
Acenafteno	3.817	85.0	88.0	61.0	88.0	78.0	82.0
Fluoreno	0.382	67.0	74.0	88.0	74.0	69.0	63.0
Fenantreno	0.153	75.0	70.0	74.0	70.0	70.0	72.0
Antraceno	0.076	89.0	86.0	80.0	86.0	80.0	84.0
Fluoranteno	0.191	66.0	59.0	64.0	59.0	67.0	70.0
Pireno	0.382	67.0	50.0	59.0	50.0	56.0	60.0
Benzo(a)antraceno	0.191	75.0	70.0	75.0	70.0	67.0	77.0
Criseno	0.191	60.0	62.0	70.0	62.0	57.0	75.0
Benzo(b)fluoranteno	0.076	71.0	57.0	62.0	57.0	68.0	52.0
Benzo(k)fluoranteno	0.076	80.0	53.0	57.0	53.0	55.0	50.0
Benzo(a)pireno	0.191	77.0	74.0	73.0	74.0	67.0	73.0
Dibenzo(a,h)antraceno	0.763	73.0	87.0	84.0	87.0	84.0	89.0
Benzo(ghi)perileno	0.305	82.0	80.0	87.0	80.0	80.0	83.0
Indeno(1,2,3-cd)pireno	0.191	63.0	52.0	60.0	52.0	65.0	63.0

Tabla XXIX. Desviaciones estándar relativas para muestras de sedimento del río Pesquería con las técnicas de extracción evaluadas.

PAHs	Soxhlet- Sílice	Sonicación- Sílice	Sonicación- SPEca
	río Pesquería	río Pesquería	río Pesquería
Naftaleno	46.9	6.3	7.15
Acenaftileno	28.1	14.3	8.47
Acenafteno	35.12	8.3	3.93
Fluoreno	7.8	15.14	5.48
Fenantreno	13.16	9.7	4.71
Antraceno	9.04	11	3.47
Fluoranteno	19.21	18	14.91
Pireno	8.09	3.2	4.73
BaA	14.67	9.5	4.95
Criseno	27.43	3.98	5.84
BbF	11.98	11.1	3.83
BkF	17.03	10.7	4.47
BaP	20.21	5.1	4.6
Da.hA	23.7	8.8	4.97
BghiP	15.13	4.7	6.22
Indeno	31.76	7.6	5.34

La técnica considerada más adecuada para el análisis de PAHs en sedimentos fue la

Sonicación-SPEds-

4.8. Validación del método de extracción en Sedimento

En la tabla XXX se presenta un resumen de los resultados de la validación del procedimiento de SIL-SPE_{c18} para la extracción de PAHs en sedimento utilizando. Se muestra el intervalo de concentraciones utilizado para construir las curvas de calibración de cada analito, el coeficiente de determinación de la curva de calibración como parámetro de linealidad, el porcentaje de la desviación estándar relativa como indicador de la precisión, y los límites de detección (LD) y de cuantificación (LC), así como los porcentajes de recuperación de muestras de sedimento provenientes del río Pesquería con su correspondiente desviación estándar relativa como indicador de la exactitud.

En la figura 46 se muestran los cromatogramas de una solución de estándar del nivel 2 de concentración y de una muestra de sedimento del río Pesquería adicionada a un nivel de concentración de 0.076-3.817 mg/kg y 1.22 mg/kg de p-terfenilo.

Tabla XXX. Parámetros evaluados para la validación del método para análisis de PAHs
por HPLC UV/FLU extraídos por Sonicación-SPEds-

Analito	Intervalo de trabajo mg/kg	r ²	Factor Respuesta			Recuperación (n=3)	
			Analito/SS (% DER, n=15)	LD pg/L	LC mq/L	%	% DER
Naftaleno	0.636-4.455	0.9966	2.11	0.044	0.145	40.28	15.34
Acenaftileno	0.636-4.455	0.9962	3.05	0.018	0.060	67.34	10.03
Acenafteno	1.272-8.909	0.9942	4.46	0.037	0.124	95.03	8.22
Fluoreno	0.127-0.891	0.9988	3.08	0.003	0.008	74.63	4.54
Fenantreno	0.051-0.356	0.9936	3.66	0.001	0.004	82.08	3.83
Antraceno	0.025-0.178	0.9989	2.57	0.001	0.002	70.72	5.21
Fluoranteno	0.064-0.445	0.9904	9.57	0.004	0.015	80.11	11.55
Pireno	0.127-0.891	0.9970	3.12	0.004	0.013	72.49	9.90
Benzo(a)antraceno	0.064-0.445	0.9988	6.30	0.001	0.005	76.54	7.43
Criseno	0.064-0.445	0.9970	11.82	0.014	0.046	61.22	12.71
Benzo(b)fluoranteno	0.025-0.178	0.9983	5.23	0.0008	0.0025	70.57	5.43
Benzo(k)fluoranteno	0.025-0.178	0.9981	3.36	0.001	0.003	73.39	9.09
Benzo(a)pireno	0.064-0.445	0.9994	2.65	0.002	0.007	63.24	7.25
Dibenzo(a,h)antraceno	0.254-1.278	0.9992	8.28	0.008	0.027	61.40	8.61
Benzo(ghi)perileno	0.102-0.713	0.9987	4.16	0.003	0.011	52.31	10.48
Indeno(1,2,3-cd)pireno	0.064-0.445	0.9964	5.47	0.002	0.007	47.05	11.32

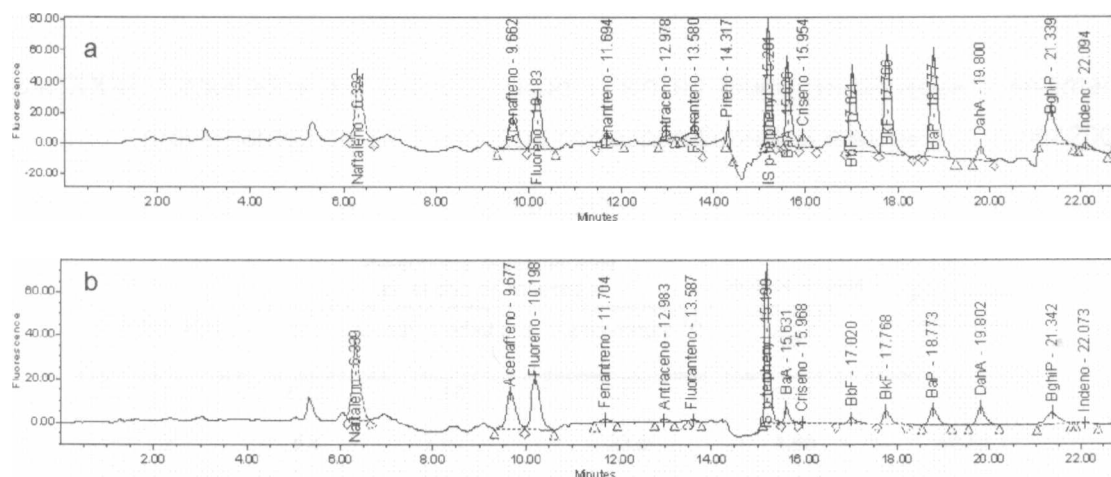


Figura 46. Cromatograma obtenido para la extracción por S-SPE_{C18} para (a) una solución de estándares de PAHs a un nivel de 0.051-2.545 mg/kg y (b) una muestra de sedimento del río Pesquería adicionada a un nivel de 0.076-3.817 mg/kg y 1.22 mg/kg de p-terfenil.

4.8. Muestreo en el río Pesquería

Inicialmente fueron elegidos diez puntos de muestreo en el cauce del río Pesquería, sin embargo, debido a la presencia de asentamientos irregulares y a la inaccesibilidad, dos puntos de muestreo fueron eliminados del estudio.

En las tablas XXXI, XXXII y XXXIII, se muestran los resultados de los parámetros fisicoquímicos tomados en el sitio de muestreo, la cantidad de sólidos totales en agua y el porcentaje de humedad en sedimentos, determinados en cada muestra para cada mes del muestreo.

Tabla XXXI. Resultados del análisis fisicoquímico en muestras de agua y sedimento provenientes del río Pesquería correspondientes al mes de marzo del 2008.

MARZO

Estación	Parámetros fisicoquímicos en el sitio de muestreo			Sólidos totales en agua mg/L	% humedad sedimento
	pH	Conductividad mS	Temperatura °C		
1	6.75	1.16	24.4	0.81	44.5
2	6.8	2.61	23.5	1.85	59.79
3	10.28	2.17	25.4	3.43	25.58
4	9.9	2.56	28.1	1.6	31.15
5	7.05	0.28	27.3	2.03	36.23
6	6.26	3.22	28.1	2.09	41.65
7	7.43	3.49	26.6	2.51	56.73
8	8.93	3.64	25.9	2.73	45.94

Tabla XXXII. Resultados del análisis fisicoquímico en muestras de agua y sedimento provenientes del río Pesquería correspondientes al mes de abril del 2008.

ABRIL

Estación	Parámetros fisicoquímicos en el sitio de muestreo			Sólidos totales en agua mg/L	% humedad sedimento pH
	PH	Conductividad mS	Temperatura °C		
1	8.42	2.28	29.3	0.90	39.32
2	7.38	1.3	24.3	2.07	52.56
3	7.99	2.09	27.4	4.19	19.91
4	6.88	0.1	25.7	1.76	28.04
5	7.28	3.11	26.4	2.47	28.39
6	7.47	2.8	27.2	2.11	41.23
7	8.24	3.73	29.0	3.01	45.38
8	8.81	3.59	27.6	3.33	35.83

Tabla XXXIII. Resultados del análisis fisicoquímico en muestras de agua y sedimento provenientes del río Pesquería correspondientes al mes de mayo del 2008.

MAYO					
Estación	Parámetros fisicoquímicos en el sitio de muestreo			Sólidos totales en agua mg/L	% humedad sedimento
	PH	Conductividad mS	Temperatura °C		
1	8.03	0.09	22.4	0.85	49.08
2	11.84	1.04	23.9	1.27	66.15
3	11.36	0.44	22.9	3.13	29.99
4	12.33	1.79	23.4	0.98	33.95
5	8.55	0.09	24.1	1.27	42.38
6	11.73	1.68	25.4	1.91	42.06
7	8.26	2.06	26.1	2.30	42.06
8	8.25	3.03	27.5	2.56	53.82

Los resultados correspondientes a las muestras de agua y sedimento de los meses de marzo, abril y mayo del 2008 para los 16 PAHs analizados divididos por estación de muestreo se presentan en las tablas XXXIV a la XLI.

Tabla XXXIV. Resultados del análisis de PAHs en muestras de agua y sedimento correspondientes a la estación 1 de el cauce del río Pesquería.

Análito	AGUA					SEDIMENTO				
	LD pg/L	LC pg/L	MARZO	ABRIL	MAYO	LD mg/kg	LC mg/kg	MARZO	ABRIL	MAYO
Naftaleno	1.142	3.460	<LD	<LD	<LC	0.044	0.145	<LD	<LC	<LC
Acenaftileno	0.469	1.420	<LD	<LC	<LC	0.018	0.060	<LD	<LD	<LD
Acenafteno	0.977	2.960	<LC	<LD	<LC	0.037	0.124	<LC	<LC	<LC
Fluoreno	0.066	0.200	<LC	<LC	<LC	0.003	0.008	<LC	<LD	<LC
Fenantreno	0.030	0.090	<LD	<LC	<LC	0.001	0.004	<LD	<LC	<LD
Antraceno	0.017	0.050	<LC	<LC	<LC	0.001	0.002	<LD	<LD	<LD
Fluoranteno	0.116	0.350	<LC	<LC	<LC	0.004	0.015	<LD	<LD	<LD
Pireno	0.106	0.320	<LD	<LC	<LD	0.004	0.013	<LD	<LD	<LD
Benzo(a)antraceno	0.036	0.110	<LC	<LC	<LC	0.001	0.005	<LC	<LC	<LC
Criseno	0.363	1.100	<LC	<LD	<LD	0.014	0.046	<LD	<LD	<LC
Benzo(b)fluoranteno	0.007	0.020	<LC	<LC	<LC	0.0008	0.0025	<LC	<LC	<LC
Benzo(k)fluoranteno	0.020	0.060	<LC	<LC	<LC	0.001	0.003	<LC	<LC	<LC
Benzo(a)pireno	0.053	0.160	<LC	<LC	<LC	0.002	0.007	<LC	<LC	<LC
Dibenzo(a,h)antraceno	0.215	0.650	<LC	<LD	<LC	0.008	0.027	<LD	<LD	<LD
Benzo(ghi)perileno	0.083	0.250	<LC	<LC	<LC	0.003	0.011	<LD	<LC	<LC
Indeno(1,2,3-cd)pireno	0.056	0.170	<LD	<LD	<LD	0.002	0.007	<LD	<LD	<LD

Tabla XXXIV. Resultados del análisis de PAHs en muestras de agua y sedimento correspondientes a la estación 1 de muestreo en el cauce del río Pesquería.

Analito	AGUA					SEDIMENTO				
	LD pg/L	LC pg/L	MARZO	ABRIL	MAYO	LD mg/kg	LC mg/kg	MARZO	ABRIL	MAYO
Naftaleno	1.142	3.460	<LD	<LD	<LC	0.044	0.145	<LD	<LC	<LC
Acenaftileno	0.469	1.420	<LD	<LC	<LC	0.018	0.060	<LD	<LD	<LD
Acenafteno	0.977	2.960	<LC	<LD	<LC	0.037	0.124	<LC	<LC	<LC
Fluoreno	0.066	0.200	<LC	<LC	<LC	0.003	0.008	<LC	<LD	<LC
Fenantreno	0.030	0.090	<LD	<LC	<LC	0.001	0.004	<LD	<LC	<LD
Antraceno	0.017	0.050	<LC	<LC	<LC	0.001	0.002	<LD	<LD	<LD
Fluoranteno	0.116	0.350	<LC	<LC	<LC	0.004	0.015	<LD	<LD	<LD
Pireno	0.106	0.320	<LD	<LC	<LD	0.004	0.013	<LD	<LD	<LD
Benzo(a)antraceno	0.036	0.110	<LC	<LC	<LC	0.001	0.005	<LC	<LC	<LC
Criseno	0.363	1.100	<LC	<LD	<LD	0.014	0.046	<LD	<LD	<LC
Benzo(b)fluoranteno	0.007	0.020	<LC	<LC	<LC	0.0008	0.0025	<LC	<LC	<LC
Benzo(k)fluoranteno	0.020	0.060	<LC	<LC	<LC	0.001	0.003	<LC	<LC	<LC
Benzo(a)pireno	0.053	0.160	<LC	<LC	<LC	0.002	0.007	<LC	<LC	<LC
Dibenzo(a,h)antraceno	0.215	0.650	<LC	<LD	<LC	0.008	0.027	<LD	<LD	<LD
Benzo(ghi)perileno	0.083	0.250	<LC	<LC	<LC	0.003	0.011	<LD	<LC	<LC
Indeno(1,2,3-cd)pireno	0.056	0.170	<LD	<LD	<LD	0.002	0.007	<LD	<LD	<LD

Tabla XXXV. Resultados del análisis de PAHs en muestras de agua y sedimento correspondientes a la estación 2 de muestreo en el cauce del río Pesquería.

Análito	AGUA					SEDIMENTO				
	LD pg/L	LC pg/L	MARZO	ABRIL	MAYO	LD mg/kg	LC mg/kg	MARZO	ABRIL	MAYO
Naftaleno	1.142	3.460	<LC	<LC	<LC	0.044	0.145	<LD	<LD	<LC
Acenaftileno	0.469	1.420	<LD	<LC	<LC	0.018	0.060	<LD	<LD	<LD
Acenafteno	0.977	2.960	<LC	<LD	<LC	0.037	0.124	<LC	<LD	<LC
Fluoreno	0.066	0.200	<LD	0.527	<LC	0.003	0.008	<LC	<LC	<LC
Fenantreno	0.030	0.090	<LC	<LC	<LD	0.001	0.004	<LD	<LD	<LD
Antraceno	0.017	0.050	<LC	<LC	<LC	0.001	0.002	<LC	<LC	<LD
Fluoranteno	0.116	0.350	<LC	<LC	<LD	0.004	0.015	<LD	<LD	<LD
Pireno	0.106	0.320	<LD	<LD	<LC	0.004	0.013	<LD	<LD	<LD
Benzo(a)antraceno	0.036	0.110	<LC	<LC	<LC	0.001	0.005	<LC	<LC	<LC
Criseno	0.363	1.100	<LC	<LD	<LD	0.014	0.046	<LD	<LD	<LD
Benzo(b)fluoranteno	0.007	0.020	<LC	<LC	<LC	0.0008	0.0025	<LC	<LC	<LC
Benzo(k)fluoranteno	0.020	0.060	<LC	<LC	<LC	0.001	0.003	<LC	<LC	<LC
Benzo(a)pireno	0.053	0.160	<LC	<LC	<LC	0.002	0.007	<LC	<LC	<LC
Dibenzo(a,h)antraceno	0.215	0.650	<LC	<LC	<LC	0.008	0.027	<LD	<LD	<LD
Benzo(ghi)perileno	0.083	0.250	<LC	<LD	<LC	0.003	0.011	<LD	<LC	<LC
Indeno(1,2,3-cd)pireno	0.056	0.170	<LD	<LD	<LD	0.002	0.007	<LD	<LD	<LD

Tabla XXXVI. Resultados del análisis de PAHs en muestras de agua y sedimento correspondientes a la estación 3 de muestreo en el cauce del río Pesquería.

Analito	AGUA					SEDIMENTO				
	LD pg/L	LC pg/L	MARZO	ABRIL	MAYO	LD mg/kg	LC mg/kg	MARZO	ABRIL	MAYO
Naftaleno	1.142	3.460	<LC	<LD	<LC	0.044	0.145	<LD	<LC	<LC
Acenaftileno	0.469	1.420	<LD	<LC	<LC	0.018	0.060	<LD	<LD	<LD
Acenafteno	0.977	2.960	<LC	<LD	<LC	0.037	0.124	<LC	<LD	<LC
Fluoreno	0.066	0.200	<LD	0.455	<LC	0.003	0.008	<LC	<LC	<LC
Fenantreno	0.030	0.090	<LC	<LC	<LD	0.001	0.004	<LD	<LC	<LD
Antraceno	0.017	0.050	<LC	<LC	<LC	0.001	0.002	<LD	<LD	<LD
Fluoranteno	0.116	0.350	<LD	<LD	<LC	0.004	0.015	<LD	<LD	<LD
Pireno	0.106	0.320	<LC	<LD	<LC	0.004	0.013	<LD	<LC	<LD
Benzo(a)antraceno	0.036	0.110	<LC	<LC	<LC	0.001	0.005	<LC	<LC	<LC
Criseno	0.363	1.100	<LC	<LD	<LD	0.014	0.046	<LD	<LC	<LD
Benzo(b)fluoranteno	0.007	0.020	<LC	<LC	<LC	0.0008	0.0025	<LD	<LC	<LC
Benzo(k)fluoranteno	0.020	0.060	<LC	<LC	<LC	0.001	0.003	<LC	<LC	<LC
Benzo(a)pireno	0.053	0.160	<LC	<LD	<LC	0.002	0.007	<LC	<LC	<LC
Dibenzo(a,h)antraceno	0.215	0.650	<LC	<LD	<LC	0.008	0.027	<LD	<LD	<LD
Benzo(ghi)perileno	0.083	0.250	<LC	<LD	<LC	0.003	0.011	<LC	<LC	<LC
Indeno(1,2,3-cd)pireno	0.056	0.170	<LC	<LD	<LD	0.002	0.007	<LD	<LD	<LD

Tabla XXXVII. Resultados del análisis de PAHs en muestras de agua y sedimento correspondientes a la estación 4 de muestreo en el cauce del río Pesquería.

Analito	AGUA					SEDIMENTO				
	LD ug/L	LC pg/L	MARZO	ABRIL	MAYO	LD mg/kg	LC mg/kg	MARZO	ABRIL	MAYO
Naftaleno	1.142	3.460	<LD	<LD	<LC	0.044	0.145	<LC	<LC	<LC
Acenaftileno	0.469	1.420	<LD	<LD	<LC	0.018	0.060	<LD	<LD	<LD
Acenafteno	0.977	2.960	<LC	<LD	<LC	0.037	0.124	<LC	<LC	<LC
Fluorerto	0.066	0.200	<LD	0.660	<LC	0.003	0.008	<LC	<LC	<LC
Fenantreno	0.030	0.090	<LD	0.520	<LD	0.001	0.004	<LD	<LD	<LD
Antraceno	0.017	0.050	<LC	<LD	<LC	0.001	0.002	<LD	<LD	<LD
Fluoranteno	0.116	0.350	<LD	<LD	<LD	0.004	0.015	<LD	<LD	<LD
Pireno	0.106	0.320	<LD	<LC	<LC	0.004	0.013	<LD	<LD	<LD
Benzo(a)antraceno	0.036	0.110	<LC	<LC	<LD	0.001	0.005	<LC	<LD	<LC
Criseno	0.363	1.100	<LD	<LD	<LD	0.014	0.046	<LD	<LD	<LD
Benzo(b)fluoranteno	0.007	0.020	<LC	<LC	<LC	0.0008	0.0025	<LC	<LC	<LC
Benzo(k)fluoranteno	0.020	0.060	<LC	<LC	<LC	0.001	0.003	<LC	<LC	<LC
Benzo(a)pireno	0.053	0.160	<LC	<LC	<LC	0.002	0.007	<LC	<LC	<LC
Dibenzo(a,h)antraceno	0.215	0.650	<LC	<LD	<LD	0.008	0.027	<LD	<LD	<LD
Benzo(gh)perileno	0.083	0.250	<LC	<LD	<LC	0.003	0.011	<LC	<LC	<LC
Indeno(1,2,3-cd)pireno	0.056	0.170	<LC	<LD	<LD	0.002	0.007	<LD	<LD	<LD

Tabla XXXVIII. Resultados del análisis de PAHs en muestras de agua y sedimento correspondientes a la estación 5 de muestreo en el cauce del río Pesquería.

Analito	AGUA					SEDIMENTO				
	LD pg/L	LC pg/L	MARZO	ABRIL	MAYO	LD mg/kg	LC mg/kg	MARZO	ABRIL	MAYO
Naftaleno	1.142	3.460	<LC	<LD	<LC	0.044	0.145	<LC	<LC	<LD
Acenaftileno	0.469	1.420	<LD	<LD	<LC	0.018	0.060	<LD	<LD	<LD
Acenafteno	0.977	2.960	<LC	<LD	<LC	0.037	0.124	<LC	<LC	<LC
Fluoreno	0.066	0.200	<LD	0.390	<LC	0.003	0.008	<LC	<LC	<LD
Fenantreno	0.030	0.090	<LD	<LC	<LC	0.001	0.004	<LD	<LC	<LD
Antraceno	0.017	0.050	<LC	<LD	<LC	0.001	0.002	<LD	<LC	<LC
Fluoranteno	0.116	0.350	<LC	<LD	<LD	0.004	0.015	<LD	<LD	<LD
Pireno	0.106	0.320	<LD	<LD	<LC	0.004	0.013	<LC	<LD	<LD
Benzo(a)antraceno	0.036	0.110	<LC	<LD	<LC	0.001	0.005	<LC	<LC	<LC
Criseno	0.363	1.100	<LD	<LD	<LD	0.014	0.046	<LD	<LC	<LD
Benzo(b)fluoranteno	0.007	0.020	<LC	<LD	<LC	0.0008	0.0025	<LC	<LC	0.032
Benzo(k)fluoranteno	0.020	0.060	<LC	<LD	<LC	0.001	0.003	<LC	<LC	0.058
Benzo(a)pireno	0.053	0.160	<LC	<LD	<LC	0.002	0.007	<LC	<LC	0.085
Dibenzo(a,h)antraceno	0.215	0.650	<LC	<LD	<LC	0.008	0.027	<LD	<LD	<LD
Benzo(ghi)perileno	0.083	0.250	<LC	<LD	<LC	0.003	0.011	<LC	<LC	0.070
Indeno(1,2,3-cd)pireno	0.056	0.170	<LC	<LD	<LD	0.002	0.007	<LD	<LC	<LD

Tabla XXXIX. Resultados del análisis de PAHs en muestras de agua y sedimento correspondientes a la estación 6 de muestreo en el cauce del río Pesquería.

Analito	AGUA					SEDIMENTO				
	LD og/L	LC pg/L	MARZO	ABRIL	MAYO	LD mg/kg	LC mg/kg	MARZO	ABRIL	MAYO
Naftaleno	1.142	3.460	<LD	<LD	<LC	0.044	0.145	<LD	<LC	<LD
Acenaftileno	0.469	1.420	<LD	<LD	<LD	0.018	0.060	<LD	<LD	<LD
Acenafteno	0.977	2.960	<LC	<LD	<LC	0.037	0.124	<LD	<LC	<LC
Fluoreno	0.066	0.200	<LD	0.365	<LD	0.003	0.008	<LD	<LC	<LC
Fenantreno	0.030	0.090	<LD	0.115	<LD	0.001	0.004	<LC	<LD	<LD
Antraceno	0.017	0.050	<LD	<LD	<LD	0.001	0.002	<LC	<LC	<LD
Fluoranteno	0.116	0.350	<LD	<LD	<LD	0.004	0.015	<LD	<LD	<LD
Pireno	0.106	0.320	<LD	<LD	<LD	0.004	0.013	<LD	<LD	<LD
Benzo(a)antraceno	0.036	0.110	<LC	<LD	<LC	0.001	0.005	<LC	<LC	<LC
Criseno	0.363	1.100	<LD	<LD	<LD	0.014	0.046	<LD	<LC	<LD
Benzo(b)fluoranteno	0.007	0.020	<LC	<LD	<LD	0.0008	0.0025	<LD	<LC	<LC
Benzo(k)fluoranteno	0.020	0.060	<LC	<LD	<LC	0.001	0.003	<LD	<LC	<LC
Benzo(a)pireno	0.053	0.160	<LC	<LD	<LC	0.002	0.007	<LD	<LC	<LC
Dibenzo(a,h)antraceno	0.215	0.650	<LC	<LD	<LD	0.008	0.027	<LD	<LD	<LD
Benzo(ghi)perileno	0.083	0.250	<LC	<LD	<LD	0.003	0.011	<LD	<LC	<LC
Indeno(1,2,3-cd)pireno	0.056	0.170	<LD	<LD	<LD	0.002	0.007	<LD	<LC	<LD

Tabla XL. Resultados del análisis de PAHs en muestras de agua y sedimento correspondientes a la estación 7 de muestreo en el cauce del río Pesquería.

Analito	AGUA					SEDIMENTO				
	LD ug/L	LC pg/L	MARZO	ABRIL	MAYO	LD mg/kg	LC mg/kg	MARZO	ABRIL	MAYO
Naftaleno	1.142	3.460	<LC	<LD	<LC	0.044	0.145	<LD	<LD	<LC
Acenaftileno	0.469	1.420	<LD	<LD	<LD	0.018	0.060	<LD	<LD	<LC
Acenafteno	0.977	2.960	<LC	<LD	<LC	0.037	0.124	<LD	<LD	<LC
Fluoreno	0.066	0.200	<LC	0.620	<LC	0.003	0.008	<LD	<LD	<LC
Fenantreno	0.030	0.090	<LD	<LC	<LD	0.001	0.004	<LD	<LD	<LD
Antraceno	0.017	0.050	<LD	<LD	<LD	0.001	0.002	<LD	<LC	<LD
Fluoranteno	0.116	0.350	<LD	<LD	<LD	0.004	0.015	<LD	<LD	<LD
Pireno	0.106	0.320	<LD	<LD	<LD	0.004	0.013	<LD	<LD	<LD
Benzo(a)antraceno	0.036	0.110	<LC	<LC	<LC	0.001	0.005	<LC	<LD	<LD
Criseno	0.363	1.100	<LD	<LD	<LD	0.014	0.046	<LD	<LD	<LD
Benzo(b)fluoranteno	0.007	0.020	<LC	<LC	<LC	0.0008	0.0025	<LD	<LD	0.003
Benzo(k)fluoranteno	0.020	0.060	<LC	<LD	<LC	0.001	0.003	<LD	<LC	<LC
Benzo(a)pireno	0.053	0.160	<LC	<LC	<LC	0.002	0.007	<LD	<LC	<LC
Dibenzo(a,h)antraceno	0.215	0.650	<LC	<LC	<LC	0.008	0.027	<LD	<LD	<LC
Benzo(ghi)perileno	0.083	0.250	<LD	<LC	<LD	0.003	0.011	<LD	<LC	<LD
Indeno(1,2,3-cd)pireno	0.056	0.170	<LD	<LD	<LD	0.002	0.007	<LD	<LD	<LD

Tabla XL. Resultados del análisis de PAHs en muestras de agua y sedimento correspondientes a la estación 7 de muestreo en el cauce del río Pesquería.

Analito	AGUA					SEDIMENTO				
	LD ug/L	LC pg/L	MARZO	ABRIL	MAYO	LD mg/kg	LC mg/kg	MARZO	ABRIL	MAYO
Naftaleno	1.142	3.460	<LC	<LD	<LC	0.044	0.145	<LD	<LD	<LC
Acenaftileno	0.469	1.420	<LD	<LD	<LD	0.018	0.060	<LD	<LD	<LC
Acenafteno	0.977	2.960	<LC	<LD	<LC	0.037	0.124	<LD	<LD	<LC
Fluoreno	0.066	0.200	<LC	0.620	<LC	0.003	0.008	<LD	<LD	<LC
Fenantreno	0.030	0.090	<LD	<LC	<LD	0.001	0.004	<LD	<LD	<LD
Antraceno	0.017	0.050	<LD	<LD	<LD	0.001	0.002	<LD	<LC	<LD
Fluoranteno	0.116	0.350	<LD	<LD	<LD	0.004	0.015	<LD	<LD	<LD
Pireno	0.106	0.320	<LD	<LD	<LD	0.004	0.013	<LD	<LD	<LD
Benzo(a)antraceno	0.036	0.110	<LC	<LC	<LC	0.001	0.005	<LC	<LD	<LD
Criseno	0.363	1.100	<LD	<LD	<LD	0.014	0.046	<LD	<LD	<LD
Benzo(b)fluoranteno	0.007	0.020	<LC	<LC	<LC	0.0008	0.0025	<LD	<LD	0.003
Benzo(k)fluoranteno	0.020	0.060	<LC	<LD	<LC	0.001	0.003	<LD	<LC	<LC
Benzo(a)pireno	0.053	0.160	<LC	<LC	<LC	0.002	0.007	<LD	<LC	<LC
Dibenzo(a,h)antraceno	0.215	0.650	<LC	<LC	<LC	0.008	0.027	<LD	<LD	<LC
Benzo(ghi)perileno	0.083	0.250	<LD	<LC	<LD	0.003	0.011	<LD	<LC	<LD
Indeno(1,2,3-cd)pireno	0.056	0.170	<LD	<LD	<LD	0.002	0.007	<LD	<LD	<LD

Tabla XLI. Resultados del análisis de PAHs en muestras de agua y sedimento correspondientes a la estación 8 de muestreo en el cauce del río Pesquería.

Analito	AGUA					SEDIMENTO				
	LD u.g/L	LC ug/L	MARZO	ABRIL	MAYO	LD mg/kg	LC mg/kg	MARZO	ABRIL	MAYO
Naftaleno	1.142	3.460	<LC	<LD	<LC	0.044	0.145	<LD	<LC	<LD
Acenaftileno	0.469	1.420	<LD	<LD	<LC	0.018	0.060	<LD	<LD	<LD
Acenafteno	0.977	2.960	<LC	<LD	<LC	0.037	0.124	<LD	<LC	<LD
Fluoreno	0.066	0.200	<LC	0.722	<LC	0.003	0.008	<LD	<LC	<LD
Fenantreno	0.030	0.090	<LD	0.235	<LD	0.001	0.004	<LD	<LD	<LD
Antraceno	0.017	0.050	<LC	<LC	<LD	0.001	0.002	<LC	<LD	<LD
Fluoranteno	0.116	0.350	<LD	<LD	<LD	0.004	0.015	<LD	<LD	<LD
Pireno	0.106	0.320	<LD	<LD	<LD	0.004	0.013	<LD	<LC	<LD
Benzo(a)antraceno	0.036	0.110	<LC	<LC	<LC	0.001	0.005	<LC	<LC	<LC
Criseno	0.363	1.100	<LD	<LD	<LD	0.014	0.046	<LD	<LD	<LD
Benzo(b)fluoranteno	0.007	0.020	<LC	<LD	<LC	0.0008	0.0025	<LD	<LC	<LC
Benzo(k)fluoranteno	0.020	0.060	<LC	<LC	<LC	0.001	0.003	<LD	<LC	<LC
Benzo(a)pireno	0.053	0.160	<LC	<LC	<LC	0.002	0.007	<LD	<LC	<LC
Dibenzo(a,h)antraceno	0.215	0.650	<LC	<LD	<LC	0.008	0.027	<LD	<LD	<LD
Benzo(ghi)perileno	0.083	0.250	<LC	<LD	<LC	0.003	0.011	<LD	<LC	<LC
Indeno(1,2,3-cd)pireno	0.056	0.170	<LD	<LD	<LD	0.002	0.007	<LD	<LD	<LD

CAPÍTULO V

DISCUSIÓN

5.1. Método cromatográfico

La región donde habitamos es considerablemente caliente en los meses de verano, el control de temperatura dentro del laboratorio muchas veces no es eficiente y el HPLC sólo puede controlar 5°C por debajo de la temperatura ambiente, por esa razón el primer paso dentro de las modificaciones realizadas al método cromatográfico, fue el tratar de aumentar la temperatura a la que se realizaba la determinación, ya que una de las limitantes del método cromatográfico previamente desarrollado en el Departamento de Química Analítica de la Facultad de Medicina, UANL como parte de la tesis doctoral de Díaz-Morales (proyecto SEMARNAT-2002-C01-0643), fue la temperatura a la cual se lleva a cabo el análisis (27°C), [521].

La temperatura es un factor que influye considerablemente en los resultados cromatográficos pues modifica el tiempo de retención de los analitos y su intensidad en la fluorescencia, se probaron tres temperaturas 35, 32 y 30°C.

La estrategia fue fijar la temperatura de experimentación y realizar ligeros cambios en el programa de gradiente con el respectivo ajuste del programa de fluorescencia. A 35 y 32°C, no fue posible la separación del acenafteno y el fluoreno, a 30°C se logró realizar la separación de los 16 PAHs analizados en este trabajo.

La separación cromatográfica para PAHs a 30°C, se llevó a cabo utilizando un gradiente de elución que se muestran en la tabla VII y el programa de fluorescencia enlistado en la figura VIII.

Otra de las modificaciones, fue la inclusión de estándares internos, lo anterior con el objetivo de facilitar la cuantificación de los analitos, se propusieron tres compuestos por ser de la misma naturaleza de los compuestos analizados y no encontrarse en la muestra analizada, los compuestos fueron: el benzo[e]pireno, el nitrobenceno y el p-terfenilo. La separación de los compuestos individuales fue exitosa bajo las condiciones cromatográficas previamente establecidas, su identificación se hizo por su espectro de absorción UV a 254 nm. No obstante, en los cromatogramas de las mezclas de estos compuestos con la mezcla de estándares de los 16 PAHs, la señal del benzo[e]pireno se traslapó en el cromatograma con el benzo[b]fluoranteno (figura 23), por lo que se decidió no incluirlo. El nitrobenceno y el p-terfenilo fueron bien identificados y separados de los PAHs de estudio y fueron incluidos en la mezcla de estándares (figura 24). Sin embargo, posteriormente el nitrobenceno también fue eliminado de la mezcla, debido a su inestabilidad, el pico se divide en dos al cabo de aproximadamente 1 día de la preparación de la mezcla.

El p-terfenilo fue el único compuesto empleado como estándar interno en el estudio (figura 25).

Así pues, utilizando las condiciones mencionadas anteriormente se realizó la validación parcial del sistema cromatográfico obteniendo coeficientes de determinación de 0.990 a 0.997 y RSD de 2.3 a 10.05% (tabla XXIII).

5.2. Extracción de PAHs en agua

Esta sección se dividió en tres partes, en la primera se hizo el desarrollo y la evaluación de tres procesos de extracción para PAHs en agua: la SDME-INM, SDME-HS y la SPME-HS; en la segunda se comparó la eficiencia de los procesos de extracción desarrollados en la primera parte con la SPE y la SPME previamente optimizados en el Departamento de Química Analítica, Facultad de Medicina, UANL y como último paso se validó el proceso de extracción seleccionado en base a los criterios enlistados en la tabla XXIV.

5.2.1. Microextracción líquido-líquido de gota en modalidad de inmersión

(SDME-INM)

Durante el montaje de la técnica, el primer inconveniente que surgió fue la dificultad para la recuperación de la microgota, este problema fue solucionado al cambiar la microjeringa, de una con punta biselada a una de punta plana. Este pequeño cambio, logró la estabilidad de la microgota dentro de la muestra y facilitó la recuperación de la misma. En adelante el bisel plano fue usado para la realización de los experimentos de SDME-INM.

La elección de los solventes a utilizar se hizo a partir de la revisión bibliográfica [55-63], básicamente se requiere que éstos sean inmiscibles en agua y afines a los analitos de interés para poder extraerlos.

Para la selección del solvente de extracción, el criterio principal fue la recuperación de todos los PAHs de estudio. De los cuatro solventes probados, sólo con el tolueno se logró la extracción de los 16 analitos, por esa razón el ciclohexano, el diclorometano y el hexano fueron descartados (figura 26). Las pruebas de optimización para la extracción SDME-INM se realizaron utilizando tolueno como solvente de extracción.

Se demostró que a mayor volumen de solvente de extracción, mayor cantidad de analitos extraídos; sin embargo, por el mayor tamaño de la gota, la variabilidad debida a la pérdida de diversas proporciones por efecto de la agitación también aumenta. Los resultados obtenidos con 5 μ L no fueron reproducibles, en cambio utilizando 1 μ L la variabilidad en la intensidad de respuesta de los analitos fue baja (figura 27).

En experimentos posteriores, se empleó 1 μ L de tolueno para la extracción SDME-INM.

Con la adición de NaCl en la muestra no se observó el efecto de salting-out y la intensidad de las señales no mostró aumento, por lo cual, las extracciones se realizaron sin NaCl (figura 28).

Se experimentó con dos tiempos de extracción 20 y 30 minutos. El tiempo seleccionado fue de 20 minutos para la extracción, esto debido a la variabilidad del volumen de solvente recuperado a 30 minutos, ya que como consecuencia de la agitación de la muestra, se pierde volumen de la gota y las recuperaciones del mismo no son constantes.

Las condiciones finales de extracción SDME-IMN para extracción de PAHs en agua se enlistaron en la tabla XI.

5.2.2. Microextracción líquido-líquido de gota en modalidad de headspace

(SDME-HS)

En el montaje de la técnica, ocurrió lo contrario a la SDME-INM, se presentó la dificultad para la recuperación de la microgota en el headspace con el uso de la microjeringa de punta plana; este problema fue solucionado al cambiar la microjeringa de una con punta plana a una de punta biselada. El cambio permitió mayor facilidad para la recuperación de la microgota en el headspace. Por tal razón la microjeringa de aguja biselada fue usada para la realización de los experimentos de SDME-HS.

Inicialmente, una de las variables a optimizar en este proceso de extracción era el volumen de extracción, sin embargo, los problemas en la estabilidad de la microgota en el headspace y su retracción, nos llevaron a fijar el volumen de extracción en 2.5pL, siendo éste el máximo volumen que pudo mantenerse suspendido y retraerse sin perder gran cantidad de solvente.

En la elección del solvente se evaluaron cuatro solventes, elegidos de acuerdo a la revisión bibliográfica [65-69] realizada previo al montaje de la técnica, sin embargo, ninguno de ellos logró la extracción de todos los analitos de interés. Por lo que decidió, aplicar como criterio de selección, ya no la extracción de todos los PAHs, sino el mayor número de analitos extraídos. De los cuatro solventes probados, el tolueno y la mezcla de xilenos extrajeron 5 y 4 analitos respectivamente; en el caso del n-octanol y el alcohol bencílico, se logró la extracción de 8 analitos, sin embargo, se decidió seleccionar al n-octanol debido a que las intensidades de los picos obtenidos con este solvente eran mayores a las obtenidas con el alcohol bencílico (figura 30). Las pruebas de optimización para la extracción SDME-HS en agua se realizaron con n-octanol como solvente de extracción.

Se hicieron ensayos para elegir la temperatura de extracción a 23°C (temperatura ambiente), 50°C y 70°C. A 23°C la intensidad de las señales en los cromatogramas fue sumamente baja, a 70°C la estabilidad de la gota fue un gran inconveniente, pues el solvente se evaporaba por lo que el tiempo de extracción se redujo de 5 a 3 minutos, pero los resultados no fueron alentadores. La temperatura que mostró mejor respuesta de los PAHs fue 50°C con un tiempo de extracción de 5 minutos (figura 31).

Otro factor evaluado fue la concentración de cloruro de sodio adicionado. No fue observada diferencia importante en las respuestas entre las muestras que contenían las diferentes concentraciones de cloruro de sodio, pero sí entre ellas y la muestra sin adición; la intensidad de respuesta de los analitos de mayor peso molecular mejoró al añadir cloruro de sodio a la muestra de agua.

Las condiciones finales de extracción SDME-HS para extracción de PAHs en agua se enlistaron en la tabla XIII.

5.2.3. Microextracción en fase sólida en modalidad de headspace (SPME-HS)

La elección de la fibra se realizó con base en los resultados obtenidos de las pruebas preliminares, se observó que empleando la fibra de PDMS en muestras con y sin cloruro de sodio, era posible la detección de 8 de los analitos de interés. En el caso la fibra mixta de PDMS/DVB, en las muestras sin cloruro de sodio también se detectaron 8 de los 16 analitos, mientras que en las muestras adicionadas con un 10% de cloruro de sodio, el número de señales aumentó a 14 (figura 33). La fibra seleccionada para la optimización de la extracción SPME-HS fue la de 65 PDMS/DVB.

Los parámetros evaluados fueron: temperatura de extracción, el tiempo de equilibrio y el tiempo de extracción. Estos parámetros fueron evaluados utilizando una fibra mixta de 65µm de PDMS/DVB y 10 mL de agua bidestilada con 10% de NaCl.

Se probaron dos temperaturas de extracción 50 y 70°C. Las muestras extraídas a 50°C dieron señales más intensas que las procesadas a 70°C para la mayoría de los analitos, por lo anterior se estableció 50°C como temperatura de extracción (figura 34). Esto puede ser explicado por la evaporación del solvente a una mayor temperatura, por lo tanto el volumen recuperado es menor y por ende la respuesta de los analitos.

Posteriormente se realizaron las pruebas del tiempo de equilibrio, se estudiaron dos tiempos 30 y 60 minutos. Se observó que a mayor tiempo de equilibrio disminuía la intensidad de las señales, por lo que se decidió fijar un tiempo de equilibrio de 30 minutos para los experimentos subsiguientes.

Finalmente, no hubo diferencia en la intensidad de las señales de los PAHs al duplicar el tiempo de extracción de 15 a 30 minutos, por esa razón se decidió fijar 15 minutos como tiempo de extracción de la muestra.

Las condiciones finales de extracción SPME-HS para extracción de PAHs en agua se enlistaron en la tabla XV.

5.2.4. Desempeño de métodos de extracción para agua

Los criterios para la evaluación fueron: el número de analitos detectados, su porcentaje de recuperación, precisión, tiempo de análisis y costo (Tabla XXIV).

Debido a que el criterio principal era el número de analitos detectados, las técnicas de headspace fueron eliminadas del proceso de evaluación.

Las recuperaciones fueron calculadas a partir de la cuantificación con el estándar interno, oscilaron para la SPE entre 53-95% con un RSD de 4.5-16.2%, para la SPME-

INM de 49-92% con un RSD de 3.47-14.9% y para la SDME <15% con RSD de 10.7-42.5% (tablas XXV y XXVI). Debido a las bajas recuperaciones obtenidas con la SDME-INM se decidió descartar esta técnica.

Por otra parte, las recuperaciones con SPME-INM fueron ligeramente menores que para SPE, sin embargo, la precisión de la primera fue ligeramente superior a la segunda, por esta razón aplicamos los demás criterios, en los que destacó el costo sobre el tiempo del análisis. Además la SPME-INM utiliza una menor cantidad de muestra para el análisis y prácticamente no utiliza solventes pues la cantidad de acetonitrilo utilizada en la desorción de la muestra es mínima (tabla XXIV).

Por lo anterior se eligió SPME-INM como la mejor técnica para la extracción de PAHs en agua de río.

5.2.5. Validación del método de extracción SPME-INM en Agua

La validación de la SPME-INM se realizó en muestras de agua provenientes del río Pesquería. Se emplearon ocho intervalos de trabajo; de 0.667 a 3.167pg/L para el antraceno, benzo[b]fluoranteno y benzo[k]fluoranteno; de 1.333-6.333 pg/L para el fenantreno; de 1.667-7.917 µg/L para fluoranteno, benzo[a]antraceno, benzo[a]pireno, benzo[e]pireno e indeno(1,2,3-cd)pireno; de 2.667-12.667 µg/L para el benzo[g,h,i]perileno; de 3.333- 15.833 pg/L para fluoreno y pireno; 6.667-31.667 µg/L para el dibenzo[a,h]antraceno; 16.667-79.167 µg/L para el naftaleno y el acenaftileno; y de 33.333- 158.333 µg/L para el acenafteno.

Para evaluar la linealidad se calcularon los coeficientes de determinación en cada una de las curvas de calibración construidas para los 16 PAHs analizados, en todos ellos se

alcanzaron valores superiores a 0.990, con RSD para los factores de respuesta en un rango de 3.15 a 13.3% cumpliendo esto con el criterio de aceptación de <20% marcado en el método EPA 8000C [73],

Para la medida de la exactitud se evaluó el porcentaje de recuperación de los analitos en la matriz. Los valores obtenidos se encontraron entre 60.78 a 89.95% con RSD de 3.47 a 14.91%. Los límites de detección del método desarrollado oscilan en un rango de 0.017 a 1.142 pg/L.

En este trabajo los límites de cuantificación obtenidos fueron de 0.020 a 3.46 pg/L (tabla XXVII), todos están por debajo del límite máximo permitido por la Ley Federal de Derechos en aguas costeras y estuarios que es de 100 pg/L para PAHs totales, no hay valores para agua dulce. El acenafteno y el naftaleno se consideran de forma individual dentro de esta misma ley, el límite máximo permisible en agua dulce para ambos compuestos es de 20 pg/L y en aguas costeras y estuarios de 10 y 20 pg/L respectivamente. Los límites de detección de estos compuestos se encuentran muy por debajo de estos valores, por lo que consideramos el método desarrollado es aplicable para la determinación de PAHs en muestras de agua de río.

Hou et al. en el 2002 [37], analizaron 6 PAHs utilizando la LPME estática por HPLC UV obteniendo límites de detección de 0.35 a 0.60 pg/L, nuestro método no emplea la misma técnica de extracción no obstante alcanzó valores inferiores de límites de detección para todos los 6 analitos analizados.

Por otra parte El-Beqqalj et al. en el 2006 emplean el uso de la microextracción en jeringa empacada con sílice C_8 , que al igual que la fibra empleada en la SPME puede ser reusada para múltiples extracciones. Utilizando GC-MS obtuvieron límites de detección en el rango de 1 a 5 ng/L y recuperaciones de 90 a 113% con RSD de 8-16%, en general superiores a las obtenidas en este trabajo, sin embargo el reporte únicamente considera 5 PAHs.

i

Bussetti et al. en el 2006 [40] reportan la determinación de los 16 PAHs regulados en agua proveniente de una planta de tratamiento utilizando SPE- HPLC UV/FLU, ellos probaron dos tipos de cartuchos en fase sólida: Envi-18 (empleado también en este trabajo) y Strata E, obteniendo mejores resultados con los cartuchos Envi -18. Reportan recuperaciones >70% con RSD de 6-13% para muestras de agua miliQ fortificada con PAHs, valores similares a los obtenidas en este trabajo en muestras de agua de río. El volumen de muestra utilizado fue de 1 L, 5 veces superior a la utilizada para las pruebas de desempeño de las técnicas de extracción en agua. Los límites de detección alcanzados están en el orden de los ng/L superiores a los obtenidos por nuestro método de extracción.

En el 2007 Fernández-González et al. emplean la SPME CG-MS-MS para la determinación de 27 PAHs. La fibra SPME utilizada fue PDMS/DVB 65 μ m al igual que en nuestro trabajo, las recuperaciones para agua superficial reportadas son >65% y las obtenidas en esta investigación para la misma matriz son >50.7%; en cuanto a los límites de detección en este reporte se encuentran en el rango de 0.07 a 0.76ng/L, muy abajo a los alcanzados por nuestro método. Esto puede ser debido a que la determinación se hace por GC, por lo tanto la desorción de los analitos es mejor que

con solventes, además las características del detector empleado son muy superiores a nuestro equipo.

Con respecto a los trabajos previamente realizados en el Departamento de Química Analítica de la UANL, Díaz-Morales et al. [30] alcanzaron recuperaciones de 60-105% utilizando la LLE HPLC UV/FLU, valores ligeramente superiores a lo obtenido en este trabajo. En cuanto a los límites de detección reportados están entre 0.6 a 21 ng/L, inferiores a los logrados en este trabajo que fueron de 0.020 a 1.142 µg/L. Sin embargo, este método de extracción utiliza grandes cantidades de solventes orgánicos y la tendencia en la química verde es hacia la miniaturización y eliminación en la medida de lo posible la utilización de solventes peligrosos.

Por otra parte Lucio-Gutiérrez [54] desarrolló la técnica de extracción SPME-INM HPLC UV/FLU empleada en este trabajo y determinó los 16 PAHs en agua alcanzando límites de detección de 0.009 a 0.306 µg/L, las recuperaciones reportadas en agua de río (Cola de Caballo, Santiago, N.L., México) estuvieron >73%, en nuestro trabajo los límites de detección de los PAHs estuvieron en el rango de 0.020 a 1.142 ng/L, esto puede deberse a la complejidad y grado de contaminación de la matriz (río Pesquería, N.L., México), en cuanto a las recuperaciones obtenidas también fueron inferiores en nuestro trabajo.

5.3. Extracción de PAHs en sedimento

Esta etapa del trabajo fue dividida en tres partes, en la primera se hizo el desarrollo y la evaluación de tres procesos de extracción para PAHs en sedimento a partir de referencias bibliográficas y los recursos disponibles para la realización del trabajo; los procesos de extracción aplicados fueron: la Sonicación-SPE (Kootstra et al 1995), Sonicación-Columna de Sílica (método EPA 3550C y 3630C) y Soxhlet-Columna de Sílica (método EPA 3540C y 3630C); en la segunda parte se comparó la eficiencia de los procesos de extracción desarrollados y por último se validó el proceso de extracción seleccionado.

En las pruebas preliminares realizadas para evaluar la interacción de los analitos con la matriz, en base a la precisión de los resultados fue elegido el tiempo de 24h como tiempo de reposo del sedimento con PAHs previo a la extracción, ya que como puede observarse en la figura 39, después de 2 y 12 horas posteriores a la adición de la mezcla de PAHs, la diferencia de respuesta entre muestras no es precisa.

5.3.1. Soxhlet-Columna de Sílice (SX-SIL)

De acuerdo a los procedimientos descritos en el método EPA 3540C la concentración de la muestra una vez extraída se realiza utilizando el dispositivo Kuderna-Danish, sin embargo, la implementación de este paso en el laboratorio fue muy complicada; cada muestra tardó en concentrarse dos horas o más. Una de las alternativas encontradas fue la evaporación a presión reducida. Los ensayos realizados utilizando esta modificación fueron exitosos, el tiempo de concentración se redujo a aproximadamente 20 min y en el análisis cromatográfico se observaron las 16 señales de interés, por lo

que el procedimiento original fue modificado y aplicado a las muestras procesadas para esta técnica de extracción.

5.3.2. Sonicación-Columna de Sílice (S-SIL)

El montaje de esta técnica de extracción se hizo de acuerdo a la metodología descrita en el método EPA 3550C y el procedimiento de limpieza según en el método EPA 3630C, sin embargo, se observó que el paso de la muestra por la columna tomaba alrededor de 1h debido a que la velocidad de flujo en la columna era baja e irregular, por lo que se decidió conectar la columna de sílice a una estación de vacío SPE para tener un mayor control sobre esta variable. Este acoplamiento nos permitió controlar el flujo a una velocidad de 2 mL/min.

5.3.3. Sonicación-Extracción en fase sólida C₁₈ (S-SPE_{C18})

Para el desarrollo de este procedimiento de extracción se tomó como base lo reportado por Kootstra en 1995 [44], los autores implementaron un método para la extracción de PAHs en suelos acoplando la extracción mecánica a una extracción en fase sólida con cartuchos C₈ utilizando THF para la elución de los PAHs. Por otra parte, en nuestro laboratorio la extracción en fase sólida con cartuchos C₁₈ había sido aplicada para el análisis de PAHs en agua de río. En la revisión del procedimiento se observó que la etapa de extracción SPE_{C18} de PAHs era compatible y podía aplicarse para muestras de sedimento, ya que la muestra de sedimento ya extraída se trabaja en forma líquida (figura 16), por lo que se decidió reemplazar las condiciones originales del procedimiento descrito para suelos y aplicarlo a la extracción de PAHs en sedimento de río.

Las pruebas iniciales en el desarrollo de esta metodología implicaron la comparación de la eficiencia de extracción de dos modos diferentes de agitación, la agitación mecánica y la sonicación. Debido a que la sonicación mostró una mayor intensidad de respuesta para todos los analitos (figura 42) fue la modalidad de agitación utilizada. Por otra parte, se evaluó la factibilidad de escalar el procedimiento, esto con la finalidad de generar menos residuos peligrosos y reducir el tiempo de preparación de la muestra, las pruebas realizadas mostraron una respuesta lineal (figura 43) para todos los compuestos de interés.

5.3.4. Desempeño de métodos de extracción para sedimento

Los criterios para la evaluación fueron: el número de analitos detectados, su porcentaje de recuperación, reproducibilidad, tiempo de análisis y costo.

Las recuperaciones para el procedimiento de extracción Soxhlet-Columna de Sílice fueron de 32-97% con RSD de 7.8-46%, para Sonicación-Columna de Sílice de 50-88% con RSD de 3.2 a 15.1% y para la Sonicación-SPEds de 50-89% con RSD 3.8-14.9%.

Como puede observarse en la figura 43, con el procedimiento de Soxhlet-Columna de Sílice se obtuvo una mayor respuesta para algunos analitos; sin embargo hubo pérdida de analitos de bajo peso molecular como el naftaleno, acenafteno y del fluoreno en forma inconsistente entre las tres réplicas analizadas. Además este procedimiento tiene la desventaja de consumir una gran cantidad de tiempo en la extracción de la muestra (>24h), razón por la cual fue descartada.

Las recuperaciones de los métodos de extracción Sonicación-Columna de Sílice y Sonicación-SPEds, oscilaron en rangos similares, siendo ligeramente mejores para la segunda (tabla XXVIII), por esta razón recurrimos a la aplicación los demás criterios para la selección del método (tabla XXIV).

t) método de extracción-SPEs que emplea una gran cantidad de solventes

orgánicos, requiere tiempos prolongados para el empaquetamiento de las columnas e involucra una gran cantidad de pasos (manipulación) para su realización, además experimentalmente es difícil realizar extracciones simultáneamente; por otra parte la extracción-SPEs puede procesar muestras simultáneas gracias a los adaptadores de alto volumen que automatizan la extracción en gran medida, genera poca cantidad de residuos, requiere poca manipulación de la muestra y en general el procesamiento de la muestra es mucho más rápido y sencillo. Por lo anterior, la técnica elegida para el análisis de PAHs en sedimentos fue la extracción-SPEs-

5.2.5. Validación del método de extracción extracción-SPEs en Sedimento

Y.a validación del procedimiento de extracción de muestras de sedimento

provenientes del río Pesquería (figura 14). Se utilizaron ocho intervalos de trabajo; de 0.025-0.178 mg/kg para el antraceno, benzo[b]fluoranteno y benzo[k]fluoranteno; de 0.051-0.356 mg/kg para el fenantreno; de 0.064-0.445 mg/kg para fluoranteno, benzo[a]antraceno, benzo[a]pireno, criseno e indeno[1,2,3-cd]pireno; de 0.102 - 0.713 mg/kg para el benzo[g,h,i]perileno; de 0.127-0.891 mg/kg para fluoreno y pireno; de 0.254-1.278 mg/kg para el dibenzo[a,h]antraceno; de 0.636-4.455mg/kg para el naftaleno y el acenaftileno; y de 1.272-8.909 mg/kg para el acenafteno.

En la evaluación de la linealidad se calcularon los coeficientes de determinación de las curvas de calibración de cada uno de los 16 PAHs y para todos se obtuvieron valores mayores de 0.99. También se calcularon las RSD de los factores de respuesta y todos fueron menores que 11.82% cumpliendo con el criterio de aceptación de <20% marcado por la EPA en el método 8000C.

Como medida de la exactitud se evaluó el porcentaje de recuperación de los analitos en la matriz. Los valores obtenidos se encontraron en el rango de 40.28 a 95% con RSD inferiores al 15.3%. Estos resultados son comparables a los obtenidos por Cam et al en el 2000 [45], los autores determinaron 7 PAHs en sedimento marino por SPME-GC/MS; las concentraciones añadidas de PAHs en este trabajo estuvieron en el rango de 10-20 ppm obteniendo RSD inferiores al 13% para 6 PAHs y del 28% para el benzo[a]antraceno que en nuestro método fue de 6.3%.

Los límites de detección del método desarrollado oscilan en un rango de 0.001 a 0.043 mg/kg (tabla XXX). Debido a que no existe legislación en México para niveles de PAHs en sedimento y siendo la matriz de suelo semejante a la estudiada, los valores enlistados en la NOM-138-SEMARNAT-2003 se tomaron como referencia para la evaluación de los resultados obtenidos. Los límites de cuantificación alcanzados para todos los analitos estudiados se encuentran muy por debajo de los límites máximos permitidos para PAHs en suelo marcados en la NOM-138-SEMARNAT-2003, que son de 2 mg/kg para suelo agrícola y residencial para benzo[a]pireno, dibenzo[a,h]antraceno, benzo[a]antraceno, benzo[b]fluoranteno e indeno[1,2,3-cd]pireno y de 8 mg/kg para el benzo[k]fluoranteno. Siendo los valores de límite de cuantificación inferiores al menos 500 veces a lo establecido en la legislación para suelo, la metodología desarrollada es aplicable para la determinación de PAHs en muestras de sedimento de río.

Koostra et al. [44] publican la extracción de los 16 PAHs en suelos, comparan los cartuchos de fase sólida C_8 con la Ci_8 por HPLC UV/FLU. El reporte determina mejores recuperaciones con fase sólida C_8 , >85% para todos los PAHs; siendo superiores a los alcanzados en este trabajo con Ci_8 . Sin embargo a diferencia de nuestro procedimiento,

la adición de los PAHs en las muestras se hizo al sobrenadante obtenido de la extracción por sonicación, lo que puede explicar la mayor recuperación, pues no hubo interacción directa de los analitos con la matriz.

En el 2004, Criado et al [46] hacen el monitoreo de PAHs en suelo utilizando la extracción asistida por microondas y SPEcis para la limpieza de los extractos por HPLC FLU. Los límites de detección alcanzados en este reporte fueron de 0.0003 a 0.002 $\mu\text{g/g}$ mejores que los obtenidos con nuestro método que fueron de 1 a 43 $\mu\text{g/kg}$.

Filipkowska et al. [48] determinaron 10 PAHs en diferentes matrices del ambiente marino. En el caso del análisis de sedimento, al igual que en nuestro estudio las muestras fueron fortificadas y se dejaron reposar por la noche antes de la extracción; también fueron extraídas por sonicación y posteriormente el sobrenadante fue centrifugado, hasta aquí los procedimientos empleados son similares, los autores realizaron una segunda extracción por LLE y el extracto fue purificado por cromatografía en capa fina. La detección fue llevada a cabo por HPLC UV a 254 nm y CG-MS. Las recuperaciones obtenidas para HPLC fueron de 38% para el antraceno y los demás analitos estuvieron en un rango de 78 a 91%, mientras que por GC-MS las recuperaciones fueron de 23 a 69% con RSD en rangos de 11 a 28%; en nuestro trabajo por HPLC UV/FLU se obtuvieron recuperaciones del 40% -95%, esto es inferior a lo reportado para HPLC, pero superiores a lo reportado por los autores para CG-MS.

Sarrazin et al en el 2006 [49], determinan PAHs en sedimento de río por Sonicación-SPE por HPLC UV/FLU, un procedimiento semejante al empleado en este trabajo (los solventes de extracción, el tiempo de extracción, el sistema de elución de la SPE entre

otros parámetros son diferentes). Los límites de detección alcanzados en este reporte son de 10 a 15 pg/kg comparables a los nuestros. 1 a 43 pig/kg.

5.4. Muestreo en el río Pesquería

El objetivo del estudio fue aplicar las técnicas de extracción evaluadas y seleccionadas en este trabajo por HPLC UV/FLU al análisis de muestras de agua y sedimento colectadas en el cauce del río Pesquería,.

El muestreo llevado a cabo en este trabajo en el cauce del río Pesquería, fue del tipo simple debido a que todas las muestras fueron tomados en un punto y en un momento dado. Los puntos seleccionados fueron elegidos de acuerdo a la influencia que pudieran tener afluentes superficiales aledaños hacia el cauce principal del río de estudio, sin considerar distancias entre ellos o alguna otra variante en particular.

Idealmente para realizar un estudio completo y evaluar la calidad del agua del río Pesquería, debíamos analizar todos los parámetros que se enlistan en la NOM-001-ECOL-1996, sin embargo esto no fue posible, por cuestiones económicas y de falta de equipo, por lo que sólo fueron tomados los parámetros fisicoquímicos en el punto de muestreo que estuvieron a nuestro alcance, estos fueron: pH, temperatura y conductividad.

En lo concerniente a los parámetros fisicoquímicos, el pH es uno de los más importantes parámetros indicadores de la calidad del agua, aunque no está establecido un valor determinado, para agua potable se considera óptimo un pH de de 6.5 a 8.5. Un

valor de pH alto se relaciona con la mineralización extrema, la mayoría de los lagos y ríos tendrían un nivel de pH próximo a 6.5 de acuerdo con el Consejo de Ministros Nórdicos, 1988. En nuestro estudio no se observó una tendencia definida, ni por estación, ni por mes de muestreo, los valores de pH tuvieron valores muy variados (tablas XXXI, XXXII y XXXIII).

Por otra parte, la conductividad en medios líquidos se relaciona con la presencia de sales en solución, cuya disociación genera iones capaces de transportar la energía eléctrica. La NOM-001-ECOL-1996, establece la conductividad como parámetro indicativo de la calidad del agua e indica como referencia la NMX-AA-093-SCFI-2000 para su adecuada determinación, sin embargo en ninguna de las dos normativas se enlistan límites permisibles. En nuestro estudio, los valores obtenidos fueron muy variados, no hubo una tendencia ni por estación, ni por mes de muestreo (tablas XXXI, XXXII y XXXIII).

La temperatura es un parámetro que afecta un número importante de procesos que definen la calidad del agua. El aumento de la temperatura incrementa la velocidad de las reacciones químicas y bioquímicas del sistema, igualmente decrece la solubilidad de los gases y aumenta la solubilidad mineral; además variaciones en este parámetro afectan a las tasas de crecimiento y respiración de organismos acuáticos. La NMX-AA-007-SCFI-2000 enlista los lineamientos para su correcta medición y la NOM-001-ECOL-1996 los valores de referencia que marcan un límite de 40°C para agua de río empleada para uso urbano y en sitios de protección acuática. En nuestro estudio los valores obtenidos estuvieron en el rango de 23.5 a 29.3°C.

Todos los contaminantes del agua, con excepción de los gases disueltos, contribuyen a la "carga de sólidos", éstos pueden ser de naturaleza orgánica y/o inorgánica y provienen de las diferentes actividades domésticas, comerciales e industriales. La NMX-AA-034-SCF1-2001 describe el procedimiento a seguir en la determinación de sólidos totales en aguas naturales. La NOM-001-ECOL-1996 marca como límites máximos permisibles para sólidos suspendidos totales de 150 a 200 mg/L en el caso de agua proveniente de río empleada para riego agrícola, de 75 a 125 mg/L para agua de río de uso urbano y de 40 a 60 mg/L para agua de río encontrada en sitios de protección acuática. Los valores encontrados en el muestreo de agua realizado en los meses de marzo, abril y mayo del 2008 tuvieron valores muy por debajo de los normados, el valor máximo encontrado fue de 4.19 mg/L.

Las características físicas y químicas de los sedimentos afectan la disponibilidad de contaminantes, en este trabajo sólo se determinó el porcentaje de humedad de los mismos, los valores encontrados estuvieron entre de 19.91-66.15%

5.4.1. Resultados de las muestras de agua y sedimento en el río Pesquería

Las muestras de agua y sedimento analizadas fueron colectadas durante un periodo de 3 meses en el cauce del río Pesquería en Nuevo León, México.

La información sobre la ubicación de los sitios de muestreo se presenta en la figura 20 y en la tabla XXII.

En todas las muestras analizadas de agua y sedimento se encontró al menos un PAHs, sin embargo no fue posible correlacionar la cantidad de PAHs encontrados en agua y en sedimento.

En la ZMM constantemente aparecen notas en el periódico con respecto a la calidad del agua del río Pesquería, muestran fotografías de los múltiples asentamientos irregulares y la gran cantidad de basura presente en el cause de este afluente en su paso por la zona urbana. En este trabajo se evidencia la presencia de PAHs en el río Pesquería a lo largo de todo su cause, fundamentando la idea generalizada de presencia de sustancias peligrosas en este afluente.

Por otra parte, es necesario mencionar que los estudios de PAHs en sedimentos reportados por el INE en el 2004 [6] fueron realizados en sitios mayormente asociados actividades petroleras, no con zonas industriales y de alta densidad demográfica como lo es la ZMM.

CAPÍTULO VI

CONCLUSIONES Y PERSPECTIVAS

6.1. Conclusiones

De los cinco procesos de extracción evaluados para PAHs en agua, la SPME-INM fue elegida con base en su desempeño. Este procedimiento fue validado y empleado para la identificación y cuantificación de PAHs en muestras de agua de río.

Se desarrollaron tres métodos de extracción para PAHs en sedimento, el procedimiento seleccionado con base en su mayor eficiencia en la extracción fue la S-SPEcis, la que fue empleada para la identificación y cuantificación de PAHs en muestras de sedimento de río.

Los métodos empleados tanto para agua, como para sedimento pueden detectar la presencia de PAHs con límites inferiores a los marcados como máximos permisibles para aguas de descarga y suelos en la legislación mexicana.

Se evidenció la presencia de PAHs en todas las muestras de agua y sedimento colectadas en el río Pesquería en Nuevo León, México durante los muestreos realizados en este proyecto.

En la mayor parte de las muestras de agua y sedimento analizadas se detectó la presencia de benzo[a]pireno, PAH enlistado por la IARC en el grupo 2A como posible carcinógeno humano.

6.2. Perspectivas

Probar e implementar nuevas metodologías de extracción para sedimentos, para alcanzar límites de detección más bajos.

Plantear otros puntos de muestreo, con la finalidad de hacer equidistantes los puntos y correlacionar de una mejor forma la información obtenida.

Monitoreos del río Pesquería y otros ríos de la región en busca de PAHs y otros contaminantes orgánicos persistentes.

BIBLIOGRAFÍA

1. Urbina-Soria J. y Martínez Fernández J. Más allá del cambio climático, Instituto Nacional de Ecología, Secretaría del Medio Ambiente y Recursos Naturales, Facultad de Psicología U.N.A.M. 2006.
2. El agua en México: lo que todos y todas debemos saber. Centro Mexicano de Derecho Ambiental, Fondo de Educación Ambiental, National Wildlife Federation, Presencia Ciudadana, Alianza Mexicana por una Nueva Cultura del Agua, Fundación Heinrich Boil y Tinker Foundation Incorporated. 2006.
3. González-Gaudiano E.J. Elementos estratégicos para el desarrollo de la educación ambiental en México. Instituto Nacional de Ecología. 2004.
4. Nigenda G., Cifuentes E. y Duperval P. Estimación del valor económico de reducciones en el riesgo de morbilidad y mortalidad por exposiciones ambientales. Instituto Nacional de Ecología y Secretaría del Medio Ambiente y Recursos Naturales.
5. Matandrea C., Chichizola C., Luduena B., Sánchez H., Álvarez H. y Gutiérrez A. Hidrocarburos aromáticos policíclicos para la salud y marcadores biológicos. Acta Bioquím. Clin Latam Vol. 39 (27-36) 2005.
6. Fernández Bremauntz A. Las sustancias tóxicas persistentes. Instituto Nacional de Ecología y Secretaría del Medio Ambiente y Recursos Naturales. 2004.
7. Toxicological profile for polycyclic aromatic hydrocarbons. U S. Department of Health and Human Services. Public Health Service. Agency for Toxic Substances and Disease Registry. 1995.

8. Yarto M., Gavilán A. y Barrera J. EL convenio de Estocolmo sobre contaminantes orgánicos persistentes y sus implicaciones para México. Gaceta ecológica 69. Instituto Nacional de Ecología. 2003.
9. Agency for Toxic Substances and Disease Registry ATSDR 1993c
10. IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans Volume 100: A Review of Human Carcinogens.2007.
11. List of Classifications. Group 2A, Group 2B. IARC Monographs. <http://www.iarc.fr/>
12. NOM-Q52-SEMARNAT-1993 Secretaría del Medio Ambiente y Recursos Naturales. Publicada en el Diario Oficial de la Federación el 22 de octubre de 1993.
13. NQM-001 -ECOL-1996. Secretaría del Medio Ambiente y Recursos Naturales. Publicada en el Diario Oficial de la Federación el 24 de junio de 1996.
14. Lev Federal de Derechos. Publicada en el Diario Oficial de la Federación el 31 de diciembre de 1981. TEXTO VIGENTE Última reforma publicada DOF 24-12-2007
15. NOM-138-SEMARNAT-2003. Secretaría del Medio Ambiente y Recursos Naturales. Publicada en el Diario Oficial de la Federación el 29 de marzo de 2005.
16. NQM-044-SEMARNAT-2006. Secretaría del Medio Ambiente y Recursos Naturales. Publicada en el Diario Oficial de la Federación el 26 de abril de 2006
17. NOM-Q75-ECOL-1995. Secretaría del Medio Ambiente y Recursos Naturales. Publicada en el Diario Oficial de la Federación el 22 de junio de 1994.
18. NOM-Q85-ECOL-1994. Procuraduría Federal de Protección al Ambiente. Publicada en el Diario Oficial de la Federación el 02 de diciembre de 1994

19. NOM-Q86-ECOL-1994. Instituto Nacional de Ecología Publicada en el Diario Oficial de la Federación el 2 de diciembre de 1994. Última modificación 4 de noviembre de 1997.
20. NOM-Q42-ECOL-1999. Secretaría del Medio Ambiente y Recursos Naturales. Publicada en el Diario Oficial de la Federación el 22 de octubre de 1993.
21. NOM-Q41-ECOL-1999. Secretaria del Medio Ambiente y Recursos Naturales. Publicada en el Diario Oficial de la Federación el 25 de febrero de 1997.
22. NOM-Q48-SEMARNAT-1993. Secretaría del Medio Ambiente y Recursos Naturales. Publicada en el Diario Oficial de la Federación el 22 de octubre de 1993.
23. Estadísticas del medio ambiente de la Zona Metropolitana de Monterrey. Instituto Nacional de Estadística Geografía e Informática. 2001.
24. Reporte del Estado de la Calidad del Aire en el Área Metropolitana de Monterrey. Agencia de Protección al Medio Ambiente y Recursos Naturales. Febrero del 2007.
25. Modelos del destino de sustancias tóxicas. Manual de Evaluación y Manejo de Sustancias Tóxicas en Aguas Superficiales. Sección 4. Centro Panamericano de Ingeniería Sanitaria y Ciencias del Ambiente (CEPIS). Enero 2001.
26. Merla-Rodríguez G. Nuevo León. Geografía Regional. U.A.N.L. 1990.
27. Carta Hidrológica de Aguas Superficiales. Coordinación General de los Servicios Nacionales de Estadística, Geografía e Informática CGSNEGI
28. Manoli E. y Samara C. Polycyclic aromatic hydrocarbons in natural waters: sources, occurrence and analysis. TrAC Trends in Analytical Chemistry. Vol 18 (417-428) 1999.

29. EPA Method 550. Environmental Monitoring Systems Laboratory
Office of Research and Development U.S. Environmental Protection Agency. 1990.
30. Díaz- Moróles N.E., Garza-Ulloa H.J., Castro-Ríos R., Ramírez-Villarreal E.G., Barbarín-Castillo J.M., Salazar-Cavazos M.L. y Waksman-de Torres N. A Comparison of the Performance of Two Chromatographic and Three Extraction Techniques for the Analysis of PAHs in Sources of Drinking Water. Journal of Chromatographic Science, Vol.45 (57-62) 2007.
31. Guillot S., Kelly M.T., Fenet H. y Larroque M. Evaluation of solid-phase microextraction as an alternative to the official method for the analysis of organic micro-pollutants in drinking water. Journal of Chromatography A. Vol. 1101 (42-52) 2006.
32. Dietz C., Sanz J., Cámara C. Recent developments in solid-phase microextraction coatings and related techniques. Journal of Chromatography A. Vol. 1103 (183-192) 2006.
33. Wardencki W., Curylo J. y Namiesnik J. Trend in solventless sample preparation techniques for environmental analysis. J. Biophys. Methods. Vol. 70 (275-288) 2007.
34. Powell M.W. Development of a binary solid-phase extraction cartridge for use in screening water samples for organic pollutants. Journal of Chromatography A. Vol. 697 (101-105) 1995.
35. Madichie C., Greenway G.M. y McCreedy T. The effects of surfactants on the analysis of organic pollutants in natural waters. Analytica Chimica Acta. Vol. 392 (39-46) 1999.
36. Urbe I y Ruana J. Application of solid-phase extraction discs with a glass fiber matrix to fast determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in water. Journal of Chromatography A. Vol 778 (337-345) 1997.

37. Hou L. y Lee H.K. Aplication of static and dynamic liquid-phase microextraction in the determination of polycyclic aromatic hydrocarbons. Journal of Chromatography A. Vol. 976(377-385) 2002.
38. Marlow M. y Hurtubise R.J. Liquid-liquid-liquid microextraction for the enrichment of polycyclic aromatic hydrocarbon metabolites investigated with fluorescence spectroscopy and capillary electrophoresis. Analytica Chimica Acta. Vol. 526 (41-49) 2004.
39. El-Beqqali A. Kussak A. y Abdel-Rehim M. Fast and sensitive environmental analysis utilizing microextraction in packed syringe online with gas chromatography-mass spectrometry. Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in water. Journal of Chromatography A. Vol. 1114 (234-238) 2006.
40. Buseti F., Heitz A., Cuomo M., Badoer S. y Traverso P. Determination of sixteen polycyclic aromatic hydrocarbons in aqueous and solid samples from Italian wastewater treatment plant. Journal of Chromatography A. Vol. 1102 (104-115) 2006.
41. Fernández-González V., Concha-Graña E., Muniategui-Lorenzo S., López-Mahía P. y Praga-Rodríguez D. Solid phase microextraction-gas chromatography-tandem mass spectrometric analysis of polycyclic aromatic hydrocarbons towards the European Union water directive 2006/0129 EC. Journal of Chromatography A. Vol. 1176 (48-56) 2007.
42. Luí Y., Hashi Y. y Lin J.M. Continuous-flow microextraction and gas chromatographic-mass spectrometric determination of polycyclic aromatic hydrocarbon compound in water. Analytica Chimica Acta. Vol. 585 (294-299) 2007.
43. Wu Y., Xia L., Chen R. y Hu B. Headspace single drop microextraction combined with HPLC for the determination of trece polycyclic aromatic hydrocarbons in environmental samples. Talanta. Vol. 74 (470-477) 2008.

44. Koostra P.R., Straub Stil G.H., Velde van der E.G., Hesselink W. y Land C.C.J. Solid-phase extraction of polycyclic aromatic hydrocarbons from soil samples. Journal of Chromatography A. Vol. 697 (123-129) 1995.
45. Cam D., Gagni S., Meldolesi L. y Galletti G. Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in sediment using solid-phase microextraction with gas chromatography-mass spectrometry. Journal of Chromatographic Science. Vol. 38 (55-60) 2000.
46. Fedotov P.S., Bauer C., Popp P y Wennrich R. Dynamic extraction in rotating coiled columns, a new approach to direct recovery of polycyclic aromatic hydrocarbons from soil. Journal of Chromatography A. Vol. 1023 (305-309) 2004.
47. Criado A., Cárdenas S., Gallego M. y Valcárcel M. Direct automatic screening of soils for polycyclic aromatic hydrocarbons based on microwave-assisted extraction/fluorescence detection and on-line liquid chromatographic confirmation. Journal of Chromatography A. Vol. 1050 (111-118) 2004.
48. Filipkowska A., Lubecki L. y Kowalewska G. Polycyclic aromatic hydrocarbon analysis in different matrices of the marine environment. Analytica Chimica Acta. Vol. 547 (243-254) 2005.
49. Sarrazin L., Diana C., Wafo E., Pichard-Lagdec V., Schembri T. y Monod J.L. Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in marine, brackish, and river sediments by HPLC, following ultrasonic extraction. Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies. Vol. 29 (69-85) 2006.
50. Martin D. y Ruiz J. Analysis of polycyclic aromatic hydrocarbons in solid matrices by solid-phase microextraction coupled to a direct extraction device. Talanta. Vol.71 (751-757) 2007.
51. Fidalgo-Used N., Blanco-González E. y Sanz-Medel A. Sample handling strategies for the determination of persistent trace organic contaminants from biota samples. Analytica Chimica Acta. Vol. 590 (1-16) 2007.

44. Koestra P.R., Straub Stil G.H., Velde van der E.G., Hesselink W. y Land C.C.J. Solid-phase extraction of polycyclic aromatic hydrocarbons from soil samples. Journal of Chromatography A. Vol. 697 (123-129) 1995.
45. Cam D., Gagni S., Meldolesi L. y Galletti G. Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in sediment using solid-phase microextraction with gas chromatography-mass spectrometry. Journal of Chromatographic Science. Vol. 38 (55-60) 2000.
46. Fedotov P.S., Bauer C., Popp P y Wennrich R. Dynamic extraction in rotating coiled columns, a new approach to direct recovery of polycyclic aromatic hydrocarbons from soil. Journal of Chromatography A. Vol. 1023 (305-309) 2004.
47. Criado A., Cárdenas S., Gallego M. y Valcárcel M. Direct automatic screening of soils for polycyclic aromatic hydrocarbons based on microwave-assisted extraction/fluorescence detection an on-line liquid chromatographic confirmation. Journal of Chromatography A. Vol. 1050 (111-118) 2004.
48. Filipkowska A., Lubecki L. y Kowalewska G. Polycyclic aromatic hydrocarbon analysis in different matrices of the marine environment. Analytica Chimica Acta. Vol. 547 (243-254) 2005.
49. Sarrazin L., Diana C., Wafo E., Pichard-Lagdec V., Schembri T. y Monod J.L. Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in marine, brackish, and river sediments by HPLC, following ultrasonic extraction. Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies. Vol. 29 (69-85) 2006.
50. Martin D. y Ruiz J. Analysis of polycyclic aromatic hydrocarbons in solid matrixes

Vol.71 (751-757) 2007.
51. Fidalgo-Used N., Blanco-González E. y Sanz-Medel A. Sample handling strategies

... y Sanz-Medel A. y Blanco-González E. y Fidalgo-Used N. Sample handling strategies

52. Díaz-Moroles N.E. Desarrollo, Validación y Aplicación de Métodos Cromatográficos para la Determinación de PAHs en Fuentes de Abastecimiento de Agua Potable de Mty. Tesis Doctoral, UANL, (2006).
53. Lucío-Gutiérrez J.R. Desarrollo y Evaluación de un Procedimiento de Microextracción en Fase Sólida para la Determinación de Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos en Agua Potable Tesis de Maestría, UANL, (2005).
54. Lucio-Gutiérrez J.R.; Salazar-Cavazos M.L.; Waksman de Torres N. y Castro-Ríos R. Solid-Phase Microextraction Followed by High-Performance Liquid Chromatography with Fluorimetric and UV Detection for the Determination of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Water. Analytical Letters. Vol.41 (119—136). 2008.
55. Jeannot M.A. y Cantwell F.F. Mass transfer characteristics of solvent extraction into a single drop at the tip of a syringe needle. Anal. Chem. Vol.69 (235-239) 1997.
56. Psillaksi E. y Kalogerakis N. Developments in single-drop microextraction. Trends in Analytical Chemistry. Vol.21 (53-63) 2002.
57. Psillaksi E. y Kalogerakis N. Developments in liquid-phase microextraction. Trends in Analytical Chemistry. Vol.22 (565-574) 2003.
58. Lambropoulou D.A., Psillakis E., Albanis T.A. y Kalogerakis N. Single-drop microextraction for the analysis of organophosphorous insecticides in water. Analytica Chimica Acta. Vol. 516 (205-211) 2004.
59. Yazdi A.S.y Es'haghi Z. Liquid-liquid-liquid phase microextraction of aromatic amines in water using crown ethers by high performance liquid chromatography with monolithic column. Talanta. Vol. 66 (664-669) 2005.

60. He Y. y Kang Y.J. Single drop liquid-liquid-liquid microextraction of methamphetamine and amphetamine in urine. Journal of Chromatography A. Vol. 1133 (35-40) 2006.
61. Ahmadi F., Assadi Y., Hosseini S.M.R.M. y Rezaee M. Determination of organophosphorus pesticides in water samples by single drop microextraction and gas chromatography-flame photometric detector. Journal of Chromatography A. Vol. 1101 (307-312) 2006.
62. Zhao E., Han L., Jiang S., Wang Q. y Zhou Z. Application of a single-drop microextraction for the analysis of organophosphorus pesticides in juice. Journal of Chromatography A. Vol. 1114 (269-273) 2006.
63. Ye C., Zhou Q. y Wang X. Improved single-drop microextraction for high sensitive analysis. Journal of Chromatography A. Vol. 1139 (7-13) 2007.
64. Xu L., Basheer C. y Lee H.K. Developments in single-drop microextraction. Journal of Chromatography A. Vol.1152 (184-192) 2007.
65. Theis A.L., Waldack A.J., Hansen S.M. y Jeannot M.A. Headspace solvent microextraction. Anal. Chem. Vol. 73 (5651-5654) 2001.
66. Wood D.C., Miller J.M. y Christ I. Headspace liquid microextraction. LC GC Europe. Vol. 17 (573-579) 2004.
67. Colombini V., Bancon-Montigny C. Yang L., Maxwell P., Sturgeon R.E. y Mester Z. Headspace single-drop microextraction for the detection of organotin compounds. Talanta. Vol.63 (555-560) 2004.
68. Vidal L., Canals A., Kalogerakis N. y Psillakis E. Headspace single-drop microextraction for the analysis of chlorobenzenes in water samples. Journal of Chromatography A. Vol. 1089 (25-30) 2005.

69. Hansson E. y Hakkarainen M. Múltiple headspace single-drop microextraction- a new technique for quantitative determination of styrene in polystyrene. Journal of Chromatography A. Vol.1102 (91-95) 2006.
70. Xiao Q., Yu C., Xing J. y Hu B. Comparison of headspace and direct single-drop microextraction and headspace solid phase microextraction for the measurement of volatile sulfur compound in beer and beverage by gas chromatography with fame photometric detection. Journal of Chromatography A. Vol.1125 (133-137) 2006.
71. Ebrahimzadeh H., Yamini Y., Kamarei F. y Khalili-Zhanjani M. Application of headspace solvent microextraction to the analysis of mononitrotoluenes in waste water samples. Talanta. Vol 72 (193-198) 2007.
72. Psillakis E. y Kalogerakis N. Solid-phase microextraction versus single-drop microextraction for the analysis of notroaromatic explosives in water samples. Journal of Chromatography A. Vol.938 (113-120) 2001.
73. EPA Method 8000C. Environmental Protection Agency.2003.
74. Harmonized quidelines for single laboratory validation of methods of analysis. IUPAC Technical Report. Puré Appl. Chem., Vol. 74, (835-855) 2002.
75. Validation of analytical procedures: methodology. Q2B. ICH Harmonised Tripartite Guideline. 1996.
76. The Fitness for Purpose of Analytical Methods. A Laboratory Guide to Method Validation and Related Topics. EURACHEM Guide. 1998.
77. Seiler T.B., Schulze y Hollert H. The risk of altering soil and sediment samples upon extract preparation for analytical and bio-analitical investigations- a review. Anal. Bioanal. Chem. Vol.390 (1975-1985) 2008.
78. EPA Method 3540C. Environmental Protection Agency. 1996.

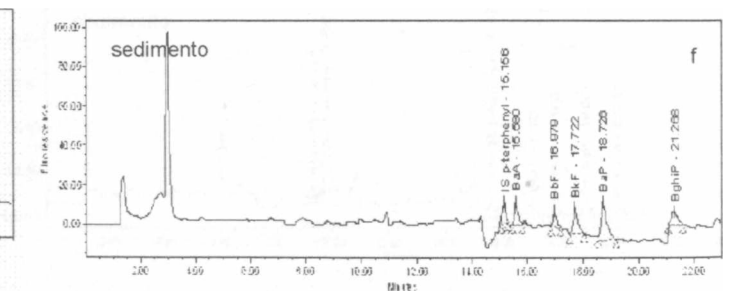
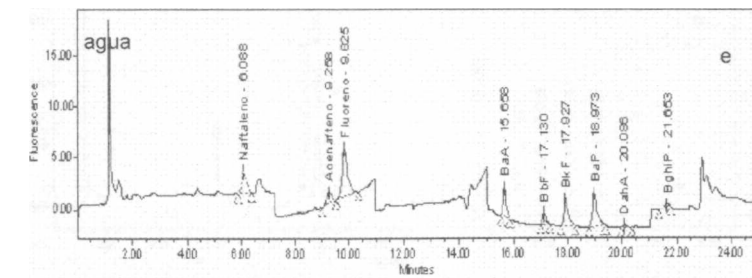
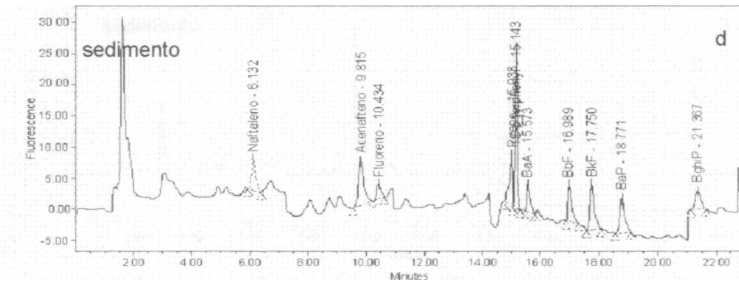
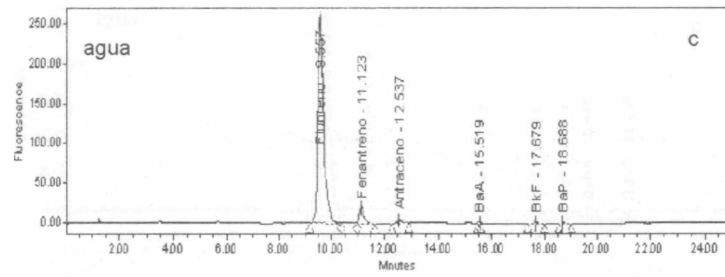
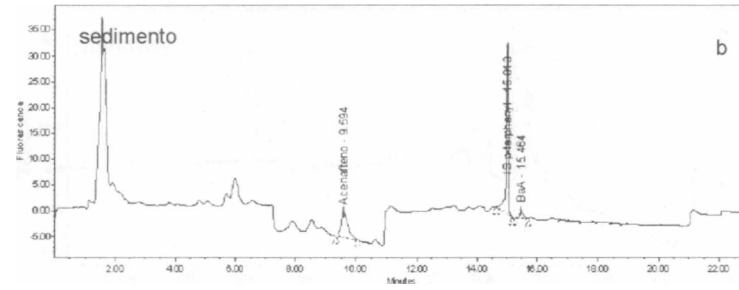
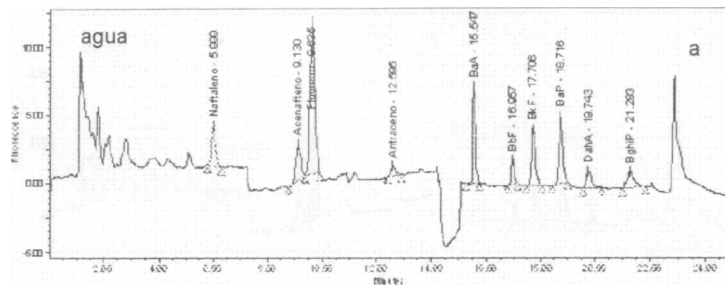
79. Delhomme O., Rieb E. y Millet M. Solid-phase extraction and LC with fluorescence detection for analysis of PAHs in rainwater. Chromatographia. Vol. 65 (163-171) 2007.
80. EPA Method 3550C . Environmental Protection Agency.2000.
81. EPA Method 3630C . Environmental Protection Agency.1996.

82. Técnicas de muestreo para manejadores de recursos naturales. Universidad Nacional Autónoma de México, Universidad Autónoma de Yucatán, Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología, Instituto Nacional de Ecología. 2004

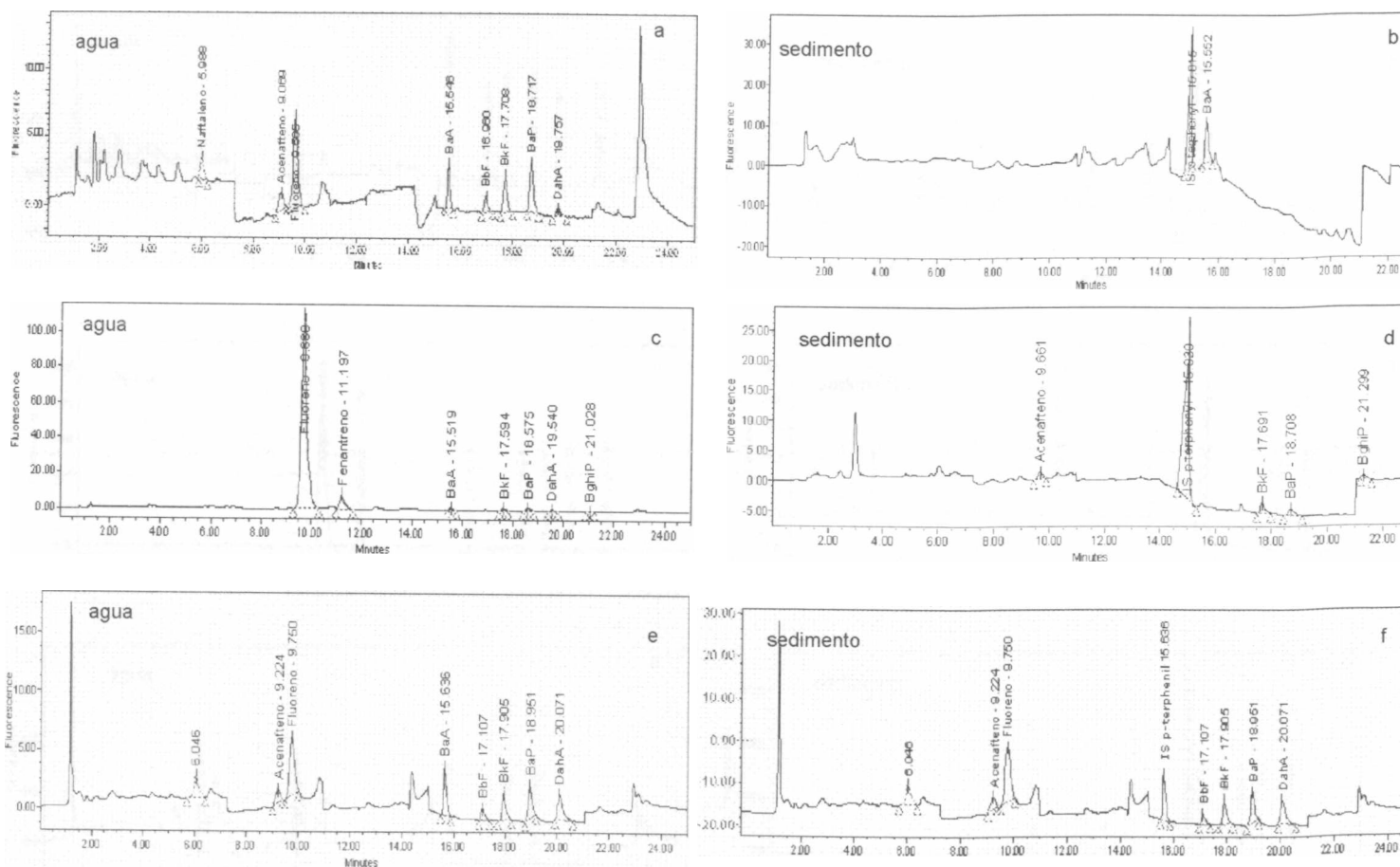
83. NMX-AA-034-SCFI-2001 Secretaría de Economía. Publicada en el Diario Oficial de la Federación el 13 de diciembre de 1989.

84. NOM-021-RECNAT-200Q Secretaría de Economía. Publicada en el Diario Oficial de la Federación el 14 de agosto de 2001.

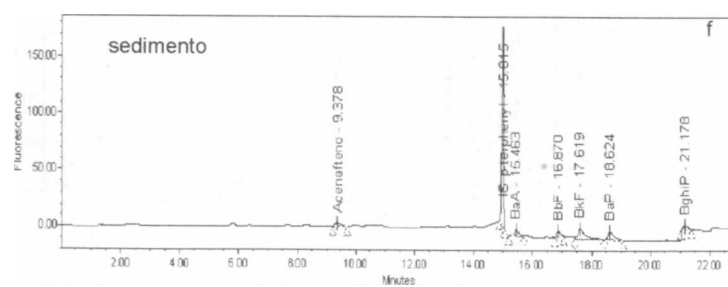
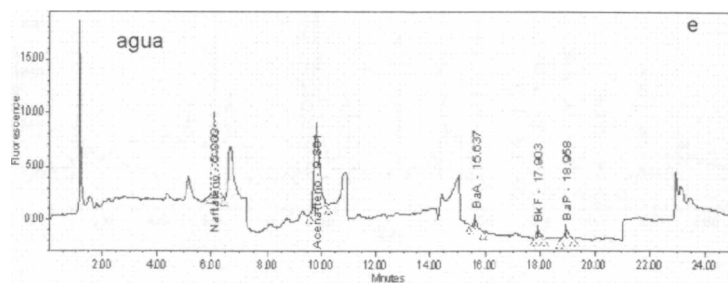
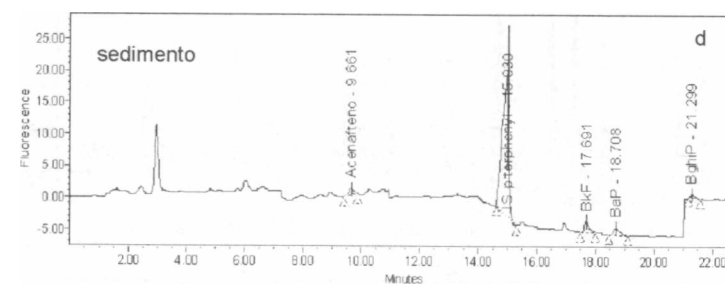
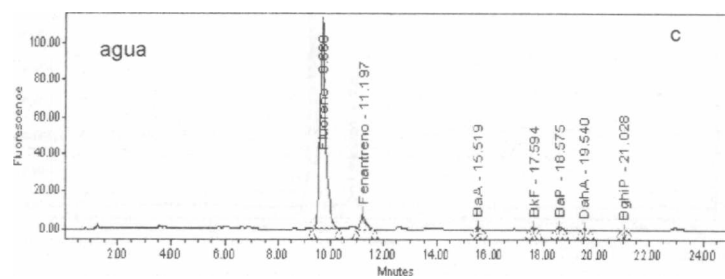
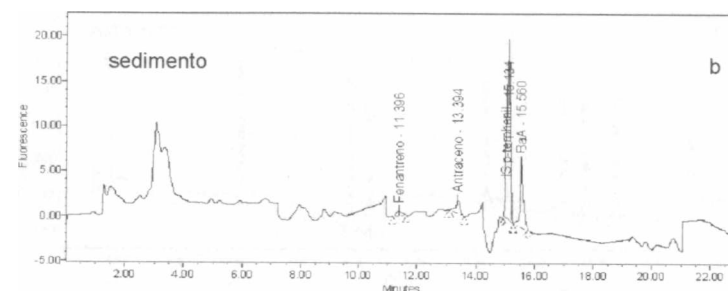
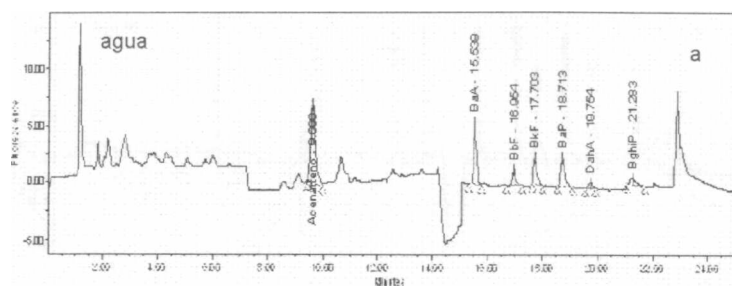
Apéndice i. Cromatogramas de muestras de agua y sedimento, provenientes de la estación 8 de muestreo establecida en el cauce del río Pesquería. Las figuras a y b corresponden al mes de marzo; c y d al mes de abril; e y f al mes de mayo.



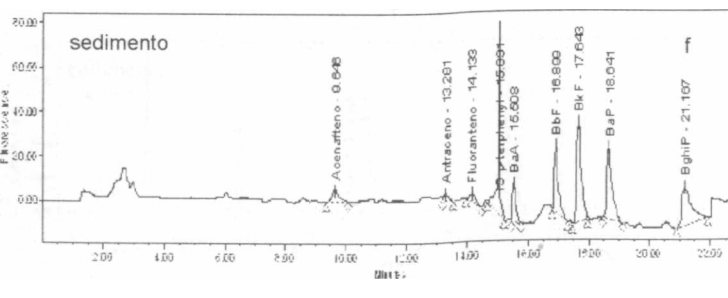
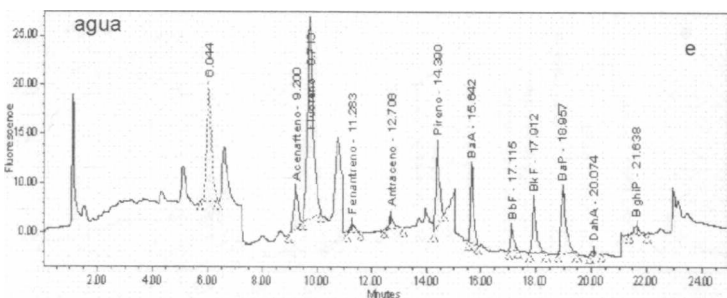
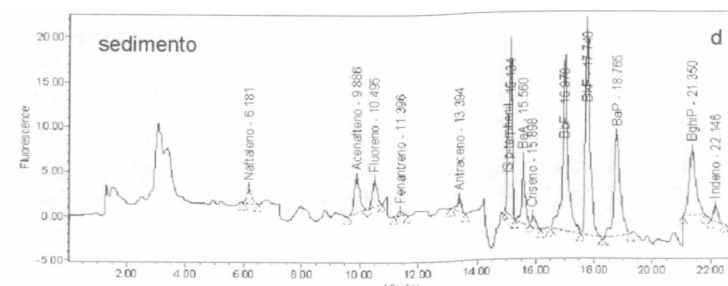
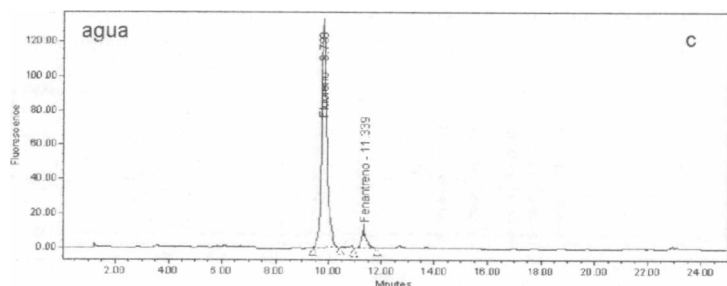
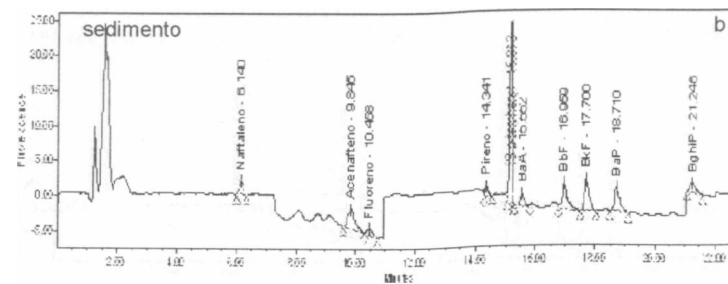
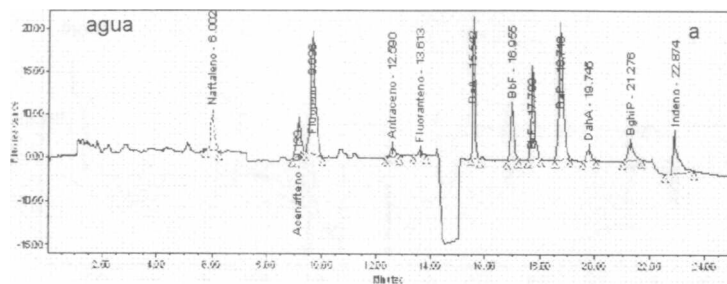
Apéndice H. Cromatogramas de muestras de agua y sedimento, provenientes de la estación 7 de muestreo establecida en el cauce del río Pesquería. Las figuras a y b corresponden al mes de marzo; c y d al mes de abril; e y f al mes de mayo.



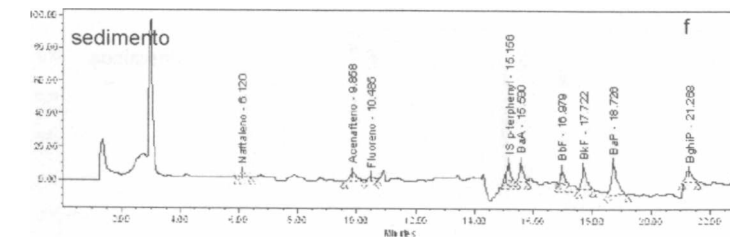
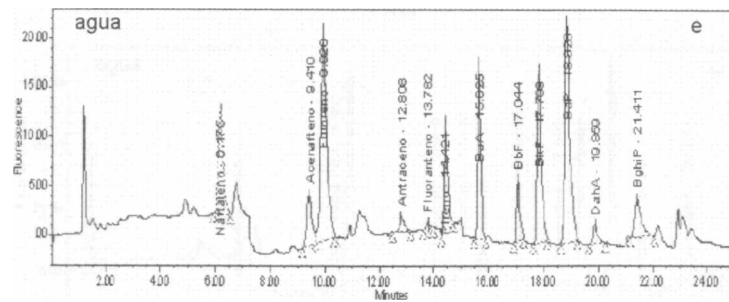
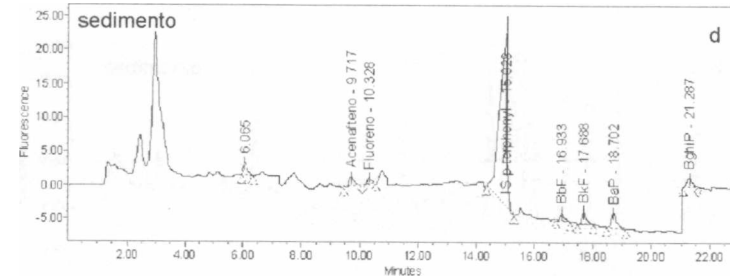
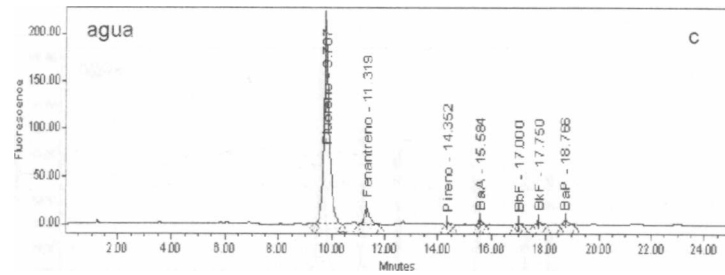
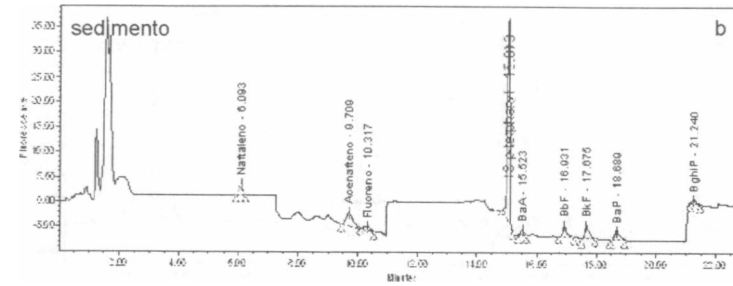
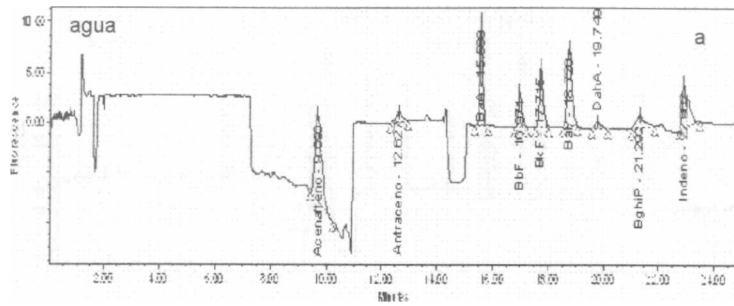
Apéndice F. Cromatogramas de muestras de agua y sedimento, provenientes de la estación 6 de muestreo establecida en el cauce del río Pesquería. Las figuras a y b corresponden al mes de marzo; c y d al mes de abril; e y f al mes de mayo.



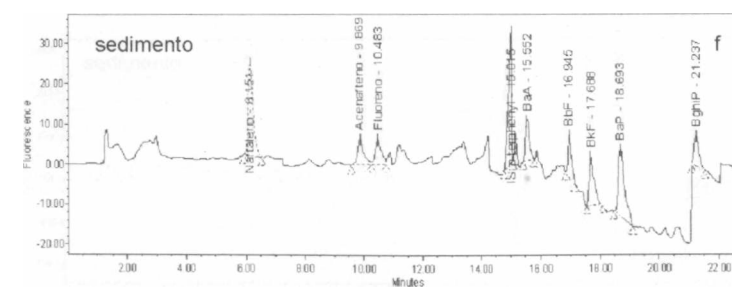
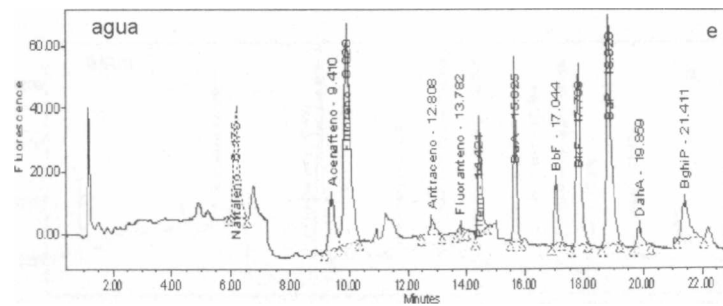
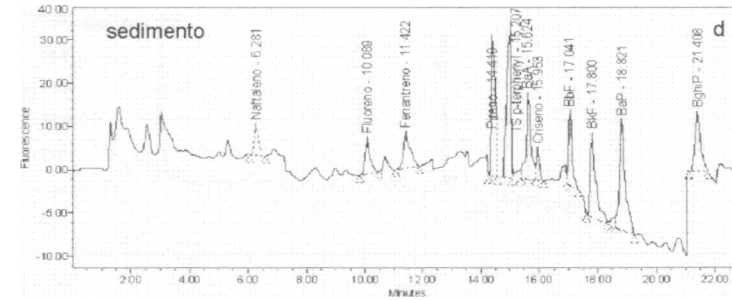
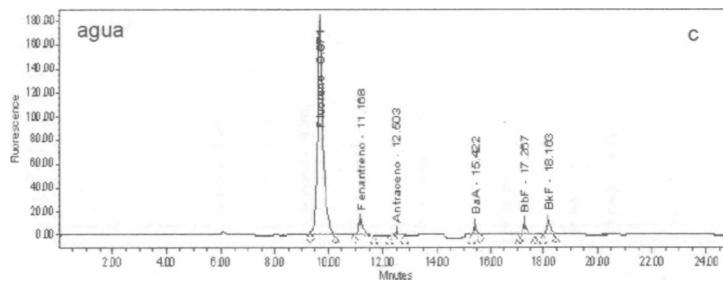
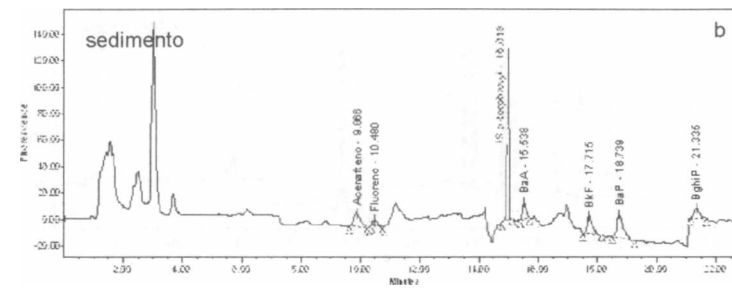
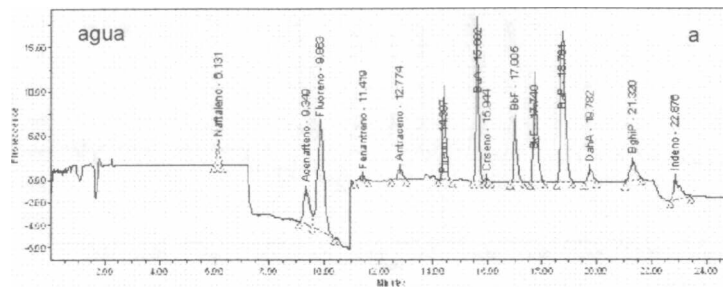
Apéndice E. Cromatogramas de muestras de agua y sedimento, provenientes de la estación 5 de muestreo establecida en el cauce del río Pesquería. Las figuras a y b corresponden al mes de marzo; c y d al mes de abril; e y f al mes de mayo.



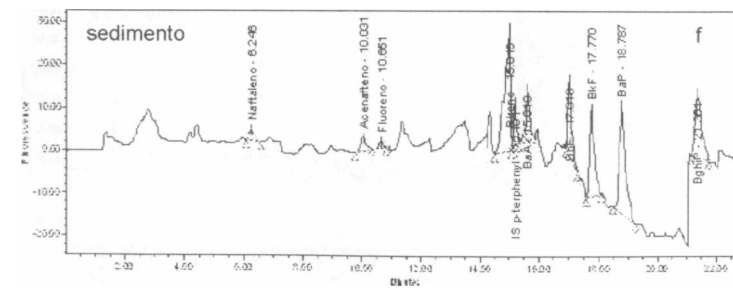
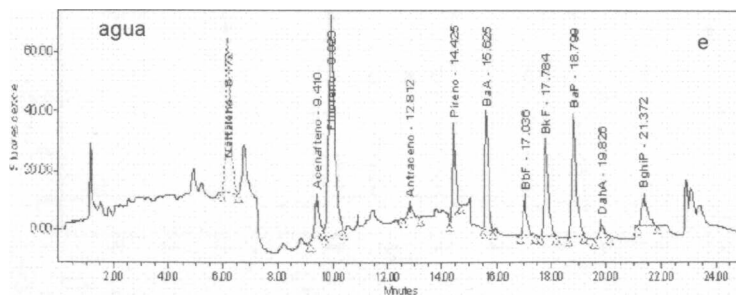
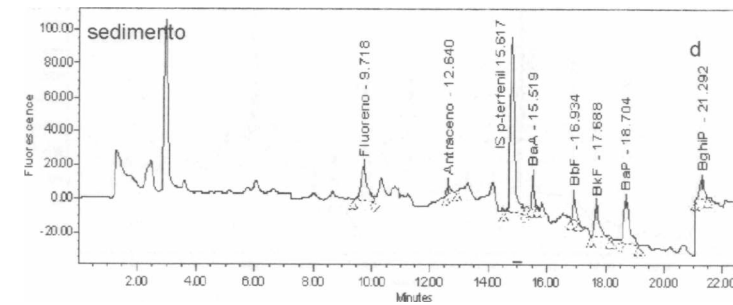
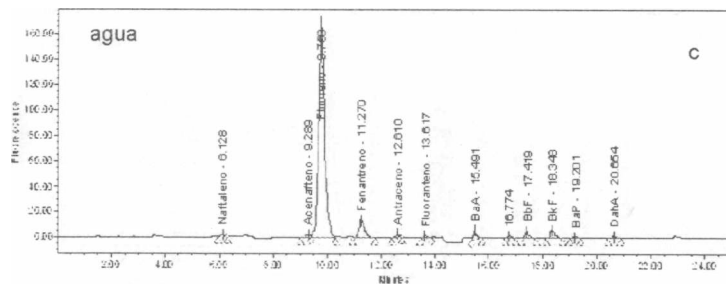
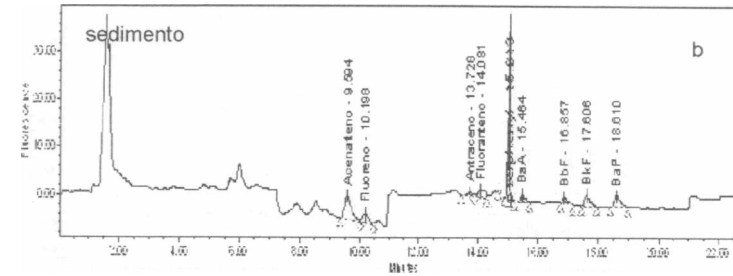
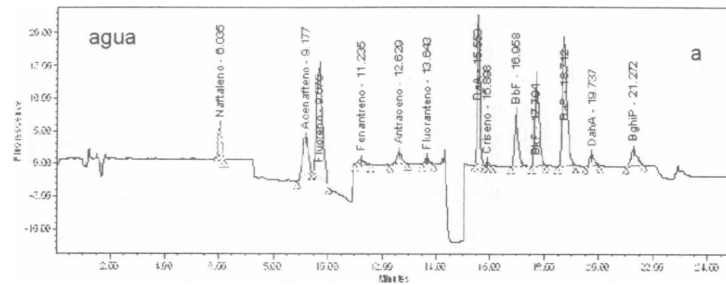
Apéndice D. Cromatogramas de muestras de agua y sedimento, provenientes de la estación **4** de muestreo establecida en el cauce del río Pesquería. Las figuras a y b corresponden al mes de marzo; c y d al mes de abril; e y f al mes de mayo.



Apéndice C. Cromatogramas de muestras de agua y sedimento, provenientes de la estación 3 de muestreo establecida en el cauce del río Pesquería. Las figuras a y b corresponden al mes de marzo; c y d al mes de abril; e y f al mes de mayo.



Apéndice B. Cromatogramas de muestras de agua y sedimento, provenientes de la estación 2 de muestreo establecida en el cauce del río Pesquería. Las figuras a y b corresponden al mes de marzo; c y d al mes de abril; e y f al mes de mayo.



Apéndice A. Cromatogramas de muestras de agua y sedimento, provenientes de la estación 1 de muestreo establecida en el cañal del río Pesquería. Las figuras a y b corresponden al mes de marzo; c y d al mes de abril; e y f al mes de mayo.

