

METODOLOGÍA PARA LA EXTRACCIÓN, FRACCIONAMIENTO Y CUANTIFICACIÓN DE HIDROCARBUROS AROMÁTICOS POLICÍCLICOS PRESENTES EN MATERIAL PARTICULADO URBANO

MARÍA DEL ROSARIO SIENRA¹, M. MARGARITA PRÉNDEZ¹
Y RODRIGO ROMERO²

¹Laboratorio de Química de la Atmósfera, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile. Olivos 1007. Santiago, Chile. Casilla 233.

²Centro Nacional de Medio Ambiente. Av. Larraín 9975. Santiago, Chile.

RESUMEN

Se desarrolló una metodología confiable para la identificación y cuantificación de Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos (Polycyclic Aromatic Hydrocarbons, PAHs) en aerosoles atmosféricos, que incluye la extracción con diclorometano, la purificación y fraccionamiento de los componentes presentes en la muestra con columna de gel de sílice y la cuantificación mediante GC-MSD. Se obtuvo porcentajes de recuperación en el rango de 61 a 113%, dependiendo del PAH específico analizado. El protocolo analítico, que implica una significativa economía en el tiempo de análisis y consumo de reactivos, se aplicó exitosamente a la cuantificación de PAHs en muestras de material particulado PM10 urbano, colectadas en la ciudad de Santiago de Chile, entre octubre y noviembre de 1999.

PALABRAS CLAVE: Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos, PAHs, aerosoles atmosféricos, fraccionamiento, cuantificación con GC-MSD, Santiago de Chile.

SUMMARY

A reliable methodology for identification and quantification of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs) in atmospheric aerosols has been developed, using extraction with dichloromethane, a clean-up step for purification and fractionation of the sample compounds on a silica column and quantification by GC-MSD. The percentage of recovery for the analytical procedure was 61- 113 %, depending on each PAH. The analytical protocol, introducing a significant economy of time and reagents, was applied to the quantification of PAHs in urban atmospheric aerosols PM10 samples, collected in Santiago de Chile city, between october and november of 1999.

KEYWORDS: Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs), atmospheric aerosols, clean-up, quantification by GC-MSD, Santiago de Chile.

INTRODUCCION

El material particulado (aerosoles atmosféricos o partículas), ejerce roles importantes sobre la química de los procesos atmosféricos, el clima y la salud humana. El material particulado sirve de catalizador para muchas reacciones químicas atmosféricas. Además, las partículas ingresan al organismo casi exclusivamente a través del aparato respiratorio y se depositan en sus diferentes partes, en mayor cantidad y a mayor profundidad, en la medida que disminuye su tamaño, dando origen a diversos grados de respirabilidad¹. El material particulado <10 µm se ha asociado a estudios epidemiológicos que sugieren

que un aumento de 10 mg/m^3 en la concentración de las partículas inhaladas está asociado a un aumento del 1% en la mortalidad prematura². Por consiguiente conocer la composición química, orgánica e inorgánica del material particulado, tiene relevancia no sólo del punto de vista de la química de la atmósfera, sino también sobre la calidad de vida¹⁻⁴.

Dentro de los compuestos orgánicos se encuentran los Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos (PAHs), algunos de los cuales poseen propiedades cancerígenas y/o mutagénicas⁵⁻¹⁰. La importancia de los PAHs en la química de la contaminación del aire y en la salud pública fue ya evidenciada en 1942², al descubrirse que los extractos orgánicos provenientes de los aerosoles atmosféricos, producían cáncer en los animales de experimentación. En la actualidad la Agencia de Protección Ambiental de los EEUU (USEPA) ha efectuado una estimación del potencial carcinogénico de estos compuestos, relativo al Benzo[a]pireno, utilizando información de la literatura científica existente⁷.

Los PAHs están ampliamente distribuidos en el ambiente; están asociados a las actividades humanas, pues se forman durante la combustión incompleta de materiales orgánicos incluyendo carbón, petróleo, gasolina, leña y basura. También se encuentran en el petróleo crudo, en el alquitrán, creosota y asfalto junto con algunos de sus derivados nitrados. De forma natural se originan en la quema de bosques⁷⁻¹¹. Su ingreso a los seres vivos ocurre a través de diversas vías: el agua, el suelo, el aire, los alimentos o a través del contacto directo con productos que contengan estos compuestos⁷⁻¹¹.

Generalmente, los PAHs se tratan como grupo de compuestos debido a que comúnmente se encuentran en el ambiente como mezclas de dos o más de ellos, así como también debido a sus estructuras químicas similares⁷⁻¹¹.

Los PAHs y sus derivados se distribuyen en la atmósfera entre las fases gaseosa y particulada, según su presión de vapor^{2-11,13}. Peltonen y Kuljukka, 1995¹¹ en su revisión acerca del muestreo y análisis de PAHs en el aire, sostienen que estos compuestos se adsorben en el material particulado, principalmente en las partículas respirables menores de 5µm. Los PAHs reaccionan en la atmósfera originando derivados oxigenados y nitrados que también poseen propiedades cancerígenas y/o mutagénicas²⁻¹¹.

La transformación en la atmósfera de los PAHs en nitro-PAHs se evidencia observando que la distribución de sus isómeros en las emisiones es, en general, significativamente diferente de la obtenida en el aire². Otros derivados encontrados en la atmósfera son: nitrolactonas, nitronaftalenos y metilnitronaftalenos, epóxidos, ésteres, lactonas y peróxidos^{2,14}.

La atmósfera de la ciudad de Santiago se encuentra entre las más contaminadas del mundo por material particulado y por ozono, a consecuencia de lo cual fue declarada zona saturada en dichos contaminantes por las autoridades ambientales el 1° de agosto de 1996.

Diversos factores meteorológicos y topográficos contribuyen a las mayores concentraciones de material particulado¹, pero además, la presencia de compuestos orgánicos en el aire conteniendo altas concentraciones de óxidos de nitrógeno, ciertamente debe contribuir a elevar las concentraciones de ozono.

Bajo esta perspectiva, es necesario cuantificar los PAHs y sus derivados presentes en los aerosoles atmosféricos urbanos a fin de que se pueda llegar a evaluar el grado de exposición a que están sometidos los habitantes de la ciudad. Para esto, es preciso establecer un método adecuado de muestreo, así como una metodología analítica confiable para los niveles de concentración de los PAHs existentes en la atmósfera de ciudad.

Los estudios referentes a PAHs realizados en la ciudad de Santiago son escasos; se han cuantificado los PAHs en material particulado < 45 µm (1990-1991) y < 5µm (1994), con énfasis en la salud humana^{5-6,8,10}. También se ha publicado un estudio sobre la cuantificación de algunos PAHs en las fases gaseosa y particulada PM_{2,5} y su volatilidad, en muestras colectadas entre junio y agosto de 1997 (Estadio CORFO, Las Condes)⁹. En el año 2000¹⁵ se publicó un estudio en material particulado PM₁₀ de muestras colectadas entre junio y julio de 1991 y entre enero y febrero de 1993 (Plaza Gotuzzo, centro de la ciudad)¹⁵.

La revisión bibliográfica muestra que se han desarrollado y utilizado varias técnicas de muestreo para el estudio de los PAHs, tanto en Chile como en el extranjero, con sus respectivas ventajas y desventajas^{5,6, 8-11, 14-20}. También se encuentran muchas variantes a las metodologías analíticas empleadas para la identificación y cuantificación de dichos compuestos^{5-11, 15-19}. Algunos de ellos han efectuado la extracción de los PAHs presentes en el material particulado utilizando Soxhlet ó ultrasonido y una variedad de solventes que incluyen diclorometano, benceno, acetona y metanol, entre otros. Peltonen y Kuljukka, 1995¹¹ mencionan que se ha usado también la extracción con fluido supercrítico, variando los tiempos de extracción. Dado que las muestras ambientales contienen una variedad de interferentes y cantidades traza de los PAHs y sus derivados, es preciso realizar además una concentración de la muestra y su posterior fraccionamiento y purificación (clean-up).

Existen variaciones relevantes en cuanto a la separación de los compuestos existentes en los extractos¹¹. Las técnicas varían desde el fraccionamiento mediante columnas de gel de sílice, florisil, alúmina, etc^{11, 15-19} hasta el uso de cromatografía líquida de alta resolución^{11, 14-19}. A su vez, la evaporación de los extractos también presenta una gran diversidad de metodologías, variando entre una y otra la economía y rapidez de los análisis. Para la cuantificación se han utilizado varias técnicas analíticas: cromatografía en capa fina (TLC), cromatografía líquida de alta resolución (HPLC), cromatografía de gases con detector de ionización de llama (FID) o con detector selectivo de masas (MSD)^{11, 14-20}.

El objetivo de este trabajo es establecer en Chile una metodología de análisis confiable, rápida y económica, para el estudio de los PAHs presentes en el material particulado respirable presente en una atmósfera urbana. Para esto se trabajó con materiales de referencia certificados y se aplicó, la metodología desarrollada en este trabajo, a muestras de material particulado colectadas en la ciudad de Santiago entre el 27 de octubre y el 16 de noviembre del año 1999.

PARTE EXPERIMENTAL

Materiales

Todos los solventes utilizados fueron de calidad analítica Merck o Fischer. Los estándares de PAHs fueron de calidad Aldrich, Wako, TCI y Supelco. El multiestándar de PAHs fue de Supelco y el gel de sílice, de 75-150 mm, de Wako.

Los materiales de referencia utilizados fueron: Diesel Particulate Matter (SRM 1650) y Urban Dust (SRM 1649), preparados por el National Institute of Standards and Technology (NIST, USA). En la Tabla I se entregan las concentraciones de los PAHs que componen estos estándares.

Tabla I. - PAHs de los Materiales de Referencia Estándar (SRM 1650 y 1649)

PAH	SRM 1650 Concentración (ug/g)	SRM1649 Concentración (ug/g)
Benzo[a]antraceno	6,5 ± 1,1	2,6
Benzo[a]pireno	1,2 ± 0,3	2,9
Benzo[ghi]perileno	2,4 ± 0,6	4,5
Fluoranteno	51 ± 4	7,1
Pireno	48 ± 4	-
Criseno	22 *	-
Fenantreno	71 *	-
Benzo[e]pireno	9,6 *	-
Benzo[k]fluoranteno	2,1 *	-
Indeno[1,2,3-cd]pireno	2,3 *	3,3
Perileno	0,13 *	-

* Estos valores no son certificados, porque sus concentraciones no provienen de resultados concordantes para dos métodos independientes como los otros.

El gel de sílice se pretrató en un extractor Soxhlet durante 6 h con diclorometano y se activó a 130 °C durante 24 h en un recipiente de vidrio. El sulfato de sodio se lavó con diclorometano y se secó a 400°C durante 4 h. La lana de vidrio se lavó en un equipo Soxhlet durante 16 h y se secó a 600°C durante 5 h. Posteriormente, todo el material se mantuvo seco en un desecador al vacío hasta el momento de usarlo.

Todos los materiales utilizados en los análisis, después del lavado corriente con agua y detergente, se lavaron y se enjuagaron con metanol y hexano justo antes de usarlos.

El material particulado urbano se colectó sobre filtros de microfibras de cuarzo de 20x25 cm, marca Whatman, previamente tarados. El muestreo se efectuó en la primavera de 1999, con un HI-VOL PM10 ubicado a aproximadamente 3 m sobre el suelo en el Centro Nacional del Medio Ambiente (CENMA), según se muestra en la tabla II.

Tabla II. - Sitio, fechas y tiempos de muestreo, volumen aspirado y concentración calculada del PM10 colectado.

Localidad	Fecha de muestreos	Tiempos de colección (h)	Volumen aspirado (m ³)	Concentración de PM10 (µg/m ³)
Cenma	27/10-3/11/99	160,7	11321,8	61,7
Cenma	3/11/99-5/11/99	47,7	3360,7	51,7
Cenma	5/11/99-8/11/99	72,2	5083,0	52,0
Cenma	8/11/99-10/11/99	47,1	3317,7	71,2
Cenma	10/11/99-12/11/99	47,6	3352,2	84,1
Cenma	12/11/99-16/11/99	95,8	6744,6	67,3

Metodología analítica

Se prepararon mono y multiestándares de PAHs en diferentes concentraciones, en CH₂Cl₂ y metanol.

Para realizar las curvas de calibración, se utilizaron multiestándares preparados a partir de los estándares individuales y a partir de multiestándares Supelco. Las soluciones stock de los estándares se prepararon pesando la cantidad de PAH necesaria y llevando a volumen en matraz volumétrico, en lo posible con metanol o con CH₂Cl₂ en algunos casos. A partir de las soluciones stock, se prepararon soluciones de calibración de al menos cinco niveles de concentración, mediante diluciones sucesivas.

Todas las soluciones estándares se almacenaron a 4°C, en viales con tapas de teflón protegidos de la luz. Las soluciones se controlaron observando su eventual evaporación y/o degradación antes de usarlas.

Considerando que estos compuestos son en su mayoría cancerígenos y mutagénicos, la preparación de los estándares requirió el uso de guantes y máscara apropiados.

La metodología desarrollada se basa en otras descritas por Gogou et al., 1998¹⁷, Catoggio et al., 1989²⁰, Golom et al., 1997²³, Oda et al., 1998²⁴ y en el Método TO-13A de USEPA¹⁶. La muestra (material de referencia o muestra real) se extrajo una vez con 200 mL de CH₂Cl₂ por un período de 24 horas (se hicieron otros ensayos de 24 horas con acetona sin obtenerse la presencia de PAHs adicionales). Los extractos se concentraron a un volumen de 1-2 mL y se les adicionaron algunos mL de una solución de Fenantreno-d10 como control entre las etapas de clean-up y de cuantificación; posteriormente, se realizó su clean-up. Se colectaron cuatro fracciones usando diferentes mezclas de solventes conteniendo hexano, CH₂Cl₂ y acetona. A las fracciones obtenidas del clean-up se les evaporó el solvente a una temperatura entre 30 y 45 °C y vacío y se concentraron con pasaje de corriente de N₂. Luego, se les adicionó los estándares internos, se llevaron a volumen de 1,00 mL y se envasaron en viales con tapas de teflón, protegidos con papel de aluminio y se mantuvieron a una temperatura de 4°C hasta el momento de su inyección en el GC-MSD. En forma simultánea, se realizaron blancos de la metodología.

GC-MS

Para la cuantificación de los PAHs extraídos, se utilizó un cromatógrafo gaseoso (GC), modelo HP6890, con inyector split/splitless acoplado a un Detector Selectivo de Masa, modelo Hewlett Packard 5973, que cuenta con el software HPCHEM y una biblioteca de compuestos orgánicos, NIST-98²². Las columnas utilizadas fueron: Hewlett Packard HP-5 MS, crosslinked 5% PH ME Siloxane, de 30 m de longitud, 0,32 mm de diámetro interno de columna y 0,25 mm de espesor de película y una columna Zebron ZB-5 MS, cuya fase líquida es 5% de fenil polisiloxano, de 30 m de longitud, 0,25 mm diámetro interno de columna y 0,25 mm de espesor de película.

El gas portador utilizado fue He con una presión de 14,5 psi. Las condiciones del modo de ionización de impacto de electrones fue: 70 eV de energía de los iones, 230°C como temperatura de la fuente de iones, 30 - 400 m/z para el rango de masas en el modo de barrido (SCAN) o en el modo de monitoreo de iones (Selective Ion Monitoring, SIM), para las determinaciones cuantitativas y 1588-1950 V como voltaje del multiplicador de iones.

Las condiciones cromatográficas utilizadas fueron las siguientes:

- 280°C como temperatura del inyector;
- programa de temperatura: 40°C (1 min), 40-140°C (20°C/min), 140-280 °C (10°C/min), 280-300°C (10°C/min) y 300°C (2min);
- 1 µL como volumen de inyección de muestra, en el modo splitless.

Haciendo uso de mono y multiestándares de PAHs y derivados se determinaron los tiempos de retención y se ensayaron diferentes condiciones cromatográficas. Se realizaron las curvas de calibración. En la figura 1, se muestra el cromatograma SIM correspondiente a un multiestándar Supelco.

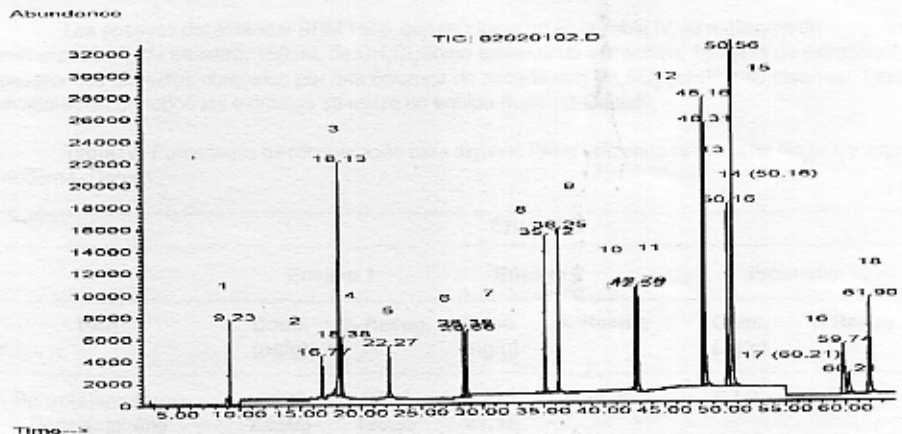


Fig. 1. Cromatograma SIM de un multiestándar Supelco con estándares internos.

Compuestos: 1-Naftaleno; 2-Acenaftileno; 3-Acenafteno-d10; 4-Acenafteno; 5-Fluoreno; 6-Fenantreno; 7-Antraceno; 8-Fluoranteno; 9-Pireno; 10-Benzo[a]antraceno; 11-Criseno; 12-Benzo[b]fluoranteno; 13-Benzo[k]fluoranteno; 14-Benzo[a]pireno; 15-Perileno-d12; 16-Indeno[1,2,3-cd]pireno; 17- Dibenzo[a,h]antraceno; 18-Benzo[ghi]perileno

Las diferentes fracciones obtenidas en las extracciones de los materiales de referencia del NIST y de las muestras de material particulado urbano colectado, se inyectaron en el GC-MS para realizar la identificación y cuantificación de los diferentes PAHs.

En la Tabla III se muestran las propiedades de los PAHs junto con sus iones principal y secundario (masa en valores enteros), utilizados en su identificación y cuantificación.

Tabla III. - Propiedades de los PAHs^{16, 21-22}.

PAH	Fórmula Empírica	P.M.	P.F. (°C)	P.E. (°C)	ION Principal	ION secundario
Antraceno	C ₁₄ H ₁₀	178,23	216 - 218	-	178	176
Acenafteno	C ₁₂ H ₁₀	154,21	93 - 95	279	154	153
Acenafileno	C ₁₂ H ₈	152,20	90 - 92	280	152	151
Benzo[a]antraceno	C ₁₈ H ₁₂	228,28	155 - 167	Sublima	228	226
Benzo[a]pireno	C ₂₀ H ₁₂	252,30	179 - 179,3	310 - 312 (bp ₁₀)	252	250
Benzo[b]fluoranteno	C ₂₀ H ₁₂	252,32	163-165	-	252	250
Benzo[k]fluoranteno	C ₂₀ H ₁₂	252,32	-	-	252	253
Benzo[ghi]perileno	C ₂₂ H ₁₂	276,34	277 - 279	>500	276	277
Dibenzo[a,h]antraceno	C ₂₂ H ₁₄	278,35	266 - 267	524	278	279
Fenantreno	C ₁₄ H ₁₀	178,22	100	340	178	176
Fluoranteno	C ₁₆ H ₁₀	202,24	-	-	202	200
Fluoreno	C ₁₃ H ₁₀	166,22	116 - 117	295	166	165
Indeno[1,2,3-cd]pireno	C ₂₂ H ₁₂	276,34	-	-	276	277
Criseno	C ₁₈ H ₁₂	228,29	254	448	228	226
Naftaleno	C ₁₀ H ₈	128,16	80,2	217,9 (bp ₂₅₀)	128	127
Pireno	C ₁₆ H ₁₀	202,24	156	404	202	200
Benzo[e]pireno	C ₂₀ H ₁₂	252,30	178 - 179	-	252	250

Aplicación a muestras de material particulado urbano.

Para aplicar la metodología a muestras reales se colectó material particulado sobre filtros de microfibras de cuarzo de 20x25 cm, marca Whatman, previamente tarados. Se usó un muestreador HI-VOL PM-10 (Modelo Graseby Andersen), que trabaja con un flujo de 1,13 m³/min (± 10 %).

Las muestras se colectaron en la primavera de 1999, según se detalla en la tabla II. Los tiempos de muestreo variaron dependiendo de la cantidad de material previsible de colectar, determinado básicamente por las condiciones meteorológicas y de contaminación imperantes.

Los filtros con muestra se cubrieron con papel de aluminio y se guardaron refrigerados a 4°C, hasta el momento del análisis, a fin de evitar la actividad microbiana y el efecto de la luz solar. Previo a su procesamiento químico, los filtros se pesaron para obtener por gravimetría, la cantidad de material particulado colectado. El tratamiento gravimétrico se efectuó en una cámara oscura a temperatura ambiente y humedad relativa (37±2)%, con una estabilización previa de los filtros de 24 - 48 horas. Para el tratamiento químico, se utilizó la metodología establecida en este trabajo.

RESULTADOS Y DISCUSION

Con el objeto de poner a punto las etapas de extracción, concentración de los diferentes extractos obtenidos, clean-up, identificación y cuantificación de los PAHs y sus derivados y obtener sus porcentajes de recuperación, se realizaron extracciones de los materiales de referencia SRM 1650 y 1649.

Como solvente de extracción se seleccionó diclorometano por ser mejor solvente y tener menor toxicidad que el benceno¹⁴.

Metodología de extracción de PAHs de los materiales de referencia: SRM 1650 y 1649.

Se probaron distintas variaciones a los procedimientos encontrados en la literatura, entre ellas:

- 1- se ensayó realizar la evaporación de los distintos extractos haciendo uso de un equipo Kuderna-Danish o de un evaporador rotatorio con vacío y una temperatura de 30 a 45°C (ver Tablas IV y V);
- 2- se evaluó la ventaja de efectuar la deshidratación de los extractos obtenidos, previo a su clean-up, utilizando una columna de Na₂SO₄ ó de eliminar esta etapa (ver Tabla VI);
- 3- se varió el tiempo de extracción entre 16 y 24 horas (ver Tabla VI);
- 4- se ensayó colectar cuatro y seis fracciones del clean-up, eliminándose finalmente las dos últimas dado que en ellas no se recuperaba ningún compuesto adicional de interés.

Los ensayos del estándar SRM 1650 que se muestran en la Tabla IV, se realizaron de la siguiente manera: 50 mg de muestra, 150 mL de CH₂Cl₂ como solvente de extracción, 16 horas de extracción; se pasaron los extractos obtenidos por una columna de secado con Na₂SO₄ previo a su clean-up. Para la evaporación de todos los extractos se utilizó un equipo Kuderna-Danish.

Tabla IV. Porcentajes de recuperación para algunos PAHs utilizando columna de Na₂SO₄ y equipo Kuderna- Danish.

PAH	SRM 1650					
	Ensayo 1		Ensayo 2		Promedio	
	Conc. (ug/g)	% Recup.	Conc. (ug/g)	% Recup.	Conc. (ug/g)	% Recup.
Benzo[a]antraceno	4,086	62,86	8,213	126,36	6,149	94,61
Benzo[a]pireno	2,3563	196,35	< L.D.	-		
Benzo[k]fluoranteno	2,574	122,55	5,209	248,04	3,891	185,30
Benzo[ghi]perileno	1,141	47,54	1,995	83,13	1,568	65,34
Criseno	9,730	44,23	19,470	88,50	14,600	66,37
Fenantreno	18,094	25,48	36,696	51,68	27,395	38,58
Fluoranteno	19,234	37,71	37,735	73,99	28,484	55,85
Pireno	23,992	49,98	41,876	87,24	32,934	68,61

Los ensayos del estándar SRM 1650 que se muestran en la Tabla V, se procesaron de la misma manera indicada para la tabla IV, pero para la evaporación de todos los extractos se utilizó un evaporador rotatorio corriente, a baja temperatura y con vacío con la finalidad de disminuir tiempos de análisis y aumentar los porcentajes de recuperación para algunos PAHs.

Tabla V. Porcentajes de recuperación para algunos PAHs utilizando columna de Na_2SO_4 y evaporador rotatorio.

PAH	SRM 1650					
	Ensayo 1		Ensayo 2		Promedio	
	Conc. (ug/g)	% Recup.	Conc. (ug/g)	% Recup.	Conc. (ug/g)	% Recup.
Benzo[a]antraceno	9,723	149,58	11,474	176,52	10,599	163,05
Benzo[a]pireno	0,671	55,95	<L.D.	-	-	-
Benzo[b]fluoranteno	0,332	-	1,399	-	0,866	-
Benzo[k]fluoranteno	5,530	263,31	6,187	294,61	5,858	278,96
Benzo[ghi]perileno	2,387	99,45	2,490	103,73	2,438	101,59
Criseno	22,986	104,48	24,663	112,10	23,824	108,29
Fenantreno	36,322	51,16	38,781	54,62	37,552	52,89
Fluoranteno	41,038	80,47	45,778	89,76	43,408	85,12
Pireno	45,747	95,31	51,728	107,77	48,738	101,54

La comparación de las tablas IV y V, muestra que, salvo en el caso del Benzo[a]pireno, los porcentajes de recuperación para los otros PAHs son mayores utilizando el evaporador rotatorio. Por otra parte, los resultados para Benzo[a]pireno tienen una alta variabilidad en ambas metodologías.

La Tabla VI muestra los porcentajes de recuperación para PAHs del material de referencia, utilizando pasaje por columna de Na_2SO_4 y 16 horas de extracción (procedimiento 1) y sin pasaje por columna de Na_2SO_4 y 24 horas de extracción (procedimiento 2). Los resultados para cada uno de los procedimientos, corresponden al promedio obtenido al trabajar cada vez con duplicados del estándar SRM 1650.

Tabla VI. Porcentajes de recuperación para algunos PAHs utilizando evaporador rotatorio y diferentes tiempos de extracción, con pasaje por columna de Na_2SO_4 y 16 h de extracción (procedimiento 1) y sin pasaje por columna de Na_2SO_4 y 24 h de extracción (procedimiento 2).

PAH	Procedimiento 1	Procedimiento 2
	% Recup.	% Recup.
Benzo[a]antraceno	163,0 ± 19,0	86,3 ± 4,7
Benzo[a]pireno	55,9 *	56,8 ± 7,7
Benzo[k]fluoranteno	279,0 ± 22,1	134,0 ± 17,6
Benzo[ghi]perileno	101,6 ± 3,0	133,3 ± 10,1
Criseno	108,3 ± 5,4	113,5 ± 3,5
Fenantreno	52,9 ± 2,4	65,5 ± 1,4
Fluoranteno	85,1 ± 6,6	91,8 ± 7,7
Pireno	101,5 ± 8,8	113,1 ± 1,9

* valor válido para uno sólo de los duplicados (ver tabla V).

De la tabla VI se puede observar que los porcentajes de recuperación obtenidos por ambas metodologías muestran valores similares, excepto para Benzo[a]antraceno y Benzo[k]fluoranteno. En el caso del Benzo[k]fluoranteno, el porcentaje de recuperación obtenido por la metodología con pasaje por columna de Na_2SO_4 entrega un valor de casi 300%. En el caso del Benzo[a]antraceno, la disminución observada no es suficiente para justificar la metodología con pasaje por columna de Na_2SO_4 . En consecuencia, técnicamente no se justifica el uso de la columna de Na_2SO_4 con el consiguiente ahorro en el tiempo total de análisis.

Metodología de análisis.

El procedimiento analítico obtenido como resultado del estudio, consiste en extraer la muestra (estándar o muestra real) mediante Soxhlet con CH_2Cl_2 , durante un período de 24 horas. Los extractos así obtenidos se concentran a un volumen entre 1 y 2 mL, utilizando evaporador rotatorio. Luego se les adiciona entre 1 y 100 mL de una solución de Fenantreno-d10 de concentración 0,021mg/mL, para posteriormente realizar el clean-up de los extractos obtenidos mediante el paso a través de una columna de gel de sílice activado.

La columna para el clean-up (10 mm diámetro interno) se llena con 10 g de gel de sílice activado, se lava con 60 mL de diclorometano y posteriormente con 40 mL de hexano, se le adiciona 1 g de Na_2SO_4 y se protege con papel de aluminio. Desde la columna, se obtienen cuatro fracciones mediante el pasaje de diferentes mezclas de solventes: 1) 15 mL de n-hexano, 2) 30 mL de n-hexano: CH_2Cl_2 , 6:4, 3) 40 mL de CH_2Cl_2 , 4) 50 mL de acetona 30%v/v / n-hexano. Las fracciones obtenidas del clean-up se evaporan al vacío en un evaporador rotatorio, a una temperatura entre 30 y 45 °C, dependiendo de la fracción que corresponda; se concentran a un volumen menor de 1 mL mediante pasaje de corriente de N_2 , se les agregan los estándares internos, se llevan a volumen de 1,00 mL y se envasan en viales con tapas de teflón, protegidos con papel de aluminio, manteniéndose a una temperatura de 4°C hasta el momento de su inyección en el GC-MSD.

En forma simultánea se realizaron blancos de la metodología: solventes y reactivos, o de solventes, reactivos y filtros vírgenes, según sea el caso.

Cabe destacar que si bien en este trabajo sólo se entrega la cuantificación de PAHs (fracción n-hexano/ CH_2Cl_2), la metodología de extracción ha generado otras tres fracciones las que serán objeto de publicación en un futuro muy cercano, en una continuación de la línea de trabajo del Laboratorio de Química de la Atmósfera, Universidad de Chile. Los compuestos genéricos indicados para cada una de dichas 3 fracciones: n-hexano (para hidrocarburos lineales), CH_2Cl_2 (para PAHs oxigenados y nitrados) y acetona 30%/hexano (para PAHs oxigenados) se han establecido sobre la base de las referencias 16, 17, 20, 23 y 24 con modificaciones de los solventes de extracción, los solventes para las fracciones de colección, los tiempos de extracción, el pasaje por columna de Na_2SO_4 , y el equipo de evaporación, según ha sido comentado en este trabajo, y lo informado por Nicol et al., 2001²⁸.

La figura 2 muestra un resumen de la metodología analítica finalmente utilizada.

La Tabla VII muestra los porcentajes de recuperación obtenidos para varios PAHs. Los valores corresponden al promedio de los porcentajes obtenidos para cuatro análisis del estándar SRM 1650 y uno del SRM 1649. Nótese que el Fenantreno-d10 se utiliza como control desde la etapa de clean-up hasta la etapa de cuantificación, sin incluir la etapa de extracción propiamente tal.

Fig. 2 Esquema de la metodología analítica.

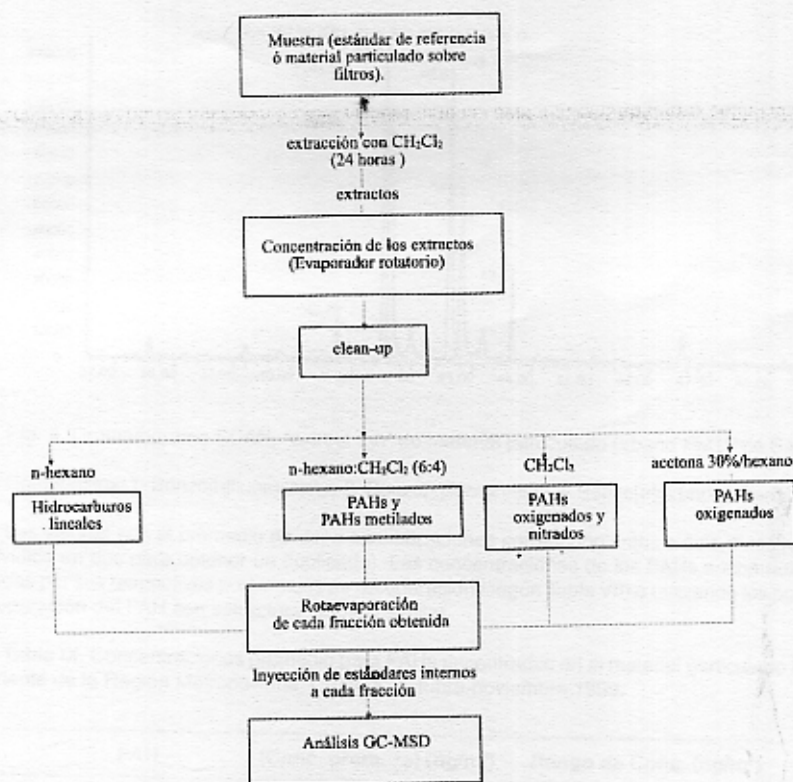


Tabla VII. Porcentajes de recuperación para algunos PAHs. Los porcentajes de recuperación corresponden al procedimiento analítico completo.

PAH	(%Recuperación \pm s) (%)
Benzo[a]antraceno	81,3 \pm 5,1
Benzo[a]pireno	61,2 \pm 9,6
Fenantreno	66,2 \pm 2,2
Fenantreno-d10	91,3 \pm 5,9
Fluoranteno	83,5 \pm 8,7
Criseno	102,6 \pm 12,8
Indeno[1,2,3-cd]pireno	112,9 \pm 21,1
Pireno	94,2 \pm 21,9
Benzo[ghi]perileno	128,6 \pm 27,7
Benzo[k]fluoranteno	163,3 \pm 36,5

Coefficientes de variación del orden del 10% no son infrecuentes en este tipo de estudio (caso de los seis primeros compuestos). Los mayores porcentajes para los otros compuestos podrían ser disminuidos mejorando la resolución y separación de los máximos (peaks), a expensas de alargar mucho los tiempos de análisis y siempre que el estándar incluya los otros compuestos en mezcla.

Los compuestos benzo[b]fluoranteno y dibenzo[a,h]antraceno, encontrados y cuantificados en las muestras de PM10 de Santiago, para los cuales no se pudo calcular los porcentajes de recuperación, porque el estándar no los certifica, sus porcentajes de recuperación se asignaron basándose en su similitud con la estructura química de los compuestos certificados benzo[k]fluoranteno e indeno[1,2,3-cd]pireno, respectivamente.

Los límites de detección (L.D.) y de cuantificación (L.C.) para los 17 PAHs estudiados, se muestran en la Tabla VIII. Dichos valores fueron calculados sobre la base de las curvas de calibración de los PAHs, utilizando los estándares preparados según la metodología establecida.

Tabla VIII. Límites de detección (L.D.) y de cuantificación (L.C.) de PAHs, utilizando columna Zebron ZB5-MS, método SIM.

PAHs	L.D. (ng/m3)	L.C. (ng/m3)
Antraceno	0,0040	0,013
Acenafteno	0,0094	0,031
Acenaftileno	0,082	0,27
Benzo[a]antraceno	0,0034	0,011
Benzo[a]pireno	0,00065	0,022
Benzo[b]fluoranteno	0,0037	0,012
Benzo[k]fluoranteno	0,0018	0,0060
Benzo[ghi]perileno	0,0063	0,021
Dibenzo[a,h]antraceno	0,015	0,051
Fenantreno	0,0027	0,0091
Fluoranteno	0,0028	0,0092
Fluoreno	0,025	0,083
Indeno[1,2,3-cd]pireno	0,014	0,045
Criseno	0,0019	0,0064
Naftaleno	0,0037	0,012
Pireno	0,0026	0,0087
Benzo[e]pireno	0,00014	0,00048

Aplicación a aerosoles atmosféricos urbanos.

La metodología analítica desarrollada se aplicó a las muestras reales de material particulado urbano PM10 colectado en el CENMA en la primavera de 1999. En las Figuras 3 y 4 se muestran los cromatogramas correspondientes a dichas muestras y en la tabla IX se dan las concentraciones promedio.

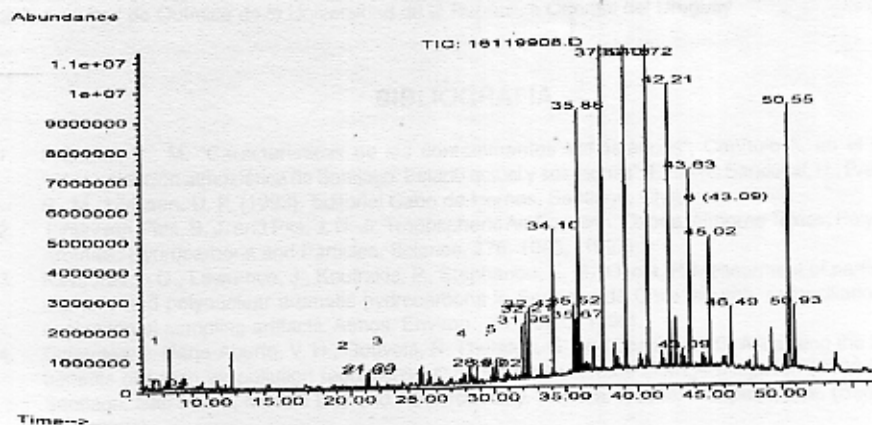


Fig. 3. Cromatograma SCAN de material particulado urbano PM10

Algunos compuestos: 1-Naftaleno; 2-Fenantreno-d10; 3-Fenantreno; 4-Fluoranteno; 5-Pireno; 6-Perileno-d12.

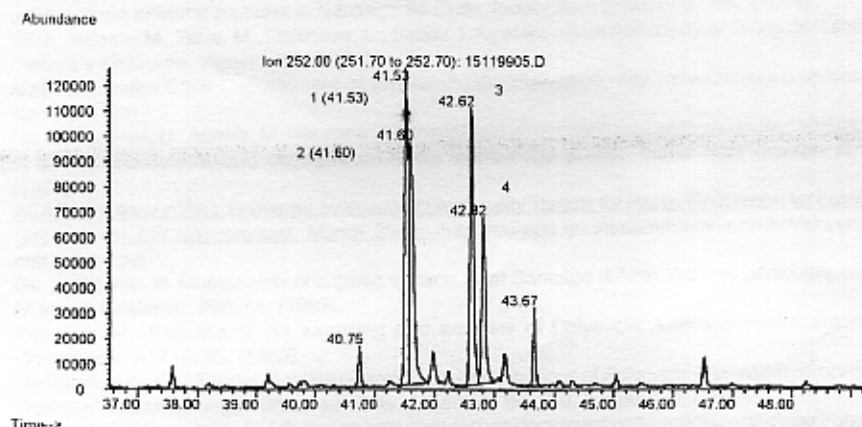


Fig. 4. Cromatograma SCAN, "extract-ion" de material particulado urbano PM10 de Santiago.

Compuestos: 1- Benzo[k]fluoranteno; 2- Benzo[k]fluoranteno; 3- Benzo[e]pireno; 4-Benzo[a]pireno.

Los valores son el promedio de doce cuantificaciones correspondientes a seis muestreos (cada filtro dividido en dos para obtener un duplicado). Las concentraciones de los PAHs encontrados, están corregidas por sus respectivos porcentajes de recuperación (según Tabla VII) o utilizando los porcentajes de recuperación del PAH con estructura química similar.

Tabla IX. Concentraciones promedio para PAHs encontrados en el material particulado PM10 del área oriente de la Región Metropolitana, CENMA, octubre-noviembre 1999.

PAH	(Conc. prom. \pm s) (ng/m ³)	Rango de Conc. (ng/m ³)
Benzo[k]fluoranteno	0,145 \pm 0,083	0,062 – 0,228
Benzo[ghi]perileno	0,51 \pm 0,21	0,30 – 0,72
Benzo[a]pireno	0,306 \pm 0,079	0,227 – 0,385
Criseno	0,146 \pm 0,061	0,085 – 0,207
Fenantreno	0,104 \pm 0,030	0,074 – 0,134
Fluoranteno	0,091 \pm 0,025	0,066 – 0,116
Indeno[1,2,3-cd]pireno	0,41 \pm 0,21	0,20 – 0,62
Pireno	0,100 \pm 0,029	0,071 – 0,129
Antraceno	0,0196 \pm 0,0069	0,0127 – 0,0265
Benzo[a]antraceno	0,090 \pm 0,051	0,039 – 0,141
Benzo[b]fluoranteno	0,19 \pm 0,12	0,07 – 0,31
Dibenzo[a,h]antraceno	0,055 \pm 0,020	0,035 – 0,075
Fluoreno	< L.D.	
Σ PAHs	2,17	1,24 – 3,09

Los resultados muestran concentraciones de PAHs en dos niveles: 1) concentraciones menores de 0,1 ng/m³ y 2) concentraciones mayores de 0,1 ng/m³. Los valores están en acuerdo con los obtenidos por Kavouras et al., 1999³, sólo dos años antes; difieren sin embargo, de los valores encontrados por Didyk et al., 2000¹⁵. Estos últimos, superiores a los nuestros, como sería de esperar para un área céntrica de la ciudad y muestras colectadas hace casi 10 años (1991 y 1993), incluso antes de que se

estableciera el uso de vehículos con convertidor catalítico y se aumentarían las restricciones en las emisiones de los vehículos de la locomoción colectiva, todo lo cual explicaría las diferencias entre los niveles encontrados.

Por otra parte, nuestros valores están en el mismo orden de magnitud de los informados por Kendall et al., 2001²⁶, para las ciudades de Londres y Birmingham. Cabe destacar que para el Benzo[a]pireno y el Dibenzo[a,h]antraceno, cuyos potenciales relativos de carcinogenicidad son iguales a 1 (máximo potencial cancerígeno), los valores informados en este trabajo para Santiago son iguales y superiores a los de Londres, respectivamente.

CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos en este trabajo, mostraron que:

- 24 h de extracción, utilizando como solvente CH_2Cl_2 son suficientes para poder extraer los PAHs del material particulado PM10 urbano, colectado sobre filtros de microfibras de cuarzo.
- el pasaje por columna de Na_2SO_4 y el uso del equipo Kuderna-Danish no son necesarios y sólo encarecen y alargan el procedimiento de extracción.
- la metodología analítica puesta a punto y empleada en el análisis de muestras es adecuada, permitiendo obtener concentraciones comparables a los valores encontrados en Santiago por investigadores de la Universidad de Harvard, en material particulado de $2,5 \mu\text{m}$, teniendo en consideración las propiedades de cada hidrocarburo.

En consecuencia, la metodología analítica propuesta es más rápida y de menor costo que otras existentes en la literatura y permite cuantificar apropiadamente PAHs en el material particulado PM10 urbano.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen a la Dirección de Postgrado de la Universidad de Chile, el aporte financiero de los Proyectos DID PG/52/1999 y PG/52/2000 y al Sr. Pablo Ulriksen (CENMA) el préstamo de los equipos de muestreo Hi-Vol PM10.

Este estudio es parte de la tesis de Doctorado en Química de la Universidad de Chile, de la Q.F. María del Rosario Sienra Muraña, becada del Programa Regional de Becas de Doctorado DAAD y docente de la Facultad de Química de la Universidad de la República Oriental del Uruguay.

BIBLIOGRAFIA

1. Préndez, B., M. "Características de los contaminantes atmosféricos", Capítulo 5, en el Libro: "Contaminación atmosférica de Santiago. Estado actual y soluciones". Editores Sandoval, H.; Préndez, B., M.; Ulriksen, U. P. (1993), Editorial Cabo de Hornos, Santiago, Chile.
2. Finlayson-Pitts, B. J. and Pitts, J. N. Jr. Tropospheric Air Pollution: Ozone, Airborne Toxics, Polycyclic Aromatic Hydrocarbons and Particles. *Science*, 276, 1045, (1997).
3. Kavouras, I. G., Lawrence, J., Koutrakis, P., Stephanou, E. G., Oyola, P. Measurement of particulate aliphatic and polynuclear aromatic hydrocarbons in Santiago de Chile: source, reconciliation and evaluation of sampling artifacts. *Atmos. Environ.*, 33, 4977, (1999).
4. Cifuentes, L., Borja-Aburto, V. H., Gouveia, N., Thurston, G. and Lee Davis, D. Assessing the health benefits of urban air pollution reductions associated with climate change mitigation (2000-2020): Santiago, Sao Paulo, Mexico City and New York City. *Environ. Health. Perspect.*, 109, (Suppl. 3), 419, (2001).

5. Gil, L. D., Adonis, M. I. Polycyclic Aromatic Hydrocarbons levels and mutagenic activities of organic extracts from airborne particles in Santiago de Chile. *Indoor Built Environ*, 5, 155, (1996).
6. Gil, L., Adonis, M., Silva, M., Quiñones, L., Salzar, I. Agentes cancerígenos en el Smog de Santiago. *Ciencia y Ambiente*, Agosto, 64, (1991).
7. Massachusetts State Department of Environmental Protection, <http://www.state.ma.us/dep/ors/files/pahs.htm>
8. Gil, L., Cáceres, D., Adonis, M. Influence of atmospheric air pollution on indoor air quality: comparison of chemical pollutants and mutagenicity levels in Santiago (Chile). *Indoor Built Environ*, 6, 320, (1997).
9. AEA Technology y TNO. Economic evaluation of Air Quality Targets for PAHs. Final report for European Commission DG Environment, March 2001. http://europa.eu.int/comm/environment/enveco/air/pah_report.pdf
10. Gil, L., Adonis, M. Mutagenicity of organic extracts from Santiago (Chile) airborne particulate matter. *Mutation Research*, 292, 51, (1993).
11. Peltonen, K., Kuljukkan, T. Air sampling and analysis of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons. *J. Chromatogr. A*, 710, 93, (1995).
12. Venkataraman, Ch., Thoms, S. and Kulkarni, P. Size distributions of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons-Gas/particle partitioning to urban aerosols. *J. Aerosol Sci.*, 30, 6, 759-770, (1999).
13. Dacha, J. and Eisenreich, S. Adsorption onto soot carbon dominates gas-particle partitioning Polycyclic Aromatic Hydrocarbon. *Environ. Sci. Technol.*, 34, 3690-3697, (2000).
14. Sanhueza, E., Ruiz, M. Evaluación preliminar de los aerosoles orgánicos secundarios en atmósferas contaminadas. *Acta Cient. Venezolana*, 34, 363, (1983).
15. Didyk, B., Simoneit, R., Pezoa, A., Riveros, M., Flores, A. Urban aerosol particles of Santiago, Chile: organic content and molecular characterization. *Atmos. Environ.*, 34, 1167, (2000).
16. USEPA-Compendium Method TO-13A. Determination of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs) in ambient air using Gas Chromatography/Mass Spectrometry (GC/MS). January 1999. Information Office of Research and Development U.S. Environmental Protection Agency U.S. Environmental Protection Agency. <http://www.epa.gov/ttn/amtic/files/ambient/airtox/to-13arr.pdf>
17. Gogou, A. I., Apostolaki, M., Stephanou, E. G. Determination of organic molecular markers in marine aerosols and sediments: one-step flash chromatography compound class fractionation and capillary gas chromatographic analysis. *J. Chromatogr. A*, 799, 215, (1988).
18. Constable, D. J. C., Smith, S. R., Tanaka, J. Comparison of solvent reduction methods for concentration of Polycyclic Aromatic Hydrocarbon solutions. *Environ. Sci. Technol.* 18, 975, (1984).
19. Cecinato, A. Polynuclear Aromatic Hydrocarbons (PAH), Benzo(a)pyrene (BaPY) and Nitrated-PAH (N-PAH) in suspended particulate matter. *Annali di Chimica*, Vol. 86, (1996).
20. Catoggio, J. A., Succar, D. S. Roca, A. E. Polynuclear Aromatic Hydrocarbon content of particulate matter suspended in the atmosphere of La Plata, Argentina. *The Science of the Total Environment*, 79, 43, (1989).
21. The Merck Index. Budavari, S. et al. Editors. Twelfth Edition, Merck & Co., Inc. (1996).
22. NIST (National Institute of Standards and Technology)-biblioteca de compuestos orgánicos del equipo GC-MSD, HP 6890-5973, (1998).
23. Golomb, D., Ryan, D. Underhill, J. Wades, T. and Zemba S. Atmospheric deposition of toxics onto Massachusetts Bay-II. Polycyclic Aromatic Hydrocarbons. *Atmos. Environ.*, 31, (9), 1361-1368, (1997).
24. Oda, J., Maeda, I., Mori, T., Yashuara, A. and Saito, Y. The relative proportions of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons and oxygenated derivatives in accumulated organic particulates as affected by air pollution sources. *Environ. Technology*, 19, 961-976, (1998).
25. Nicol, S., Dugay, J. and Hennion, M.C. Determination of Oxygenated Polycyclic Aromatic Compounds in airborne particulate organic matter using Gas Chromatography-Tandem Mass Spectrometry. *Chromatographia*, Supplement, 53, S-464-S-469, (2001).
26. Kendall, M., Hamilton, R. S., Watt, J., Williams, I. D. Characterization of selected speciated organic compounds associated with particulate matter in London. *Atmos. Environ.*, 35, 2483-2495, (2001).