

UNIVERSIDAD AUTONOMA DE NUEVO LEON

FACULTAD DE MEDICINA



DESARROLLO, VALIDACION Y APLICACION DE
METODOS CROMATOGRAFICOS PARA LA
DETERMINACION DE HIDROCARBUROS AROMATICOS
POLICICLICOS EN FUENTES DE ABASTECIMIENTO DE
AGUA POTABLE DE LA CIUDAD DE MONTERREY

Por

M.C. NORA EMMA DIAZ MOROLES

Como requisito parcial para obtener el Grado
de DOCTORA EN CIENCIAS con
Especialidad en QUIMICA BIOMEDICA

Febrero, 2006

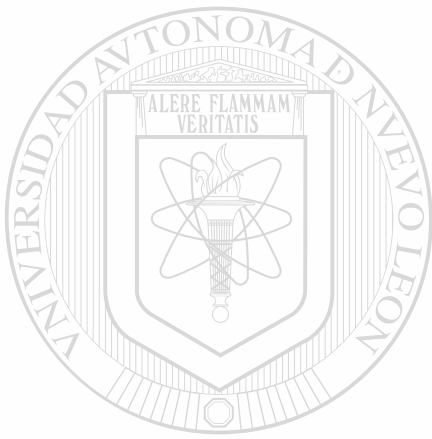
TD
QD341
.J19
D5
2006
c.1

M.C. NORRA

EMMA DIAZ MOROLES



1080128444



UANL

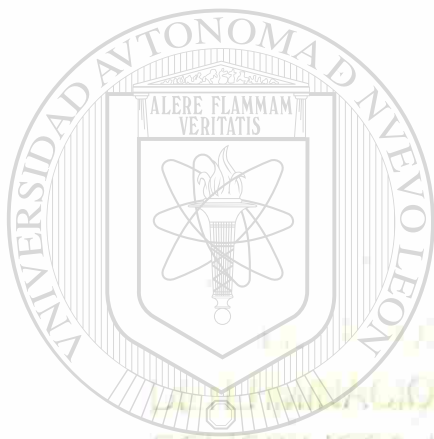
UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN



DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

TRABAJO DE GRADUACIÓN DE TÍTULO DE DOCTORA EN CIENCIAS
CON ESPECIALIDAD EN QUÍMICA BIOMÉDICA
EN EL ÁMBITO DE LA ESPECIALIDAD DE QUÍMICA BIOMÉDICA
EN EL INSTITUTO DE QUÍMICA BIOMÉDICA DE LA
UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN



UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

®

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

M.C. NORA EMMA DÍAZ MORALES

Como requisito parcial para obtener el título de

de DOCTORA EN CIENCIAS con

Especialidad en QUÍMICA BIOMÉDICA

Febrero, 2015

**DESARROLLO, VALIDACIÓN Y APLICACIÓN DE MÉTODOS
CROMATOGRÁFICOS PARA LA DETERMINACIÓN DE
HIDROCARBUROS AROMÁTICOS POLICÍCLICOS EN
FUENTES DE ABASTECIMIENTO DE AGUA POTABLE DE LA
CIUDAD DE MONTERREY**

Aprobación de la Tesis:



DRA. NOEMÍ WAKSMAN DE TORRES
Directora de Tesis



DRA. MARÍA DE LA LUZ SALAZAR CAVAZOS
Co-directora de Tesis



DR. JUAN MANUEL BARBARÍN CASTILLO
Comité de Tesis



DR. LORENZO HEYER RODRÍGUEZ
Comité de Tesis

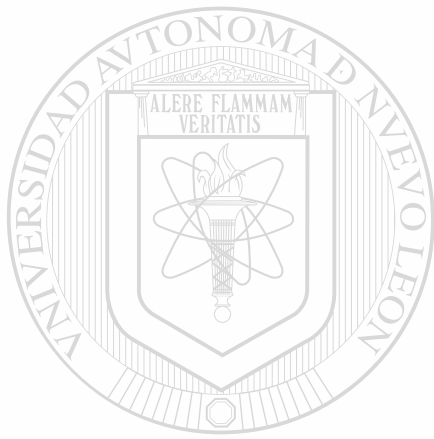


DR. ADOLFO CABALLERO QUINTERO
Comité de Tesis



DR. DIONICIO A. GALARZA DELGADO
Subdirector de Estudios de Posgrado

QD341
•F9
D5
2006



UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

®

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS



**DESARROLLO, VALIDACIÓN Y APLICACIÓN DE MÉTODOS
CROMATOGRÁFICOS PARA LA DETERMINACIÓN DE
HIDROCARBUROS AROMÁTICOS POLICÍCLICOS EN FUENTES DE
ABASTECIMIENTO DE AGUA POTABLE DE LA CIUDAD DE
MONTERREY**

Presentado por:

M.C. NORA EMMA DÍAZ MOROLES

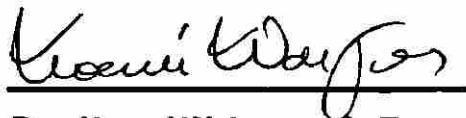
Este trabajo se realizó en los laboratorios del Departamento de Química Analítica de la Facultad de Medicina UANL y el laboratorio de ALS-INDEQUIM, bajo la Dirección de la Dra. Noemí Waksman de Torres y la Co-Dirección de la Dra. María de la Luz Salazar Cavazos y el M.C. Humberto Jesús Garza Ulloa.

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

Firmas

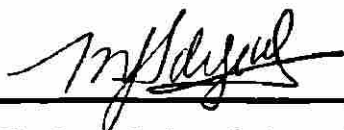
DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

Directora



Dra. Noemí Waksman de Torres

Co-Directora



Dra. María de la Luz Salazar Cavazos

Co-Director



M.C. Humberto Jesús Garza Ulloa

RESUMEN

Nora Emma Díaz Moroles

Fecha de Graduación: Febrero de 2008

Universidad Autónoma de Nuevo León
Facultad de Medicina

Título del Estudio: DESARROLLO, VALIDACIÓN Y APLICACIÓN DE MÉTODOS CROMATOGRÁFICOS PARA LA DETERMINACIÓN DE HIDROCARBUROS AROMÁTICOS POLICÍCLICOS EN FUENTES DE ABASTECIMIENTO DE AGUA POTABLE DE LA CIUDAD DE MONTERREY


Número de páginas: 116

Candidata para el grado de Doctora en Ciencias con Especialidad en Química Biomédica

Área de Estudio: Química Biomédica

Propósito y Método de Estudio: Debido a que el agua de lluvia, de arroyos y ríos desemboca en las presas que sirven de abastecimiento de agua potable de las ciudades, es importante verificar la calidad del agua de dichas fuentes. Un grupo de contaminantes orgánicos lo constituyen los hidrocarburos aromáticos policíclicos (PAHs por sus siglas en inglés), los cuales se encuentran en la lista de contaminantes prioritarios debido a sus propiedades carcinogénicas y mutagénicas. Los cuerpos de agua pueden contaminarse por partículas de materia transportada por el aire, por precipitación atmosférica, por escurrimiento urbano, por efluentes industriales y municipales, por derrames, por lixiviación y por la cubierta de alquitrán de hulla o asfáltica usada en ocasiones para proteger las tuberías de la corrosión. En México, no existe una metodología oficial para su determinación en muestras de agua, ni se tienen establecidos los límites máximos permitidos de PAHs en agua potable. En este trabajo se desarrolló y validó metodología analítica para la determinación de PAHs en las fuentes de abastecimiento de agua potable. Se evaluó el desempeño de dos técnicas cromatográficas y de tres técnicas de extracción. Se seleccionó la técnica de extracción líquido-líquido y la cromatografía de líquidos de alta resolución con detectores de fluorescencia y ultravioleta de arreglo de diodos para el monitoreo de 16 PAHs en muestras de las fuentes de abastecimiento de agua potable de la ciudad de Monterrey durante un periodo de 12 meses.

Conclusiones y Contribuciones: La metodología desarrollada es aplicable a la determinación de PAHs en fuentes de abastecimiento de agua potable y en agua potable; permite determinar PAHs en niveles de concentración inferiores a los estipulados en regulaciones internacionales (UE, OMS, EPA). Los niveles de PAHs en las fuentes de abastecimiento estudiadas están dentro de las normas internacionales, pues no se detectaron señales de ningún PAH clasificado como carcinógeno.



Dra. Noemí Waksman de Torres
Directora

DEDICATORIA

A mi esposo,
Ricardo Flores Lira,
por su amor y comprensión,
porque sé que puedo contar con él en todo momento.

A mis hijos,
Ricardo y Adrián
por ofrecerme su apoyo y darme ánimo para seguir adelante.

A mis hermanos,
Martha Elva, Adán, César, Olga Patricia y Rosa Elena
por su cariño y apoyo incondicional.

A la memoria de mis padres,
Jacinto Díaz González y Damiana Moroles Ortiz
quienes me enseñaron que con trabajo, paciencia, esfuerzo
y dedicación se alcanzan las metas,

A mis familiares, amigos y
compañeros por su apoyo, estímulo y comprensión.



UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

AGRADECIMIENTOS

A Dios por permitirme existir.

A la Dra. Noemí Waksman de Torres, por invitarme a participar en su proyecto, por su acertada dirección y asesoría para realizar este trabajo.

A la Dra. María de la Luz Salazar Cavazos y al M.C. Humberto J. Garza Ulloa por sus valiosas sugerencias en la co-dirección de esta tesis.

Al Dr. Juan Manuel Barbarín Castillo, por su generosa asesoría, por su ayuda y por el tiempo dedicado al muestreo.

A los miembros de la Comisión de Tesis: Dr. Lorenzo Heyer Rodríguez y Dr. Adolfo Caballero Quintero por sus valiosas aportaciones durante la revisión final de este escrito y sus palabras de aliento.

A la empresa ALS-INDEQUIM, por las facilidades brindadas, en especial al LQI Luis Alberto Dávila y al QFB Oscar Mar por compartir conmigo sus conocimientos y el GC/MS.

A la M.C. Elsa Guadalupe Ramírez Villarreal, por su colaboración en el proyecto, con quien compartí muchas horas de trabajo, por su compañerismo y amistad.

A las maestras Angélica M. Romero de León y Elsa G. Ramírez V., por compartir conmigo su oficina y por su amistad.

A la QCB Brenda Ochoa Ramos, por su colaboración en la etapa de SPE.

A Maribel Esparza Duque, por su excelente trabajo, su gran apoyo, por estar siempre al pendiente del buen funcionamiento del cromatógrafo de líquidos, del control de la temperatura del laboratorio, de que siempre hubiera agua y solventes para trabajar; porque sin su ayuda, este trabajo no hubiera sido posible.

A Ivonne Carrera, Graciela Peña y Agustín Nambo, por atender mis solicitudes de préstamo de material de laboratorio.

A Martha Eugenia Ortiz, Gloria M. Martínez y la maestra Lidia Naccha, por surtir con esmero mis requisiciones de material y reactivos.

A los estudiantes de posgrado, maestros, empleados y demás miembros del Departamento de Química Analítica, por su compañerismo.

A los compañeros del posgrado con quienes compartí muchas horas de trabajo, noches y fines de semana en el laboratorio, en especial Norma, Idalia, Anabel y Ricardo.

A mis compañeros de cubículo del último año, Jonathan, Brenda, Erika y David, por sus palabras de estímulo.

Al personal de la Subdirección de Estudios de Posgrado de la Facultad de Medicina, en especial a la Dra. Herminia G. Martínez Rodríguez, Secretaria del Área básica, y a Norma por su atenta y amable gestión semestre tras semestre.

A la Dra. Gloria María Molina Salinas, por su amistad, consejo y apoyo.

Al M.C. Víctor Torres de la Cruz por su asesoría y apoyo en la capacitación de cromatografía de líquidos.

A la M.E.S. María Elena Cruz, por facilitarme el trabajo al obsequiarme gradillas para los viales.

A Servicios de Agua y Drenaje de Monterrey, I.P.D. por la información proporcionada y las atenciones recibidas.

AL CRIDS, en especial a la Lic. Dolores Solano y al Sr. Julio César González, por su apoyo en la recuperación de artículos.

A todos mis maestros desde el nivel básico hasta el Posgrado, a quienes les debo en parte lo que soy.

A la Facultad de Ciencias Químicas UANL, por las facilidades otorgadas para llevar a cabo mis estudios de posgrado.

A la Facultad de Medicina UANL, por aceptarme en un posgrado de excelencia.

A la Dra. Angélica Margarita Rendón Cantú y al C.P. Carlos R. Garza Villarreal, por ser mis hermanos del alma y apoyarme siempre.

A mi familia y amigos, por su apoyo, estímulo y comprensión.

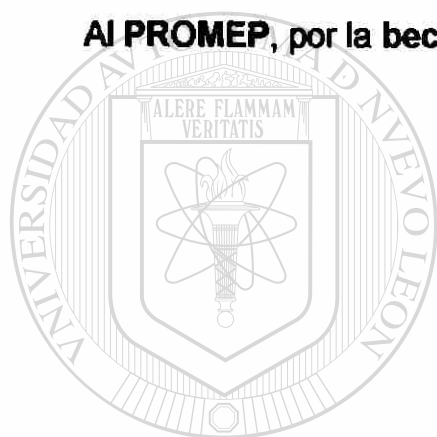
A todas aquellas personas que no mencioné, pero que en algún momento me apoyaron para poder llegar al término del proyecto que tanto significa para mí. A todos, GRACIAS!

AGRADECIMIENTOS

Al CONACYT por la beca No. 165288, otorgada para estudios de Doctorado en un programa de excelencia registrado en el Padrón Nacional de Posgrado.

Al CONACYT por el apoyo financiero al proyecto SEMARNAT 2002-C01-0643.

Al PROMEP, por la beca otorgada para redacción de tesis.



UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN



DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

ÍNDICE

CAPÍTULO	Página
1. INTRODUCCIÓN	1
1.1 El agua y los contaminantes orgánicos prioritarios	1
1.2 Qué son los hidrocarburos aromáticos policíclicos	1
1.3 Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos y cáncer	2
1.3.1 Reseña histórica de estudios que relacionan al cáncer con los PAHs	3
1.4 Fuentes de PAHs	5
2. ANTECEDENTES, JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS	9
2.1 Antecedentes	9
2.1.1 Legislación ambiental	
2.1.2 Análisis de PAHs	10
2.1.2.1 Etapa de extracción	10
2.1.2.2 Etapa de concentración	15
2.1.2.3 Etapa de cromatografía	16
2.1.3 Otros métodos de análisis	18
2.1.4 Estudios de PAHs en la UANL	21
2.2 Justificación	22
2.3 Objetivos	23
2.3.1 Objetivo General	23
2.3.2 Objetivos Especificos	23
3. MATERIAL Y MÉTODOS	25
3.1 Equipo, Material y Reactivos	25
3.1.1 Equipo	25
3.1.2 Material	26
3.1.3 Reactivos	27
3.2 Metodología por Cromatografía de gases	28

3.2.1	Preparación de soluciones para GC/MS	28
3.2.2	Estándares de calibración para GC/MS	29
3.2.3	Condiciones de operación del GC/MS	30
3.3	Metodología por Cromatografía de líquidos	32
3.3.1	Preparación de soluciones para HPLC	32
3.3.2	Estándares de calibración para HPLC	34
3.3.3	Obtención de espectros de UV y de Fluorescencia	35
3.3.4	Condiciones de operación para HPLC	35
3.4	Validación del sistema cromatográfico	38
3.4.1	Linealidad	38
3.4.2	Precisión	40
3.4.3	Límite de detección	40
3.4.4	Límite de cuantificación	42
3.4.5	Exactitud	42
3.4.6	Robustez	42
3.5	Extracción en fase sólida para GC/MS	43
3.5.1	Metodología general de la extracción en disco y en cartucho para GC/MS	43
3.6	Extracción en fase sólida para HPLC	45
3.6.1	Metodología general de la extracción en disco y en cartucho para HPLC	45
3.7	Extracción líquido-líquido	46
3.7.1	Metodología general de la extracción líquido-líquido	46
3.7.2	Validación del método LLE-HPLC/FLU-UV	47
3.7.3	Estudio ciego	48
3.8	Aplicación del método a muestras reales	48
4.	RESULTADOS	49
4.1	Análisis por cromatografía de gases	49
4.2	Análisis por cromatografía de líquidos	51
4.3	Validación	56
4.4	Extracción en fase sólida	60
4.4.1	Extracción en fase sólida para GC/MS	60
4.4.2	Extracción en fase sólida para HPLC	61

4.5 Estudio piloto	63
4.6 Extracción líquido-líquido	64
4.6.1 Validación del método por LLE-HPLC/FLU-UV	67
4.6.2 Resultados del estudio ciego	69
4.7 Fuentes de abastecimiento de agua potable de la zona metropolitana de Monterrey	70
5. DISCUSIÓN DE RESULTADOS	85
5.1 Análisis por cromatografía de gases	85
5.2 Análisis por cromatografía de líquidos	86
5.3 Validación instrumental	89
5.3.1 Intervalo de trabajo	89
5.3.2 Linealidad	91
5.3.3 Precisión	91
5.3.4 Límite de detección	92
5.3.5 Límite de cuantificación	93
5.3.6 Robustez	94
5.4 Evaluación de los sistemas de extracción	94
5.4.1 Extracción en fase sólida	94
5.4.2 Estudio piloto	98
5.4.3 Extracción líquido-líquido	99
5.4.4 Exactitud	102
5.5 Validación del método de análisis por LLE-HPLC/FLU-UV	102
5.6 Comparación con otros métodos	103
5.7 Estudio ciego	105
5.8 Aplicación del método seleccionado a muestras reales	105
5.9 Resultados de las muestras de 12 meses	106
6. CONCLUSIONES Y PERSPECTIVAS	107
6.1 Conclusiones	107
6.2 Perspectivas	107
REFERENCIAS	108

LISTA DE TABLAS

	Página
1. Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos	6
2. Propiedades fisicoquímicas de los 16 Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos de interés	8
3. Límites máximos permitidos de PAHs en agua potable	10
4. Métodos analíticos para la determinación de PAHs en agua	17
5. Preparación de estándares de calibración para GC/MS	29
6. Condiciones de operación de partida para GC/MS	30
7. Concentraciones de PAHs en la ampollita original y diluciones	33
8. Niveles de concentración de los estándares de calibración para HPLC	34
9. Condiciones de operación de partida para HPLC	36
10. Condiciones finales de operación para HPLC	37
11. Programa de fluorescencia para la determinación de PAHs por HPLC	38
12. Tiempos de retención y iones seleccionados para el monitoreo de PAHs por GC/MS	50
13. Tiempos de retención para cada uno de los 16 PAHs, obtenidos por HPLC/FLU-UV	52
14. Parámetros de validación instrumental obtenidos por GC/MS para 16 PAHs	57
15. Parámetros de validación instrumental obtenidos por HPLC/FLU-UV para 16 PAHs	58

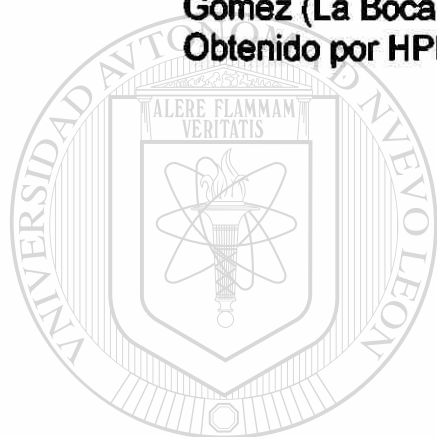
16.	Linealidad expresada como %RSD de los (FR) factores de respuesta para 16 PAHs por GC/MS y por HPLC/FLU-UV	59
17.	Exactitud (%R) y Precisión (%RSD) para SPE en disco de blancos fortificados con 16 PAHs en concentraciones de 0.75 µg/L y determinados por GC/MS	60
18.	Exactitud (%R) y Precisión (%RSD) para SPE en disco de blancos fortificados con 16 PAHs en concentraciones de 0.03 a 1.50 µg/L y determinados por HPLC/FLU-UV	61
19.	Exactitud (%R) de SPE en columna y disco para blancos fortificados con los 16 PAHs en concentraciones de 0.05 a 2.50 µg/L y determinados por HPLC-FLU-UV	62
20.	Precisión (%RSD) de SPE en columna y disco para blancos fortificados con los 16 PAHs en concentraciones de 0.05 a 2.50 µg/L y determinados por HPLC/FLU-UV	62
21.	Exactitud (%R) y Precisión (%RSD) para SPE en disco de blancos fortificados con 16 PAHs en concentraciones de 0.010 a 0.500 µg/L determinados por HPLC/FLU-UV	63
22.	Exactitud (%R) y Precisión (%RSD) para LLE de blancos fortificados con 16 PAHs en concentraciones de 0.010 a 0.500 µg/L y determinados por HPLC/FLU-UV	64
23.	Exactitud (%R) y Precisión (%RSD) obtenidos por HPLC/FLU-UV para LLE de muestras de agua de la cortina de la Presa Rodrigo Gómez fortificadas	65
24.	Exactitud (%R) y Precisión (SD) obtenidos por HPLC/FLU-UV para LLE de 4 réplicas de un blanco fortificado con los 16 PAHs en concentraciones de 5 a 250 ng/L y muestras de agua de la cortina de la Presa Rodrigo Gómez fortificadas a dos niveles de concentración	66
25.	Validación del método para la determinación de PAHs por HPLC/FLU-UV usando LLE para el tratamiento de la muestra	68
26.	Resultados del estudio ciego	69
27.	Sitios de muestreo con sus coordenadas geográficas	71

28.	Resultados de la determinación de PAHs en muestras de agua del Arroyo de la Cola de Caballo	76
29.	Resultados de la determinación de PAHs en muestras de agua del Embarcadero de la Presa Rodrigo Gómez (La Boca)	77
30.	Resultados de la determinación de PAHs en muestras de agua de la Cortina de la Presa Rodrigo Gómez (La Boca)	78
31.	Resultados de la determinación de PAHs en muestras de agua del Río San Juan	79
32.	Resultados de la determinación de PAHs en muestras de agua de la Presa El Cuchillo	80
33.	Resultados de la determinación de PAHs en muestras de agua del Río Pílon	81
34.	Resultados de la determinación de PAHs en muestras de agua del Río Pablillo	82
35.	Resultados de la determinación de PAHs en muestras de agua de la Presa Cerro Prieto	83
36.	Comparación de resultados obtenidos por varios autores para SPE de PAHs en agua	97
37.	Comparación de resultados obtenidos por varios autores para LLE de PAHs en agua	101

LISTA DE FIGURAS

	Página
1. Cromatograma de 16 PAHs obtenido por GC/MS	49
2. Cromatograma de 16 PAHs obtenido por HPLC/FLU-UV	51
3. Cromatograma para acenaftileno obtenido por HPLC/UV a 228 nm	52
4. Cromatograma de 16 PAHs con longitudes de onda de excitación y de emisión a 254 y 323 nm, a 9 minutos	53
5. Cromatograma de 16 PAHs con longitudes de onda de excitación y de emisión a 216 y 323 nm, a 8.5 minutos	54
6. Cromatograma de 16 PAHs con longitudes de onda de excitación y de emisión a 227 y 323 nm, a 8.5 minutos	54
<hr/>	
7. Cromatograma de 16 PAHs con longitudes de onda de excitación y de emisión a 254 y 323 nm, a 8.5 minutos	55
8. Cromatograma de 16 PAHs obtenido bajo las condiciones finales de operación por HPLC/FLU-UV	56
9. Cromatograma de un blanco obtenido por HPLC/FLU	71
10. Cromatograma de una mezcla de estándares de 16 PAHs obtenido por HPLC/FLU	72
11. Cromatograma de una muestra de agua de la Presa Rodrigo Gómez (La Boca), analizada por HPLC/FLU	72
12. Cromatograma de una muestra de agua de la Presa Rodrigo Gómez (La Boca), fortificada con los 16 PAHs y analizada por HPLC/FLU	73

- | | | |
|-----|--|----|
| 13. | Cromatograma de un blanco obtenido por HPLC/UV a 228 nm | 73 |
| 14. | Cromatograma de una mezcla de estándares de 16 PAHs obtenido por HPLC/UV a 228 nm | 74 |
| 15. | Cromatograma de una muestra de agua de la Presa Rodrigo Gómez (La Boca) obtenido por HPLC/UV a 228 nm | 74 |
| 16. | Cromatograma de una muestra de agua de la Presa Rodrigo Gómez (La Boca), fortificada con los 16 PAHs Obtenido por HPLC/UV a 228 nm | 75 |



UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN



DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

ABREVIATURAS Y SÍMBOLOS

Abreviatura o Símbolo	Significado
ACN	Acetonitrilo
APHA	<i>American Public Health Association</i>
AWWA	<i>American Waters Works Association</i>
Bco	Blanco
°C	Grados Celsius
C ₁₈	Octadecilo
CAS	<i>Chemical Abstract Services</i>
CLS	<i>Classical Least Squares</i>
Coef. Det.	Coefficiente de determinación
DAD	Detector de arreglo de diodos
DI	Inmersión directa
d.i.	Diámetro interno
DIE	Intercambio de iones dinámico
DNA	Ácido desoxirribonucleico
EPA	<i>Environmental Protection Agency</i>
FMWE	Extracción asistida con microondas en vasijas abiertas
FR	Factor de respuesta
GC	Cromatografía de gases
GC/FID	Cromatografía de gases con detector de ionización de flama
GC/IT-MS	Cromatografía de gases con detector de espectrometría de masas de trampa iónica
GC/MS	Cromatografía de gases con detector de espectrometría de masas

HGPRT	Hipoxantina guanina fosfotransferasa
HPLC	Cromatografía de líquidos de alta resolución
HPLC/FLU-UV	Cromatografía de líquidos de alta resolución con detectores de fluorescencia y ultravioleta
μHPLC	Cromatografía de líquidos de alta resolución capilar
HS	<i>Headspace</i>
HTGC	Cromatografía de gases de alta temperatura
IARC	<i>International Agency Cancer Research</i>
INE	Instituto Nacional de Ecología
INEGI	Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática
I.P.D.	Institución pública descentralizada
IS	Estándar interno
Kow	Coefficiente de partición octanol-agua
K_H	Constante de la Ley de Henry
L	Litro
LC	Límite de cuantificación
LD	Límite de detección
LLE	Extracción líquido-líquido
LPME	Microextracción en fase Líquida
λ Ex	Longitud de onda de excitación
λ Em	Longitud de onda de emisión
m	metro
M	Molar
MASE	<i>Microwave assisted solvent extraction</i>
μg	microgramo

μL	microlitro
mg	miligramo
mL	mililitro
mm	milímetro
min	minuto
<	Menor que
>	Mayor que
MSDS	<i>Material Safety Data Sheet</i>
m/z	Masa/carga
N.D.	No detectable
nm	nanómetro
NFPA	<i>National Fire Protection Association</i>
N-1	Nivel 1 de concentración
N-2	Nivel 2 de concentración
N-3	Nivel 3 de concentración
N-4	Nivel 4 de concentración
N-5	Nivel 5 de concentración
N.L.	Nuevo León
NOM	Norma Oficial Mexicana
ODS	Octadecilsilano
OMS	Organización Mundial de la Salud
PAHs	Hidrocarburos aromáticos policíclicos
PDMS	Polidimetilsiloxano
PCBs	Bifenilos policlorados
PCR	<i>Principal component regression</i>

PLE	Extracción con líquido presurizado
PLSR	<i>Partial least square regression</i>
psi	Libra por pulgada cuadrada
r	Coefficiente de correlación
r²	Coefficiente de determinación
% R	Recuperación en porcentaje
RP-SPE	Extracción en fase sólida de fase inversa
RSD	Desviación estándar relativa
% RSD	Desviación estándar relativa en porcentaje
RTP	<i>Room temperature phosphorimetry</i>
SD	Desviación estándar
SFE	Extracción con fluidos supercríticos
SIM	Monitoreo selectivo de iones
SSA	Secretaría de Salud
SEMARNAT	Secretaría del Medio Ambiente y Recursos Naturales
<hr/>	
SPE	Extracción en fase sólida
SPME	Microextracción en fase sólida
SURR	Surrogado
T	Temperatura
t_R	Tiempo de retención
UANL	Universidad Autónoma de Nuevo León
UF	Unidades de fluorescencia
WPCF	Water Pollution Control Federation
ZMM	Zona metropolitana de Monterrey

CAPÍTULO 1

INTRODUCCIÓN

1.1 El Agua y los Contaminantes Orgánicos Prioritarios

El agua es, sin duda, uno de los recursos naturales más valiosos de nuestro planeta. Todos sabemos que el agua es esencial para la vida. Sin embargo, durante los últimos años se ha detectado un incremento de contaminantes orgánicos en ella, muchos de los cuales son tóxicos o carcinogénicos; por tal motivo, la contaminación del agua ha adquirido considerable interés mundial (1).

Debido a que el agua de lluvia, de arroyos y ríos desemboca en las presas que sirven como fuentes de abastecimiento de agua potable de las ciudades, es importante verificar la calidad del agua de dichas fuentes.

Los Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos, PAHs por sus siglas en inglés (1), constituyen un grupo importante de contaminantes orgánicos en agua.

En 1982, la Comunidad Europea estableció la lista de Contaminantes Prioritarios, así también la Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos de América (US EPA) elaboró su Lista de Contaminantes Prioritarios (2) que coincide con la de la Comunidad Europea; en su origen la lista era de 129 contaminantes, actualmente son 132 (1). Los PAHs se encuentran dentro de esta lista.

1.2 Qué son los Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos

Los PAHs representan un grupo de moléculas constituidas únicamente por átomos de carbono e hidrógeno y estructuralmente por dos o más anillos aromáticos fusionados. De acuerdo a los estudios de carcinogenicidad publicados por Harvey (3), pequeñas diferencias en su estructura pueden ocasionar grandes diferencias en su comportamiento biológico, algunos de ellos tienen efectos carcinogénico y mutagénico, mientras que otros no presentan esas propiedades. Por eso, es importante contar con métodos analíticos que permitan identificar y cuantificar este tipo de compuestos.

1.3 Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos y Cáncer

En México, el cáncer ocupa el segundo lugar como causa de mortalidad en la población según datos que reporta el INEGI (4). El gran incremento en la mortalidad por cáncer durante los últimos años se relaciona con el cáncer de pulmón. El fumar cigarrillos es el factor que más contribuye a incrementar el riesgo de cáncer en el tracto respiratorio. El humo del tabaco es una mezcla compleja en la cual la fase gaseosa contiene al menos 150 compuestos, y más de 200 de los mismos han sido identificados en la fase de partículas, entre estos últimos se encuentran los PAHs. En 1978, Hoffmann y colaboradores reportaron el contenido de varios PAHs en el humo del tabaco en nanogramos/cigarrillo (3). Desde entonces se han realizado múltiples estudios de PAHs en el humo del tabaco, destacan los trabajos de Gundel, Gmeiner, y Zha (5-7).

Las propiedades carcinogénicas de los PAHs varían de un compuesto a otro. Por ejemplo el Benzo(a)pireno se considera un potente carcinógeno, mientras que el criseno se considera menos carcinógeno, y el naftaleno es no carcinógeno.

1.3.1 Reseña histórica de estudios que relacionan al cáncer con PAHs

El cirujano británico Sir Percival Pott (3), en el año de 1775, fue el primero que asoció el cáncer al empleo de limpiador de chimeneas y su exposición al hollín. Tuvieron que pasar 140 años para que se iniciaran los estudios formales de investigación que relacionaran el hollín con el cáncer.

En 1915, los japoneses Yamagiwa e Ichikawa indujeron la formación de tumores en conejos al aplicarles alquitrán de hulla en las orejas. En 1918 Tsutsui indujo la formación de tumores en ratones con la misma sustancia. En 1921 los suizos Bloch y Dreifuss postularon que el carcinógeno probable era un hidrocarburo. En 1925, en Londres, Kennaway estableció que la actividad carcinogénica residía en un compuesto constituido solamente por átomos de carbono e hidrógeno.

En 1925, en Londres, Mayneord, colaborador de Kennaway encontró que el carcinógeno exhibía fluorescencia. En 1930, en Londres, gracias al trabajo de Kennaway y Hieger, se logró obtener el primer hidrocarburo puro de estructura molecular establecida y con propiedades carcinogénicas, fue el dibenzo(a,h)antraceno. En 1933, Cook, Hewett y Hieger, aislaron e identificaron al Benzo(a)pireno de 2 toneladas de alquitrán de hulla (3).

El descubrimiento de que moléculas de hidrocarburos de estructuras específicas inducían cáncer en animales experimentales, estimuló a los químicos a sintetizar diversas moléculas de hidrocarburos aromáticos para hacer correlaciones estructura-actividad y buscar el mecanismo causante del cáncer.

El más valioso ensayo de actividad carcinogénica es la demostración directa de la inducción de tumores en animales experimentales; sin embargo, la actividad

depende de variables experimentales tales como especie, sexo, edad, sitio y modo de administración, la pureza de los compuestos de prueba y el empleo de *promotores*. Los trabajos más completos de bioensayos se pueden encontrar en las revisiones de Arcos y Argus y Weisburger y Williams (3).

Los *promotores* de tumores se definen como agentes que por sí mismos no son carcinogénicos, pero incrementan significativamente la incidencia de tumores en animales previamente tratados con carcinógenos. Según el mecanismo para la promoción de tumores propuesto por Berenblum (3), el *paso de iniciación*, podría ser un cambio no morfológico, pero que induce tumores latentes y es irreversible. En el *paso de promoción* las células iniciadas sufren conversión a células cancerosas y es un proceso reversible. El intervalo de tiempo entre la iniciación y la promoción podría influir el período de latencia, pero no las consecuencias globales.

Se considera que todos los carcinógenos son *iniciadores*, y algunos de ellos se quedan en esa categoría, por ejemplo el benzo(a)antraceno sólo es *iniciador*, y para que forme tumores se requiere de un *promotor*. En cambio, otros se catalogan como *carcinógenos completos*, por ejemplo el carcinógeno más potente, el Benzo(a)pireno, actúa como su propio *promotor*, por eso se dice que es un *carcinógeno completo*.

Los bioensayos con animales requieren de uno a dos años de experimentación, así como veterinarios y patólogos especializados y eso eleva mucho los costos, por eso se desarrollaron pruebas preliminares de carcinógenos potenciales. Puesto que ninguna prueba es 100 % efectiva, se emplea comúnmente una batería de pruebas.

Los procedimientos más ampliamente usados involucran mutagénesis bacteriana. El popular ensayo de Ames mide la mutación de *Salmonella typhimurium* y tiene una exactitud del 80 %. Otro ensayo es la mutagénesis de

HGPRT (hipoxantina-guanina fosfotransferasa) en células humanas y provee evidencia directa de los efectos en el genoma humano. Todos los ensayos suponen que el carcinógeno actúa con daño al DNA. Otros bioensayos in vitro se encuentran en la revisión de Weisburger & Williams (3). Hoffman y colaboradores estudiaron la unión de los PAHs al DNA y sus consecuencias. Smith y colaboradores publicaron los riesgos potenciales a la salud asociados a la exposición de PAHs (8).

1.4 Fuentes de PAHs

Los PAHs se pueden generar por procesos naturales tales como fuegos forestales y erupciones volcánicas o por fuentes antropogénicas tales como la combustión de petróleo y sus derivados, por la pirólisis de la madera, de desperdicios, de tabaco y de comestibles, de materia orgánica en general, además de derrames accidentales de petróleo y tráfico. Fuentes adicionales incluyen plantas de conservación de maderas que utilizan creosota, operaciones de asfaltado de caminos y de impermeabilización de techos. (3,8,9). En áreas urbanas e industriales, la concentración de PAHs es de 10 a 100 veces mayor que en zonas rurales (3).

Los PAHs se pueden generar debido a algunos métodos de cocción de alimentos como por ejemplo: asado al carbón o leña, rostizado, ahumado y horneado (3). También se pueden encontrar en vegetales, pescados y mariscos, reflejando así la contaminación atmosférica y acuática (3,10). Recientemente se han encontrado en aceites y grasas comestibles (9).

Los niveles de PAHs en aire urbano dependen de la estación del año, las condiciones meteorológicas y la densidad y tipo de fuentes de emisión locales. Se ha observado que durante el invierno se incrementan las concentraciones en aire debido al incremento en el consumo de combustibles fósiles. Debajo de 150°C los PAHs se condensan en las partículas de ceniza y el 85% de los PAHs


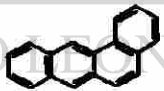

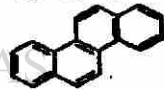

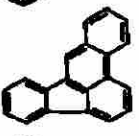
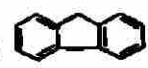
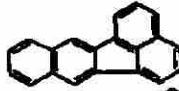
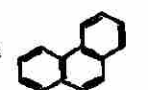
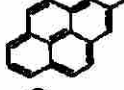
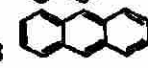
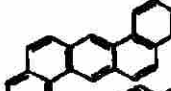
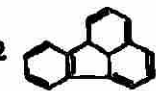



se asocia a partículas menores de 5 micrómetros, lo que las hace "respirables" y potencialmente dañinas a la salud (3).

Las formas de contaminación de los cuerpos de agua pueden ser por partículas de materia transportada a través del aire, por precipitación atmosférica, escurrimiento urbano, efluentes industriales y municipales, por derrames, por lixiviación y por la cubierta de alquitrán de hulla o asfáltica usada en ocasiones en las tuberías para protegerlas de la corrosión (3, 11,12).

La US EPA ha considerado a 16 PAHs para ser monitoreados regularmente (13). La tabla 1 presenta a los 16 hidrocarburos, incluye el nombre de cada uno, su peso molecular y su estructura. Es importante señalar que los compuestos del 1 al 8 se consideran no carcinógenos, en cambio, los compuestos del 9 al 16 presentan actividad carcinogénica.

Tabla 1. Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos.

HIDROCARBUROS AROMÁTICOS POLICÍCLICOS

1. Nafaleno	128		9. Benzo(a)antraceno	228	
2. Acenaftileno	152		10. Criseno	228	
3. Acenafteno	154		11. Benzo(b)fluoranteno	252	
4. Fluoreno	166		12. Benzo(k)fluoranteno	252	
5. Fenantreno	178		13. Benzo(a)pireno	252	
6. Antraceno	178		14. Dibenzo(a,h)antraceno	278	
7. Fluoranteno	202		15. Benzo(g,h,i)perileno	276	
8. Pireno	202		16. Indeno(1,2,3-cd)pireno	276	

Aún y cuando los primeros ocho compuestos no han mostrado evidencia en la generación de tumores en humanos, se sigue investigando en animales su efecto mutagénico y teratogénico y las hojas de datos de seguridad (MSDS) del naftaleno y antraceno mencionan que son irritantes para la piel, ojos y tracto respiratorio, que pueden causar alergias en la piel y provocan daños en hígado, riñón, sistema nervioso central y sanguíneo; en la sección de información toxicológica de la hoja del antraceno, la IARC le otorga la categoría 3, que significa que no es clasificable como carcinógeno porque no hay evidencia en humanos y evidencia limitada en animales, además la NFPA (National Fire Protection Association) le asigna al naftaleno y al antraceno el número 1 en identificación de riesgos a la salud, en la escala de 0 a 4, donde 0 significa sin riesgo y 4 el máximo riesgo (14, 15).

La solubilidad de los PAHs en agua es baja (Tabla 2), pero se pueden encontrar concentraciones del orden de microgramos/litro (11, 16, 17); a ese nivel son tóxicos, por eso es importante monitorear su presencia.

La tabla 2 presenta las propiedades fisicoquímicas de los 16 PAHs, que incluye su fórmula molecular condensada, su número de registro en el Chemical Abstract Service (CAS), su solubilidad en mmol/L, el coeficiente de partición octanol-agua (K_{ow}), la presión de vapor y la constante de la Ley de Henry (K_H). (10).

Tabla 2. Propiedades fisicoquímicas de los 16 Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos de interés.

Compuesto	Fórmula Molecular	No. CAS	Solubilidad (mmol/L)	Log K_{ow}	Presión de vapor, 25°C (Pa)	K_H (atm m ³ /mol)
Naftaleno	C ₁₀ H ₈	91-20-3	2.4 x 10 ⁻¹	3.37	10.9	4.5 x 10 ⁻³
Acenaftileno	C ₁₂ H ₈	208-96-8	N.D.	3.98	N.D.	N.D.
Acenafteno	C ₁₂ H ₁₀	83-82-9	2.9 x 10 ⁻²	4.07	5.96 x 10 ⁻¹	2.4 x 10 ⁻⁴
Fluoreno	C ₁₃ H ₁₀	86-73-7	1.2 x 10 ⁻²	4.18	8.81 x 10 ⁻²	7.4 x 10 ⁻⁵
Fenantreno	C ₁₄ H ₁₀	85-01-8	7.2 x 10 ⁻³	4.45	1.8 x 10 ⁻²	2.7 x 10 ⁻⁴
Antraceno	C ₁₄ H ₁₀	120-12-7	3.7 x 10 ⁻⁴	4.45	7.5 x 10 ⁻⁴	1.8 x 10 ⁻⁶
Fluoranteno	C ₁₆ H ₁₀	206-44-00	1.3 x 10 ⁻³	4.90	2.54 x 10 ⁻¹	1.9 x 10 ⁻³
Pireno	C ₁₆ H ₁₀	129-00-0	7.2 x 10 ⁻⁴	4.88	8.86 x 10 ⁻⁴	1.3 x 10 ⁻⁵
Benzo(a)antraceno	C ₁₈ H ₁₂	56-55-3	N.D.	5.61	8.6 x 10 ⁻⁶	1.2 x 10 ⁻⁶
Criseno	C ₁₈ H ₁₂	218-01-9	5.7 x 10 ⁻⁷	5.16	1.3 x 10 ⁻⁵	N.D.
Benzo(b)fluoranteno	C ₂₀ H ₁₂	205-99-2	N.D.	6.04	1.2 x 10 ⁻⁷	N.D.
Benzo(k)fluoranteno	C ₂₀ H ₁₂	207-08-9	N.D.	6.06	5.5 x 10 ⁻⁸	2.7 x 10 ⁻⁷
Benzo(a)pireno	C ₂₀ H ₁₂	50-32-6	8.4 x 10 ⁻⁷	6.06	1.5 x 10 ⁻⁵	7.4 x 10 ⁻⁵
Indeno(1,2,3-cd)pireno	C ₂₂ H ₁₂	193-39-5	N.D.	6.58	N.D.	N.D.
Dibenzo(a,h)antraceno	C ₂₂ H ₁₂	53-70-3	5.5 x 10 ⁻¹⁰	6.50	0.8 x 10 ⁻⁶	2.0 x 10 ⁻⁹
Benzo(ghi)perileno	C ₂₂ H ₁₂	191-24-2	6.0 x 10 ⁻⁸	6.84	2 x 10 ⁻⁵	2.0 x 10 ⁻⁷

N.D. No disponible; K_{ow} Coeficiente de partición octanol-agua; K_H Constante de la Ley de Henry.

CAPÍTULO 2

ANTECEDENTES, JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS

2.1 Antecedentes

2.1.1 Legislación Ambiental

El carácter carcinogénico de algunos PAHs ha obligado su inclusión en la legislación ambiental. Los límites máximos permitidos de estos contaminantes orgánicos en agua potable en el mundo son diferentes, dependiendo del organismo regulador. Así, desde 1976 la Comunidad Europea incluyó a los PAHs en sus regulaciones, y en 1994 estableció 0.2 microgramos/litro para PAHs totales (18-22); en cambio, en 1998 la Organización Mundial de la Salud fijó 0.7 microgramos/litro sólo para el benzo(a)pireno (12); mientras que la normatividad en Estados Unidos de América para el benzo(a)pireno es de 0.2 microgramos/litro (23). En Canadá se ha establecido un límite máximo de 0.010 microgramos/litro para benzo(a)pireno en agua potable (24).

En México, le compete a la Secretaría de Salud establecer los límites permisibles de calidad en el agua para uso y consumo humano (25), sin embargo, la Norma Oficial Mexicana NOM-127-SSA1-1994 "Salud Ambiental. Agua para uso y consumo humano. Límites permisibles de calidad y tratamientos a que debe someterse el agua para potabilización", no incluye a los PAHs en el listado. Esta norma fue modificada después de su publicación y en ella se incluyeron cuatro hidrocarburos aromáticos, pero ninguno de los policíclicos. En la tabla 3 se resumen los límites máximos permitidos de PAHs en agua para consumo humano, según los diferentes organismos reguladores.

Tabla 3. Límites máximos permitidos de PAHs en agua potable.

Organismo Regulador	Año	Concentración en µg/L	
		PAHs total	Benzo(a)pireno
Unión Europea	1994	0.2	
OMS	1998		0.7
US EPA	2002		0.2
Canadá	2000		0.01

2.1.2 Análisis de PAHs

Un análisis típico de PAHs incluye tres etapas, que son extracción, concentración y cromatografía. Tomando como referencia los métodos EPA 550 y 525 (26,27), para la extracción se consideran dos opciones: líquido-líquido (del inglés, LLE) y extracción en fase sólida (del inglés, SPE), para la concentración se pueden manejar también de 2 maneras: corriente de nitrógeno y el uso de Kuderna-Danish (K-D). Para la cromatografía se presentan 2 posibilidades: de gases (CG) y de líquidos de alta resolución (HPLC).

2.1.2.1 Etapa de Extracción

Para la extracción de los PAHs en muestras de agua, la técnica tradicional es extracción líquido-líquido, mientras que en los últimos años se han desarrollado técnicas de extracción en fase sólida y microextracción en fase sólida (SPME por sus siglas en inglés), (10,11,16,28-42).

Dentro de los numerosos reportes que aparecen en la literatura, a continuación se mencionan algunos de ellos que resultaron relevantes para el presente trabajo.

El método 550 de la EPA, fue publicado en 1990 para la determinación de hidrocarburos aromáticos policíclicos en agua potable, emplea extracción líquido-líquido y HPLC con detección de fluorescencia y ultravioleta (FLU-UV). El procedimiento describe el empleo de un litro de muestra de agua y 3 extracciones con volúmenes de 60 mL de cloruro de metileno en cada extracción.

El método 525 de la EPA se publicó el año de 1988 para la determinación de compuestos orgánicos en agua potable, incluye 46 analitos, de los cuales 13 son hidrocarburos aromáticos policíclicos; emplea extracción sólido-líquido y cromatografía de gases con detector de espectrometría de masas (GC/MS).

(2004) En España, Martínez *et al.* (10) emplearon SPE con cartuchos C₁₈ para determinar PAHs mediante GC/MS en agua subterránea adicionada con los hidrocarburos. Trabajaron con 16 PAHs y obtuvieron recuperaciones de 35 a 113%.

(2004) En Taiwan, Hong-Wen Chen (11) desarrolló un método para la determinación de PAHs en agua mediante SPME y HPLC con detector de fluorescencia. Trabajó con 5 hidrocarburos y reportó eficiencias de extracción de 88% con 35 minutos de extracción. Encontró que la adición de monocloroacetato de sodio 1.5 M mejoró el rendimiento de la extracción. Aplicó el método a muestras de agua de un lago que sirve como fuente de abastecimiento de agua potable para una ciudad en el sur de Taiwan.

(2002) En Polonia, Kabzinski *et al.* (16) usaron SPE con columnas C₁₈ de 1000 mg para determinar PAHs en muestras de agua potable, de lago y de río por HPLC con detector UV. Trabajaron con muestras de un litro. Sus recuperaciones fueron de 28 a 104% con una media 67%.

Tabla 2. Propiedades fisicoquímicas de los 16 Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos de interés.

Compuesto	Fórmula Molecular	No. CAS	Solubilidad (mmol/L)	Log K_{ow}	Presión de vapor, 25°C (Pa)	K_H (atm m ³ /mol)
Naftaleno	C ₁₀ H ₈	91-20-3	2.4 x 10 ⁻¹	3.37	10.9	4.5 x 10 ⁻³
Acenaftileno	C ₁₂ H ₈	208-96-8	N.D.	3.98	N.D.	N.D.
Acenafteno	C ₁₂ H ₁₀	83-82-9	2.9 x 10 ⁻²	4.07	5.96 x 10 ⁻¹	2.4 x 10 ⁻⁴
Fluoreno	C ₁₃ H ₁₀	86-73-7	1.2 x 10 ⁻²	4.18	8.81 x 10 ⁻²	7.4 x 10 ⁻⁵
Fenantreno	C ₁₄ H ₁₀	85-01-8	7.2 x 10 ⁻³	4.45	1.8 x 10 ⁻²	2.7 x 10 ⁻⁴
Antraceno	C ₁₄ H ₁₀	120-12-7	3.7 x 10 ⁻⁴	4.45	7.5 x 10 ⁻⁴	1.8 x 10 ⁻⁶
Fluoranteno	C ₁₆ H ₁₀	206-44-00	1.3 x 10 ⁻³	4.90	2.54 x 10 ⁻¹	1.9 x 10 ⁻³
Pireno	C ₁₆ H ₁₀	129-00-0	7.2 x 10 ⁻⁴	4.88	8.86 x 10 ⁻⁴	1.3 x 10 ⁻⁵
Benzo(a)antraceno	C ₁₈ H ₁₂	56-55-3	N.D.	5.61	8.6 x 10 ⁻⁶	1.2 x 10 ⁻⁶
Criseno	C ₁₈ H ₁₂	218-01-9	5.7 x 10 ⁻⁷	5.16	1.3 x 10 ⁻⁵	N.D.
Benzo(b)fluoranteno	C ₂₀ H ₁₂	205-99-2	N.D.	6.04	1.2 x 10 ⁻⁷	N.D.
Benzo(k)fluoranteno	C ₂₀ H ₁₂	207-08-9	N.D.	6.06	5.5 x 10 ⁻⁸	2.7 x 10 ⁻⁷
Benzo(a)pireno	C ₂₀ H ₁₂	50-32-8	8.4 x 10 ⁻⁷	6.06	1.5 x 10 ⁻⁵	7.4 x 10 ⁻⁵
Indeno(1,2,3-cd)pireno	C ₂₂ H ₁₂	193-39-5	N.D.	6.58	N.D.	N.D.
Dibenzo(a,h)antraceno	C ₂₂ H ₁₂	53-70-3	5.5 x 10 ⁻¹⁰	6.50	0.8 x 10 ⁻⁶	2.0 x 10 ⁻⁹
Benzo(ghi)perileno	C ₂₂ H ₁₂	191-24-2	6.0 x 10 ⁻⁸	6.84	2 x 10 ⁻⁵	2.0 x 10 ⁻⁷

N.D. No disponible; K_{ow} Coeficiente de partición octanol-agua; K_H Constante de la Ley de Henry.

CAPÍTULO 2

ANTECEDENTES, JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS

2.1 Antecedentes

2.1.1 Legislación Ambiental

El carácter carcinogénico de algunos PAHs ha obligado su inclusión en la legislación ambiental. Los límites máximos permitidos de estos contaminantes orgánicos en agua potable en el mundo son diferentes, dependiendo del organismo regulador. Así, desde 1976 la Comunidad Europea incluyó a los PAHs en sus regulaciones, y en 1994 estableció 0.2 microgramos/litro para PAHs totales (18-22); en cambio, en 1998 la Organización Mundial de la Salud fijó 0.7 microgramos/litro sólo para el benzo(a)pireno (12); mientras que la normatividad en Estados Unidos de América para el benzo(a)pireno es de 0.2 microgramos/litro (23). En Canadá se ha establecido un límite máximo de 0.010 microgramos/litro para benzo(a)pireno en agua potable (24).

En México, le compete a la Secretaría de Salud establecer los límites permisibles de calidad en el agua para uso y consumo humano (25), sin embargo, la Norma Oficial Mexicana NOM-127-SSA1-1994 "Salud Ambiental. Agua para uso y consumo humano. Límites permisibles de calidad y tratamientos a que debe someterse el agua para potabilización", no incluye a los PAHs en el listado. Esta norma fue modificada después de su publicación y en ella se incluyeron cuatro hidrocarburos aromáticos, pero ninguno de los policíclicos. En la tabla 3 se resumen los límites máximos permitidos de PAHs en agua para consumo humano, según los diferentes organismos reguladores.

Tabla 3. Límites máximos permitidos de PAHs en agua potable.

Organismo Regulador	Año	Concentración en $\mu\text{g/L}$	
		PAHs total	Benzo(a)pireno
Unión Europea	1994	0.2	
OMS	1998		0.7
US EPA	2002		0.2
Canadá	2000		0.01

2.1.2 Análisis de PAHs

Un análisis típico de PAHs incluye tres etapas, que son extracción, concentración y cromatografía. Tomando como referencia los métodos EPA 550 y 525 (26,27), para la extracción se consideran dos opciones: líquido-líquido (del inglés, LLE) y extracción en fase sólida (del inglés, SPE), para la concentración se pueden manejar también de 2 maneras: corriente de nitrógeno y el uso de Kuderna-Danish (K-D). Para la cromatografía se presentan 2 posibilidades: de gases (CG) y de líquidos de alta resolución (HPLC).

2.1.2.1 Etapa de Extracción

Para la extracción de los PAHs en muestras de agua, la técnica tradicional es extracción líquido-líquido, mientras que en los últimos años se han desarrollado técnicas de extracción en fase sólida y microextracción en fase sólida (SPME por sus siglas en inglés), (10,11,16,28-42).

Dentro de los numerosos reportes que aparecen en la literatura, a continuación se mencionan algunos de ellos que resultaron relevantes para el presente trabajo.

El método 550 de la EPA, fue publicado en 1990 para la determinación de hidrocarburos aromáticos policíclicos en agua potable, emplea extracción líquido-líquido y HPLC con detección de fluorescencia y ultravioleta (FLU-UV). El procedimiento describe el empleo de un litro de muestra de agua y 3 extracciones con volúmenes de 60 mL de cloruro de metileno en cada extracción.

El método 525 de la EPA se publicó el año de 1988 para la determinación de compuestos orgánicos en agua potable, incluye 46 analitos, de los cuales 13 son hidrocarburos aromáticos policíclicos; emplea extracción sólido-líquido y cromatografía de gases con detector de espectrometría de masas (GC/MS).

(2004) En España, Martínez *et al.* (10) emplearon SPE con cartuchos C₁₈ para determinar PAHs mediante GC/MS en agua subterránea adicionada con los hidrocarburos. Trabajaron con 16 PAHs y obtuvieron recuperaciones de 35 a 113%.

(2004) En Taiwan, Hong-Wen Chen (11) desarrolló un método para la determinación de PAHs en agua mediante SPME y HPLC con detector de fluorescencia. Trabajó con 5 hidrocarburos y reportó eficiencias de extracción de 88% con 35 minutos de extracción. Encontró que la adición de monocloroacetato de sodio 1.5 M mejoró el rendimiento de la extracción. Aplicó el método a muestras de agua de un lago que sirve como fuente de abastecimiento de agua potable para una ciudad en el sur de Taiwan.

(2002) En Polonia, Kabzinski *et al.* (16) usaron SPE con columnas C₁₈ de 1000 mg para determinar PAHs en muestras de agua potable, de lago y de río por HPLC con detector UV. Trabajaron con muestras de un litro. Sus recuperaciones fueron de 28 a 104% con una media 67%.

Urbe-Ruana (29), Kabzinzki (16), Nirmaier (31) y Nanqin Li (32); Kayali-Sayadi (28) reportó el empleo de una bomba de vacío para evaporar el solvente y García Falcón (41) después de la SPE utilizó un rotavapor y el baño de agua a 60°C para eliminar hexano. Filipkowska (42) reportó el uso de argón en lugar de nitrógeno.

2.1.2.3 Etapa de Cromatografía

Mientras que en México no existe metodología oficial para el análisis de PAHs, a nivel internacional se han propuesto varios métodos para el análisis de PAHs en agua, los más comunes emplean cromatografía de líquidos con detectores de fluorescencia y ultravioleta (HPLC/FLU-UV) y cromatografía de gases con detectores de espectrometría de masas (GC-MS) o de ionización de flama (GC-FID).

Existen múltiples publicaciones que describen los métodos para la determinación de PAHs en agua (10, 11, 16, 28-39, 41,42). En los métodos 550 y 525 de la EPA se describen protocolos analíticos específicos para la determinación de PAHs en agua potable y en el método 610 de la EPA se describe el procedimiento para determinar PAHs en aguas residuales. (26, 27, 43) También los Métodos Estándares de la *American Public Health Association, American Water Works Association and Water Pollution Control Federation* (APHA-AWWA-WPCF) y el Ministerio del Ambiente de Canadá tienen establecidos protocolos para la determinación de PAHs en agua (26, 27, 43-45).

La tabla 4 presenta un resumen de los métodos analíticos empleados por varios investigadores que incluye la técnica de extracción, la técnica cromatográfica con el detector empleado, el número de PAHs que trabajaron y los límites de detección obtenidos y reportados por los investigadores antes mencionados.

Tabla 4. Métodos analíticos para la determinación de PAHs en agua .

Autor	Extracción	Técnica/Detector	PAHs	LD
Martínez	SPE	GC/MS-SIM	16	0.1-15 ng/L
Kayali- S.	SPE	HPLC/FLU	13	2.33-48.7 ng/L
Urbe y R.	SPE	HPLC/FLU	6	0.1-2.0 ng/L
Crozier	SPE	GC-ITMS	17	0.8 – 1.6 ng/L
Kabzinski	SPE	HPLC/UV	16	0.01-5 ng/L
Nirmaier	SPE	HPLC/Amperométrico	8	1-10 ng/L
Nanqin Li	DIE-SPE	GC-MS-SIM	16	N.D.
Rodríguez	SPME	GC/FID	16	N.D.
Popp	SPME	HPLC/FLU	15	1-6 ng/L
Doong	SPME	GC/FID	16	0.08-0.53 ng/mL
	HS-SPME	GC/MS		
Doong	HS-SPME	GC/FID	10	N.D.
	DI-SPME			
Li Hou	LPME	HPLC-UV	6	1-3.5 µg/L; 0.35-0.60 µg/L
King	SPME	GC/MS	16	1-29 ng/L
Chen	SPME	HPLC/FLU	5	2-6 ng/L
Bagheri	SPME	HPLC/FLU	N.D.	0.001-0.006 µg/L
García-Falcón	SPE	HPLC/FLU	9	0.05-0.7 ng/L
	SPME			
Filipkowska	LLE	GC/MS-IT	12	0.05-0.30 µg/mL
	SPE	HPLC/DAD-UV		0.10-0.70 µg/mL
550 EPA	LLE	HPLC/FLU-UV	16	0.002-3.3 µg/L
610 EPA	LLE	HPLC/FLU-UV	16	0.013-2.3 µg/L
		GC/MS		
525 EPA	SPE	GC/MS	43	0.01-15 µg/L

N.D. No disponible.

2.1.3 Otros Métodos de Análisis

Se han publicado otros métodos analíticos para la determinación de PAHs en agua y otras matrices, que incluyen diversas formas de realizar la extracción, la separación y la cuantificación. Enseguida se mencionan algunos de ellos, precedidos del año de publicación:

(1995) En Virginia, (USA), Messer y Taylor (46) desarrollaron un método para la cuantificación de 16 PAHs en agua mediante SPE en disco y elución con fluido supercrítico (CO₂).

(2000) En Madrid, (España), Lázaro *et al.* (47) investigaron la influencia de sistemas micelares acuosos en la determinación de 5 PAHs mediante fluorescencia a temperatura ambiente.

(2001) En Córdoba, (España), Amador-Hernández *et al.* (48) desarrollaron un método para obtener información cualitativa y semicuantitativa para PAHs en agua mediante espectrofluorimetría inducida por láser.

(1999) En Dakota, (USA), Hagestuen y Campiglia (49) emplearon SPE y fosforimetría a temperatura ambiente (RTP = *Room Temperature Phosphorimetry*) para determinar 16 PAHs en muestras de agua.

(2001) En Dakota, (USA), Whitcomb y Campiglia (50) utilizaron discos SPE de 13 mm y fluorimetría para determinar 6 PAHs en muestras de agua.

(2003) En Francia, Miege *et al.* (51) compararon cinco técnicas de extracción para la determinación de trazas de PAHs en lodos de plantas de tratamiento de aguas, mediante HPLC/UV-DAD-FLU. Emplearon extracción con fluidos supercríticos (SFE), extracción con líquido presurizado (PLE), extracción

asistida con microondas en vasijas abiertas (FMWE), extracción Soxhlet y extracción con Ultrasonido. Trabajaron con lodos certificados.

(1998) En Praga, (República Checa), Tomaniová *et al.* (52) trabajaron con extracción con solvente asistida por microondas (MASE = *Microwave-assisted solvent extraction*) para aislar PAHs de plantas. Trabajaron con 16 PAHs y HPLC-FLU.

(2002) En Chile, Sierra *et al.* (53) colectaron PAHs de material particulado urbano, realizaron extracciones con cloruro de metileno, concentraron con corriente de nitrógeno y cuantificaron por GC-MS. Analizaron materiales de referencia y muestras reales.

(1997) En Ohio, (USA), Monserrate y Olesik (54) trabajaron con fluidos supercríticos de CO₂ y mezclas de metanol-CO₂ para extraer PAHs de polvo casero.

(1999) En China, Jiang y Guan (55) determinaron 23 PAHs en muestras de aceite, diesel y residuos de aceites lubricantes mediante HPLC capilar (μ -HPLC) acoplado en línea a un HTGC (cromatógrafo de gases capilar de alta temperatura) con detector de masas.

(2000) En Italia, Cam *et al.* (56) emplearon SPME y GC-MS en modo SIM para la determinación de 7 PAHs en sedimentos.

(1999) En Polonia, Miller J.S. (57) trabajó con métodos espectrofluorométricos para la determinación de 3 PAHs en agua.

(1995) En Madrid, (España), Kayali *et al.* (58) determinaron 13 PAHs en muestras de aire de Madrid mediante HPLC/FLU.

(2003) En Nottingham, (Reino Unido), Stanley *et al.* (8) desarrollaron un método para la detección de PAHs usando una microbalanza de cristal de cuarzo, que funciona como un sensor piezoeléctrico sobre un electrodo de oro.

(1998) En Barcelona, (España), Guiteras *et al.* (59) realizaron un estudio comparativo para tres diferentes métodos de calibración multivariantes, que son: mínimos cuadrados clásicos (CLS *classical least squares*), regresión de componente principal (PCR = *principal component regression*), y *regresión parcial de mínimos cuadrados* (PLSR = *partial least squares regression*) para la determinación de 10 PAHs en muestras de agua adicionadas y mediciones espectrofluorométricas.

(2002) En Bilbao, (España), Cortazar *et al.* (60) realizaron una optimización multisimplex para la determinación de PAHs, PCBs y ftalatos de muestras de agua mediante GC-MS.

(1997) En Quebec, (Canadá), Nguyen *et al.* (61) emplearon electroforesis capilar y detección UV para la separación y determinación de PAHs.

(1997) En Dakota, (USA), Wittkamp *et al.* (62) emplearon SPME y espectroscopía de absorción UV para la determinación de 11 PAHs en gasolina sin plomo, sólo el naftaleno es común a los analitos de interés en este trabajo.

(1997) En USA, Yu Liu *et al.* (63) estudiaron la SPME de PAHs de muestras acuosas usando fibras con cuatro tipos de fases (C₈, fenil, C₁₈ monomérica y C₁₈ polimérica) para 7 PAHs de los cuales sólo 2 son comunes a los PAHs empleados en este trabajo. Usaron GC-FID para la separación y cuantificación.

En resumen, existe un gran número de publicaciones con métodos propuestos para la determinación de PAHs en agua y otras matrices. En este trabajo se tomaron como referencia los métodos EPA 550 y 525, de modo que para la

extracción se consideraron dos opciones: líquido-líquido y extracción en fase sólida, para la concentración de los analitos se trabajó de 2 formas: con corriente de nitrógeno y con el uso del equipo micro Kuderna-Danish. Para la cromatografía se trabajaron 2 tipos: de gases y de líquidos.

2.1.4 Estudios de PAHs en la UANL

Interesados por la problemática ambiental, en la Facultad de Ciencias Químicas de la UANL se realizaron 2 tesis de maestría enfocadas al desarrollo de métodos analíticos para la determinación de PAHs en agua. En el año 2000, Díaz Moroles trabajó con Cromatografía de Gases y detector de Espectrometría de Masas (64) y en el año 2001 Ramírez Villarreal trabajó con Cromatografía de Líquidos con detector ultravioleta de arreglo de diodos (65).

En ambas tesis se logró la validación de cada sistema cromatográfico, pero un problema que se presentó en ambas fue la baja recuperación de analitos en la etapa de extracción y concentración. Por esta razón el propósito de este trabajo fue modificar el tratamiento de muestra con el fin de encontrar la mejor opción para extraer y concentrar los PAHs. Por otro lado, se usó un cromatógrafo de gases con detector de masas en modo SIM (monitoreo selectivo de iones), para disminuir los límites de detección con respecto a los obtenidos en la tesis antes mencionada, en la cual se reportaron valores de 0.26 a 3.46 µg/L; por la misma razón se usó el detector de fluorescencia para el cromatógrafo de líquidos con el fin de reducir los límites de detección comparados con los obtenidos con el detector UV, que fueron de 0.09 a 4.50 µg/L. Se planeó reducir al menos por un factor de 10 las concentraciones del intervalo de trabajo en los métodos.

2.2 Justificación

La zona metropolitana de Monterrey, con una población superior a 3 millones de habitantes, cuenta con siete fuentes principales de abastecimiento de agua potable, de las cuales tres son superficiales y el resto son subterráneas. Las fuentes superficiales son la Presa "El Cuchillo", ubicada en China, N.L. con capacidad de 1800 millones de m³, la Presa "Cerro Prieto", en Linares, N.L. que tiene una capacidad de 393 millones de m³ y la Presa Rodrigo Gómez, conocida como la Presa de la Boca, con capacidad de 45 millones de m³, en Santiago, N.L. Las fuentes subterráneas son: el Túnel de San Francisco y "Cola de Caballo"; Galerías y pozos de la Huasteca; los pozos de Mina y los pozos de la zona metropolitana de Monterrey (66).

Las presas captan agua de dos cuencas que atraviesan zonas industrializadas. Es probable la presencia de PAHs en sus aguas por lixiviación, escurrimiento urbano y derrames accidentales.

La Secretaría del Medio Ambiente y Recursos Naturales, a través del Instituto Nacional de Ecología (SEMARNAT-INE), en marzo de 2002 solicitó propuestas de métodos analíticos nuevos o mejorados que pudieran ser reconocidos y/o validados a nivel internacional para la extracción, detección, cuantificación y caracterización de éstos y otros contaminantes orgánicos prioritarios en las diferentes matrices ambientales, con el fin de difundirlos y adoptarlos a nivel nacional (67).

En respuesta a dicha convocatoria, el Departamento de Química Analítica de la Facultad de Medicina UANL, inscribió el proyecto titulado "Hidrocarburos Aromáticos Polinucleares en Fuentes de Abastecimiento de Agua Potable de la Ciudad de Monterrey. Caracterización, Evaluación y Alternativas de Solución", el cual fue aprobado por el Comité Técnico y de Administración en su sesión de fecha 03 de junio de 2003 y se le asignó el registro SEMARNAT-2002-C01-

0643. Esta tesis forma parte de dicho proyecto.

Es importante señalar que actualmente la legislación mexicana no dispone de metodología oficial para el análisis de PAHs, por lo que existe la necesidad de desarrollar y validar metodología analítica para caracterizar y evaluar PAHs en agua potable y en las principales fuentes de abastecimiento de agua potable.

Por todo lo anterior, se propusieron los siguientes objetivos

2.3 Objetivos

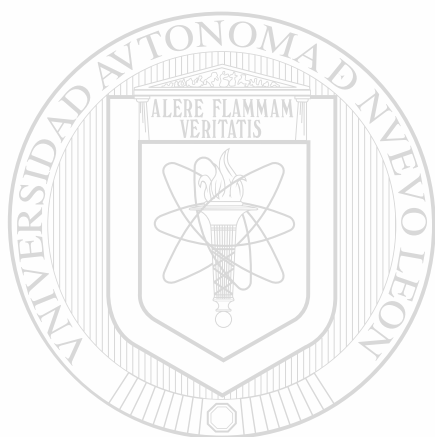
2.3.1 Objetivo general

Desarrollar y validar metodología analítica para la determinación de Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos en fuentes de abastecimiento de agua potable de la ciudad de Monterrey.

2.3.2 Objetivos específicos

1. Establecer las condiciones óptimas para la determinación de los hidrocarburos aromáticos policíclicos por cromatografía de gases con detector de espectrometría de masas (GC/MS).
2. Establecer las condiciones óptimas para la determinación de los hidrocarburos aromáticos policíclicos por cromatografía de líquidos de alta resolución con detectores de fluorescencia y ultravioleta, (HPLC/FLU-UV).
3. Validar los métodos instrumentales de GC/MS y HPLC/FLU-UV.
4. Optimizar la técnica de preparación de muestras por medio de: extracción en fase sólida en su modalidad de discos o membranas y extracción en fase sólida en su modalidad de columna o tubo; así como la técnica de extracción líquido-líquido.

5. Realizar estudio piloto, aplicando los dos métodos cromatográficos a muestras reales para elegir el que mejor se adecue a las necesidades y validar el método analítico completo que incluya las técnicas de extracción, de concentración y cromatográfica seleccionadas.
6. Diseñar el plan de muestreo.
7. Realizar el muestreo en las fuentes de abastecimiento seleccionadas.
8. Utilizar el método analítico más adecuado (según estudio piloto) para monitorear las muestras obtenidas durante un período de al menos 6 meses.



UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN



DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

CAPÍTULO 3

MATERIAL Y MÉTODOS

3.1 Equipo, material y reactivos

3.1.1 Equipo

- **Cromatógrafo de Gases Agilent 6890 con automuestreador Agilent G 2614A y detector de espectrómetro de masas de cuadrupolo Agilent 5973N**
- **Cromatógrafo de Gases HP G1800A con automuestreador HP 6890 y detector de espectrómetro de masas de cuadrupolo**
- **Cromatógrafo de Líquidos Waters Alliance 2690 con automuestreador Waters, sistema de bombeo cuaternario, horno para columna, detectores: Waters UV de arreglo de diodos Waters 996 y de Fluorescencia Waters 474**
- **Cromatógrafo de Líquidos Waters Alliance 2695 con automuestreador Waters, sistema de bombeo cuaternario, horno para columna, detectores: Waters UV de arreglo de diodos Waters 2996 y de fluorescencia Waters 2475 y con Software Empower versión 5.0**
- **Espectrofotómetro UV-VIS Beckman DU 7500 con arreglo de diodos**
- **Espectrómetro Luminiscence Perkin Elmer LS 50B**
- **Balanza analítica OHAUS Analytical Plus**
- **Balanza semianalítica AND GX-200**
- **Vortex Mini Vortexer VWR Scientific Products**
- **Baño de Ultrasonido Branson 3510**
- **Estufa Shel Lab 1305 U**

- Bomba de vacío
- GPS (Global Positioning System) Magellan eXplorist 200.

3.1.2 Material

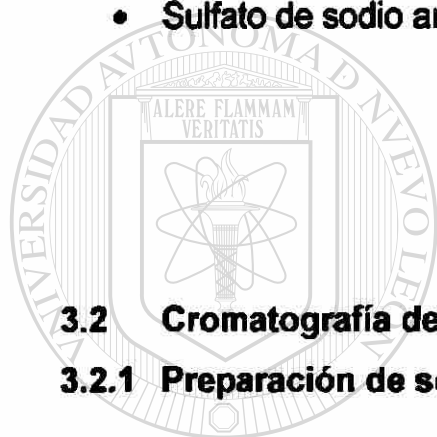
- Columna Supelcosil LC-PAH, ODS, 250 x 4.6 mm, 5 μ m, Supelco
- Columna Supelco Vydac 201 TPS, 15 cm x 46 mm d.i. C₁₈, 5 μ m.
- Columna Waters PAH C₁₈, ODS, 250 x 4.6 mm, 5 μ m
- Guarda columna Symmetry C₁₈, 3.9 x 20 mm, 5 μ m, Waters
- Columna capilar de sílice fundida Supelco PTE-5, 30 m x 0.25 mm, 0.25 μ m (5 % fenil- 95% dimetilpolisiloxano)
- Membranas de nylon 47 mm, 0.45 μ m, PALL Corporation
- Micropipetas Hamilton de 25, 50, 100, 500 μ L
- Discos de extracción en fase sólida SPE ENVI-18 fase ligada C₁₈, 47 mm
- Portadiscos ENVI
- Matraz base de un litro para el portadiscos
- Sistema de filtración de solventes Milipore
- Sistema de concentración de analitos Micro Kuderna-Danish
- Celdas de cuarzo para espectrofotómetro UV-VIS y para el espectrómetro de Luminiscencia con trayecto óptico de 1 cm
- Tubos de extracción en fase sólida Supelclean LC-C₁₈, 1000 y 500 mg
- Tubos de extracción en fase sólida ENVI-18, 17% C
- Matraces de aforación de 1, 2, 5, 10, 100, 250, 500 y 1000 mL
- Vasos de precipitados de 50, 250, 500, 1000 mL
- Pipetas volumétricas de 1 y 5 mL
- Embudos de separación de 500 y 1000 mL
- Soportes universales
- Pinzas para soporte
- Aros para soporte

- Viales de vidrio de 15 mL con tapón de rosca y septum de PTFE/silicón Supelco
- Viales de vidrio de 2 mL con tapón de rosca y septum de PTFE/silicón Supelco
- Viales de vidrio de 2 mL con tapón de rosca y septum de PTFE/silicón Waters
- Insertos cónicos de vidrio de 150 μ L con resortes al fondo, Waters
- Gradillas para viales de 2 mL
- Termómetro
- Papel filtro Wathman No. 41
- Frascos de vidrio oscuro con tapa de rosca y empaque de teflón, 4 L
- Frascos de vidrio oscuro con tapa de rosca y empaque de teflón, 1 L

3.1.3 Reactivos

- Mezcla certificada de 16 hidrocarburos aromáticos policíclicos 2000 μ g/mL en cloruro de metileno-benceno 50:50, Supelco (USA) [No Catalogo 48905-U]
- Mezcla certificada de 16 PAHs 2000 μ g/mL en cloruro de metileno-benceno 50:50, Ultra Scientific (USA) [No Catalogo US-106N]
- Mezcla certificada de 16 PAHs 500 - 1000 μ g/mL en cloruro de metileno, Restek (USA) [No Catalogo 31264]
- Mezcla certificada de estándares internos EPA 525/525.1, contiene acenafteno d-10, criseno d-12, fenantreno d-10, 500 μ g/mL en acetona, Supelco (USA) [No Catalogo 48242]
- Solución certificada de estándar surrogado perileno d-12, 2000 μ g/mL en cloruro de metileno, Supelco (USA) [No Catalogo 48081]
- Solución estándar de naftaleno d-8 Supelco (USA) [No Catalogo 442716]

- Solución estándar de 2 fluorobifenilo Supelco (USA) [No Catalogo 102741]
- Mezcla certificada de 16 PAHs (20-1000 $\mu\text{g/mL}$) en acetonitrilo-metanol 90:10, Supelco (USA) [No Catalogo 49156]
- Mezcla certificada de 16 PAHs (20-1000 $\mu\text{g/mL}$) en acetonitrilo-metanol 90:10 Ultrascientific (USA) [No Catalogo PM-831A]
- Cloruro de metileno Omnisolv grado HPLC (USA)
- Acetonitrilo grado HPLC, Fisher Scientific (USA)
- Metanol grado HPLC, Fisher Scientific (USA)
- Agua bidestilada plus, Laboratorios Monterrey, S.A. de C.V.
- Sulfato de sodio anhidro grado ACS, J.T.Baker (México)



METODOLOGÍA

3.2 Cromatografía de gases

3.2.1 Preparación de soluciones para GC/MS

En GC se trabajó con la técnica de estándar interno (IS).

Para preparar las soluciones de trabajo empleadas en la prueba inicial de desempeño se partió de los estándares certificados de Supelco o Ultra Scientific de 2000 y de 500 $\mu\text{g/mL}$. A partir de éstos se realizaron las siguientes diluciones:

Dilución primaria de la mezcla de 16 PAHs

De la mezcla de 16 PAHs de 2000 $\mu\text{g/mL}$ en cloruro de metileno-benceno, se midieron 25 μL y se añadieron a 975 μL de cloruro de metileno para obtener una concentración de 50 $\mu\text{g/mL}$ de cada hidrocarburo.

Dilución secundaria de la mezcla de 16 PAHs

De la solución de dilución primaria se tomaron 500 μL y se mezclaron con 500 μL de cloruro de metileno para obtener 25 $\mu\text{g}/\text{mL}$ de cada hidrocarburo.

Dilución de estándares internos

De la solución de Supelco EPA 525.1 consistente en una mezcla de fenantreno d-10, acenafteno d-10 y criseno d-12 en concentración de 500 $\mu\text{g}/\text{mL}$ en acetona para cada uno, se midieron 200 μL y se añadieron a 800 μL de cloruro de metileno para obtener una concentración de cada I S de 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$.

Dilución del estándar surrogado

De la solución original de perileno d-12 de 2000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ en cloruro de metileno se midieron 50 μL y se añadieron a 950 μL de cloruro de metileno para obtener una concentración de 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$.

3.2.2 Estándares de Calibración para GC/MS

Tabla 5. Preparación de estándares de calibración para GC/MS.

Nivel de concentración	N-1	N-2	N-3	N-4	N-5	Bco
Colocar μL de CH_2Cl_2 en un vial	1000	1000	1000	1000	1000	1000
Retirar μL de CH_2Cl_2	50	60	70	80	90	40
Añadir μL de Mezcla 16 PAHs 25 $\mu\text{g}/\text{mL}$	10	20	30	40	50	0
Añadir μL Mezcla de 3 I S 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$	20	20	20	20	20	20
Añadir μL de Surrogado perileno d-12 de 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$	20	20	20	20	20	20
Concentración de cada PAH ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	0.25	0.50	0.75	1.0	1.25	
Concentración de cada I S ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0
Concentración de Surrogado ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0

I S = estándar interno

N= nivel de concentración

En la tabla 5 se presentan los volúmenes tomados de cada solución de las diluciones anteriores utilizados para preparar las mezclas a partir de las cuales se construyeron las curvas de calibración; todas las disoluciones se prepararon por triplicado, incluyendo los blancos.

3.2.3 Condiciones de operación del cromatógrafo de gases

Las condiciones de operación de partida del cromatógrafo de gases son las establecidas previamente en la tesis de maestría de Díaz Moroles (64) y se resumen en la tabla 6.

Tabla 6. Condiciones de operación de partida para GC/MS.

Cromatógrafo de gases	HP G1800A
Automuestreador	HP 6890
Detector	Espectrómetro de masas de cuadrupolo
Columna	Supelco PTE-5, poli 5% difenil/95% siloxano 30 m x 0.25 mm d.i. x 0.25 μ m film
Gas acarreador	Helio 99.999% de pureza
Elución	Temperatura programada
Programa temp.	40°C-4 min, rampa 10°C/min hasta 300°C.
Flujo	1 mL/min
Tiempo de corrida	35 min
Volumen de inyección	1 μ l, splitless
Rango de masas	30-450 m/z
<i>Solvent delay</i>	6.0 min
Modo	Barrido (<i>full scan</i>)

Díaz Moroles (64)

A las condiciones de partida se hicieron las siguientes modificaciones:

- Estándares internos: se hicieron pruebas con naftaleno d-8, 2 fluorobifenilo, acenafteno d-10, fenantreno d-10 y criseno d-12. Se seleccionaron los últimos tres.
- Estándares surrogados: se probó mezcla de 2,4,6 tribromofenol (TBF) y nitrobenceno d-5; y perileno d-12 individual. Se seleccionó el último.
- Condiciones de operación del GC/MS: se cambió de modo *full scan* a modo SIM, se cambió el programa de temperaturas, las condiciones del inyector, del horno, del gas acarreador, del detector de masas y el tiempo de corrida con el fin de trabajar concentraciones más bajas que en las condiciones iniciales, reducir el tiempo de corrida y obtener menores límites de detección.

Las condiciones de operación finales para GC/MS son las siguientes:

INYECTOR

- Temperatura del inyector: 280°C
- Modo: *Splitless* pulsado
- Presión: 9.69 psi
- Presión del pulso: 29 psi
- Tiempo del pulso: 0.5 min
- Flujo de purga: 100 mL/min
- Tiempo de purga: 0.75 min
- Flujo total: 103.6 mL/min
- Ahorrador de gas: encendido
- Ahorrador de flujo: 15 mL/min
- Ahorrador de tiempo: 2 min

HORNO

- Programa de temperatura de la columna: 70°C por 1 min, aumentar 25°C/min hasta 340°C, mantener a 340°C por 3.20 min
- Tiempo de corrida: 15 min

GAS: Helio

- Flujo: 1.1 mL/min

DETECTOR DE MASAS

- T detector: 280°C
- Intervalo de masas: 30-450 m/z
- Modo de adquisición: SIM
- *Solvent delay*: 4.5 min

3.3 Cromatografía de líquidos

3.3.1 Preparación de soluciones para HPLC

En cromatografía de líquidos se empleó la técnica de estándar externo.

Para preparar las soluciones de trabajo empleadas en las pruebas preliminares y en la prueba inicial de desempeño se partió de los estándares certificados de Ultra Scientific y se realizaron las siguientes diluciones:

Dilución primaria de la mezcla de 16 PAHs

De la mezcla de 16 PAHs que incluye 8 concentraciones diferentes en un intervalo de 20 a 1000 µg/mL en acetonitrilo-metanol 9:1, se midieron 50 µL y se añadieron a 950 µL de acetonitrilo para obtener concentraciones de 1 a 50 µg/mL para cada hidrocarburo.

Dilución secundaria de la mezcla de 16 PAHs

De la solución de dilución primaria se tomaron 250 µL y se mezclaron con 750 µL de acetonitrilo para obtener concentraciones de 0.25 a 12.5 µg/mL. Esta solución se usó para preparar los estándares para la calibración y para fortificar blancos y muestras.

Dilución terciaria de la mezcla de 16 PAHs

De la solución de dilución secundaria se tomaron 250 μL y se mezclaron con 750 μL de acetonitrilo para obtener concentraciones de 0.0625 a 3.125 $\mu\text{g/mL}$. Esta solución se usó para preparar estándares para la calibración y para fortificar las muestras empleadas en la validación del método LLE-HPLC/FLU-UV. En la tabla 7 se presentan las concentraciones de los 16 PAHs en cada solución.

Tabla 7. Concentraciones de PAHs en la ampolleta original y diluciones.

PAH	Original $\mu\text{g/mL}$	1ª dilución $\mu\text{g/mL}$	2ª dilución $\mu\text{g/mL}$	3ª dilución $\mu\text{g/mL}$
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	0.15625
Pireno	100	5.0	1.250	0.3125
Benzo(a)antraceno	50	2.5	0.625	0.15625
Criseno	50	2.5	0.625	0.15625
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	0.15625
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	0.15625

3.3.2 Estándares de Calibración para HPLC

Los estándares para la calibración se prepararon por triplicado a cinco niveles de concentración (N-1 a N-5) a partir de la dilución secundaria de la mezcla de PAHs, empleando 10, 20, 30, 40 y 50 μL para cada nivel respectivamente en un volumen final de 1000 μL con acetonitrilo. La tabla 8 muestra los niveles de concentración empleados en la construcción de las curvas de calibración para cada hidrocarburo.

Tabla 8. Niveles de concentración de los estándares de calibración para HPLC.

Analito	N-1 ng/mL	N-2 ng/mL	N-3 ng/mL	N-4 ng/mL	N-5 ng/mL
Naftaleno	62.50	125.00	187.50	250.00	312.50
Acenaftileno	62.50	125.00	187.50	250.00	312.50
Acenafteno	125.00	250.00	375.00	500.00	625.00
Fluoreno	12.50	25.00	37.50	50.00	62.50
Fenantreno	5.00	10.00	15.00	20.00	25.00
Antraceno	2.50	5.00	7.50	10.00	12.50
Fluoranteno	6.25	12.50	18.75	25.00	31.25
Pireno	12.50	25.00	37.50	50.00	62.50
Benzo(a)antraceno	6.25	12.50	18.75	25.00	31.25
Criseno	6.25	12.50	18.75	25.00	31.25
Benzo(b)fluoranteno	2.50	5.00	7.50	10.00	12.50
Benzo(k)fluoranteno	2.50	5.00	7.50	10.00	12.50
Benzo(a)pireno	6.25	12.50	18.75	25.00	31.25
Dibenzo(a,h)antraceno	25.00	50.00	75.00	100.00	125.00
Benzo(ghi)perileno	10.00	20.00	30.00	40.00	50.00
Indeno(1,2,3-cd)pireno	6.25	12.50	18.75	25.00	31.25

3.3.3 Obtención de espectros UV y de fluorescencia

Con el propósito de conocer las longitudes de onda a las que absorbe radiación UV cada hidrocarburo de los 16 de interés en este trabajo, se corrieron los espectros de absorción UV en el espectrofotómetro Beckman DU 7500 y en el detector de arreglo de diodos (DAD) del HPLC para cada hidrocarburo.

Para establecer el programa de longitudes de onda de excitación y emisión en el detector de fluorescencia, se requería tener como datos las longitudes de onda a las que se excitan y emiten fluorescencia cada uno de los 16 PAHs, de modo que fue necesario obtener los espectros de excitación y de emisión de Fluorescencia para cada hidrocarburo, para ello se utilizó el Espectrómetro Luminiscence Perkin Elmer LS 50B.

Se corrieron los cromatogramas individuales para cada hidrocarburo y de mezclas de los 16 PAHs bajo las condiciones de operación de partida establecidas por Ramírez Villarreal (65) en su tesis de maestría.

3.3.4 Condiciones de operación del cromatógrafo de líquidos

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

Las condiciones de operación de partida del cromatógrafo de líquidos fueron las establecidas por Ramírez Villarreal (65) y se resumen en la tabla 9.

Tabla 9. Condiciones de operación de partida para HPLC.

Cromatógrafo	Waters Alliance 2690		
Automuestreador	Waters		
Detector	UV Arreglo de diodos 996		
Columna	Supelco Vydac 201 TPS, 15 cm x 46 mm d.i. C ₁₈ , 5 μm.		
Fase móvil	A agua B acetonitrilo		
Elución	Gradiente		
Programa de gradiente	tmin	%B	duración
	0	40	12 min
	12	40-100	6 min
	18	100-40	9 min
	27	40	
Temperatura	Ambiente		
Flujo	1.5 mL/min		
Tiempo de corrida	27 min		
Volumen de inyección	10 μL		

Ramírez Villarreal (65)

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

A las condiciones de partida se hicieron las siguientes modificaciones:

- Columna: Supelco LC PAH
- Temperatura: Se probaron 3, T ambiente (variable), 30°C y 27°C.
- Flujos: Se probaron 1.0, 1.1, 1.2, 1.3, 1.4, 1.5 mL/min
- Volumen de muestra inyectada: 20 y 10 μL.
- Ganancia: 1; 10; 100; 1 y 10; 10 y 100; 1,10, 100, 1000; 1.
- Atenuación: 32 y 64.
- Gradiente: Se manejaron 10 programas.
- Programa de fluorescencia: Se probaron 30 programas.

Después de probar las modificaciones antes mencionadas se establecieron las condiciones de operación óptimas (finales) por HPLC, en las cuales se incluyó un programa de gradiente de solventes de la fase móvil y un programa de longitudes de onda de excitación y emisión (λ Ex y λ Em) para el detector de fluorescencia. Con estas condiciones se monitoreó la señal de 15 analitos por fluorescencia y la de acenaftileno por UV a una longitud de onda de 228 nm. Las condiciones finales de operación del HPLC se muestran en la tabla 10. La tabla 11 muestra el programa para el detector de fluorescencia.

Tabla 10. Condiciones finales de operación para HPLC.

Cromatógrafo de Líquidos	Waters Alliance 2695		
Automuestreador	Waters		
Detectores	Fluorescencia W 2475		
	UV DAD W2996		
Columna	Supelcosil LC PAH, 25 cm x 4.6 mm, 5 μ m		
Fase móvil	A Agua B Acetonitrilo		
Elución	Gradiente		
Programa de gradiente	tmin	%B	duración
	0	60	12 min
	12	60-100	11 min
	23	100-60	1 min
	24	60	6 min
Temperatura	27°C		
Flujo	1.5 mL/min		
Tiempo de corrida	30 min		
Volumen de inyección	20 μ L		

Tabla 11. Programa de fluorescencia para la determinación de PAHs por HPLC.

Tiempo (min)	λ Ex (nm)	λ Em (nm)	Compuestos detectados
0.0	224	330	Naftaleno
8.5	254	323	Acenafteno, Fluoreno
10.5	250	366	Fenantreno
12.0	252	400	Antraceno
13.0	235	420	Fluoranteno
13.7	236	390	Pireno
14.5	270	385	Benzo(a)antraceno, Criseno
16.0	280	435	Benzo(b)fluoranteno, Benzo(k)fluoranteno Benzo(a)pireno Dibenzo(a,h)antraceno
21.0	299	430	Benzo(ghi)perileno
22.4	305	480	Indeno(1,2,3-cd)pireno
26.0	224	330	

3.4 Validación del sistema cromatográfico

A continuación se mencionan algunos de los parámetros de validación considerados en este trabajo.

3.4.1 Linealidad

Para evaluar la linealidad se prepararon soluciones estándares de calibración a cinco niveles de concentración por triplicado (tablas 5 y 8), las cuales fueron analizadas por GC/MS y por HPLC/FLU-UV. Una vez obtenidas las respuestas de los detectores para cada uno de los estándares de las diferentes concentraciones, se realizó el análisis de regresión por mínimos cuadrados y se elaboró la curva de calibración correspondiente graficando la respuesta en

función de la concentración. Se calcularon los factores de respuesta (F.R.) para cada uno de los puntos que componen dicha curva mediante la ecuación 1.

$$\text{F.R.} = \text{Respuesta del detector/concentración del estándar} \quad (\text{Ec. 1})$$

Donde:

En GC/MS la respuesta del detector corresponde a la relación de áreas analito/estándar interno.

En HPLC la respuesta del detector corresponde al área del pico.

La concentración de los estándares se expresó en $\mu\text{g/mL}$ para GC/MS y en ng/mL para HPLC/FLU-UV.

Con los factores de respuesta (llamados también factores de calibración) obtenidos para cada uno de los puntos de la gráfica de calibración, se calculó la desviación estándar relativa de los mismos según la ecuación 2:

$$\% \text{ RSD} = (\text{SD} \times 100) / \text{promedio de los F.R.} \quad (\text{Ec. 2})$$

Donde:

$\% \text{ RSD}$ = Desviación estándar relativa

SD = Desviación estándar de los factores de respuesta

Para determinar la linealidad se calculó la desviación estándar relativa (%) de los factores de respuesta ($\text{RSD}\%$ de FR) para cada nivel de concentración (68, 69), el criterio de aceptación es que RSD debe ser inferior a 20%. Además, se obtuvo la ecuación de la recta de calibración para cada hidrocarburo y el coeficiente de correlación (r), el criterio de aceptación es que el coeficiente de correlación (r) sea mayor o igual que 0.995, o que el coeficiente de determinación (r^2) sea mayor o igual que 0.990.

3.4.2 Precisión

Para evaluar la precisión se emplearon estándares preparados por triplicado, en cloruro de metileno para GC/MS y en acetonitrilo para HPLC, a los cinco niveles de concentración indicados en las tablas 5 y 8; se calculó el promedio y la desviación estándar relativa para cada nivel de concentración y para las 15 mediciones. La precisión se expresa con la desviación estándar relativa RSD (%), y el criterio de aceptación que hemos establecido para este trabajo es que sea menor que 15 %.

La desviación estándar relativa también se conoce como coeficiente de variación y se calculó como lo indica la ecuación 3.

$$\% \text{ RSD} = (\text{SD} \times 100) / \text{media} \quad (\text{Ec. 3})$$

Donde:

% RSD = Desviación estándar relativa

SD = Desviación estándar

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

3.4.3 Límite de Detección

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

Existen varias formas de calcular los límites de detección, los más utilizados son los criterios de la Conferencia Internacional de Armonización (ICH) y el criterio de Miller y Miller (70, 71).

De acuerdo con el ICH se calcula con la ecuación 4

$$\text{LD} = (3.3 \cdot \sigma) / m \quad (\text{Ec. 4})$$

Donde:

LD = Límite de detección

σ = Desviación estándar de la respuesta (puede ser de varios blancos, o la desviación estándar residual de la línea de regresión o la desviación estándar de los interceptos de "y" de las líneas de regresión)

m = Pendiente de la curva de calibración

En este trabajo se aplicó el criterio de Miller y Miller (71) para el cálculo de los límites de detección, quien define LD como la concentración de analito que proporciona una señal igual a la señal del blanco, y_B , más tres veces la desviación estándar del blanco, s_B .

$$\text{Límite de detección (LD)} = y_B + 3 s_B \quad (\text{Ec. 5})$$

La desviación estándar del blanco s_B equivale a la desviación estándar de la recta de regresión de y sobre x: $s_{y/x}$ y se calcula, de acuerdo con Miller-Miller (71) y la IUPAC (72) con la siguiente fórmula:

$$s_{y/x} = [\Sigma(y-y_i)^2 / n-2]^{1/2} \quad (\text{Ec. 6})$$

Donde:

$s_{y/x}$ = Desviación estándar de la recta de regresión de y sobre x

y = Valor de la respuesta, en este caso área de pico

y_i = Valor de la respuesta estimada obtenida del análisis de regresión

n = Número de estándares empleados en la elaboración de la curva de calibración

Nota: en la fórmula se emplea n-2 porque en un cálculo de regresión lineal el número de grados de libertad es n-2.

3.4.4 Límite de cuantificación

Para calcular los límites de cuantificación se empleó la ecuación 7.

$$LC = y_B + 10 s_B \quad (\text{Ec. 7})$$

Donde:

LC = Límite de cuantificación

y_B = señal del blanco

s_B = desviación estándar del blanco

El criterio de aceptación es que el límite de cuantificación del método debe ser inferior o igual al nivel 1 de la gráfica de calibración.

3.4.5 Exactitud

El método 525.1 de la EPA requiere recuperaciones de 70 a 130% y desviaciones estándares relativas menores que 30%. Se consideraron estos parámetros como criterios de aceptación (27, 46, 73, 74).

Se trabajó con muestras de agua adicionadas a diferentes niveles de concentración y se calcularon los porcentajes de recuperación y sus desviaciones estándares relativas.

3.4.6 Robustez

La robustez de un procedimiento analítico es la medida de su capacidad de permanecer sin afectación por pequeñas, pero deliberadas variaciones en los parámetros del método y proporciona un indicador de su confiabilidad durante el uso rutinario (73). De acuerdo con la Conferencia Internacional de Armonización de 1996, si las medidas son susceptibles a variaciones de las condiciones de

análisis, éstas deben de ser controladas de forma segura o deben de ser incluidas declaraciones precautorias en el proceso.

Las modificaciones que se describieron en las secciones 3.2.3 y 3.3.4 sirvieron para evaluar la robustez de los dos sistemas cromatográficos (GC/MS y HPLC/FLU-UV).

Los resultados de la validación instrumental para las dos técnicas cromatográficas se presentan en las tablas 14, 15 y 16 del capítulo 4.

3.5 Extracción en fase sólida para GC/MS

3.5.1 Metodología general de la extracción en disco y en cartucho para GC/MS

Se tomaron como referencia los métodos 525 y 3535 de la US EPA (27, 40).

Se prepararon blancos fortificados, es decir, agua de laboratorio tipo Milli-Q con los analitos adicionados. Se utilizó un litro de agua y se le añadieron 5 mL de metanol, 20 µL del surrogado perileno d-12 de 100 µg/mL y 30 µL de la mezcla de 16 PAHs de 25 µg/mL, para tener un nivel de fortificación de 0.75 µg/L de cada hidrocarburo; en el procedimiento completo que enseguida se describe se concentró un litro de agua a un mililitro y los PAHs se determinaron por GC/MS. Se evaluó la exactitud y precisión. Los resultados se presentan en el capítulo 4, tabla 17.

Se colocó el disco ENVI C₁₈ de 47 mm centrado en el soporte para la filtración con el lado rugoso hacia arriba. Se ensambló el reservorio sobre el disco y se giró hasta que quedó bien cerrado el sistema para evitar fugas.

Se añadieron 5 mL de cloruro de metileno sobre el disco, se sometió a vacío moderado y se mantuvo el vacío hasta que el disco se secó.

Se agregaron 5 mL de metanol sobre el disco e inmediatamente se aplicó vacío bajo. Se liberó el vacío cuando el metanol estaba justo encima de la superficie del disco, sin permitir que el disco se secase. Inmediatamente después se añadieron 5 mL de agua desionizada sobre el disco y se aplicó vacío bajo. Se liberó el vacío cuando el líquido estaba justo encima de la superficie del disco, sin permitir que el disco se secase.

Durante el acondicionamiento del disco es conveniente dejar líquido extra sobre el disco, para impedir que el aire haga contacto con la superficie del disco o que se seque.

Se colocó la muestra en el reservorio superior del sistema de extracción. Se ajustó el vacío a la velocidad de flujo deseada. Se dejó pasar la muestra tratando de mantener el flujo constante.

Se liberó el vacío. Se quitó el soporte de filtración y reservorio del vacío. Se eliminó el agua procesada del matraz de vacío, se insertó el tubo colector de muestras y se reensambló el equipo. Se agregaron 5 mL de cloruro de metileno a la botella de la muestra para enjuagarla y se añadió el solvente de enjuague sobre el disco. Se hizo vacío y se repitió la elución 3 veces más con 3 mL de cloruro de metileno en cada ocasión.

El eluato se transfirió del tubo colector a un vaso de 50 mL, se secó con sulfato de sodio anhidro, se filtró en papel Whatman No. 41 y se recibió en un vaso de 50 mL. Se evaporó en Kuderna Danish con baño de agua a 40°C o con corriente de nitrógeno hasta un volumen inferior a 1 mL, se añadieron 20 µL de la mezcla de estándares internos (fenantreno d-10, acenafteno d-10 y criseno d-12) de 100 µg/mL. En matraz de aforación, se llevó a 1000 µL con cloruro de metileno. Se transfirió a un vial oscuro con tapa de rosca, se selló con parafilm.

Las muestras procesadas se guardaron en congelación para evitar volatilización del solvente. Se inyectó al CG/MS un volumen de 2 μL de muestra.

El procedimiento para la SPE en columna o cartucho fue similar al procedimiento en disco, sólo que en lugar del reservorio para la muestra, se colocó encima del cartucho un embudo de separación con la muestra, el cual debía estar goteando a un flujo constante, para mantener el nivel de líquido en el cartucho, mientras que a este último se le sometía a vacío a través de un matraz conectado a la bomba de vacío.

3.6 Extracción en fase sólida para HPLC

3.6.1 Metodología general de la extracción en disco y en cartucho para HPLC

Se prepararon blancos fortificados, es decir, agua de laboratorio con los analitos adicionados. Se utilizó 1 Litro de agua Milli-Q y se le añadieron 5 mL de metanol, 30 μL de la mezcla de 16 PAHs de 1 a 50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (solución de dilución primaria), para tener un nivel de fortificación de 0.03 $\mu\text{g}/\text{L}$ a 1.50 $\mu\text{g}/\text{L}$.

El montaje del equipo de extracción, la limpieza del disco o cartucho, el acondicionamiento, la adición de la muestra, la elución de los analitos, el secado y la filtración de la muestra son similares a los descritos en la metodología general de la extracción en disco y en cartucho para GC/MS con las siguientes diferencias: la etapa de concentración de la muestra en este caso se llevó casi a sequedad y se recuperó en 1000 μL de acetonitrilo, no se le adicionaron estándares internos ni surrogados. La solución en acetonitrilo se transfirió a viales con tapa de rosca y se guardaron en refrigeración hasta su análisis en el HPLC/FLU-UV, donde se inyectaron 20 μL de muestra. Se evaluó la exactitud y precisión. Los resultados se presentan en la tabla 18, capítulo 4.

Se prepararon otros blancos fortificados con un litro de agua Milli-Q y los 16 PAHs en concentraciones de 0.05 a 2.50 $\mu\text{g/L}$ y se realizó SPE de 5 réplicas en disco y de 5 réplicas en columna. Los PAHs se determinaron por HPLC/FLU-UV. Se evaluó la exactitud y precisión. Los resultados se presentan en las tablas 19 y 20 del capítulo 4.

Después del estudio piloto fue necesario realizar extracciones en blancos fortificados en concentraciones inferiores a las mencionadas anteriormente. Se prepararon blancos fortificados con un litro de agua Milli-Q y los 16 PAHs en concentraciones de 0.010 a 0.500 $\mu\text{g/L}$. Los PAHs se determinaron por HPLC/FLU-UV. Se evaluó la exactitud y precisión. Los resultados se presentan en la tabla 21 del capítulo 4.

3.7 Extracción líquido-líquido

3.7.1 Metodología general de la extracción líquido-líquido

Se tomó como referencia el método 550 de la US EPA (26), pero en lugar de trabajar con un litro de agua como describe el método EPA, se usaron 250 mL. Se prepararon blancos fortificados con 250 mL de agua de laboratorio (bidestilada) y 10 μL de la mezcla de 16 PAHs de 0.25 –12.5 $\mu\text{g/mL}$ (solución de dilución secundaria), para tener un nivel de fortificación de 0.010 – 0.500 $\mu\text{g/L}$.

Se colocó la muestra en un embudo de separación de 500 mL, se agregaron 15 mL de cloruro de metileno, se agitó durante un minuto, se dejó reposar durante 15 minutos y se realizaron 2 extracciones más con 15 mL de cloruro de metileno cada una. Los extractos se colectaron en un vaso de 50 mL, se les agregó sulfato de sodio anhidro para eliminar el agua, se filtró en papel Wathman No. 41, se recibió el filtrado en un vaso de 50 mL y se dejó tapado y en una campana durante toda la noche; al día siguiente se volatilizó el solvente con

corriente de nitrógeno, se recuperó con 250 μL de acetonitrilo, se transfirió a insertos de vidrio cónicos en un vial de vidrio Waters con tapa de rosca y septa de PTFE/silicon y se guardó en refrigeración hasta la inyección de 20 μL en el HPLC/FLU-UV. Se evaluó la exactitud y precisión. Los resultados se presentan en la tabla 22 del capítulo 4.

La misma metodología de LLE se aplicó a muestras de agua de la Presa Rodrigo Gómez fortificada con los 16 PAHs en concentraciones de 0.010 – 0.500 $\mu\text{g/L}$. Se evaluó la exactitud y precisión. Los resultados se presentan en la tabla 23 del capítulo 4.

El mismo procedimiento LLE se aplicó a 4 blancos fortificados con los 16 PAHs en concentraciones de 5 a 250 ng/L , a 7 réplicas de una muestra de agua de la Presa Rodrigo Gómez fortificada a las mismas concentraciones que los blancos y a 6 réplicas de la misma muestra de agua de la presa fortificada en concentraciones de 7.5 a 375 ng/L . Se evaluó la exactitud y precisión. Los resultados se presentan en la tabla 24 del capítulo 4.

3.7.2 Validación del método LLE-HPLC/FLU-UV

Para la validación del método completo, que incluye la extracción líquido-líquido y el análisis por HPLC, se trabajó con agua de la Presa Rodrigo Gómez fortificada a 3 niveles de concentración de cada compuesto (a 250 mL de agua se adicionaron diferentes volúmenes de la solución de dilución terciaria) por triplicado, se usó LLE, se concentró a 250 μL , luego se separaron y cuantificaron los PAHs mediante HPLC-FLU-UV. Se evaluó la linealidad y la precisión, se calcularon los límites de detección y de cuantificación del mismo modo que cuando se realizó la validación de los sistemas cromatográficos. Los resultados se presentan en la tabla 25 del capítulo 4.

3.7.3 Estudio ciego

Como parte del estudio de aplicación del método LLE-HPLC-FLU-UV se realizó el análisis por triplicado de una muestra de agua de uno de los sitios de muestreo, fortificada con los 16 PAHs, pero en niveles de concentración desconocidos por el analista.

3.8 Aplicación del método a muestras reales

El método descrito se aplicó a muestras reales. Se realizó un muestreo piloto en julio de 2004, luego en noviembre de 2004, y a partir de diciembre 2004 se tomaron muestras mensuales en 8 sitios seleccionados.

Para el muestreo de agua se consideraron los lineamientos de la NOM-014-SSA1-1993, que se refiere a los "Procedimientos sanitarios para el muestreo de agua para uso y consumo humano en sistemas de abastecimiento de agua públicos y privados" (75) y las recomendaciones de los métodos 550 y 525 de la EPA (26, 27). Se usaron frascos de vidrio oscuro con capacidad para 4 litros, se conservaron en hieleras para su transporte y se guardaron en refrigeración a 4°C hasta el momento de la extracción. Las extracciones se realizaron dentro de un período de 7 días contados a partir de la colecta, se guardaron en refrigeración y se completó el análisis dentro de un período de 30 días contados a partir de la colecta.

Cada mes se construyó una curva de calibración para cada hidrocarburo, se corrieron cromatogramas de blancos de solvente, de columna y de extracción y se evaluó el contenido de PAHs en muestras de agua fortificada y sin fortificar.

CAPÍTULO 4

RESULTADOS

4.1 Análisis por cromatografía de gases

La figura 1 muestra un cromatograma obtenido con las condiciones de operación finales por GC/MS y la tabla 12 presenta los tiempos de retención para cada uno de los 16 PAHs, los estándares internos y el estándar surrogado obtenidos por GC/MS, además de los iones de fragmentación seleccionados para su cuantificación e identificación.

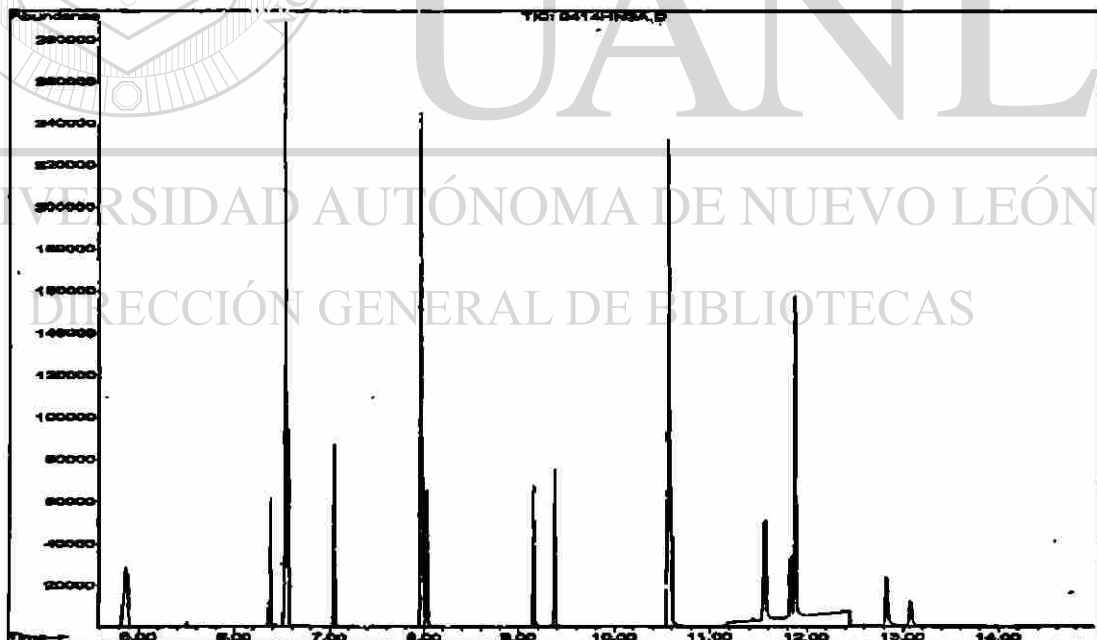


Figura 1. Cromatograma de 16 PAHs, 3 estándares internos y un estándar surrogado obtenido por GC/MS en las condiciones de operación finales.

Tabla 12. Tiempos de retención y iones seleccionados para el monitoreo de PAHs por GC/MS.

Compuesto	Peso Molecular	Fórmula	Tiempo de retención (min)	Iones de fragmentación
Naftaleno	128	C ₁₀ H ₈	4.84	128, 127, 129
Acenaftileno	152	C ₁₂ H ₈	6.36	152, 151, 153
Acenafteno-d ₁₀ (IS)	164	C ₁₂ D ₁₀	6.52	164, 162, 160
Acenafteno	154	C ₁₂ H ₁₀	6.54	154, 153, 152
Fluorene	166	C ₁₃ H ₁₀	7.03	166, 165, 167
Fenantreno-d ₁₀ (IS)	188	C ₁₄ D ₁₀	7.95	188, 94, 189
Fenantreno	178	C ₁₄ H ₁₀	7.97	178, 176, 179
Antraceno	178	C ₁₄ H ₁₀	8.01	178, 176, 179
Fluoranteno	202	C ₁₆ H ₁₀	9.14	202, 201, 203
Pireno	202	C ₁₆ H ₁₀	9.36	202, 200, 203
Benzo(a)antraceno	228	C ₁₈ H ₁₂	10.54	228, 226, 229
Criseno-d ₁₂ (IS)	240	C ₁₈ D ₁₂	10.56	240, 120, 236
Criseno	228	C ₁₈ H ₁₂	10.58	228, 226, 229
Benzo(b)fluoranteno	252	C ₂₀ H ₁₂	11.54	252, 253, 126
Benzo(k)fluoranteno	252	C ₂₀ H ₁₂	11.56	252, 253, 126
Benzo(a)pireno	252	C ₂₀ H ₁₂	11.82	252, 253, 126
Perileno-d ₁₂ (SURR)	264	C ₂₀ D ₁₂	11.87	264, 260, 265
Indeno(1,2,3-cd)pireno	276	C ₂₂ H ₁₂	12.81	276, 138, 277
Dibenzo(a,h)antraceno	278	C ₂₂ H ₁₄	12.82	278, 139, 276
Benzo(ghi)perileno	276	C ₂₂ H ₁₂	13.06	276, 138, 277

IS = Estándar Interno

SURR = Surrogado

4.2 Análisis por cromatografía de líquidos

La figura 2 muestra un cromatograma obtenido por HPLC para la mezcla de los 16 PAHs con el detector de fluorescencia, se observan 15 señales para los 15 hidrocarburos que emiten fluorescencia, el primer compuesto eluye a los 6.2 minutos y el último a los 22.6 minutos.

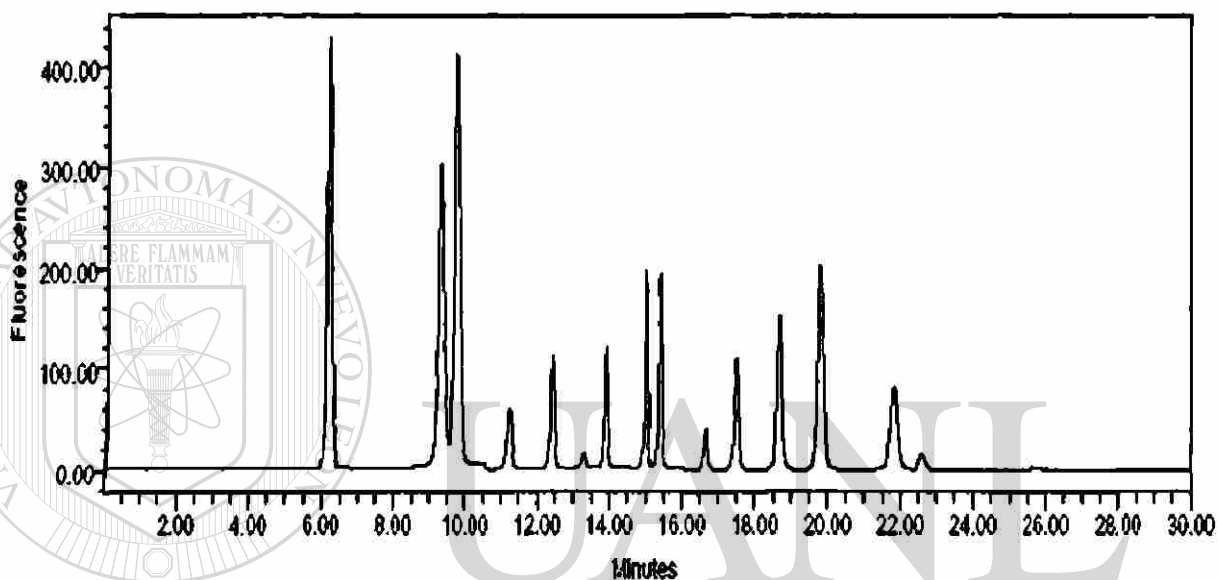


Figura 2. Cromatograma de 16 PAHs obtenido por HPLC/FLU-UV.

Para la determinación del Acenaftileno se usó el detector UV de arreglo de diodos a 228 nm, la figura 3 presenta su cromatograma y se indica su tiempo de retención de 7.3 minutos. También se observa una señal más intensa a 9.4 min, que corresponde al acenafteno, pero ese compuesto se cuantificó con el detector de fluorescencia en este trabajo.

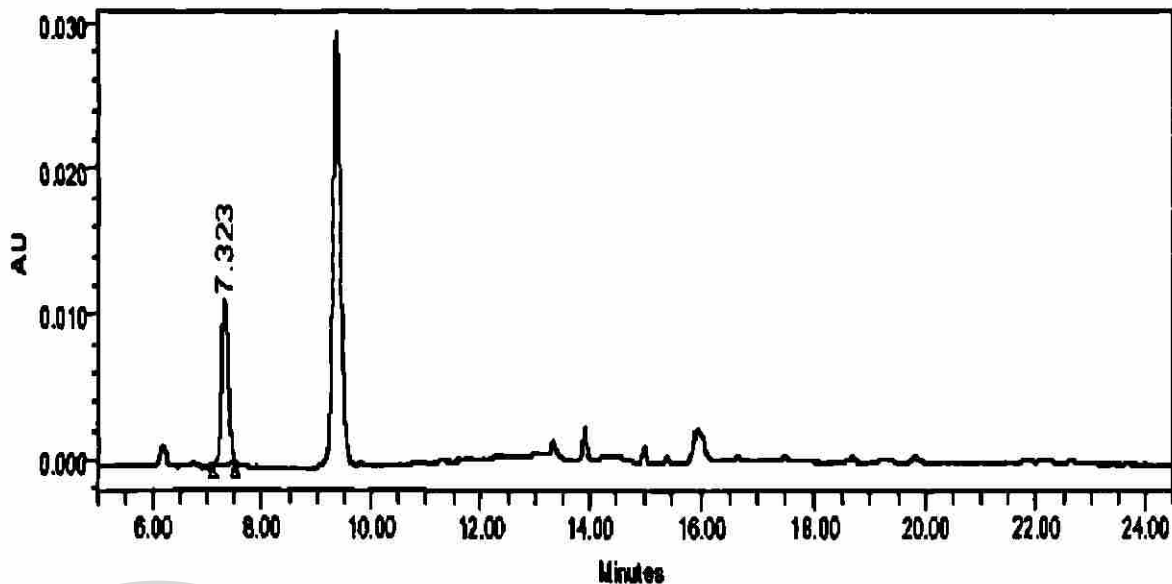


Figura 3. Cromatograma para Acenafileno obtenido por HPLC/UV a 228 nm.

En la tabla 13 se presentan los tiempos de retención para cada uno de los 16 PAHs en orden de elución, obtenidos en el cromatógrafo de líquidos con los detectores de fluorescencia y ultravioleta, bajo las condiciones de operación de la tabla 10 y el programa de fluorescencia de la tabla 11, la cual presenta las longitudes de onda a las que se monitorearon los 16 PAHs.

Tabla 13. Tiempos de retención para cada uno de los 16 PAHs, obtenidos por HPLC/FLU-UV.

Analito	t _R (min)	Analito	t _R (min)
Naftaleno	6.2	Benzo(a)antraceno	15.0
Acenafileno	7.3	Criseno	15.4
Acenafteno	9.4	Benzo(b)fluoranteno	16.7
Fluoreno	9.9	Benzo(k)fluoranteno	17.6
Fenantreno	11.4	Benzo(a)pireno	18.8
Antraceno	12.5	Dibenzo(a,h)antraceno	19.9
Fluoranteno	13.4	Benzo(ghi)perileno	21.9
Pireno	13.9	Indeno(1,2,3-cd)pireno	22.6

Para optimizar las señales de los analitos en el detector de fluorescencia, durante el desarrollo del programa se hicieron modificaciones en los tiempos y en las longitudes de onda de excitación y emisión hasta llegar al programa de la tabla 11. Algunos ejemplos de los resultados obtenidos en esas modificaciones se presentan enseguida.

La figura 4 presenta el cromatograma obtenido en el HPLC con el detector de fluorescencia para la mezcla de 16 PAHs, haciendo el primer cambio en el programa de fluorescencia de λ Ex a 254 y λ Em a 323 nm a los 9 min en lugar de 8.5 min. Se observa una señal partida del pico de 9.4 min (comparado con el cromatograma obtenido bajo condiciones óptimas mostrado en la figura 2).

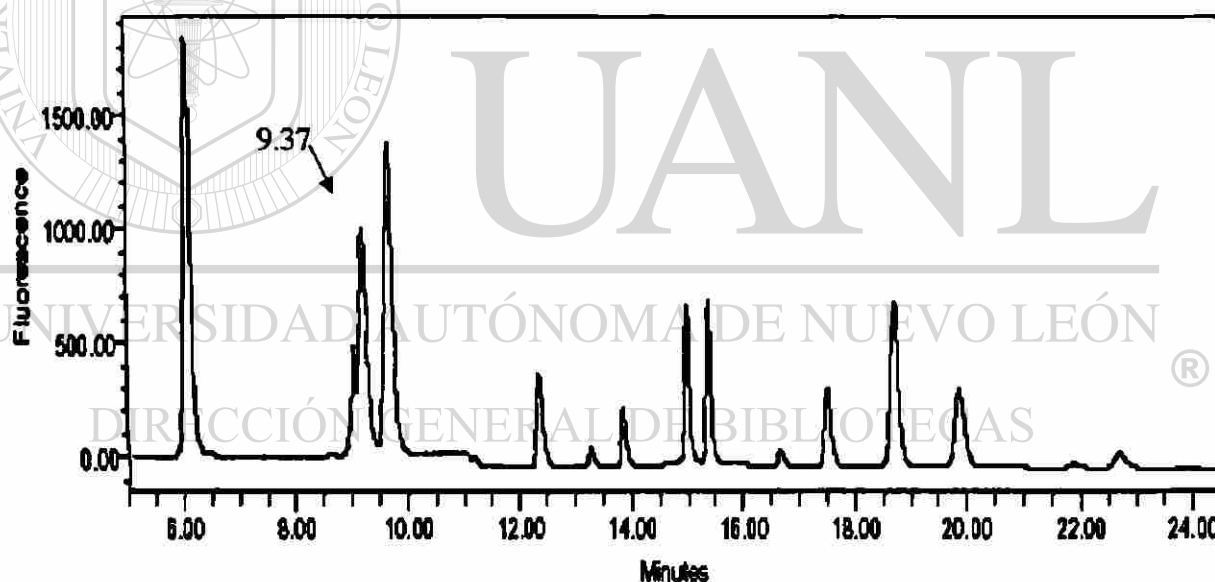


Figura 4. Cromatograma de 16 PAHs con longitudes de onda de excitación y de emisión a 254 y 323 nm a los 9 minutos en el programa de fluorescencia.

Las figuras 5, 6 y 7 corresponden a cromatogramas obtenidos a diferentes λ Ex (216, 227 y 254 nm), misma λ Em (323 nm) y tiempo de 8.5 minutos.

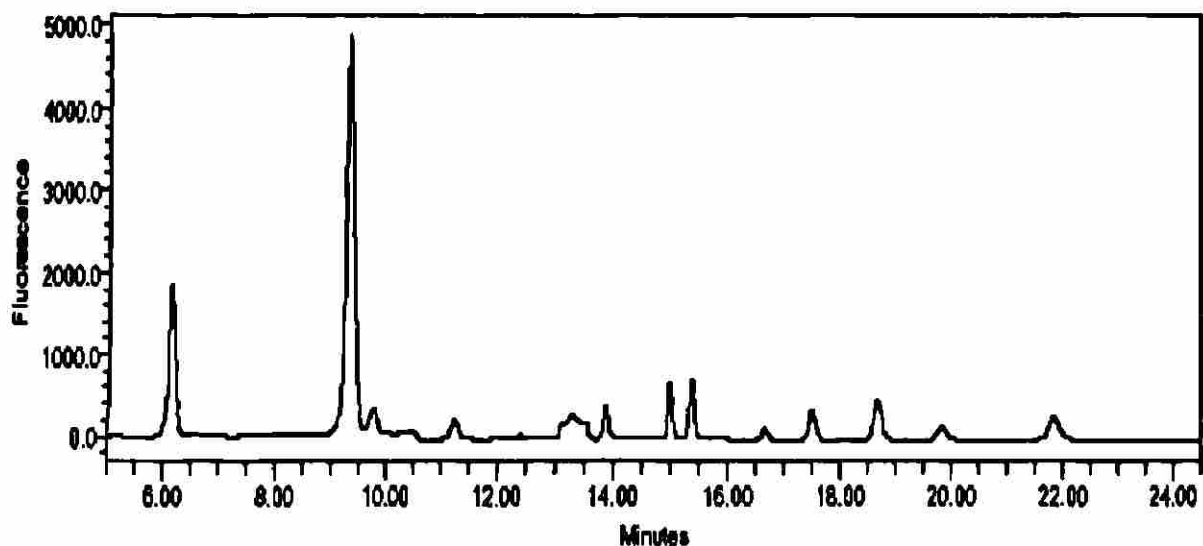


Figura 5. Cromatograma de 16 PAHs con longitudes de onda de excitación y de emisión a 216 nm y 323 nm a 8.5 min.

El cromatograma de la figura 6 se obtuvo a una longitud de onda de excitación y emisión de 227 y 323 nm, respectivamente, a 8.5 minutos.

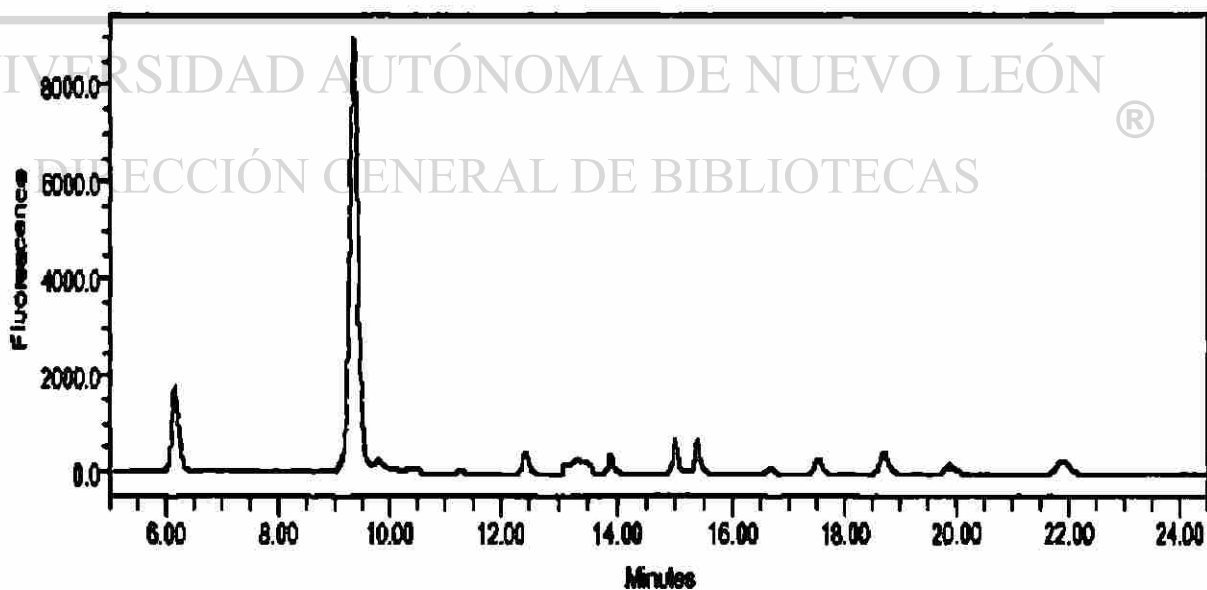


Figura 6. Cromatograma de 16 PAHs con longitudes de onda de excitación y de emisión a 227 nm y 323 nm a 8.5 min.

El cromatograma de la figura 7 se obtuvo a una longitud de onda de excitación de 254 nm, emisión 323 nm, a 8.5 minutos, que fueron las condiciones óptimas para separar acenafteno y fluoreno, en este cromatograma aún no se optimizaban las condiciones para la separación de los últimos tres analitos que son: dibenzo(a,h)antraceno, benzo(ghi)perileno e indeno(1,2,3-cd)pireno.

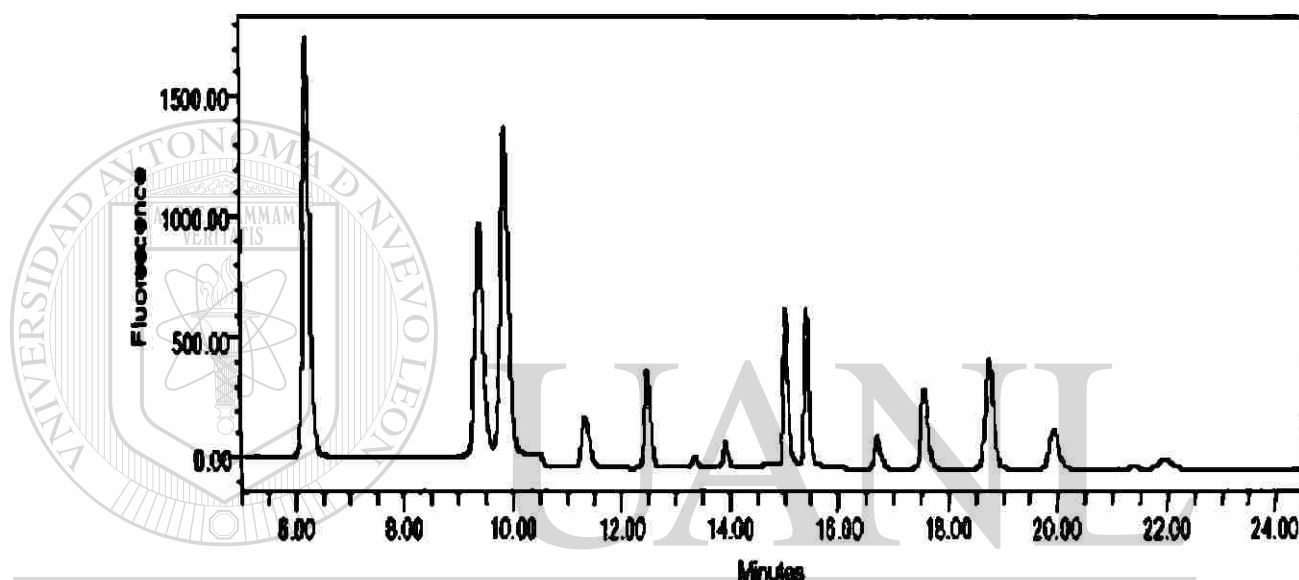


Figura 7. Cromatograma de 16 PAHs con longitudes de onda de excitación y de emisión a 254 nm y 323 nm a 8.5 min.

La figura 8 muestra un cromatograma obtenido bajo las condiciones finales de operación del cromatógrafo de líquidos y con el programa final de longitudes de onda optimizado para todos los analitos, para una solución con niveles de concentración de los 16 analitos inferiores a los utilizados en los cromatogramas anteriores y que corresponde a concentraciones de 0.010 a 0.500 $\mu\text{g/mL}$, en el que se indican los tiempos de retención de los compuestos.

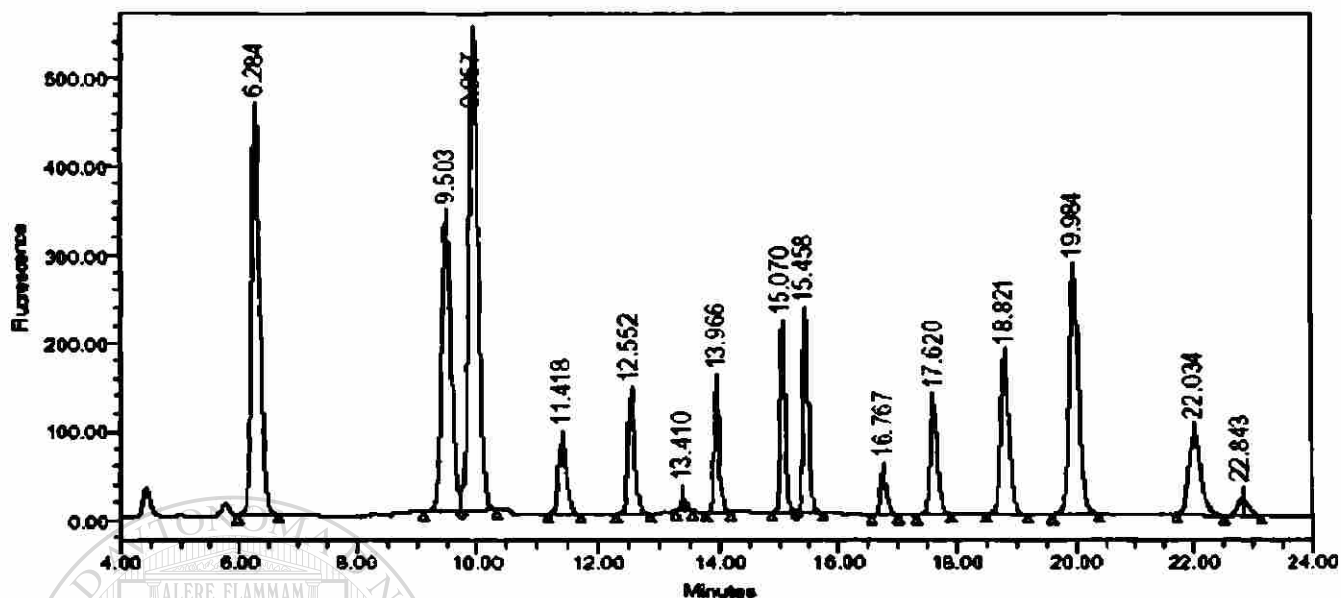


Figura 8. Cromatograma de 16 PAHs, obtenido bajo las condiciones finales de operación por HPLC/FLU-UV.

4.3 Validación

La tabla 14 presenta un resumen de los resultados obtenidos en la validación instrumental por GC/MS, incluye el intervalo de trabajo utilizado para construir las curvas de calibración para cada analito, el coeficiente de correlación de la curva de calibración como parámetro de linealidad, el porcentaje de la desviación estándar relativa como medida de la precisión, y los límites de detección (LD) y de cuantificación (LC).

La tabla 15 corresponde a los parámetros de validación instrumental por HPLC/FLU-UV para los 16 PAHs.

Tabla 14. Parámetros de validación instrumental obtenidos por GC/MS para 16 PAHs.

Analito	Intervalo de calibración ng/mL	Coefficiente de correlación (r)	RSD (%)	LD ng/mL	LC ng/mL
Naftaleno	250-1250	1.000	2.21	34.80	104.40
Acenaftileno	250-1250	1.000	3.54	42.71	128.13
Acenafteno	250-1250	1.000	2.39	41.50	124.50
Fluoreno	250-1250	1.000	2.00	41.40	124.20
Fenantreno	250-1250	0.998	2.67	80.49	241.47
Antraceno	250-1250	0.999	3.11	61.08	183.24
Fluoranteno	250-1250	0.999	2.47	63.50	190.50
Pireno	250-1250	0.999	2.57	64.90	194.70
Benzo(a)antraceno	250-1250	0.999	5.59	51.91	155.73
Criseno	250-1250	0.998	3.21	89.19	267.57
Benzo(b)fluoranteno	100-1000	1.000	2.29	35.71	107.14
Benzo(k)fluoranteno	250-1250	0.998	6.29	79.79	239.37
Benzo(a)pireno	250-1250	0.999	5.93	45.35	136.05
Indeno(1,2,3-cd)pireno	250-1250	1.000	4.81	35.99	107.97
Dibenzo(a,h)antraceno	250-1250	1.000	4.64	28.17	84.51
Benzo(ghi)perileno	250-1250	1.000	4.84	42.79	128.37

Tabla 15. Parámetros de validación instrumental obtenidos por HPLC/FLU-UV para 16 PAHs.

Analito	Intervalo de calibración ng/mL	Coefficiente de correlación (r)	RSD (%)	LD ng/mL	LC ng/mL
Naftaleno	62.50-312.50	1.000	2.83	6.23	18.70
Acenaftileno	62.50-312.50	1.000	2.23	10.83	32.49
Acenafteno	125.00-625.00	1.000	2.14	21.19	63.56
Fluoreno	12.50-62.50	1.000	1.91	1.82	5.45
Fenantreno	5.00-25.00	1.000	2.47	1.34	4.03
Antraceno	2.50-12.50	1.000	1.64	0.47	1.41
Fluoranteno	6.25-31.25	1.000	1.97	0.49	1.46
Pireno	12.50-62.50	1.000	2.78	1.07	3.21
Benzo(a)antraceno	6.25-31.25	1.000	2.72	1.00	3.01
Criseno	6.25-31.25	0.999	2.90	1.42	4.25
Benzo(b)fluoranteno	2.50-12.50	1.000	2.31	0.61	1.83
Benzo(k)fluoranteno	2.50-12.50	0.999	1.74	0.41	1.23
Benzo(a)pireno	6.25-31.25	1.000	2.17	1.32	3.95
Dibenzo(a,h)antraceno	25.00-125.00	1.000	1.61	3.75	11.24
Benzo(ghi)perileno	10.00-50.00	1.000	1.59	1.89	5.68
Indeno(1,2,3-cd)pireno	6.25-31.25	1.000	3.45	2.28	6.85

La tabla 16 muestra los resultados de %RSD de los factores de respuesta, que es uno de los parámetros de validación para evaluar la linealidad (además del coeficiente de correlación de la curva de calibración) obtenidos para cada uno de los 16 PAHs por GC/MS y por HPLC/FLU-UV.

Tabla 16. Linealidad expresada como %RSD de los factores de respuesta (FR) para 16 PAHs por GC/MS y por HPLC/FLU-UV.

Analito	GC/MS %RSD de FR	HPLC/FLU-UV % RSD de FR
Naftaleno	5.13	2.78
Acenaftileno	3.68	3.30
Acenafteno	6.02	3.01
Fluoreno	4.47	3.07
Fenantreno	6.52	3.20
Antraceno	3.57	2.51
Fluoranteno	3.79	2.20
Pireno	3.89	2.63
Benzo(a)antraceno	5.24	3.03
Criseno	6.31	3.38
Benzo(b)fluoranteno	6.89	3.51
Benzo(k)fluoranteno	6.07	2.57
Benzo(a)pireno	7.83	2.99
Dibenzo(a,h)antraceno	6.50	2.26
Benzo(ghi)perileno	4.83	2.95
Indeno(1,2,3-cd)pireno	4.67	5.87

4.4 Extracción en fase sólida

4.4.1 Extracción en fase sólida para GC/MS

Los resultados de exactitud y precisión obtenidos para la extracción en fase sólida en discos, empleando blancos fortificados preparados con agua tipo Milli-Q, con los 16 PAHs adicionados en concentración de 0.75 µg/L para cada analito, por quintuplicado, se expresan como porcentaje de recuperación (%R) y porcentaje de desviación estándar relativa (%RSD), respectivamente y se presentan en la tabla 17. La separación y cuantificación se realizó por cromatografía de gases con detector de espectrometría de masas.

Tabla 17. Exactitud (%R) y Precisión (%RSD) para SPE en disco de blancos fortificados con 16 PAHs en concentraciones de 0.75 µg/L y determinados por GC/MS, n = 5.

Analito	%R	%RSD	Analito	%R	%RSD
Naftaleno	25.31	27.52	Benzo(a)antraceno	95.30	18.42
Acenaftileno	53.85	15.85	Criseno	78.09	18.73
Acenafteno	53.62	13.90	Benzo(b)fluoranteno	82.28	25.69
Fluoreno	60.21	14.37	Benzo(k)fluoranteno	26.97	6.22
Fenantreno	67.76	15.27	Benzo(a)pireno	72.80	24.85
Antraceno	70.08	16.30	Dibenzo(a,h)antraceno	70.21	22.38
Fluoranteno	82.11	17.23	Benzo(ghi)perileno	42.51	13.08
Pireno	82.56	17.01	Indeno(1,2,3.cd)pireno	75.57	6.33
			Promedio	65.02	17.10

4.4.2 Extracción en fase sólida para HPLC

Los resultados de exactitud y precisión obtenidos para la extracción en fase sólida en discos, para blancos fortificados preparados con agua tipo Milli-Q, con los 16 PAHs adicionados a niveles de concentración de 0.03 a 1.50 µg/L, por quintuplicado, se expresan como porcentaje de recuperación (%R) y porcentaje de desviación estándar relativa (%RSD), respectivamente y se presentan en la tabla 18. La separación y cuantificación se realizó por cromatografía de líquidos con detectores de fluorescencia y ultravioleta.

Tabla 18. Exactitud (%R) y Precisión (%RSD) para SPE en disco de blancos fortificados con 16 PAHs en concentraciones de 0.03 a 1.50 µg/L y determinados por HPLC/FLU-UV, n = 5.

Analito	%R	%RSD	Analito	%R	%RSD
Naftaleno	39.32	15.69	Benzo(a)antraceno	83.17	0.53
Acenaftileno	49.15	2.53	Criseno	81.12	0.58
Acenafteno	55.74	3.59	Benzo(b)fluoranteno	81.08	4.48
Fluoreno	68.63	7.30	Benzo(k)fluoranteno	75.84	9.04
Fenantreno	85.84	10.54	Benzo(a)pireno	83.31	2.96
Antraceno	87.01	11.21	Dibenzo(a,h)antraceno	37.13	9.60
Fluoranteno	99.34	13.12	Benzo(ghi)perileno	54.83	9.65
Pireno	86.85	2.37	Indeno(1,2,3.cd)pireno	61.35	11.44
			Promedio	70.62	7.16

La tabla 19 muestra los resultados de exactitud expresados como porcentaje de recuperación (%R) para la extracción en fase sólida de 5 réplicas en columnas y 5 réplicas en discos para blancos fortificados preparados con agua tipo Milli-Q y los 16 PAHs adicionados en concentraciones de 0.05 a 2.50 µg/L, empleando el cromatógrafo de líquidos con los detectores de fluorescencia y ultravioleta. La tabla 20 presenta los resultados de precisión para las mismas soluciones.

Tabla 19. Exactitud (%R) de SPE en columna y disco para blancos fortificados con los 16 PAHs en concentraciones de 0.05 a 2.50 µg/L y determinados por HPLC-FLU-UV, n = 5.

Analito	%R columna	%R disco	Analito	%R columna	%R disco
Naftaleno	44.60	56.00	Benzo(a)antraceno	67.00	87.60
Acenaftileno	55.40	63.40	Criseno	69.40	85.40
Acenafteno	62.00	68.80	Benzo(b)fluoranteno	64.20	87.80
Fluoreno	66.75	87.00	Benzo(k)fluoranteno	60.00	82.40
Fenantreno	79.40	91.00	Benzo(a)pireno	57.00	75.80
Antraceno	64.80	75.00	Dibenzo(a,h)antraceno	47.60	68.40
Fluoranteno	74.80	92.60	Benzo(ghi)perileno	42.50	63.80
Pireno	72.20	88.80	Indeno(1,2,3.cd)pireno	55.25	95.80

Tabla 20. Precisión (%RSD) de SPE en columna y disco para blancos fortificados con los 16 PAHs en concentraciones de 0.05 a 2.50 µg/L y determinados por HPLC/FLU-UV, n = 5.

Analito	%RSD columna	%RSD disco	Analito	%RSD columna	%RSD disco
Naftaleno	32.90	28.00	Benzo(a)antraceno	16.59	9.77
Acenaftileno	22.09	10.32	Criseno	17.64	13.85
Acenafteno	23.07	5.18	Benzo(b)fluoranteno	15.12	14.33
Fluoreno	26.92	16.01	Benzo(k)fluoranteno	14.14	11.82
Fenantreno	23.15	10.10	Benzo(a)pireno	11.44	11.63
Antraceno	20.54	10.41	Dibenzo(a,h)antraceno	31.32	26.65
Fluoranteno	18.63	12.86	Benzo(ghi)perileno	13.65	28.16
Pireno	16.07	15.89	Indeno(1,2,3.cd)pireno	16.68	16.36

4.5 Estudio piloto

Se realizó un estudio piloto en muestras obtenidas en los siguientes puntos:

- Ejido Escobas, Guadalupe, N.L.
- Vado de Cd. Benito Juárez, N.L.
- Cadereyta Jiménez, N.L.
- Río San Juan, San Juan, Cadereyta, N.L..
- Presa Rodrigo Gómez, Santiago, N.L.
- Río Santa Catarina (Parque España), Monterrey, N.L.
- Río Santa Catarina (F.U. Gómez), Monterrey, N.L.
- Río Santa Catarina (Gonzalitos), Monterrey, N.L.

La tabla 21 muestra los resultados obtenidos por HPLC de las extracciones en fase sólida con discos C₁₈ para 4 blancos fortificados en concentraciones de 0.010 a 0.500 µg/L.

Tabla 21. Exactitud (%R) y Precisión (%RSD) para SPE en disco de blancos fortificados con 16 PAHs en concentraciones de 0.010 a 0.500 µg/L determinados por HPLC/FLU-UV, n = 4.

Analito	%R	%RSD	Analito	%R	%RSD
Naftaleno	34.70	6.27	Benzo(a)antraceno	54.54	4.50
Acenaftileno	36.77	3.19	Criseno	55.08	3.46
Acenafteno	42.06	5.84	Benzo(b)fluoranteno	51.89	8.46
Fluoreno	51.91	4.00	Benzo(k)fluoranteno	52.15	5.72
Fenantreno	61.74	2.92	Benzo(a)pireno	56.82	4.63
Antraceno	56.84	8.26	Dibenzo(a,h)antraceno	17.96	28.71
Fluoranteno	73.78	3.41	Benzo(ghi)perileno	28.49	3.18
Pireno	56.92	2.73	Indeno(1,2,3.cd)pireno	44.18	22.41
			Promedio	48.48	7.35

4.6 Extracción líquido-líquido

En la tabla 22 se presentan los resultados obtenidos para la extracción líquido-líquido (LLE) de blancos fortificados a concentraciones de 0.010 a 0.500 $\mu\text{g/L}$ y determinados por HPLC/FLU-UV. La exactitud y precisión se expresan como porcentaje de recuperación (%R) y porcentaje de desviación estándar relativa (%RSD) respectivamente.

Tabla 22. Exactitud (%R) y Precisión (%RSD) para LLE de blancos fortificados con 16 PAHs en concentraciones de 0.010 a 0.500 $\mu\text{g/L}$ y determinados por HPLC/FLU-UV, n = 5.

PAH	Conc. $\mu\text{g/L}$	% R	SD	% RSD
Naftaleno	0.250	60.54	17.07	28.19
Acenaftileno	0.250	60.07	5.50	9.15
Acenafteno	0.500	58.69	5.15	8.77
Fluoreno	0.050	67.28	2.64	3.93
Fenantreno	0.020	82.19	4.50	5.48
Antraceno	0.010	73.61	5.67	7.71
Fluoranteno	0.025	99.21	4.43	4.47
Pireno	0.050	94.57	4.65	4.91
Benzo(a)antraceno	0.025	89.98	4.26	4.73
Criseno	0.025	105.34	4.16	3.95
Benzo(b)fluoranteno	0.010	98.64	3.79	3.84
Benzo(k)fluoranteno	0.010	94.34	3.89	4.13
Benzo(a)pireno	0.025	69.91	2.42	3.47
Dibenzo(a,h)antraceno	0.100	91.19	4.19	4.60
Benzo(ghi)perileno	0.040	94.34	2.80	2.97
Indeno(1,2,3-cd)pireno	0.025	99.47	1.22	1.22
Promedio		83.71	4.77	6.34

La tabla 23 muestra los resultados obtenidos por HPLC/FLU-UV para la extracción líquido-líquido (LLE) de una muestra de agua de la cortina de la Presa Rodrigo Gómez fortificada con los 16 PAHs en concentraciones de 0.010 a 0.500 µg/L, se realizó por triplicado.

Tabla 23. Exactitud (%R) y Precisión (%RSD) obtenidos por HPLC/FLU-UV para LLE de muestras de agua de la cortina de la Presa Rodrigo Gómez fortificadas, n = 3.

PAH	Conc. µg/L	%R	% RSD
Naftaleno	0.250	60.75	11.49
Acenaftileno	0.250	65.09	11.80
Acenafteno	0.500	74.97	13.31
Fluoreno	0.050	76.62	10.09
Fenantreno	0.020	77.29	5.30
Antraceno	0.010	76.27	4.01
Fluoranteno	0.025	72.91	9.16
Pireno	0.050	86.60	4.31
Benzo(a)antraceno	0.025	95.39	9.50
Criseno	0.025	90.11	8.84
Benzo(b)fluoranteno	0.010	89.73	6.71
Benzo(k)fluoranteno	0.010	90.46	7.21
Benzo(a)pireno	0.025	76.98	14.21
Dibenzo(a,h)antraceno	0.100	87.68	7.75
Benzo(ghi)perileno	0.040	91.83	9.12
Indeno(1,2,3-cd)pireno	0.025	88.82	4.80
Promedio		81.34	8.60

La tabla 24 resume los resultados obtenidos por HPLC/FLU-UV para la extracción líquido-líquido de cuatro réplicas de un blanco fortificado con los 16 PAHs en concentraciones de 5 a 250 ng/L y muestras de agua de la cortina de

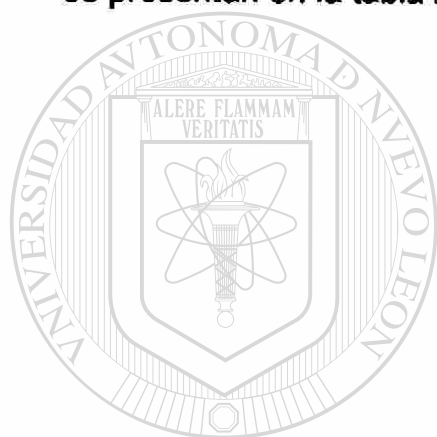
la Presa Rodrigo Gómez fortificadas con los 16 PAHs en concentraciones de 5 a 250 ng/L para 7 réplicas y de 7.5 a 375 ng/L para 6 réplicas, respectivamente.

Tabla 24. Exactitud (%R) y Precisión (SD) obtenidos por HPLC/FLU-UV para LLE de 4 réplicas de un blanco fortificado con los 16 PAHs en concentraciones de 5 a 250 ng/L y muestras de agua de la cortina de la Presa Rodrigo Gómez fortificadas a dos niveles de concentración.

PAH	Blanco Fortificado 5-250 ng/L n = 4		Agua de Presa Fortificada 5-250 ng/L n = 7		Agua de Presa Fortificada 7.5-375 ng/L n = 6	
	%R	SD	%R	SD	%R	SD
Naftaleno	66.59	11.25	61.65	7.29	66.45	8.75
Acenaftileno	72.97	9.43	70.68	5.73	80.04	8.64
Acenafteno	81.77	7.96	79.87	7.30	85.23	11.18
Fluoreno	94.47	5.69	92.54	5.51	92.80	10.55
Fenantreno	106.50	7.35	125.90	4.35	100.40	7.25
Antraceno	87.52	4.55	87.25	3.17	90.11	7.69
Fluoranteno	102.00	7.61	82.22	6.11	95.66	7.41
Pireno	104.49	7.30	93.52	4.42	96.55	8.30
Benzo(a)antraceno	103.65	3.52	92.25	4.98	95.34	7.54
Criseno	107.46	7.68	93.03	4.37	96.21	7.59
Benzo(b)fluoranteno	106.73	6.97	93.21	6.15	93.14	6.19
Benzo(k)fluoranteno	108.79	13.00	93.91	5.98	94.15	8.98
Benzo(a)pireno	88.48	4.57	82.53	5.07	86.00	7.25
Dibenzo(a,h)antraceno	105.04	7.48	85.83	5.46	80.18	9.57
Benzo(ghi)perileno	108.80	16.50	85.35	5.47	84.92	7.53
Indeno(1,2,3-cd)pireno	97.57	14.73	78.92	10.66	80.95	11.71
Promedio	90.80		87.41		88.63	

4.6.1 Validación del método de análisis por LLE-HPLC/FLU-UV

En la tabla 25 se muestran los parámetros evaluados para la validación del método para la determinación de PAHs por HPLC/FLU-UV usando LLE para el tratamiento de la muestra; se usó agua de la Presa Rodrigo Gómez, fortificada con los 16 PAHs a tres niveles de concentración para cada compuesto. Las determinaciones se hicieron por triplicado. Se evaluó la linealidad y la precisión, se calcularon los límites de detección y de cuantificación del mismo modo que cuando se realizó la validación de los sistemas cromatográficos. Los resultados se presentan en la tabla 25.



UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN



DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

Tabla 25. Validación del método para la determinación de PAHs por HPLC/FLU-UV usando LLE para el tratamiento de la muestra.

PAH	Intervalo de calibración (ng/L)	Coef. Det. (r^2)	%RSD de 9 FR	% RSD	LD (ng/L)	LC (ng/L)
Naftaleno	62.50-312.50	0.9999	6.28	7.15	3.35	10.04
Acenaftileno	187.50-312.50	0.9989	6.52	6.48	8.99	26.97
Acenafteno	375.00-625.00	0.9984	6.17	4.34	21.29	63.86
Fluoreno	37.50-62.50	0.9996	5.46	5.12	1.02	3.06
Fenantreno	15.00-25.00	0.9922	5.43	4.08	1.89	5.66
Antraceno	2.50-12.50	0.9992	11.43	10.44	0.59	1.76
Fluoranteno	18.75-31.25	0.9989	8.20	7.42	0.86	2.57
Pireno	37.50-62.50	0.9990	7.65	5.35	1.65	4.94
Benzo(a)antraceno	18.75-31.25	0.9973	5.79	3.78	1.38	4.13
Criseno	18.75-31.25	0.9990	7.00	5.38	0.83	2.49
Benzo(b)fluoranteno	7.50-12.50	0.9916	6.56	2.06	0.97	2.92
Benzo(k)fluoranteno	2.50-12.50	1.0000	11.49	9.73	0.83	2.48
Benzo(a)pireno	18.75-31.25	0.9900	5.56	2.84	3.11	9.32
Dibenzo(a,h)antraceno	75.00-125.00	0.9968	4.22	2.60	5.99	17.97
Benzo(ghi)perileno	30.00-50.00	0.9978	5.44	5.95	4.20	12.60
Indeno(1,2,3-cd)pireno	18.75-31.25	0.9907	4.95	3.22	4.59	13.77

4.6.2 Resultados del estudio ciego

El método LLE-HPLC/FLU-UV se usó para el análisis por triplicado de una muestra de agua de uno de los sitios de muestreo, fortificada con los 16 PAHs en niveles de concentración desconocidos por el analista. Los resultados se presentan en la tabla 26.

Tabla 26. Resultados del estudio ciego.

PAH	Conc. Real µg/L	Conc. Calculada µg/L	% Error
Naftaleno	3.9950	4.420	10.6
Acenaftileno	1.8750	1.470	21.6
Acenafteno	3.7500	2.850	24.0
Fluoreno	0.3750	0.310	17.3
Fenantreno	0.1500	0.150	0.0
Antraceno	0.0750	0.070	6.7
Fluoranteno	0.1875	0.210	12.0
Pireno	0.3750	0.410	9.3
Benzo(a)antraceno	0.1875	0.200	6.7
Criseno	0.1875	0.170	9.3
Benzo(b)fluoranteno	0.0750	0.070	6.7
Benzo(k)fluoranteno	0.0750	0.070	6.7
Benzo(a)pireno	0.1875	0.170	9.3
Dibenzo(a,h)antraceno	0.7500	0.700	6.7
Benzo(ghi)perileno	0.3000	0.290	3.3
Indeno(1,2,3-cd)pireno	0.1875	0.170	9.3

4.7 Fuentes de Abastecimiento de Agua Potable de la Zona Metropolitana de Monterrey (ZMM)

La lista de fuentes principales de abastecimiento de agua potable a la ZMM, que se menciona enseguida fue proporcionada por la Dirección de Operaciones de Servicios de Agua y Drenaje de Monterrey:

- Presa El Cuchillo
- Presa Cerro Prieto
- Presa Rodrigo Gómez (La Boca)
- Galerías y Pozos de La Huasteca
- Túnel de San Francisco y Cola de Caballo
- Pozos de Mina
- Pozos de la ZMM

Con base en la información de las contribuciones que aportan cada una de estas fuentes al suministro de agua potable a la ZMM, se seleccionaron los sitios para realizar el muestreo. Los sitios seleccionados incluyen presas y ríos que desembocan en las presas y que contribuyen al abastecimiento de agua potable de la ciudad de Monterrey.

La tabla 27 presenta los sitios de muestreo y sus coordenadas geográficas de latitud-longitud y altitud, las cuales fueron obtenidas con un GPS (*Global Positioning System*) Magellan eXplorist 200.

Tabla 27. Sitios de muestreo con sus coordenadas geográficas.

Sitio	Latitud	Longitud	Altitud (metros)
Presa de la Boca (Cortina)	25°25.680 N	100°07.755 W	460
Presa de la Boca (Embarcadero)	25°24.624 N	100°08.261 W	443
Arroyo Cola de Caballo	25°23.924 N	100°07.953 W	462
Presa El Cuchillo	25°43.574 N	99°18.042 W	154
Presa Cerro Prieto	24°56.491 N	99°24.109 W	288
Río San Juan	25°31.918 N	99°50.622 W	260
Río Pílon	25°10.246 N	99°48.916 W	396
Río Pablillo	24°53.908 N	99° 27.975 W	294

Las siguientes figuras corresponden a los cromatogramas obtenidos para un blanco, un estándar de los 16 PAHs, una muestra de agua de la Presa Rodrigo Gómez y una muestra de agua de la misma presa fortificada con los 16 PAHs, respectivamente, sometidas a LLE y analizadas por HPLC con los detectores de FLU (figuras 9 a 12) y UV (figuras 13 a 16).

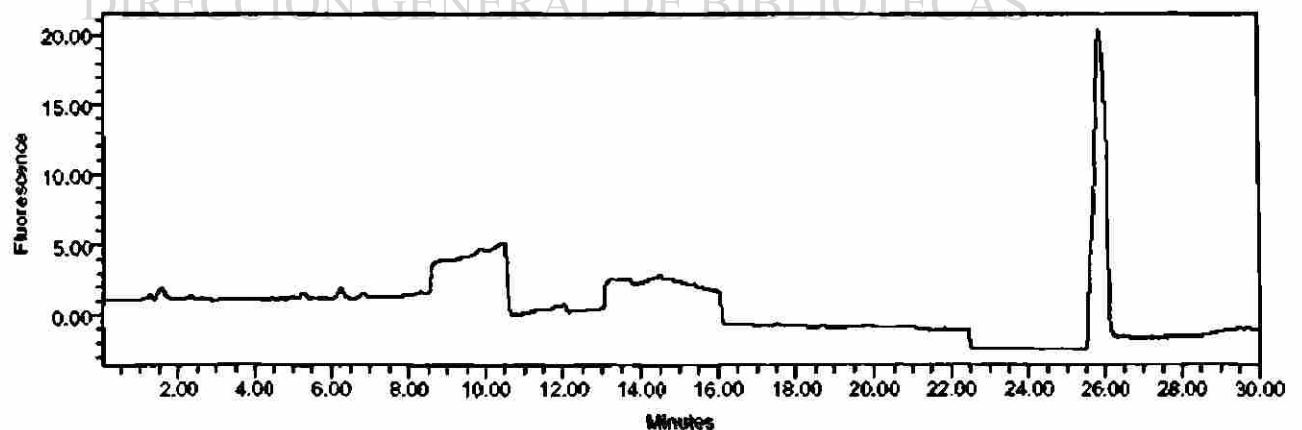


Figura 9. Cromatograma de un blanco obtenido por HPLC/FLU.

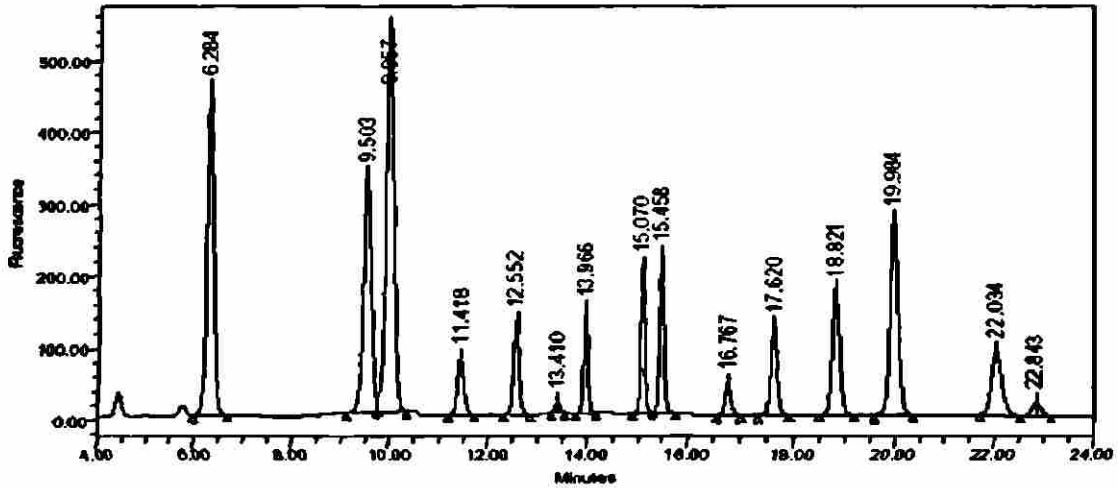


Figura 10. Cromatograma de una mezcla de estándares de 16 PAHs obtenido por HPLC/FLU.

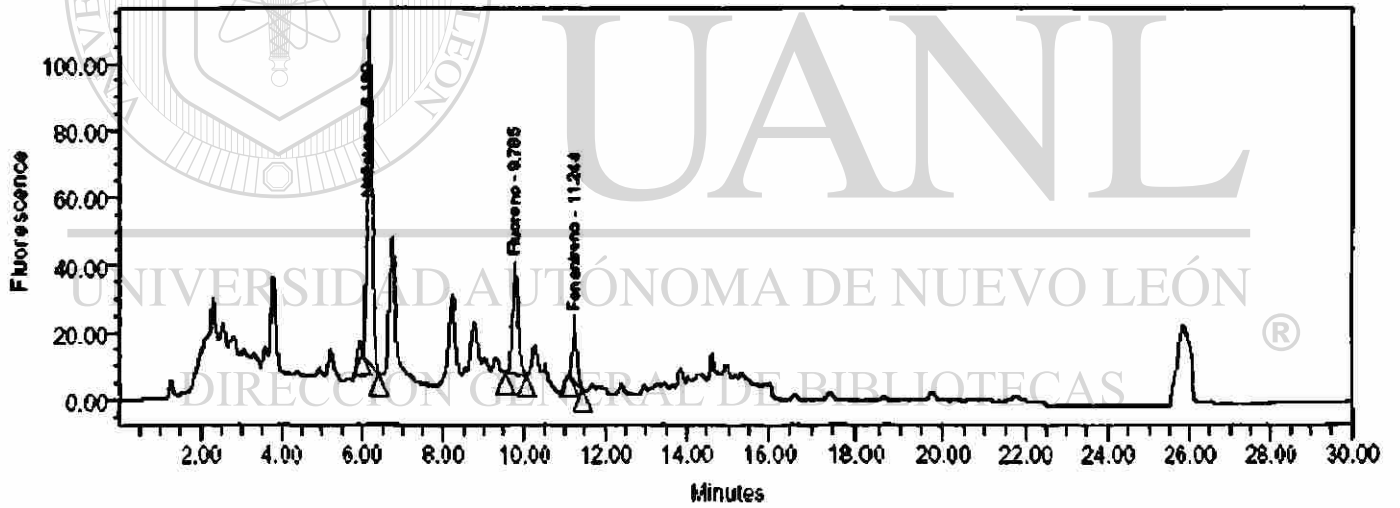


Figura 11. Cromatograma de una muestra de agua de la Presa Rodrigo Gómez (La Boca) analizada por HPLC/FLU.

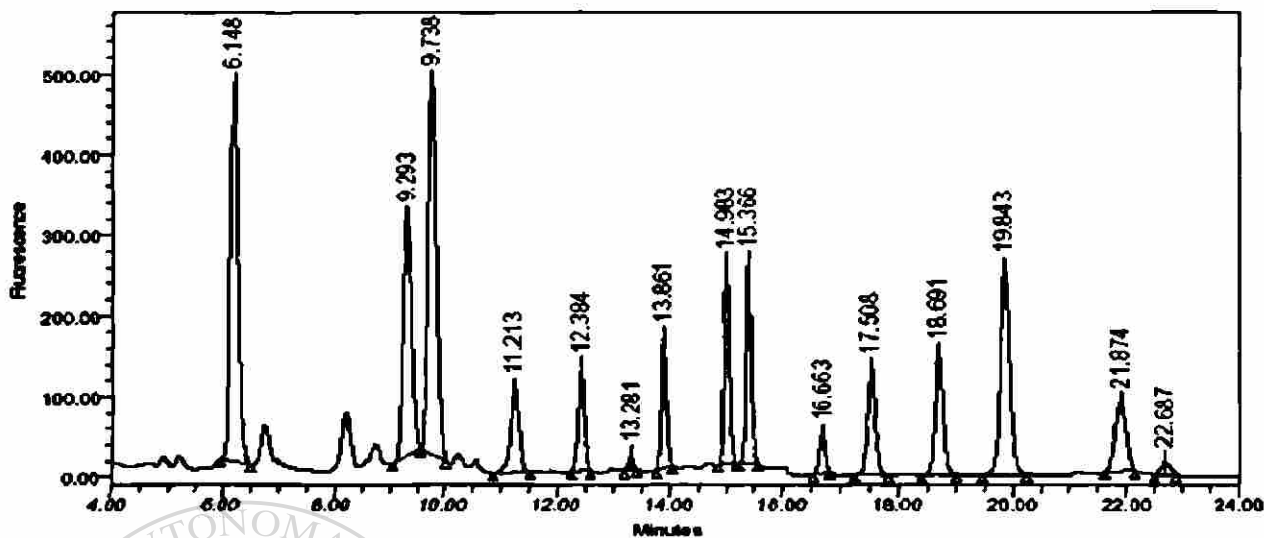


Figura 12. Cromatograma de una muestra de agua de la Presa Rodrigo Gómez (La Boca) fortificada con los 16 PAHs, obtenido por HPLC/FLU.

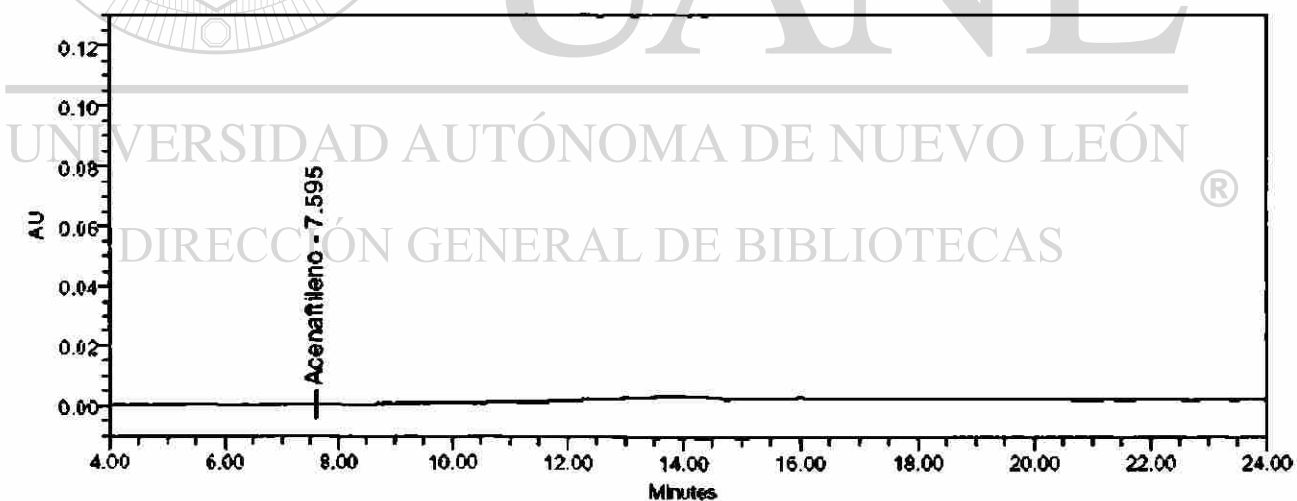


Figura 13. Cromatograma de un blanco obtenido por HPLC/UV a 228 nm.

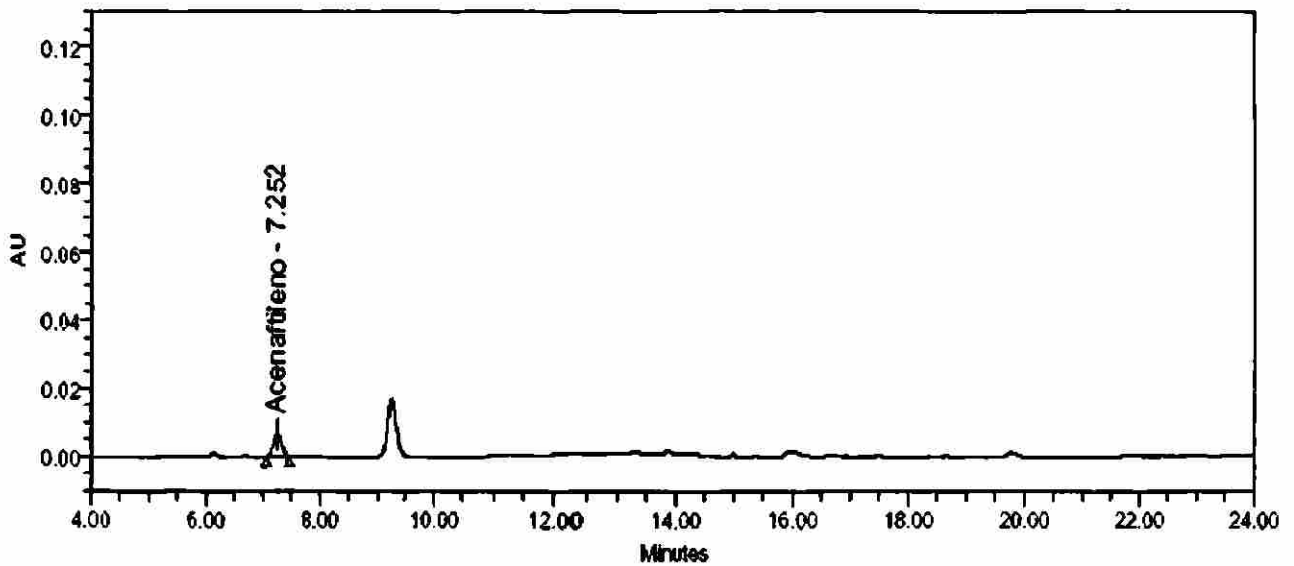


Figura 14. Cromatograma de una mezcla de estándares de 16 PAHs obtenido por HPLC/UV a 228 nm.

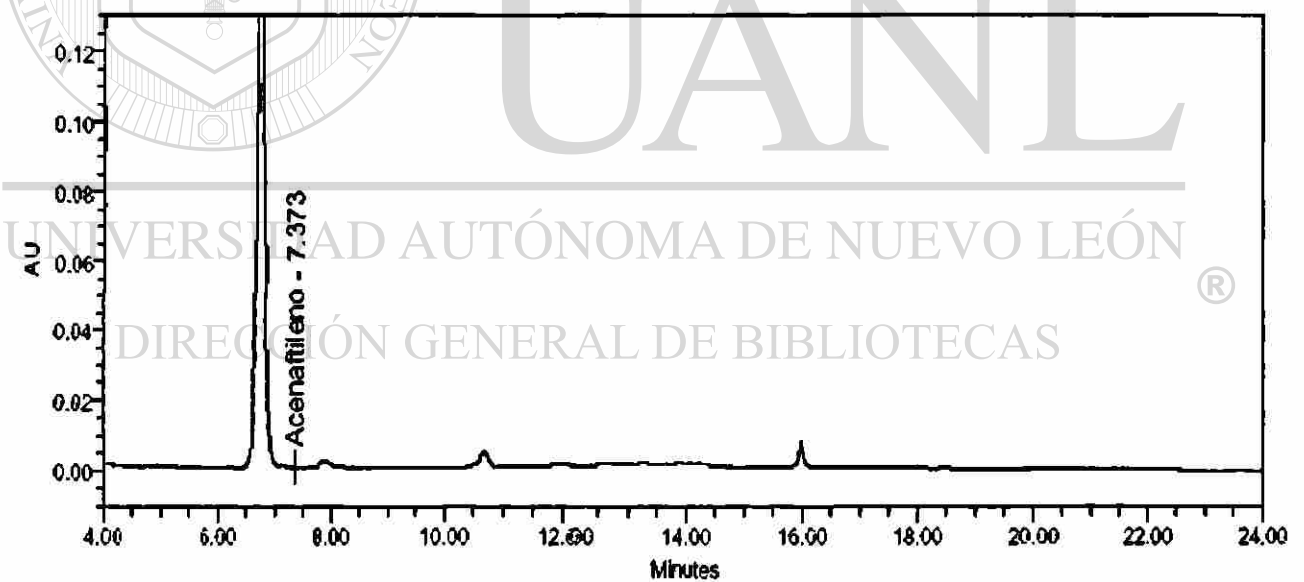


Figura 15. Cromatograma de una muestra de agua de la Presa Rodrigo Gómez (La Boca) obtenido por HPLC/UV a 228 nm.

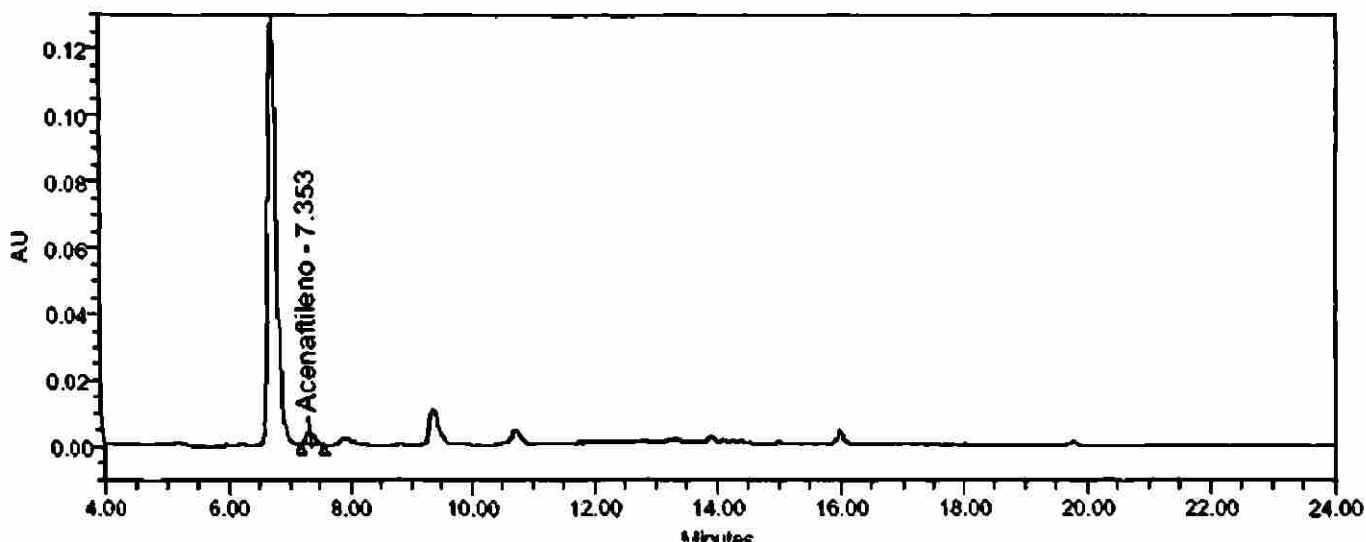


Figura 16. Cromatograma de una muestra de agua de la Presa Rodrigo Gómez (La Boca) fortificada con los 16 PAHs, obtenido por HPLC/UV a 228

En las tablas 28 a 35 se muestran los resultados correspondientes a los muestreos mensuales comprendidos desde diciembre de 2004 hasta noviembre de 2005 para los siguientes lugares:

- Arroyo de la Cola de Caballo
- Embarcadero de la Presa Rodrigo Gómez (La Boca)
- Cortina de la Presa Rodrigo Gómez (La Boca)
- Río San Juan
- Presa El Cuchillo
- Río Pílon
- Río Pablillo
- Presa Cerro Prieto

Para fines de comparación, en todas las tablas se incluyeron los límites de detección y de cuantificación (obtenidos bajo los criterios de Miller y Miller en la validación del método LLE-HPLC/FLU-UV) de los analitos que presentaron señales en las muestras analizadas.

Arroyo de la Cola de Caballo

Tabla 28. Resultados de la determinación de PAHs en muestras de agua del Arroyo de la Cola de Caballo.

	Concentración en ng/L		
	Naftaleno	Fluoreno	Fenantreno
LD	3.35	1.03	1.89
LC	10.04	3.06	5.66
Diciembre 2004	58.34	N.D.	N.D.
Enero 2005	23.00	< L.D.	N.D.
Febrero 2005	N.D.	N.D.	N.D.
Marzo 2005	< L.D.	N.D.	N.D.
Abril 2005	N.D.	N.D.	N.D.
Mayo 2005	35.44	< L.D.	N.D.
Junio 2005	N.D.	N.D.	N.D.
Julio 2005	N.D.	N.D.	N.D.
Agosto 2005	< L.D.	N.D.	N.D.
Septiembre 2005	66.95	< L.D.	< L.D.
Octubre 2005	28.25	< L.D.	< L.D.
Noviembre 2005	41.58	< L.D.	< L.D.

En la tabla 28 se puede observar que sólo 3 analitos de los 16 estudiados presentaron señales en los cromatogramas correspondientes a las muestras de agua del Arroyo de la Cola de Caballo durante el periodo de estudio. El naftaleno se presentó en diciembre, enero, mayo, septiembre, octubre y noviembre a niveles mayores que el LC, en marzo y agosto su nivel fue inferior al LD y en febrero, abril, junio y julio no se detectó. Para el fluoreno, en los meses de enero, septiembre, octubre y noviembre se registraron señales menores al LD, el resto de los meses no se detectó. El fenantreno no se detectó de diciembre 2004 a agosto 2005 y los meses de septiembre, octubre y noviembre 2005 presentó señales inferiores a los límites de detección.

Embarcadero de la Presa Rodrigo Gómez (La Boca)

Tabla 29. Resultados de la determinación de PAHs en muestras de agua del Embarcadero de la Presa Rodrigo Gómez (La Boca).

	Concentración en ng/L		
	Naftaleno	Fluoreno	Fenantreno
LD	3.35	1.03	1.89
LC	10.04	3.06	5.66
Diciembre 2004	56.72	N.D.	N.D.
Enero 2005	22.22	N.D.	N.D.
Febrero 2005	58.60	N.D.	N.D.
Marzo 2005	N.D.	N.D.	N.D.
Abril 2005	92.82	< L.C.	< L.C.
Mayo 2005	54.89	< L.D.	< L.C.
Junio 2005	32.11	N.D.	N.D.
Julio 2005	< L.D.	N.D.	N.D.
Agosto 2005	< L.D.	N.D.	N.D.
Septiembre 2005	58.44	< L.C.	< L.D.
Octubre 2005	60.30	< L.C.	< L.D.
Noviembre 2005	< L.C.	< L.C.	< L.C.

En la tabla 29 se observa que sólo 3 analitos de los 16 estudiados fueron detectados en el agua del Embarcadero de la Presa Rodrigo Gómez durante el periodo de estudio. El naftaleno se presentó en diciembre, enero, febrero, abril, mayo, junio, septiembre, octubre y noviembre a niveles mayores que el LC, en julio y agosto su nivel fue inferior al LD y en marzo no se detectó. Para el fluoreno, en los meses de abril, mayo, septiembre, octubre y noviembre se encontraron señales menores al LD, el resto de los meses no se detectó. Para el fenantreno, solamente durante abril, mayo y noviembre se registraron señales inferiores al LC, en septiembre y octubre la señal fue menor al LD, el resto de los meses no se detectó.

Cortina de la Presa Rodrigo Gómez (La Boca)

Tabla 30. Resultados de la determinación de PAHs en muestras de agua de la Cortina de la Presa Rodrigo Gómez (La Boca).

	Concentración en ng/L		
	Naftaleno	Fluoreno	Fenantreno
LD	3.35	1.03	1.89
LC	10.04	3.06	5.66
Diciembre 2004	29.58	N.D.	N.D.
Enero 2005	30.92	< L.D.	N.D.
Febrero 2005	< L.C.	< L.D.	N.D.
Marzo 2005	24.04	N.D.	N.D.
Abril 2005	N.D.	< L.D.	< L.C.
Mayo 2005	31.54	< L.D.	< L.C.
Junio 2005	N.D.	N.D.	N.D.
Julio 2005	N.D.	N.D.	N.D.
Agosto 2005	< L.C.	N.D.	N.D.
Septiembre 2005	36.75	< L.D.	N.D.
Octubre 2005	80.15	< L.D.	N.D.
Noviembre 2005	36.07	< L.D.	< L.D.

En la tabla 30 se observa que sólo 3 analitos de los 16 estudiados detectados mostraron señales en los cromatogramas de las muestras de agua de la Cortina de la Presa Rodrigo Gómez durante el periodo de estudio. El naftaleno se presentó en diciembre, enero, marzo, mayo, septiembre, octubre y noviembre a niveles mayores que el LC, en febrero y agosto su nivel fue inferior al LC y en abril, junio y julio no se detectó. Para el fluoreno, en los meses de enero, febrero, abril, mayo, septiembre, octubre y noviembre se encontraron señales menores al LD, el resto de los meses no se detectó. Para el fenantreno, solamente durante abril y mayo se registraron señales inferiores al LC, en noviembre, señal inferior al LD y el resto de los meses no se detectó.

Río San Juan

Tabla 31. Resultados de la determinación de PAHs en muestras de agua del Río San Juan.

	Concentración en ng/L		
	Naftaleno	Fluoreno	Fenantreno
LD	3.35	1.03	1.89
LC	10.04	3.06	5.66
Diciembre 2004	21.94	N.D.	N.D.
Enero 2005	< L.D.	< L.C.	< L.C.
Febrero 2005	N.D.	N.D.	N.D.
Marzo 2005	35.06	N.D.	N.D.
Abril 2005	N.D.	N.D.	N.D.
Mayo 2005	20.7	N.D.	N.D.
Junio 2005	< L.D.	N.D.	N.D.
Julio 2005	< L.D.	N.D.	N.D.
Agosto 2005	< L.C.	< L.D.	N.D.
Septiembre 2005	37.28	< L.D.	N.D.
Octubre 2005	45.03	< L.D.	N.D.
Noviembre 2005	60.72	< L.D.	< L.C.

En la tabla 31 se observa que sólo 3 analitos de los 16 estudiados fueron detectados en el agua del Río San Juan durante el periodo de estudio. El naftaleno se presentó en diciembre, marzo, mayo, septiembre, octubre y noviembre a niveles mayores que LC, en junio y julio su nivel fue inferior al LD; en enero y agosto su nivel fue inferior a LC y en febrero y abril no se detectó. Para el fluoreno, sólo en el mes de enero dio señal inferior al LC, en los meses de agosto, septiembre, octubre y noviembre su señal fue inferior al LD, el resto de los meses no se detectó. Para el fenantreno, solamente durante enero y noviembre se registró señal inferior al LC, el resto de los meses no se detectó.

Presa El Cuchillo

Tabla 32. Resultados de la determinación de PAHs en muestras de agua de la Presa El Cuchillo.

	Concentración en ng/L		
	Naftaleno	Fluoreno	Fenantreno
LD	3.35	1.03	1.89
LC	10.04	3.06	5.66
Diciembre 2004	< L.C.	N.D.	N.D.
Enero 2005	< L.C.	N.D.	N.D.
Febrero 2005	N.D.	N.D.	N.D.
Marzo 2005	29.52	N.D.	N.D.
Abril 2005	N.D.	N.D.	N.D.
Mayo 2005	< L.D.	N.D.	N.D.
Junio 2005	N.D.	N.D.	< L.C.
Julio 2005	N.D.	N.D.	N.D.
Agosto 2005	< L.D.	N.D.	N.D.
Septiembre 2005	79.17	< L.C.	< L.D.
Octubre 2005	61.20	< L.D.	N.D.
Noviembre 2005	43.01	< L.D.	< L.D.

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

En la tabla 32 se observa que sólo 2 analitos de los 16 estudiados fueron detectados en el agua de la Presa El Cuchillo durante el periodo de estudio. El naftaleno se presentó en marzo, septiembre, octubre y noviembre en concentraciones mayores que el LC; en diciembre y enero su nivel fue inferior al LC; en mayo y agosto su nivel fue inferior a LD y en febrero, abril, junio y julio no se detectó. El fluoreno no se detectó de siembre 2004 a agosto 2005, en septiembre fue menor a LC y octubre y noviembre menor a LD. El fenantreno solamente durante junio registró señal inferior al LC, en septiembre y octubre inferior a LD y el resto de los meses no se detectó.

Río Pilón

Tabla 33. Resultados de la determinación de PAHs en muestras de agua del Río Pilón.

	Concentración en ng/L		
	Naftaleno	Fluoreno	Fenantreno
LD	3.35	1.03	1.89
LC	10.04	3.06	5.66
Diciembre 2004	< L.C.	N.D.	N.D.
Enero 2005	26.50	< L.C.	N.D.
Febrero 2005	48.45	N.D.	N.D.
Marzo 2005	34.67	N.D.	N.D.
Abril 2005	< L.D.	< L.D.	< L.D.
Mayo 2005	< L.D.	N.D.	N.D.
Junio 2005	N.D.	N.D.	N.D.
Julio 2005	< L.D.	N.D.	N.D.
Agosto 2005	35.38	N.D.	N.D.
Septiembre 2005	79.51	< L.D.	< L.D.
Octubre 2005	104.34	< L.D.	< L.D.
Noviembre 2005	29.64	< L.C.	< L.C.

En la tabla 33 se observa que sólo 3 analitos de los 16 estudiados fueron detectados en el agua del Río Pilón durante el periodo de estudio. El naftaleno se presentó en enero, febrero, marzo, agosto, septiembre, octubre y noviembre a niveles mayores que LC, en julio su nivel fue inferior al LC, en abril y mayo su nivel fue inferior a LD y en junio no se detectó. El fluoreno registró señales menores al LD durante los meses de enero, abril, septiembre, octubre y noviembre, el resto de los meses no se detectó. El fenantreno solamente durante abril, septiembre y octubre se registró señal inferior al LD, en noviembre inferior al LC, el resto de los meses no se detectó.

Río Pablillo

Tabla 34. Resultados de la determinación de PAHs en muestras de agua del Río Pablillo.

	Concentración en ng/L		
	Naftaleno	Fluoreno	Fenantreno
LD	3.35	1.03	1.89
LC	10.04	3.06	5.66
Diciembre 2004	39.73	N.D.	N.D.
Enero 2005	24.82	N.D.	N.D.
Febrero 2005	N.D.	N.D.	N.D.
Marzo 2005	< L.C.	N.D.	N.D.
Abril 2005	N.D.	N.D.	N.D.
Mayo 2005	< L.C.	< L.D.	N.D.
Junio 2005	N.D.	N.D.	< L.D.
Julio 2005	< L.C.	N.D.	< L.D.
Agosto 2005	< L.C.	N.D.	N.D.
Septiembre 2005	45.11	< L.D.	N.D.
Octubre 2005	63.42	< L.D.	N.D.
Noviembre 2005	40.64	< L.D.	< L.D.

En la tabla 34 se observa que sólo 3 analitos de los 16 estudiados fueron detectados en el agua del Río Pablillo durante el periodo de estudio. El naftaleno se presentó en diciembre, enero, marzo, mayo, julio, agosto, septiembre, octubre y noviembre a niveles mayores que el LC; en febrero, abril y junio no se detectó. El fluoreno registró una pequeña señal a niveles menores que LD en mayo, septiembre, octubre y noviembre, el resto de los meses no se detectó. Para el fenantreno se registraron señales inferiores al LD solamente durante junio, julio y noviembre, el resto de los meses no se detectó.

Presa Cerro Prieto

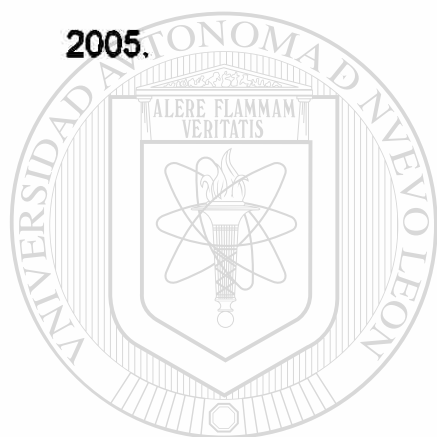
Tabla 35. Resultados de la determinación de PAHs en muestras de agua de la Presa Cerro Prieto.

	Concentración en ng/L		
	Naftaleno	Fluoreno	Fenantreno
LD	3.35	1.03	1.89
LC	10.04	3.06	5.66
Abril 2005	N.D.	N.D.	N.D.
Mayo 2005	< L.C	N.D.	N.D.
Junio 2005	N.D.	N.D.	N.D.
Julio 2005	< L.C.	N.D.	< L.D.
Agosto 2005	18.60	N.D.	N.D.
Septiembre 2005	32.75	< L.D.	< L.D.
Octubre 2005	88.91	< L.D.	< L.D.
Noviembre 2005	< L.C.	< L.D.	< L.C.

En la tabla 35 se observa que sólo 3 analitos de los 16 estudiados registraron señales en los cromatogramas de las muestras de agua de la Presa Cerro Prieto durante el periodo de estudio. El naftaleno se presentó en agosto, septiembre y octubre con valores mayores al LC, en mayo, julio y noviembre a niveles inferiores al LC; en abril y junio no se detectó. El fluoreno, en septiembre, octubre y noviembre presentó señales inferiores al LD, el resto de los meses no se detectó. El fenantreno solamente durante noviembre dio señal inferior al LC, en julio, septiembre y octubre se registró señal inferior al LD, el resto de los meses no se detectó.

El muestreo en la Presa Cerro Prieto inició después que en los otros sitios debido a que durante el periodo de muestreo esta fuente no abasteció de agua a la ciudad, por tal motivo, el plan original era dejarla fuera del plan de muestreo. La tubería de 130 km, estuvo en mantenimiento desde junio 2004 hasta diciembre 2005, Servicios de Agua y Drenaje de Monterrey realizó desazolve, reparación de grietas y tubos, cambio de válvulas y mantenimiento general en los tanques a lo largo del acueducto, además de limpieza general.

La Presa Cerro Prieto ha estado en operación durante 20 años y después de las labores de mantenimiento volverá a abastecer de agua a la ciudad, por lo cual se decidió incluirla en el plan de muestreo, pero a partir del mes de abril de 2005.



UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN



DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

CAPÍTULO 5

DISCUSIÓN DE RESULTADOS

5.1 Análisis por Cromatografía de Gases

En la figura 1 y tabla 12 del capítulo 4 se observa que el tiempo de retención de los 16 analitos por GC/MS se encuentra en el rango de 4.84 a 13.06 minutos, por lo cual el tiempo de corrida cromatográfica en este trabajo fue de 15 minutos, considerablemente menor al reportado por otros autores, como por ejemplo A.J. King *et al.* (38), cuyas corridas cromatográficas fueron de 73 minutos, o Martínez *et al.* (10), quienes emplearon 65 minutos, o Doong (36), que utilizó 60 minutos, Filipkowska (42), que empleó 42.40 minutos, y Nanqin Li (32) 30 minutos.

El método 525 de la EPA (que es para 47 compuestos orgánicos, incluyendo a 13 PAHs, 3 estándares internos y un surrogado) establece 2 programas de temperatura para el cromatógrafo de gases, con los cuales se obtienen tiempos de retención cercanos a 28 minutos para el benzo(ghi)perileno, que es el último compuesto (de los 47) en salir de la columna, por lo cual en este método la corrida cromatográfica es de 35 minutos. En un trabajo anterior con PAHs en la UANL (64), se utilizaron tiempos de corrida de 35 minutos en el cromatógrafo de gases, de modo que las condiciones actuales (15 minutos) representan una mejora notable en tiempo.

En el mismo trabajo anterior (64) se operó el GC en modo *full scan* y ahora se trabajó en modo *SIM* (monitoreo selectivo de iones) con el propósito de alcanzar niveles de detección más bajos (76); con esa modificación fue posible reducir

los niveles de concentración empleados para construir las curvas de calibración de los analitos por un factor de 20, ya que anteriormente el rango de trabajo fue de 5 a 25 $\mu\text{g/mL}$, mientras que ahora el rango es de 0.25 a 1.25 $\mu\text{g/mL}$.

Con respecto a los iones de fragmentación seleccionados para el monitoreo de los PAHs (tabla 12), es importante señalar que debido a que los PAHs sufren poca fragmentación por impacto electrónico, en todos los casos el pico base corresponde al ion molecular, de modo que este ion se usó para la cuantificación, y que además de ese ion, se utilizaron dos iones adicionales para la identificación de cada hidrocarburo; al comparar la forma de identificar y cuantificar los PAHs por otros investigadores, encontramos que algunos autores usaron un solo ion para identificar y cuantificar (7,32), otros utilizaron dos iones (30,38), y hubo quienes, como nosotros, se basaron en tres iones (10, 54).

5.2 Análisis por Cromatografía de Líquidos

Debido a que cada PAH tiene su propio espectro de excitación y de emisión, fue necesario elaborar un programa para el detector de fluorescencia, que consiste en cambiar las longitudes de onda de excitación y de emisión en función del tiempo. Dicho programa afecta notablemente el cromatograma obtenido. A continuación se hacen algunas observaciones para demostrar el efecto de un pequeño cambio en el tiempo o en las longitudes de onda del programa.

La figura 2 del capítulo 4 corresponde al cromatograma obtenido en el HPLC con el detector de fluorescencia para la mezcla de 16 PAHs bajo las condiciones de operación finales. El programa de fluorescencia que se utilizó es presentado en la tabla 11 del capítulo 3; dicho cromatograma se tomó como referencia en la separación del acenafteno y fluoreno para la discusión que a continuación se presenta acerca del efecto de un cambio en las longitudes de onda o en el tiempo programado sobre el cromatograma. Los tiempos del

programa se eligieron con base en los tiempos de elución de cada analito, buscando que no coincidieran con el tiempo de retención de los mismos para que no distorsionaran la señal; además, en los casos en los que dos o más analitos estaban muy próximos entre sí, se seleccionaron las longitudes de onda adecuadas para que los analitos exhibieran señales de tal magnitud que permitieran detectar a varios de ellos a la vez, y eso significó que no necesariamente se trabajó a las longitudes de onda de máxima absorbancia para cada analito.

Para aclarar esto, se compara la figura 2 con la figura 4 (en la 2 el cambio de λ de excitación y emisión se programó a 8.5 min, mientras que en la 4 se programó a los 9 min para la detección de acenafteno y fluoreno). En la figura 4 se observa una distorsión de la señal del acenafteno a los 9.37 min, debido a que el tiempo del programa (9 min) está muy cercano al tiempo de elución del compuesto. Nótese en la figura 4, que la intensidad del acenafteno es cercana a 1000 unidades de fluorescencia (UF) y que para el siguiente compuesto (fluoreno) es de 1400 UF.

Por otro lado, la figura 5 exhibe el efecto del cambio de longitud de onda de excitación a 216 nm y el tiempo a 8.5 min, sin cambio en la longitud de onda de emisión (323 nm). Se observa un incremento notable en la señal de fluorescencia del acenafteno (~5000 UF) y una reducción de la señal del fluoreno (~200 UF).

El cromatograma de la figura 6 se obtuvo al cambiar únicamente la longitud de onda de excitación a 227 nm, (emisión 323 nm, 8.5 min), de nuevo se incrementó la señal del acenafteno (mayor a 8000 UF) y disminuyó la señal del fluoreno (~ 100 UF).

Después de varios cambios en el programa de fluorescencia, se determinaron los valores adecuados de tiempo y las longitudes de onda de excitación -

emisión (λ Ex y λ Em) para la detección de acenafteno y fluoreno: 8.5 min, 254 y 323 nm. Ver figura 7, capítulo 4. En ese cromatograma aún no se optimizaban las condiciones para los últimos tres analitos que son: Dibenzo(a,h)antraceno, benzo(ghi)perileno e indeno(1,2,3-cd)pireno.

De manera similar se trabajó para todos los demás hidrocarburos, observando que un pequeño cambio en el tiempo del programa o en las longitudes de onda (λ Ex y λ Em), conduce a cambios importantes en el cromatograma.

La figura 8 muestra el efecto del cambio en las longitudes de onda de excitación y emisión, sincronizadas con el tiempo, para todos los analitos bajo las condiciones de operación finales y el programa final de fluorescencia (tabla 11). Al comparar los cromatogramas de las figuras 7 y 8, en este último se observa un incremento en la intensidad de las señales de fluorescencia de los últimos tres analitos: dibenzo(a,h)antraceno, benzo(ghi)perileno e indeno(1,2,3-cd)pireno, debido a la selección adecuada de longitudes de onda de excitación y emisión y los cambios de las mismas al tiempo adecuado.

Al comparar el programa de fluorescencia (tabla 11) desarrollado en este trabajo para la determinación de PAHs con los reportados por otros investigadores (11, 66, 34, 52, 28, 58), se observa que cada programa es diferente, además de que los otros autores trabajaron con menos hidrocarburos, por ejemplo, Chen (11) utilizó sólo 5 PAHs, y García Falcón (41) trabajó con 9 PAHs.

Otro factor que influye notablemente en el cromatograma obtenido es la temperatura de trabajo; el programa de fluorescencia establecido se diseñó para trabajar la columna a 27 °C, de modo que se utilizó un controlador de temperatura para la columna, pero para que éste funcionara bien, fue necesario tener controlada la temperatura ambiente del laboratorio donde se encontraba el cromatógrafo. En los meses de primavera y verano, el aire acondicionado del

laboratorio, no enfriaba lo suficiente y esto ocasionaba corrimientos en los tiempos de retención de los analitos; la observación fue que al aumentar la temperatura, disminuían los tiempos de retención, esto podría ocasionar que coincidiera con el tiempo programado para el cambio de longitudes de onda y por lo explicado anteriormente, provocar una deformación o disminución de la señal y en los casos más graves, su ausencia total; esto último se presentaba con el indeno(1,2,3-cd)pireno, cuyos tiempos de retención oscilaron de 22.5 a 23.0 min, pero cuando eran inferiores a 22.5 min, no se observaba la señal. Otros investigadores también reportaron la necesidad de controlar la temperatura de trabajo por HPLC, por ejemplo García Falcón trabajó a 33°C, Chen a 45°C, y Miege a 35°C, mientras que Filipkowska trabajó a temperatura ambiente (41, 11, 51, 42).

5.3 Validación Instrumental

La validación de un método es el proceso de probar que dicho método analítico es aceptable para el propósito que fue desarrollado (70, 73).

5.3.1 Intervalo de trabajo

El intervalo de trabajo en las dos técnicas cromatográficas lo determinan los niveles 1 y 5 de las gráficas de calibración. En los trabajos previos de Díaz-Morales (64) y Ramírez Villarreal (65) el intervalo de trabajo empleado para la calibración fue de 5 a 25 µg/mL en las concentraciones de inyección de cada hidrocarburo. Uno de los objetivos en este trabajo fue reducir los niveles de concentración para la calibración, lo cual se logró como puede apreciarse en las tablas 14 y 15.

Para definir el rango de trabajo se tomó en cuenta que el detector de fluorescencia permite detectar concentraciones menores que el detector UV. En HPLC, las condiciones de partida para las pruebas preliminares fueron las

concentraciones empleadas por Ramírez Villarreal (65), 5 a 25 $\mu\text{g}/\text{mL}$; a partir de esas concentraciones se fueron haciendo pruebas con concentraciones menores hasta que finalmente se llegó al nivel más bajo posible que nos permitía apreciar las señales de todos los analitos. Es importante aclarar que en el trabajo de Ramírez Villarreal (65) se manejó una solución que contenía concentraciones iguales de los 16 PAHs y en este trabajo se usó una solución que contenía 8 concentraciones diferentes de los 16 hidrocarburos (debido a que así se encuentra disponible comercialmente), de modo que se manejaron 8 rangos de concentración para construir las curvas de calibración de los 16 analitos.

Para los analitos que se encuentran en menor concentración en la mezcla: antraceno, benzo(b)fluoranteno y benzo(k)fluoranteno, se trabajó en un intervalo de 2.50 a 12.50 ng/mL , (en este trabajo de tesis se logró disminuir 2000 veces la concentración de estos tres compuestos para la calibración con respecto al trabajo de Ramírez Villarreal).

El intervalo de trabajo para el analito más concentrado en la mezcla (acenafteno) fue de 125.00 a 625.00 ng/mL y esto significa una disminución de 40 veces respecto al trabajo mencionado.

Titato *et al.*(77) mencionan en su artículo que el intervalo de linealidad estudiado fue de 0.1 a 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$; si consideramos estos valores como el intervalo para la calibración, el rango de trabajo de Titato es de 40 a 800 veces mayor al usado en este trabajo (0.0025 a 0.0125 $\mu\text{g}/\text{mL}$) para el antraceno, benzo(b)fluranteno y benzo(k)fluranteno y cercano a los valores que nosotros utilizamos para el analito más concentrado (acenafteno), cabe aclarar que Titato y colaboradores manejaron solamente 9 PAHs y los determinaron por HPLC con detector UV.

En GC, las condiciones de partida fueron de 5 a 25 $\mu\text{g/mL}$ para la curva de calibración de cada hidrocarburo; en este caso la mezcla contenía concentraciones iguales de los 16 PAHs y se llegó a un intervalo de 0.25 a 1.25 $\mu\text{g/mL}$, lo cual representa una mejora de 20 veces en concentración comparado con las condiciones de partida. El rango de trabajo empleado en la calibración, es comparable al reportado por Martínez acenafteno y fluoreno *et al.* (10), quienes reportaron valores de 0.05 a 2 $\mu\text{g/mL}$.

5.3.2 Linealidad

La linealidad de un procedimiento analítico es su habilidad, dentro de un intervalo dado, para obtener resultados que son directamente proporcionales a la concentración del analito en la muestra (70, 72). Su evaluación se realizó mediante la preparación y análisis, por triplicado, de soluciones estándares en cinco niveles de concentración (73), como se describió en el capítulo 3.

Como se puede apreciar en la tabla 16, se cumplió el criterio de aceptación de la EPA que establece que RSD% de FR debe ser inferior a 20%, pues para GC/MS se obtuvieron valores de 3.57 a 7.83; para HPLC se obtuvieron valores de 2.20 a 5.87. Además, se cumplió el otro criterio de aceptación de que el coeficiente de correlación sea mayor o igual que 0.995 para cada analito, (tablas 14 y 15).

5.3.3 Precisión

La precisión de un método analítico puede ser expresado como la medición del grado de repetibilidad de un método analítico bajo las mismas condiciones normales de operación y se expresa como varianza, desviación estándar o coeficiente de variación de una serie de mediciones efectuadas de acuerdo con el ICH y la EPA (70, 74).

Green (73) define la precisión como la dispersión en los resultados obtenidos de múltiples análisis de una muestra homogénea. Pradeau (68) la define como la concordancia entre las distintas mediciones de una misma muestra en condiciones determinadas, y para medirla se evalúa la repetibilidad o la reproducibilidad. La repetibilidad implica mismo técnico, misma muestra, mismo laboratorio, mismos aparatos y reactivos y la misma serie de análisis. La reproducibilidad puede ser en el laboratorio o entre laboratorios.

La revisión de las tablas 14 y 15 permite establecer que hubo precisión en las 2 técnicas cromatográficas utilizadas, ya que todos los % RSD fueron menores a 6.5%; para GC/MS se obtuvieron valores desde 2.00% para el fluoreno hasta 6.29% para el benzo(k)fluoranteno, mientras que para HPLC los resultados fueron desde 1.59% para el benzo(ghi)perileno hasta 3.45% para el Indeno(1,2,3-cd)pireno. Se cumplió con el criterio de aceptación que habíamos establecido, de que los %RSD fueran menores al 15.

5.3.4 Límite de detección

El límite de detección (LD) de un procedimiento analítico es la más baja cantidad de analito en la muestra que puede ser detectado pero no necesariamente cuantificado con exactitud (70).

Miller-Miller (71) establece textualmente que "En términos generales, el límite de detección de un analito se puede describir como aquella concentración que proporciona una señal en el instrumento "y" significativamente diferente de la señal del blanco o ruido de fondo". Según Miller-Miller, esta descripción proporciona al analista un buen margen de libertad para decidir la definición exacta del límite de detección, basada en una adecuada interpretación de la frase "significativamente diferente". Aún no existe un acuerdo total entre investigadores, editores y asociaciones profesionales y estatutarias sobre este punto. Sin embargo, va en aumento la tendencia a definir el límite de detección

como la concentración de analito que proporciona una señal igual a la señal del blanco, y_B , más tres veces la desviación estándar del blanco, s_B .

Los LD obtenidos en este trabajo para la validación instrumental por GC/MS tienen valores de 28 a 89 ng/mL, mientras que los obtenidos por HPLC van de 0.41 a 21 ng/mL. Filipkowska *et al.* (42) reportaron LD ligeramente mayores para GC/MS (50 a 300 ng/mL), pero muy superiores para HPLC (100 a 700 ng/mL).

Recientemente, Titato y colaboradores (77,78) reportaron LD de 0.8 a 30 $\mu\text{g/L}$, pero manejaron solamente 9 PAHs y los determinaron por HPLC con detector UV a dos longitudes de onda. Estos datos son similares a los obtenidos en este trabajo por HPLC (0.41 a 21 $\mu\text{g/L}$).

5.3.5 Límite de cuantificación

El límite de cuantificación (LC) también llamado "límite de determinación", se considera como la mínima concentración de analito que puede ser determinada o cuantificada con aceptable precisión y exactitud bajo las condiciones operacionales del método. Los valores que se presentan en las tablas 14, 15 y 25, están basados en los criterios de Miller y Miller (71).

Los LC obtenidos en este trabajo para la validación instrumental por GC/MS tienen valores de 84.51 a 267.57 ng/mL, mientras que los obtenidos por HPLC van de 1.23 a 63.56 ng/mL. En general los artículos de referencia consultados mencionan los LD, pero no los LC, por lo que resulta difícil establecer comparaciones con los datos publicados.

De nuevo, Titato *et al.* (77) reportaron LC para el sistema HPLC de 2.6 a 99.9 $\mu\text{g/L}$, sus LC son similares a los obtenidos en este trabajo (1.23 a 63.56 $\mu\text{g/L}$), pero ellos manejaron solamente 9 PAHs.

5.3.6 Robustez

Los métodos desarrollados no son robustos, se debe tener un riguroso control de las condiciones de operación descritas. En HPLC se debe tener especial cuidado con la temperatura de la columna y con ello de la temperatura ambiente del laboratorio donde se encuentra el cromatógrafo; además las señales del cromatograma se afectan con el flujo de la fase móvil, la proporción de los solventes, el programa de gradiente y el programa de fluorescencia. La temperatura también es fundamental en GC/MS, junto con el flujo de gas acarreador y todas las demás condiciones descritas. No fue necesario hacer un diseño de experimentos para inferir que los métodos que se aplicaron no son robustos.

5.4 Evaluación de los sistemas de extracción

5.4.1 Extracción en fase sólida

Como se aprecia en la tabla 17, para la extracción en fase sólida en discos aplicada a blancos fortificados con los 16 PAHs en concentraciones de 0.75 µg/L y determinados por GC/MS, se obtuvieron recuperaciones desde 25% para el naftaleno hasta 95% para el benzo(a)antraceno, con una media de recuperación de 65% para los 16 analitos. La precisión que se obtuvo va desde 6% RSD para el benzo(b)fluoranteno hasta 28%RSD para el naftaleno.

La revisión de la tabla 18, para la extracción en fase sólida en discos aplicada a blancos fortificados con los 16 PAHs en concentraciones de 0.030 a 1.50 µg/L y determinados por HPLC/FLU-UV, muestra que se obtuvieron recuperaciones desde 37% para el Dibenzo(a,h)antraceno) hasta 99% para el fluoranteno, con una media de recuperación de 71% para los 16 analitos, con precisiones inferiores a 16%RSD.

La comparación de las tablas 17 y 18 muestra que hubo mayor exactitud y precisión por cromatografía de líquidos. Debido a que HPLC/FLU-UV permite detectar concentraciones menores de PAHs que GC/MS, a que se obtuvieron mayores porcentajes de recuperación de los analitos y menores coeficientes de variación, se seleccionó esta técnica (HPLC) para comparar la eficiencia en la etapa de extracción usando SPE con discos y columnas.

La revisión de la tabla 19 muestra que los porcentajes de recuperación en disco (56 a 96%) resultaron mayores que los obtenidos en columna (45 a 79%) para 5 blancos fortificados con los 16 PAHs en concentraciones de 0.05 a 2.50 $\mu\text{g/L}$, y empleando el cromatógrafo de líquidos con los detectores de fluorescencia y ultravioleta para la determinación de los PAHs.

Los resultados de recuperación de PAHs mediante SPE de este trabajo, son mejores que los reportados por otros autores (16, 42); similares a los de Martínez (10) y Titato (77,78), pero bajos comparados con los de García Falcón (41). A continuación se hacen algunos comentarios respecto a los trabajos de estos autores al compararlos con éste.

Kabzinski *et al.* (16) usaron SPE-HPLC/UV y obtuvieron recuperaciones de 28 a 104 %, ellos trabajaron con 16 PAHs en muestras de agua, pero cuantificaron algunos analitos por pares, de modo que obtuvieron solo 12 señales, además de que trabajaron con concentraciones de fortificación de 0.1 $\mu\text{g/mL}$ de cada hidrocarburo, mientras que aquí fueron usados niveles de fortificación más bajos (0.05 a 2.5 $\mu\text{g/L}$) y se detectaron 16 señales.

Filipkowska *et al.* (42), reportaron recuperaciones muy inferiores (11-46%), comparadas con las de este trabajo (56-96%) para muestras de agua bidestilada fortificada con los 16 PAHs en concentración de 18 $\mu\text{g/L}$.

En el trabajo de Martínez *et al.* (10) las recuperaciones de 16 PAHs en agua con cartuchos SPE tuvieron valores de 35 a 113%. Ellos encontraron que el naftaleno y el acenafteno fueron los menos recuperados, lo cual coincide con los resultados de este trabajo, ellos lo atribuyen a que estos compuestos son los más volátiles.

García Falcón *et al.* (41) utilizaron SPE-HPLC/FLU para determinar 9 PAHs en muestras de agua y encontraron recuperaciones que resultaron mucho mejores (95 a 102%) que cuando usaron SPME. Para ellos, SPE en cartuchos superó a SPME en cuanto a precisión, recuperación y límites de detección. Los niveles de fortificación que manejaron fueron de 2.2 a 30 ng/L. García Falcón no trabajó con los PAHs más volátiles y trabajó un analito diferente, de modo que sólo trabajó con 8 PAHs de los 16 de este trabajo. García Falcón usó cartuchos de 360 mg y aquí se usaron de 1000 mg. Otro factor importante que influyó en sus resultados fue el uso de la máxima ganancia disponible en el cromatógrafo que utilizó. García Falcón trabajó con una ganancia de 1000, mientras que aquí se trabajó con la mínima ganancia del equipo que es de uno. Cabe señalar que en este trabajo también se probaron otras ganancias (sección 3.3.4) pero se observó que al incrementar la ganancia se incrementaba el ruido y con ello las interferencias, por lo cual se decidió trabajar con ganancia de uno.

Titato *et al.* (77, 78) reportaron recuperaciones de 66 a 91% por SPE, para 9 PAHs determinados por HPLC/UV; al comparar estos datos con los nuestros obtenidos por SPE-HPLC/FLU-UV, es importante especificar a qué niveles de fortificación se trabajó, Titato usó 10 µg/mL y nosotros usamos 0.05 a 2.50 µg/L. Es importante señalar que, en el desarrollo de este trabajo se observó que al aumentar la concentración de PAHs en las muestras de agua, se incrementó el porcentaje de recuperación.

La tabla 36 resume los datos mencionados en la comparación con otros autores para los resultados de SPE.

Tabla 36. Comparación de resultados obtenidos por varios autores para SPE de PAHs en agua.

Técnica/ Detector	Concentración de fortificación	No. PAHs	% R	% RSD	Referencia
HPLC/FLU-UV	0.05-2.50 µg/L	16	56-96	5-28	Este trabajo, Tablas 19 y 20
HPLC/UV	0.1 µg/mL	16	28-104	—	16
GC/MS/IT	18 µg/L	16	11-46	3-7	42
GC/MS-SIM	2 µg/L	16	35-113	0.5-13	10
HPLC/UV	10 µg/mL	9	66-91	4.8-5.6	77
HPLC/FLU	2.2 a 30 ng/L	9	95-102	1-4	41
HPLC/UV	10 µg/mL	9	66-91	5-9	78

%R = Porcentaje de recuperación.

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

Para la precisión de las extracciones por SPE en disco, en este trabajo se obtuvieron %RSD de 5 a 28, cumpliendo así para los 16 PAHs con el criterio de aceptación establecido por la EPA, de que sean inferiores a 30%. En cambio, para las extracciones en columna este criterio no se cumplió para 2 analitos (naftaleno y dibenzo(a,h)antraceno), como se señala en la tabla 20.

En resumen, en este trabajo, los resultados para SPE obtenidos con discos fueron más exactos y precisos que los obtenidos con columnas para llevar a cabo la extracción de los PAHs de blancos fortificados, por lo que se decidió pasar a la siguiente etapa, desarrollo del estudio piloto, usando SPE con discos como método de extracción.

5.4.2 Estudio piloto

El objetivo del estudio piloto fue aplicar a muestras reales las dos técnicas cromatográficas (HPLC/FLU-UV y GC/MS) usando la SPE con disco para el tratamiento de las muestras y, con base en los resultados que se obtuvieran en el estudio piloto, se seleccionaría una de las dos técnicas cromatográficas (gases o líquidos), para aplicarla al análisis de las muestras de agua obtenidas de las fuentes de abastecimiento de agua potable de la ciudad de Monterrey.

De las 8 muestras tomadas en el estudio piloto, sólo 2 mostraron señales para algunos PAHs en HPLC, en GC no se detectaron. Con el estudio piloto se consideró la posibilidad de que los niveles de concentración de PAHs en las muestras objeto de estudio, tal vez fueran menores a las concentraciones que se manejaron durante las pruebas para SPE referidas en las tablas 17 a 20; es decir, que se había probado la SPE para niveles de concentración relativamente altos con resultados satisfactorios, pero había que probar la SPE para niveles menores de concentración; entonces fue necesario realizar más extracciones, pero empleando concentraciones de fortificación menores a las que se habían usado, para tener la seguridad de que una señal de baja intensidad realmente representaba una baja concentración en la muestra y no una mala recuperación de los analitos.

Por tal motivo, se probó la extracción por medio de SPE en disco de 4 blancos fortificados en concentraciones de 0.010 a 0.500 µg/L y se determinaron los analitos por HPLC. Como se puede observar en la tabla 21 del capítulo 4, los resultados tuvieron una precisión aceptable para todos los analitos; pero las recuperaciones fueron muy bajas (48% en promedio) comparadas con las obtenidas al usar concentraciones mayores.

En este trabajo se observó que la recuperación de los PAHs disminuyó drásticamente al reducir las concentraciones en los blancos fortificados cuando empleamos discos C18 para la extracción en fase sólida. Fue entonces necesario buscar otra forma de extraer los analitos de las muestras de agua que permitiera recuperarlos en mayor porcentaje; uno de los métodos de referencia, el 550 de la EPA emplea extracción líquido-líquido para la determinación de PAHs en agua potable por HPLC-FLU-UV. Basados en esta referencia, se decidió probar la técnica de Extracción Líquido-Líquido con el propósito de mejorar la eficiencia de la extracción.

5.4.3 Extracción Líquido-Líquido

Con el propósito de mejorar la recuperación de analitos en la etapa de extracción, se hicieron pruebas con extracción líquido-líquido y, con la finalidad de no emplear grandes volúmenes de cloruro de metileno para la extracción, se cambió la cantidad de muestra: en lugar de usar 1000 mL y concentrar a un mililitro (como en SPE), se usaron 250 mL y se concentró a un mililitro, a 500 microlitros y a 250 microlitros. En todos los casos se obtuvieron buenas recuperaciones, pero se eligió recuperar en 250 microlitros de acetonitrilo, para conservar la condición inicial de concentrar mil veces los analitos en la solución de inyección con respecto a la muestra original. Se realizaron LLE en blancos fortificados y en muestras de agua de la Presa Rodrigo Gómez fortificadas para evaluar la eficiencia de la extracción mediante los porcentajes de recuperación, además de evaluar la precisión con 5 y 3 réplicas respectivamente. Se efectuaron extracciones a diferentes niveles de concentración y los resultados se discuten a continuación.

La tabla 22 muestra que los resultados obtenidos para la extracción líquido-líquido de blancos fortificados con los 16 PAHs en concentraciones de 0.010 a 0.500 $\mu\text{g/L}$ y determinados por HPLC/FLU-UV, cumplen con los criterios de aceptación establecidos por la EPA. Se obtuvo un porcentaje de recuperación

promedio de 83.71, mientras que los valores individuales tienen un rango de 58.69-105.34%; la precisión presentó valores de 1.22 a 9.15 en porcentaje de desviación estándar relativa (%RSD), para 15 analitos; sólo el naftaleno presentó un valor mayor.

En la tabla 23 se observa que los resultados de exactitud presentan un rango de 61 a 95% de recuperación y presentan RSD% de 4 a 14 para muestras de agua de la cortina de la Presa Rodrigo Gómez fortificada.

En la tabla 24 se aprecia que los porcentajes de recuperación fueron en general mayores de 70, excepto para el naftaleno, que presentó valores de 62 a 67%. La baja recuperación del naftaleno se atribuye a su alta volatilidad (10).

En resumen, después de analizar los resultados de las tablas 17 a 24, se puede afirmar que la extracción líquido-líquido resultó más eficiente que la extracción en fase sólida para este trabajo, ya que presentó mayor exactitud y precisión.

Los resultados de recuperación de PAHs mediante LLE aquí presentados son mejores que los reportados por otros autores (42, 77). A continuación se hacen algunos comentarios respecto a los trabajos de estos autores al compararlos con este trabajo.

(2005) Filipkowska *et al.* (42), emplearon muestras de agua bidestilada fortificada con los 16 PAHs en concentración de 18 µg/L y por LLE reportaron recuperaciones en un rango demasiado amplio (4-126%), comparadas con las de este trabajo (59-105%) para agua bidestilada fortificada.

(2005) Otro autor que trabajó LLE es Titato (77); sin embargo, de 9 analitos, sólo logró extraer 6 por LLE a un nivel de fortificación muy elevado (10 µg/mL) comparado con el que aquí se reporta (0.010-0.500 µg/L). Titato menciona en su trabajo que después de la extracción, llevó a sequedad la fase orgánica con

corriente de nitrógeno, y recuperó los PAHs en acetonitrilo. En el trabajo aquí desarrollado, la etapa de volatilización del solvente orgánico fue fundamental para evitar la pérdida de los 3 PAHs de menor peso molecular, de modo que se llevaba casi a sequedad e inmediatamente se recuperaba con acetonitrilo. A continuación se presenta una tabla que permite comparar los resultados de LLE encontrados en este trabajo con los obtenidos por Filipkowska (42) y por Titato (77, 78).

Tabla 37. Comparación de resultados obtenidos por varios autores para LLE de PAHs en agua.

Técnica/ Detector	Concentración de fortificación	No. PAHs	% R	% RSD	Referencia
HPLC/FLU-UV	0.010-0.50 µg/L Agua bidestilada	16	59-105	1-9	Este trabajo, Tabla 22
HPLC/FLU-UV	0.010-0.50 µg/L Agua de Presa	16	61-95	4-14	Este trabajo, Tabla 23
GC/MS/IT	18 µg/L Agua bidestilada	16	4-126	8	42
HPLC/UV	10 µg/mL Agua Milli-Q	9	85-98	7.7-8.5	77
HPLC/UV	10 µg/mL Agua Milli-Q	9	85-98	8.0-8.5	78

%R = Porcentaje de recuperación.

5.4.4 Exactitud

La exactitud de un método es la proximidad del valor medido al valor aceptado como verdadero en la muestra. Se puede realizar mediante la adición de los analitos a blancos de matriz y determinando el porcentaje de recuperación (73).

La recuperación de los 16 PAHs en este trabajo mediante LLE fue satisfactoria, ya que presentó recuperaciones de 80 a 90% para los diferentes niveles de fortificación empleados; además cumple el criterio de aceptación de la EPA, de que % RSD de las recuperaciones sean menores a 30%, (Tablas 22,23 y 24).

5.5 Validación del método de análisis por LLE-HPLC/FLU-UV

Para la validación del método LLE-HPLC/FLU-UV se usaron 10 intervalos de trabajo, el más bajo fue para antraceno y benzo(k)fluoranteno, de 2.50 a 12.50 ng/L; el más alto fue para el acenafteno, con concentraciones de 375 a 625 ng/L (Tabla 25).

Para poder evaluar la linealidad se calcularon los coeficientes de determinación para las curvas de calibración de cada uno de los 16 PAHs y para todos se obtuvieron valores mayores de 0.99. También se calculó % RSD de los 9 factores de respuesta y todos resultaron menores que 15, lo que significa que se cumplió con los criterios de aceptación establecidos por la EPA (<20%), (Tabla 25).

La precisión del método tuvo valores de 2 a 10 % RSD de las mediciones que se hicieron para cada analito, cumpliendo con esto el criterio de aceptación EPA de que sea menor que 15%, (Tabla 25).

La precisión del método desarrollado es comparable a la obtenida por Martínez *et al.* (10), quienes reportaron para SPE-GC/MS una repetibilidad de 0.5 a 6.0 %

RSD para la mayoría de los compuestos y 13% para el fluoranteno, valores cercanos a los aquí obtenidos por LLE-HPLC/FLU-UV (2.06 a 10.44% RSD, (Tabla 25). Es importante aclarar que Martínez manejó concentraciones de fortificación de 2.0 µg/mL y aquí se usaron concentraciones de 0.01 a 0.50 µg/mL.

Una medida de la exactitud es el porcentaje de recuperación de los analitos; en secciones anteriores se habló de los porcentajes de recuperación obtenidos durante las pruebas de SPE y LLE para blancos y agua de la Presa Rodrigo Gómez fortificada; es importante señalar que cada mes se evaluó la recuperación para cada una de las muestras fortificadas que se prepararon simultáneamente con las muestras sin fortificar, y siempre se obtuvieron valores superiores al 80% de recuperación.

5.6 Comparación con otros métodos

Los LD del método desarrollado en este trabajo van de 0.59 a 21.29 ng/L (Tabla 25), este último valor se obtuvo para el acenafteno, que es el analito más concentrado en las soluciones de trabajo; su concentración es 50 veces más elevada que la de otros analitos en la mezcla, (debido a que es la forma disponible comercialmente la mezcla de estándares certificados de los 16 PAHs), sin considerar al acenafteno, el intervalo de LD va de 0.59 a 8.99 ng/L; este último valor es para el acenaftileno, que es el que se detecta por UV porque no presenta fluorescencia y su concentración también es elevada; sin embargo, estos resultados son comparables a los de Martínez *et al.* (2004) (10), quienes reportaron LD de 0.1 a 15 ng/L para muestras de agua fortificadas con los 16 PAHs, sometidas a SPE y analizadas por GC/MS.

(2004) King *et al.* (38), utilizaron SPME-GC-MS para 16 PAHs en muestras de agua y encontraron LD de 1 a 29 ng/L, que también son similares a los LD del método desarrollado en este trabajo; sin embargo, al comparar los valores

individuales para el benzo(a)pireno, el LD aquí reportado es menor, lo mismo ocurre para otros 4 PAHs considerados carcinógenos y que son a los que más importancia se les da en la legislación europea.

(2004) Chen (11) usó SPME-HPLC/FLU para analizar 5 PAHs en agua y reportó LD de 2.3 a 6 ng/L; al comparar estos valores con los obtenidos con el método desarrollado en este trabajo, se observa que para 3 hidrocarburos (de los 5 que analizó Chen) los LD son similares a los obtenidos en este estudio.

(2004) García Falcón y colaboradores (41) reportaron LD de 3 a 37 ng/L para la determinación de 9 PAHs en agua por SPME-HPLC-FLU, y para SPE-HPLC-FLU encontraron LD de 0.05 a 0.7 ng/L. Aunque los resultados de LD para SPE reportados por García Falcón son menores que los obtenidos en este trabajo, es importante aclarar que ellos manejaron sólo 9 PAHs, que no trabajaron con los PAHs más volátiles y que para minimizar los niveles de detección usaron los valores máximos de ganancia y ranura del detector (1000 y 40 respectivamente); mientras que aquí se trabajó con la mínima ganancia del equipo que es de uno. Como se mencionó en la sección 3.3.4, en el desarrollo del método se probaron otros niveles de ganancia, pero se observó que al incrementar la señal, se incrementaba también el ruido y eso interfería en el análisis de algunos de los PAHs, por lo que se decidió trabajar con el nivel 1 de ganancia.

(1990) El método 550 de la EPA (26) presenta LD en el intervalo de 2 a 3300 ng/L, es importante aclarar que en este método 12 PAHs se detectan por FLU y para ellos los LD van de 2 a 162 ng/L; para los mismos compuestos, los LD de este trabajo para esos 12 PAHs van de 0.59 a 5.99 ng/L, (Tabla 25).

Con respecto a los límites de cuantificación obtenidos en este trabajo, en la tabla 25 se observa que el intervalo es de 1.76 a 63.86 ng/L, este último valor es para el acenafteno, ya se mencionó que este compuesto se encuentra en

una concentración muy elevada comparada con el resto de la mezcla de 16 PAHs; es normal entonces que se obtengan valores de LD y LC altos, puesto que su curva de calibración se manejó con concentraciones relativamente grandes. Si el objetivo fuera lograr LD y LC menores para este compuesto, sin tomar en cuenta a los demás PAHs, se tendría que manejarlo en concentraciones menores y se podrían utilizar las longitudes de onda de la figura 6 para maximizar la señal de fluorescencia.

Los LC obtenidos para el método (1.76 a 63.86 ng/L), estuvieron por debajo del límite máximo permitido por la Unión Europea para los PAHs, que es de 200 ng/L. Los LC obtenidos para el benzo(a)pireno (9.32 ng/L), se encuentran por debajo del límite máximo permitido por la EPA, que es de 200 ng/L. Los LC también fueron menores al límite establecido por la OMS, que considera al benzo(a)pireno como representativo de los PAHs y lo limita a un valor de 700 ng/L, por lo que el método desarrollado en este trabajo es aplicable para la determinación de PAHs en muestras de agua que provengan de las fuentes de abastecimiento de agua potable.

5.7 Estudio ciego

El estudio ciego se hizo para evaluar la confiabilidad del método. En el análisis de la muestra ciega se lograron detectar y cuantificar los 16 analitos; se obtuvo en promedio un error menor al 10%, lo cual indica que el método tiene una exactitud aceptable, (Tabla 26).

5.8 Aplicación del método seleccionado a muestras reales

El estudio piloto permitió seleccionar LLE para la primera etapa del tratamiento de muestra, debido a que en nuestras pruebas resultó más eficiente que SPE; para la etapa de concentración se decidió usar nitrógeno gas porque es la forma más sencilla de volatilizar el cloruro de metileno comparado con Kuderna-Danish, además de que requiere menos transferencias y manipulación de la

muestra (comparado con el Kuderna) y por lo mismo, menor probabilidad de pérdida de la muestra (excepto para el naftaleno). Para la etapa de medición, se eligió a la cromatografía de líquidos debido a que presentó menores niveles de detección comparada con GC.

Como se mencionó en el capítulo 3, la información de cuáles son las fuentes de abastecimiento de agua potable de la ciudad de Monterrey, fue proporcionada por Servicios de Agua y Drenaje de Monterrey, I.P.D. Con base en esa información, se establecieron los sitios de muestreo, los cuales se presentan en la tabla 27. Los tiempos transcurridos para el análisis son los recomendados por la EPA, para evitar la degradación de las mismas. Los frascos de vidrio oscuro se usaron para evitar descomposición fotolítica, de acuerdo al método 550 de la EPA.

5.9 Resultados generales de las muestras de 12 meses

Las muestras de agua que se tomaron durante un periodo de 12 meses en los sitios descritos en la tabla 27, en general presentaron señales sólo para 3 analitos de los 16, que son: naftaleno, fluoreno y fenantreno, cuyos límites de cuantificación son 10.04, 3.06 y 5.66 ng/L; es importante aclarar que ninguno de los tres está clasificado como carcinógeno y que en ninguno de los 12 meses fluoreno y fenantreno alcanzaron niveles superiores al LC, y que con mucha frecuencia para ellos se reportó N.D. (no detectable) o <LD. El único analito que alcanzó, algunos meses, valores cuantificables fue el naftaleno, pero se encontró en concentraciones menores al límite máximo permitido por la Unión Europea para PAHs totales (200 ng/L).

CAPÍTULO 6

CONCLUSIONES Y PERSPECTIVAS

6.1 Conclusiones

1. Se desarrolló un método cromatográfico que es aplicable a la determinación de PAHs en fuentes de abastecimiento de agua potable.
2. El método desarrollado permite detectar los analitos de interés a niveles de concentración inferiores a los estipulados en regulaciones internacionales (UE, OMS, EPA).
3. Los niveles de PAHs en las fuentes de abastecimientos estudiadas están dentro de las normas internacionales, pues no se detectaron señales de ningún PAH clasificado como carcinógeno.

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN
DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

6.2 Perspectivas

1. Proponer el método desarrollado a la SEMARNAT para que se considere su difusión y aplicación a nivel nacional.
2. Presentar el método desarrollado a Servicios de Agua y Drenaje de Monterrey, para que considere su aplicación en el agua potable y sus fuentes de abastecimiento.
3. Investigar la presencia de PAHs en otras matrices ambientales, tales como sedimentos.
4. Optimizar la extracción en fase sólida.

REFERENCIAS

1. Soniassy R., Sandra P., Schlett C. Water Analysis Organic Micropollutants. Hewlett Packard Company, Germany, (1994).
2. Priority Pollutants (Clean Water Act), EPA, Office of Water. Water Quality Standards Database.
http://oaspub.epa.gov/wqsdatabase/wqsi_epa_criteria.rep_parameter
3. Harvey, R.G. Polycyclic aromatic hydrocarbons. Chemistry and carcinogenicity. Cambridge monographs on cancer research. Cambridge University Press, pp. 1-95. (1991)
4. Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática (INEGI). Porcentaje de defunciones por sexo y principales causas 1990-2003. (www.inegi.gob.mx).
5. Gundel L.A., Mahanama K.R.R., and Daisey J.M. Semivolatile and particulate polycyclic aromatic hydrocarbons in environmental tobacco smoke: cleanup, speciation, and emission factors. Environ. Sci. Technol. 29: 1607-14 (1995).
6. Gmeiner G., Stehlik G., and Tausch H. Determination of seventeen polycyclic aromatic hydrocarbons in tobacco smoke condensate. J. Chromatogr. A. 767: 163-69 (1997).
7. Zha Q., Qian N.X., and Moldoveanu S.C. Analysis of polycyclic aromatic hydrocarbons in the particulate phase of cigarette smoke using a gas chromatographic-high-resolution mass spectrometric technique. J. Chromatogr. Sci. 40: 403-08 (2002).
8. Stanley S., Percival C.J., Auer M., Braithwaite A., Newton M.I., McHale G., Hayes W. Detection of polycyclic aromatic hydrocarbons using quartz crystal microbalances. Anal. Chem. 75, 1573-1577. (2003).

9. Moret S., and Conte L.S. Polycyclic aromatic hydrocarbons in edible fats and oils: occurrence and analytical methods. *J. Chromatogr. A.* 882: 245-53 (2000).
10. Martinez E., Gros M., Lacorte S., Barceló D. Simplified procedures for the analysis of polycyclic aromatic hydrocarbons in water, sediments and mussels. *J. Chromatogr. A.* 1047: 181-188 (2004).
11. Chen H.W. Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in water by solid-phase microextraction and liquid chromatography. *Anal. Sci.* 20: 1383-88 (2004).
12. World Health Organization, *Guidelines for Drinking Water Quality-Recommendations*, Geneva, 1: 15-16. (1998).
13. L. H. Keith, *Environmental Sampling and Analysis – A Practical Guide*, Lewis Publishers, Chelsea, (1992).
14. MSDS Naphtalene, <http://www.jtbaker.com/msds/englishhtml>.
15. MSDS Anthracene, <http://www.jtbaker.com/msds/englishhtml>.
16. Kabzinski A.K.M., Cyran J., Juszczak R. Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in water (including drinking water) of Łódź. *Polish J. Environ. Stud.* 11(6): 695-706 (2002).
17. Maskaoui, K., Zhou J.L., Hong H.S., Zhang Z.L. Contamination by polycyclic aromatic hydrocarbons in the Jiulong river estuary and western Xiamen Sea, China. *Environ. Pollut.* 118: 109-122. (2002).
18. Council Directive 76/464/EEC of 4 May 1976 on Pollution Caused by Certain Dangerous Substances Discharged into the Aquatic Environment of the Community Official J.L 129, 0023-0029. (1976).
19. Propuesta de Directiva del Consejo relativa a la calidad de las aguas destinadas al consumo humano (95/C 131/03), D.O.C.E. No. C 131/5-No. 131/24 (Spain), Brussels, (1995).
20. Directive 2000/60/EC of the European Parliament and of the Council of 23 October 2000 Establishing a Framework for Community Action in the Field of Water Policy Official J. L 327, 22, 0001-0073. (2000).

21. Directive 98/83/EC, 1998, Official Journal of the European Communities L-330 (5th December, 1998), Council Directive relative to the quality of waters intended for human consumption. (1998).
22. Decision No 2455/2001/EC of the European Parliament and of the Council of November 2001 Establishing the List of Priority Substances in the Field of Water Policy and Amending Directive 2000/60/EC (Text with EEA relevance) Official J. L. 331, 0001-0005. (2001).
23. Pontius F. W. An update of the federal regulations, J. of the AWWA, 88(3): 36-46. (1996).
24. Regulation 459/00- Drinking Water Protection, made under the Ontario Water Resources Act, in Ontario Gazette, August 26, Queen's Printer on Ontario, Toronto, (2000).
25. NOM-127-SSA1-1994. "Salud Ambiental, Agua para uso y consumo humano. Límites permisibles de calidad y tratamientos a que debe someterse el agua para potabilización". México. (1994).
26. Hodgeson, W.J. Bashe and T.V. Baker, Method 550. Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in drinking water by liquid-liquid extraction and HPLC with coupled ultraviolet and fluorescence detection. U. S. Environmental Protection Agency, Cincinnati, Ohio, (1990).
27. Eichelberger J.W., Behymer T.D., Budde W.L. Method 525: Determination of organic compounds in drinking water by liquid-solid extraction and capillary column gas chromatography/mass spectrometry. U. S. Environmental Protection Agency, Cincinnati, Ohio, (1988).
28. Kayali M.N., Rubio-Barroso S., Becerro Roldán C., and L.M. Polo-Diez L.M. Rapid determination of PAHs in drinking water samples using SPE and HPLC with programmed fluorescence detection. J. Liq. Chromatogr. Relat. Technol. 19(19): 3135-46 (1996).
29. Urbe I., Ruana J. Application of solid phase extraction discs with a glass fiber matrix to fast determination of PAHs in water. J. Chromatogr. A. 778: 337-45 (1997).

30. Crozier P.W., Plomley J.B., Matchuk L. Trace level analysis of PAHs in surface waters by SPE and gas chromatography-ion trap mass spectrometry (GC-ITMS). *Analyst*, 126: 1974-79 (2001).
31. Nirmaier H.P., Fischer E., Meyer A., and Henze G. Determination of PAHs in water samples using HPLC with amperometric detection. *J. Chromatogr. A*. 730: 169-75 (1996).
32. Nanqin L., Hian K.L. Solid phase extraction of polycyclic aromatic hydrocarbons in surface water. Negative effect of humic acid. *J. Chromatogr. A*. 921: 255-63 (2001).
33. Rodrigues R., Lacerda C.A., Lancas F.M. Coating of Solid-Phase Microextraction Fibers with Chemically Bonded Silica Particles: Selective Extraction of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons from Drinking Water Samples. *J. Chromatogr. Sci.* 40: 489-494 (2002).
34. Popp P., Bauer C., Möder M., Paschke A. Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in wastewaters by off-line coupling solid-phase microextraction with column liquid chromatography. *J. Chromatogr. A*. 897: 153-59 (2000).
35. Doong R.A., Chang S.M., Sun Y.C. Solid Phase microextraction for the determining the distribution of sixteen US Environmental Protection Agency polycyclic aromatic hydrocarbons in water samples. *J. Chromatogr. A*. 879: 177-88 (2000).
36. Doong R.A., Chang S.M., Sun Y.C. Solid phase microextraction and headspace solid phase microextraction for the determination of high molecular-weight polycyclic aromatic hydrocarbons in water and soil samples. *J. Chromatogr. Sci.* 38: 528-34 (2000).
37. Hou L., Lee H.K. Application of static and dynamic liquid-phase microextraction in the determination of polycyclic aromatic hydrocarbons. *J. Chromatogr. A*. 976: 377-85 (2002).
38. King A.J., Readman J.W., and Zhou J.L. Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in water by solid-phase microextraction –gas chromatography-mass spectrometry. *Anal. Chim. Acta*. 523: 259-67 (2004).

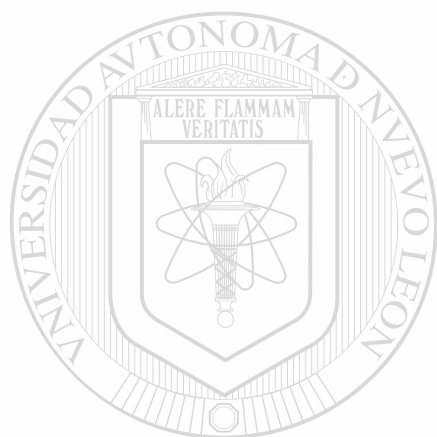
39. Bagheri H., and Salemi A. Coupling of a modified in-tube solid phase microextraction technique with high performance liquid chromatography-fluorescence detection for the ultra-trace determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in water samples. *Chromatographia*. 59: 501-05 (2004).
40. US EPA Method 3535. Revision 0. Solid-Phase Extraction (SPE), December 1996. U.S. Environmental Protection Agency. Cincinnati, Ohio, 45268.
41. García-Falcón M.S., Pérez-Lamela M., and Simal-Gándara J. Comparison of strategies for extraction of high molecular weight polycyclic aromatic hydrocarbons from drinking waters. *J. Agric. Food Chem.* 52: 6897-6903 (2004).
42. Filipkowska A., Lubecki L., Kowalewska G. Polycyclic aromatic hydrocarbon analysis in different matrices of the marine environment. *Anal. Chim. Acta*. 547: 243-254 (2005).
43. US Environmental Protection Agency. Method 610. Polynuclear Aromatic Hydrocarbons. 40 CFR Part 136. 43344, Federal Register 49, No. 209, (1994).
44. APHA-AWWA-WPCF. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, 19th ed. American Public Health Association: Washington, D.C., pp. 6-103 and 6-108. (1995).
45. Ontario Ministry of the Environment. The determination of polyaromatic hydrocarbons (PAH) in water by solid phase extraction (SPE) and gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) (SPEMS-E3399A), Ontario Ministry of the Environment, Laboratory Services Branch, Etobicoke, Canada, (1997).
46. Messer D.C. and Taylor L.T. Method development for the quantitation of trace polyaromatic hydrocarbons from water via solid-phase extraction with supercritical fluid elution. *J. Chromatogr. Sci.* 33: 290-296. (1995).
47. Lázaro E., San Andrés M.P., Vera S. Determination of five polycyclic aromatic hydrocarbons in aqueous micellar media by fluorescence at room temperature. *Anal. Chim. Acta*, 413: 159-166. (2000).

48. Amador-Hernández J., Fernández-Romero J.M., Luque de Castro M.D. Flow injection screening and semiquantitative determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in water by laser induced spectrofluorimetry-chemometrics. *Anal. Chim. Acta*, 448: 61-69. (2001).
49. Hagestuen E.D., Campiglia A.D. New approach for screening of polycyclic aromatic hydrocarbons in water samples. *Talanta*, 49: 547-560. (1999)
50. Whitcomb J.L., Campiglia A.D. Screening potential of solid-phase extraction and solid surface room temperature fluorimetry for polycyclic aromatic hydrocarbons in water samples. *Talanta*, 55: 509-518. (2001).
51. Miege C, Dugay J., Hennion M.C. Optimization, validation and comparison of various extraction techniques for the trace determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in sewage sludges by liquid chromatography coupled to diode-array and fluorescence detection. *J. Chromatogr. A*, 995: 87-97. (2003).
52. Tomaniová M., Hajslová J., Pavelka Jr. J., Kocourek V., Holadová K., Klimová I. Microwave-assisted solvent extraction – a new method for isolation of polycyclic aromatic hydrocarbons from plants. *J. Chromatogr. A*, 827: 21-29. (1998).
53. Sienna M. del R., Préndez M. M., Romero R. Metodología para la extracción, fraccionamiento y cuantificación de hidrocarburos aromáticos policíclicos presentes en material particulado urbano. *Bol. Soc. Chil. Quím.* 47 (4), Concepción, (2002).
54. Monserrate M., Olesik S.V., Evaluation of SFE-CO₂ and methanol-CO₂ mixtures for the extraction of Polynuclear Aromatic Hydrocarbons from House Dust. *J. Chromatogr. Sci.* 35: 82-90. (1997).
55. Jiang T., Guan Y. Analysis of polycyclic aromatic hydrocarbon derivatives by on-line coupled packed-capillary high-performance liquid chromatography-high-temperature gas chromatography. *J. Chromatogr. Sci.* 37: 255-262. (1999).

56. Cam D., Gagni S., Meldolesi L., Galleti G. Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in sediment using solid-phase microextraction with gas chromatography-mass spectrometry. *J. Chromatogr. Sci.* 38: 55-60. (2000).
57. Miller J.S. Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons by spectrofluorimetry. *Anal. Chim. Acta*, 388: 27-34. (1999).
58. Kayali M.N., Rubio-Barroso S., Polo-Diez L.M., Rapid PAH determination in urban particulate air samples by HPLC with fluorometric detection and programmed excitation and emission wavelength pairs. *J. Chromatogr. Sci.* 33: 181-185.(1995).
59. Guiteras J., Beltrán J.L., Ferrer R. Quantitative multicomponent analysis of polycyclic aromatic hydrocarbons in water samples. *Anal. Chim. Acta.* 361: 233-240. (1998).
60. Cortazar E., Zuloaga O, Sanz J., Raposo JC, Etxebarria N., Fernandez LA. MultiSimplex optimisation of the solid-phase microextraction-gas chromatographic-mass spectrometric determination of polycyclic aromatic hydrocarbons, polychlorinated biphenyls and phthalates from water samples. *J. Chromatogr. A*, 978 (1-2): 165-75. (2002).
61. Nguyen An-Lac, Luong John H.T. Separation and determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in water by solid-phase microextraction/cyclodextrin-modified capillary electrophoresis. *Anal. Chem.* 69: 1726-1731. (1997).
62. Wittkamp B.L., Hawthorne S.B. Determination of aromatic compounds in water by solid phase microextraction and ultraviolet absorption spectroscopy. 1. Methodology. *Anal. Chem.* 69: 1197-1203. (1997).
63. Yu Liu, Lee M.L. Solid-phase fibers coated with HPLC chemically bonded silica stationary phases. *Anal. Chem.* 69: 5001-5005. (1997).
64. Díaz Moroles N. E., Análisis de hidrocarburos aromáticos policíclicos en agua potable mediante cromatografía de gases con detector selectivo de espectrometría de masas. Tesis de Maestría, UANL, (2000).

65. Ramírez Villarreal E. G., Determinación de compuestos aromáticos polinucleares a bajas concentraciones en agua por CLAR. Tesis de Maestría UANL, (2001).
66. Servicios de Agua y Drenaje de Monterrey, I.P.D. Dirección de Operaciones.
67. SEMARNAT-INE-2002. Demandas específicas del sector ambiental. <http://www.ine.gob.mx/tema2.html>.
68. Pradeau. Análisis Químicos Farmacéuticos de Medicamentos. Capítulo 5. Validación de un método analítico, pp. 112-140. Colección Textos Politécnicos, Serie Ciencias de la Salud. Editorial Limusa, S.A. de C.V. México, (1998).
69. Quattrocchi O.A., Albelaira de A.S.I., Laba R.F. Introducción a la HPLC Aplicación y Práctica. Artes Gráficas Farro S.A. Buenos Aires, pp. 312-315, 324-326. (1992).
70. ICH. Validation of Analytical Procedures: Methodology Topic Q2B. Note for Guidance on Validation of Analytical Procedures. The European Agency for Evaluation of Medicinal Products, Human Medicines Evaluation Unit. London, (1996).
71. Miller N. J., Miller J. C. Estadística y Quimiometría para Química Analítica. 4ª. Edición, Ed. Pearson, Madrid, pp. 112-155. (2002).
72. IUPAC. Guideline for Calibration in Analytical Chemistry- Part 1. Fundamentals and Single Component Calibration. Commission on General Aspects of Analytical Chemistry. Pure and Applied Chemistry., 70: 993-1014. (1998).
73. Green J. Mark. A Practical Guide to Analytical Method Validation. Analytical Chemistry, 68: 305A-309A. (1996)
74. Keith Lawrence H. Compilation of EPA's Sampling and Analysis Methods. Second Edition. CRC Press, Inc., USA, (1996).
75. NOM-014-SSA1-1993. "Procedimientos sanitarios para el muestreo de Agua para uso y consumo humano en sistemas de abastecimiento de agua públicos y privados". México. (1993).

76. McMaster M., McMaster C. *GC/MS A Practical User's Guide*. Wiley-VCH, New York, USA, pp. 76-77. (1998).
77. Titato G. M., Lancas F. M. Comparison between different extraction (LLE and SPE) and determination (HPLC and capillary-LC) techniques in the analysis of selected PAHs in water samples. *J. Liq. Chromatogr. Relat. Technol.*, 28:3045-3056, (2005).
78. Titato G. M., Lancas F. M. Optimization and validation of HPLC-UV-DAD and HPLC-APCI-MS methodologies for the determination of selected PAHs in water samples. *J. Chromatogr. Sci.* 44: 35-40. (2006).



UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN



DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

RESUMEN AUTOBIOGRÁFICO

Nora Emma Díaz Moroles

**Candidata para el grado de Doctora en Ciencias
con Especialidad en Química Biomédica**

**Tesis: DESARROLLO, VALIDACIÓN Y APLICACIÓN DE MÉTODOS
CROMATOGRÁFICOS PARA LA DETERMINACIÓN DE
HIDROCARBUROS AROMÁTICOS POLICÍCLICOS EN FUENTES
DE ABASTECIMIENTO DE AGUA POTABLE DE LA CIUDAD DE
MONTERREY**

Área de Estudio: Química Biomédica

Biografía:

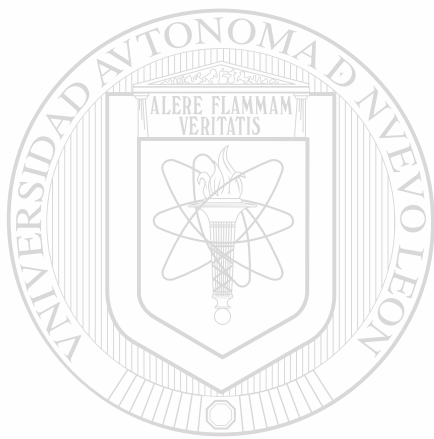
Datos Personales: Nacida el 1 de mayo de 1957 en Monterrey N.L.; hija del Sr. Jacinto Díaz González y la Sra. Damiana Moroles Ortiz.

Escolaridad:

- Obtención del Título de Licenciada en Química Industrial, en la Facultad de Ciencias Químicas-UANL (1978).
- Obtención del grado de Maestría en Ciencias con Especialidad en Química Analítica, en la Facultad de Ciencias Químicas -UANL (2000).

Experiencia Profesional:

- Auxiliar del Laboratorio de Química Analítica en la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad Autónoma de Nuevo León desde 1977.
- Maestra por horas en la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad Autónoma de Nuevo León desde 1978.
- Maestra de tiempo completo de la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad Autónoma de Nuevo León desde 1981.



UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN



DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS



