

UCh-FC
Q. Ambiental
2182
C-1



*“Determinación de Hidrocarburos
Aromáticos Policíclicos (HAPs)
a través de Espectroscopía de
Fluorescencia Sincrónica ”*

Seminario de Título

entregado a la

Facultad de Ciencias de la Universidad de Chile

en cumplimiento parcial de los requisitos

para optar al Título de

QUIMICO AMBIENTAL

Igor Orlando Osorio Román

Director de seminario de título: MCs. Víctor Vargas Cortés

Noviembre, 2004



FACULTAD DE CIENCIAS
UNIVERSIDAD DE CHILE

INFORME DE APROBACION
MEMORIA DE TITULO

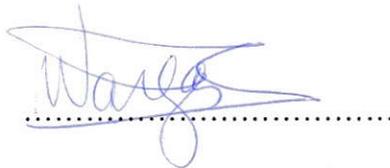
Se informa a la escuela de Pre-grado de la Facultad de Ciencias, Universidad de Chile que el Seminario de Título presentado por el alumno (a).

Igor Orlando Osorio Román

Ha sido aprobada por la Comisión de Evaluación como requisito para optar al Título de Químico Ambiental.

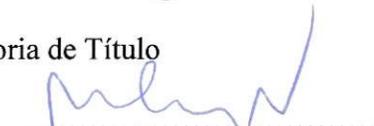
Director de Memoria de Título

MCs. Víctor Vargas Cortés



Comisión de Evaluación de la Memoria de Título

Dr. Marcelo Campos



Dra. Maria Angélica Rubio





Deseo dar mis agradecimientos al profesor. M.Cs Víctor Vargas C. por su constante apoyo y estímulo tanto en los buenos y malos momentos. A los miembros del laboratorio de Luminiscencia y Estructuras Moleculares profesores Patricio Jara y Dr. Claudio González, por su colaboración y ayuda en este trabajo. Además agradezco a Ignacio Olaeta y Edit Balcarce del SESMA por su importante apoyo a esta memoria de título.

A todos mis amigos Hernán (Nano), Rodrigo (Pollo), Alejandra, Andrés, Lalo y Pato que siempre estuvieron dispuestos a escuchar y entender esta loca idea de mezclar la ciencia básica con la ciencia ambiental aplicada.

A mis amigos de la carrera de Química Ambiental Álvaro, Pedro, Silvia, Paulina, Carmen y Estefi que por cosas de la vida siguieron un camino distinto al mío, pero que estas siempre presentes, ya que, gracias a ellos logré convencerme de que la diversidad es la mejor forma de construir lazos de amistad.

A mi familia y fundamentalmente a mis Padres que constantemente me apoyan y que entienden en algunas ocasiones que el trabajo es cosa de todos los días, incluso los días festivos.

A mi mejor amiga, mi hermana que construye su destino en la isla más grande de las antillas y que me apoyara siempre en todas y cada una de mis decisiones.

Y finalmente a una mujer que ha iluminado mi corazón





INDICE DE CONTENIDOS

Página

Agradecimientos	iii
Resumen	ix
Summary	x
1.0 INTRODUCCION	1
2.0 OBJETIVOS GENERALES Y ESPECIFICOS	3
3.0 MARCO TEORICO	4
3.1 Características Físicoquímicas de los HAPs.....	4
3.2 Propiedades Espectrales de HAPs.....	6
3.2.1 Estructura Electrónica.....	6
3.2.2 Absorción Molecular.....	7
3.2.3 Emisión Molecular (Fluorescencia).....	12
3.3 Procesos Bimoleculares.....	16
3.4 Fundamentos de la Fluorescencias Sincrónica.....	18
3.4.1 Fundamento teórico de la Fluorescencia Sincrónica.....	20
3.4.2 Aplicación Analítica de la Fluorescencia Sincrónica.....	28
4.0 MATERIALES Y METODOS	31
4.0.1 Estándares y disolventes.....	31
4.0.2 Equipo Utilizado.....	31
5.0 RESULTADOS Y DISCUSION	32
5.0.1 Validación de la Técnica de Fluorescencia Sincrónica.....	32



5.0.2 Métodos Numéricos.....	33
5.0.3 Preparación de Estándares Fluorescencia Sincrónica.....	34
5.1 ESTUDIO DE LAS MUESTRAS.....	39
5.1.1 Estudio del Efecto de Irradiación de las Muestras.....	40
5.1.2 Efecto de la concentración del extracto.....	42
5.2 TOMA DE MUESTRA	44
5.2.1 Material Particulado.....	44
5.2.2 Proceso de Extracción de HAPs.....	46
5.2.3 Identificación de los HAPs.....	49
5.3 DETERMINACIÓN DE HAP EN PARTICULADO ATMOSFÉRICO A TRAVÉS DE FLUORESCENCIA SINCRÓNICA.....	52
6.0 Discusión.....	54
7.0 Conclusiones.....	56
8.0 BIBLIOGRAFIA.....	57

INDICE DE TABLAS



	Pagina
Tabla 1 "Propiedades fisicoquímicas de los HAPs".....	4
Tabla 2 "Coeficientes de absorción molar para la transición 0-0 de algunos HAPs".....	10
Tabla 3 "Tiempos de vida de la fluorescencia para algunos HAPs".....	16
Tabla 4a "Resumen de algunos de los parámetros obtenidos para las curvas de calibración de los HAPs".....	38
Tabla 4b "Limite de Detección (LD) y Rango de Cuantificación (RC) para la curvas de calibración obtenidas".....	38
Tabla 5 "Resumen de condiciones de muestreo de PM10 analizadas".....	44
Tabla 6 "Porcentaje de Recuperación de HAPs".....	47
Tabla 7 "Identificación de HAPs en Particulado Atmosférico 114109".....	51
Tabla 8 "Identificación de HAPs en Particulado Atmosférico 118109".....	51
Tabla 9 "Resultados de la Muestra de particulado (118108)".....	52
Tabla 10 "Resultados de la Muestra de particulado (114109)".....	52
Tabla 11 "Coeficiente de Variación (CV) para el método analítico validado".....	53

INDICE DE FIGURAS



	Pagina
Figura 1 "Estructura de Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos".....	5
Figura 2 "Esquema de Condensación de HAP".....	7
Figura 3 "Transición $\pi \rightarrow \pi^*$ Ilustrada".....	8
Figura 4 "Corrimiento al rojo de los Espectros de Absorción al Aumentar el Numero de Anillos".....	9
Figura 5 "Transiciones de los niveles vibracionales estados S_0 y S_1 "	11
Figura 6 "Diagrama de Jablonski".....	12
Figura 7 "Esquema de Equipo de Fluorescencia".....	19
Figura 7 "Esquema de Equipo de Fluorescencia".....	21
Figuras 9 y 10 "Efecto del aumento de la ventana espectral sobre el espectro sincrónico".....	22
Figuras 11 y 12 "Efecto del aumento de la ventana espectral sobre el espectro sincrónico".....	23
Figura 13 "Espectros de absorción, emisión y Espectro Sincrónico del Antraceno".....	25
Figura 14 "Espectros de absorción, emisión y Espectro Sincrónico del Fluoreno".....	26

Figura 15 “Espectros de absorción, emisión y Espectro Sincrónico del Criseno”	27
Figura 16 “Espectros de absorción, emisión y Espectro Sincrónico del Naftaleno”	28
Figura 17 “Espectros de absorción, emisión y Espectro Sincrónico del Benzo(α)pireno”	29
Figura 18 “Espectro sincrónico de una mezcla de hidrocarburos aromáticos policíclicos”	30
Figura 19 “Parámetros relacionados con una curva Lorenziana”	34
Figura 20 “Curva de calibración para Naftaleno”	35
Figura 21 “Curva de calibración para Fluoreno”	36
Figura 22 “Curva de calibración para Antraceno”	36
Figura 23 “Curva de calibración para Criseno”	37
Figura 24 “Curva de calibración para Benzo(α)pireno”	37
Espectro 25 “Efecto de la Irradiación sobre las Muestras”	40
Figura 26 “Medición a Tiempo Cero de una Misma Muestra”	41
Figura 27a y b “Efecto de la concentración en la señal del espectro Sincrónico”	42



Figura 28 “En el mapa se indican los lugares donde se colectó el Material particulado”	45
Figura 29 “Esquema de la Metodología de Extracción”	48
Figura 30 “Espectros Sincrónicos del Patrón de HAP y de la muestra 114109 de PM 10”	49
Figura 31 “Espectro Sincrónico del Patrón de HAP y de la Muestra 118109 de PM10”	50



RESUMEN

En este seminario de título se realizó la cuantificación e identificación a través de la técnica de Fluorescencia Sincrónica de 5 Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos (HAPs): Fluoreno, Antraceno, Benzo(α)pireno, Criseno y Naftaleno en el particulado atmosférico de la ciudad de Santiago Chile.

El desafío clave en este trabajo es probar que la técnica de cuantificación e identificación propuesta reúne las cualidades de ser confiable, reproducibles, y sobre todo sensibles, a los niveles de detección y cuantificación informados para estos sistemas moleculares en el particulado atmosférico de la ciudad de Santiago.

En suma este memoria de tesis se enmarca en un desarrollo pionero en la utilización de la técnica espectroscópica de fluorescencia sincrónica tanto para la identificación como cuantificación de HAPs en muestras complejas.

SUMMARY

In this seminary of title we investigate the determination and identification through Synchronous Fluorescence of five Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs): Fluorene, Anthracene, Benzo(a)pirene, Chrysene and Naphthalene in the atmospheric particulado of the city of Santiago Chile.

The main purpose of this work was to prove that the methodology of quantification and identification proposed meed the criteria of being reliable, reproducible, and overall very sensible to the levels of detection and quantification reported for these molecular systems in the atmospheric particulado of the city.

As a result of the whole investigation this thesis was framed as a pioneering intention of development in the use of this spectroscopic technique to serve for the identification as quantification of HAPs in complex samples.

1.0 INTRODUCCIÓN

Los compuestos aromáticos policíclicos son moléculas de origen orgánico que tienen como principal característica dos o más anillos aromáticos condensados, donde cada átomo de carbono presenta una hibridación sp^2 (a excepción del Fluoreno) y con ello un sistema π conjugado ⁽¹⁾ generando estructuras moleculares de gran rigidez, la que le otorga propiedades espectrales bien definidas ⁽²⁾.

La presencia de Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos (HAPs) en el medio ambiente se debe a procesos antropogénicos asociados a la quema incompleta de combustibles fósiles (carbón, petróleo, kerosén, bencina, etc.) siendo liberados a la atmósfera en forma de partículas o gases. Estas especies moleculares se asocian a la generación de ciertos tipos de cáncer en mamíferos ⁽³⁾.

El interés científico por estos compuestos nace debido a que se les relaciona con la generación de ciertos tipos de cáncer. Hace más de 200 años, la incidencia del cáncer asociado al trabajo de deshollar chimeneas se atribuyó al contacto con el hollín y los alquitranes. Hoy día sabemos que al menos uno de los componentes carcinógenos del hollín de chimenea y de la combustión automotriz es el Benzo(α)pireno. Este, en rigor no es carcinógeno en si mismo, sino que es convertido metabólicamente en carcinógeno activo en el interior de un organismo. Por ello es clasificado más adecuadamente, como procarcinógeno ^(1,2).

En cuanto a la presencia de hidrocarburos aromáticos en la atmósfera se sabe que estos se encuentran entre las fases gas-partícula, según sea su presión de vapor. Peltonen y Kuljukka (1995) ⁽⁴⁾, en su revisión y muestreo realizado a HAPs en el aire, sostienen que estos compuestos se adsorben en el material particulado, principalmente en las partículas respirables de 5 μm en promedio.

En la ciudad de Santiago el monitoreo de HAPs se ha realizado desde la instalación, a mediados de los 80, de la red MACAM que monitorea la calidad del aire de la ciudad. En estos monitoreos de particulado atmosférico respirable, que se han extendido por un período de a lo menos 20 años, se ha encontrado la presencia de algunos hidrocarburos aromáticos policíclicos, tales como: Criseno ^(5,6), Pireno ^(5,6), Benzo(α) pireno ^(5,6), Benzo(α)antraceno ^(5,6), etc.

Basado en los datos que han sido recopilados en las últimas décadas por este sistema de monitoreo en la ciudad de Santiago, la propuesta en términos generales de este seminario de título, es realizar estudios de detección y cuantificación de HAPs en algunas muestras de material particulado recolectadas en la ciudad de Santiago de Chile, a través de una metodología alternativa denominada Espectros de Fluorescencia Sincrónica (**EFS**).

La aplicación de la (EFS) en la determinación e identificación de HAPs en muestras tales como: aceite de auto y soluciones acuosas, ha sido informado por algunos autores, tales como: R. Ferrer et. al (1998) y Digambara Patra et. al (2001), pero hasta ahora no ha sido informado el uso de esta técnica en la determinación de HAPs en muestras como particulado atmosférico; por ello, este trabajo se enmarca en un desarrollo pionero en la utilización de esta técnica espectroscópica.

2.0 OBJETIVO GENERAL

Aplicar la técnica de Espectroscopía Fluorescencia Sincrónica (EFS) en la detección y cuantificación de HAPs en el particulado atmosférico de la ciudad de Santiago Chile.

2.1 OBJETIVO ESPECIFICOS

Para llevar acabo este objetivo anterior se realizó la validación de este método analítico cumpliendo con las cualidades de ser confiables, reproducibles, y sobre todo sensibles, es decir, que permitan alcanzar los niveles de detección y cuantificación a los cuales se encuentran los HAPs en las muestras de particulado atmosférico.

En Chile no existe una metodología oficial de análisis para los PAHs, pero en Estados Unidos la Agencia de Protección Ambiental (EPA) incluye el análisis de estos compuestos en el método 525, que es para la determinación de compuestos orgánicos mediante cromatografía de gases, es por ello que nuestra validación tomará como referencia dicha metodología.

Una vez realizada la validación se procederá a cuantificar e identificar cinco HAPs en particulado atmosférico de la ciudad de Santiago de Chile: Fluoreno, Antraceno, Benzo(α)pireno, Criseno y Naftaleno.

3.0 MARCO TEORICO

3.1 CARACTERÍSTICAS FISICOQUÍMICAS DE LOS HAPs

Algunas características de los HAPs son: una baja solubilidad en agua, bajo momento dipolar, altos puntos de fusión y altos pesos moleculares.

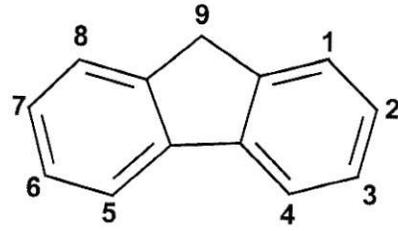
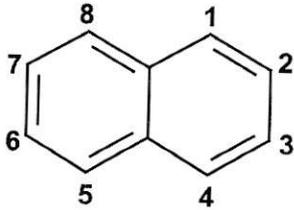
En la Tabla 1 se presentan algunas de estas características fisicoquímicas y en la Figura 1 se presentan las estructuras químicas y el nombre IUPAC de los HAPs que se estudiaron en este Seminario de título (Naftaleno, Fluoreno, Antraceno, Criseno, Benzo(α)pireno).¹⁴

Tabla 1 Propiedades Fisicoquímicas de los Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos Estudiados

Compuesto	Formula Molecular	Masa Molar g/mol	Punto de fusión (°C)*	Punto de Ebullición (°C)*
Naftaleno	C ₁₀ H ₈	128	80	217
Fluoreno	C ₁₃ H ₁₀	166	116-117	295
Antraceno	C ₁₄ H ₁₀	178	215-217	340
Criseno	C ₁₈ H ₁₅	228	257-258	448
Benzo(α)pireno	C ₂₀ H ₁₂	250	278-280	495

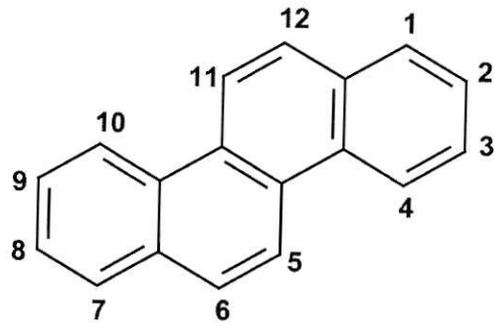
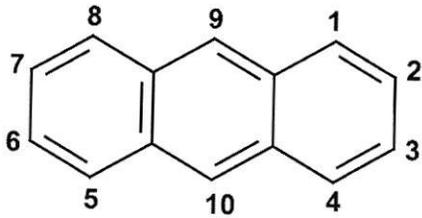
* The Merck Index "An Encyclopedia of Chemicals, Drugs and Biologicals". Tenth Edition. 1983.

Naftaleno (Naf)



Fluoreno (Flu)

Antraceno (Ant)



Criseno (Cri)

Benzo(α)pireno (Bp)

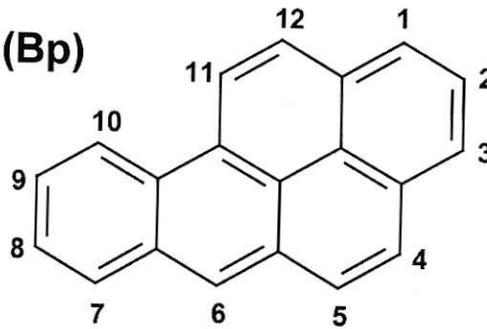


Figura 1 Estructura Molecular de algunos HAPs

3.2 PROPIEDADES ESPECTRALES DE LOS HIDROCARBUROS AROMATICOS POLICICLICOS

Debido a que gran parte de esta memoria contempla el uso de conceptos y de técnicas espectroscópicas, se hace necesario introducir ciertas nociones básicas asociadas a la interacción de la radiación electromagnética con la materia.

En el caso de los sistemas moleculares en estudio, la interacción radiación-materia genera características espectrales bien definidas, que pasamos a definir en los siguientes puntos.

3.2.1 Estructura Electrónica

Los compuestos aromáticos policíclicos tienen una unidad básica (benceno) compuesta por 6 átomos de carbono que al unirse producen una configuración trigonal, generando ángulos de enlace C-C-C de 120° y donde generalmente cada carbono posee una hibridación sp^2 , con su correspondiente sistema π , generando una rígida disposición espacial plana hexagonal ⁽³⁾, tal como se presenta en el benceno (Figura 2).

La condensación de la estructura hexagonal da origen a los distintos tipos de hidrocarburos aromáticos, los que pueden estar constituidos por dos anillos (Naftaleno), tres anillos (Antraceno) e incluso 13 anillos condensados como en el caso de 1,2,3,4,5,6,7,8,9,10,11-Hexabenzacoroneno ⁽²⁾ (Figura 2).

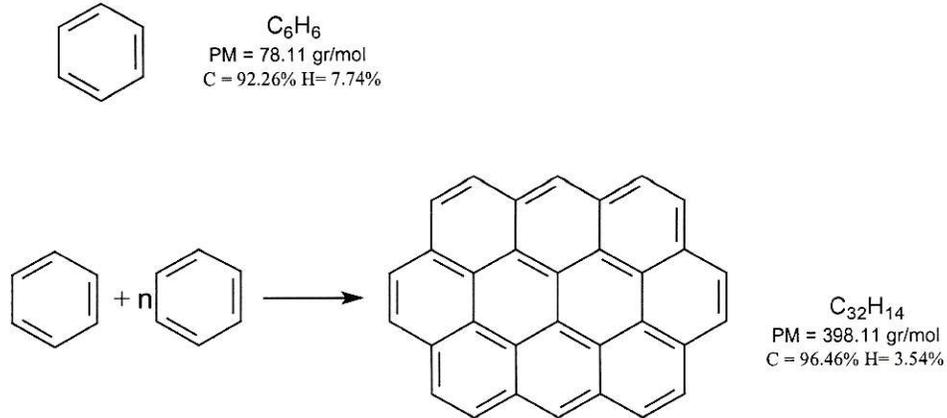


Figura 2 Esquema de una condensación de los hidrocarburos aromáticos

3.2.2 Absorción Molecular

La absorción de radiación electromagnética ultravioleta y visible por parte de una especie molecular consiste en la excitación electrónica, llevando a la molécula a un estado electrónico excitado. Este proceso se suele representar mediante la siguiente ecuación.



Donde M^* es la especie electrónicamente excitada. El tiempo de vida de la especie excitada es breve (10^{-8} a 10^{-9} s), su existencia termina por los distintos procesos de relajación: la forma de relajación más común es la liberación de calor; es decir,



La relajación puede ocurrir también por la descomposición de M^* para dar origen a una nueva especie molecular; dicho proceso se denomina reacción fotoquímica. En otros casos la liberación de la energía adquirida puede suponer la reemisión de fotones a través de la fluorescencia o fosforescencia.

En el caso de los dobles enlaces, y empleando un modelo de orbitales moleculares la absorción promueve electrones de un orbital enlazante π a un orbital antienlazante π^* , dando origen a una transición $\pi \rightarrow \pi^*$ (Figura 3). Esta transición para dobles enlaces no conjugados como en el eteno presenta un espectro de absorción cercano a 180 nm, en el ultravioleta de vacío. Cuando el doble enlace forma parte de una cadena conjugada (como en los HAPs), las energías de los orbitales moleculares se aproximan, y las transiciones ($\pi \rightarrow \pi^*$) se desplazan hacia la región del visible del espectro electromagnético ⁽⁹⁾.

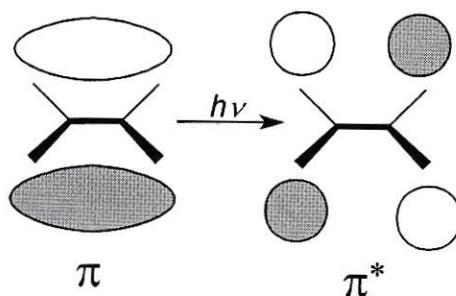


Figura 3 Transición ilustrada $\pi \rightarrow \pi^*$

La figura 4 muestra los espectros de absorción de Flu, Naf y Ant en solución de ciclohexano. En ella se observa el corrimiento batocrómico o desplazamientos hacia longitudes de onda mayor, al aumentar la extensión en la conjugación de los HAPs.

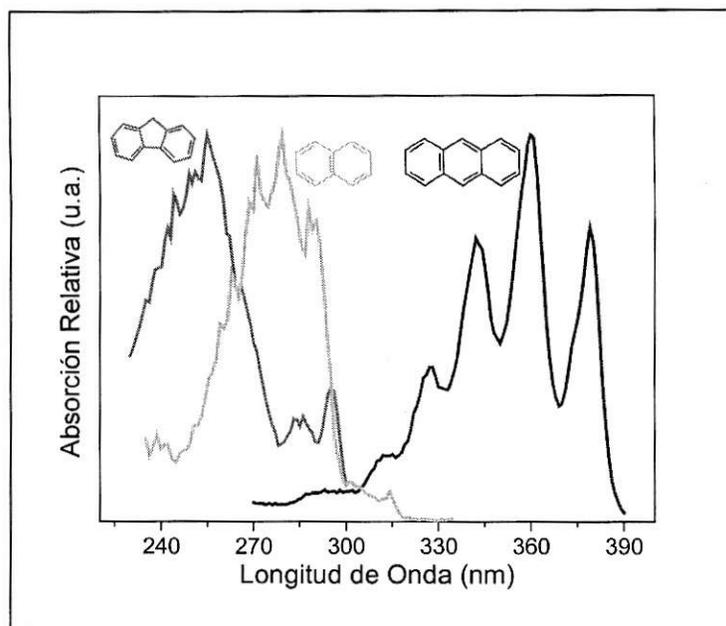


Fig. 4 Corrimiento al Rojo de los Espectros de Absorción al Aumentar el Número de Anillos de los HAPs

Otra característica importante relacionada con la absorción de la radiación por parte de los sistemas moleculares es el coeficiente de absorción molar (ϵ) que es una medida de la cantidad de luz absorbida por unidad de concentración. Un compuesto con un coeficiente de absorción molar alto, es muy eficiente en la absorción de luz, de una determinada longitud de onda. En la siguiente tabla se resumen algunos valores de (ϵ) para HAPs.

Tabla 2 Coeficiente de absortividad molar para la transición 0-0 de algunos HAPs

Compuesto	Disolvente	Transición 0-0 Máximo (nm)*	Coeficiente de Absortividad Molar (ϵ_{max})*
Naftaleno	Hexano	320	270
Fluoreno	Heptano	301	10000
Antraceno	Hexano	374	8500
Criseno	Heptano	361	200
Benzo(α)pireno	Heptano	405	2100

* Birks J. B. "Photophysics of Aromatic Molecules". Wiley-Interscience. Ed. 1980.

Además de lo anterior, otra importante característica que distingue a los HAPs de otros sistemas moleculares, es la naturaleza simétrica de sus espectros de absorción y emisión entre si. Esto se explica debido a que las transiciones entre los niveles de energía vibracionales S_0 y S_1 que involucran a la absorción y emisión son similares, por ello la forma de los espectros es parecida.

Lo anterior se puede ejemplificar en la figura 5, donde se muestra las transiciones de los niveles de energía vibracionales de los estados S_0 y S_1 . Donde además se modela a través de las transiciones vibracionales las bandas observables tanto en los espectros de emisión como en los de absorción ⁽²⁾.

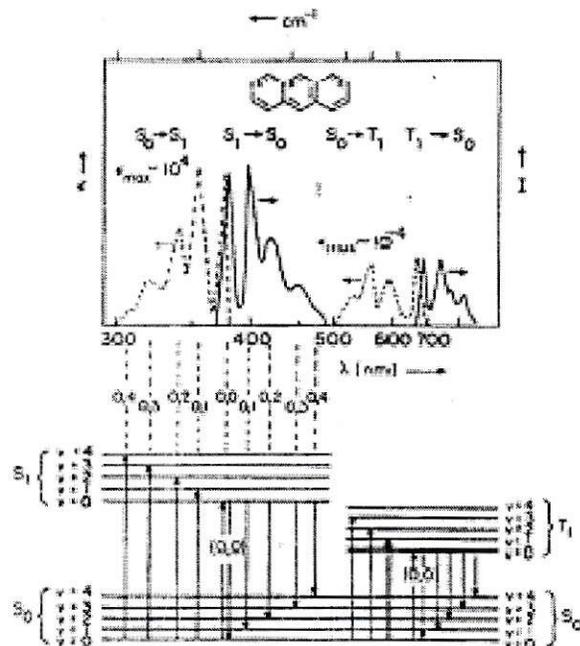


Figura 5 Transiciones de los niveles de energía vibracionales de los estados S_0 y S_1

Con respecto a las transiciones electrónicas, los HAPs también tienen un comportamiento singular que se relaciona con el principio de Franck-Condon, el cual establece que las transiciones electrónicas son verticales e involucran un cambio en la posición de los núcleos. Esto genera un cambio en la geometría de la molécula, que para el caso de estos sistemas moleculares (HAP), es mínimo dado su carácter de esqueleto molecular rígido. Este mínimo desplazamiento de los enlaces se advierte en los espectros de absorción y emisión, como una superposición de las bandas cero (ver Figura 5).

Desde el punto de vista espectroscópico, este corrimiento de las bandas de emisión con respecto a las de absorción se denomina corrimiento de Stokes.

3.2.3 Emisión Molecular (Fluorescencia)

La fluorescencia es uno de los procesos fotofísicos que se producen con posterioridad a la excitación electrónica (absorción) de un sistema molecular, y se encuentra asociado a las diferentes formas que posee una molécula de liberar la energía adquirida, producto de la absorción de radiación electromagnética.

Estos procesos se describen usualmente en un diagrama de niveles energía, singletes y tripletes llamado "Diagrama de Jablonski" (Figura 6).

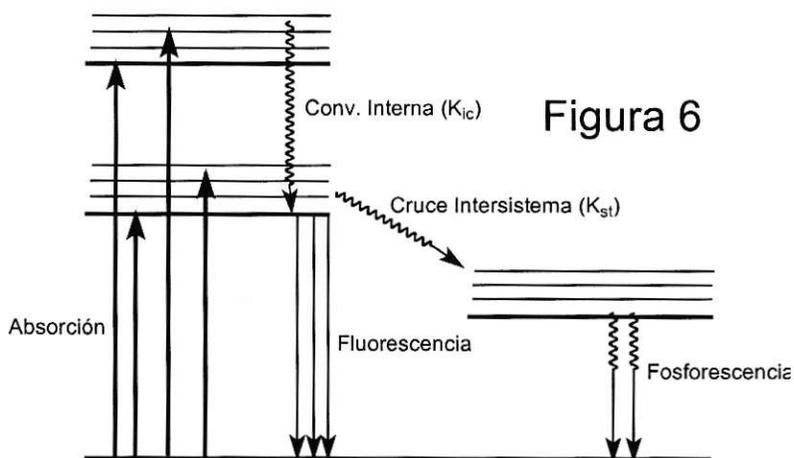
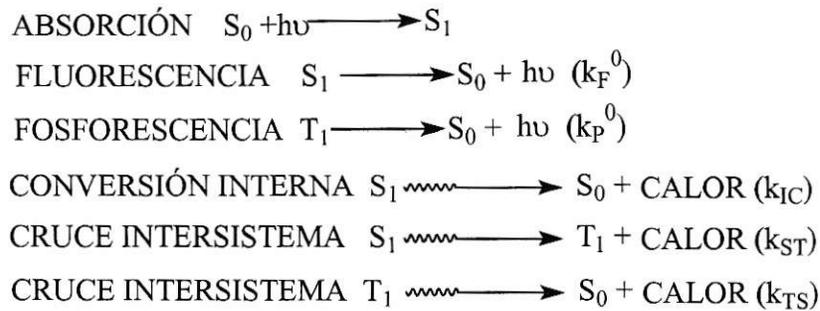


Figura 6 Diagrama de Jablonski

Cada proceso se caracteriza por su constante de velocidad (k_x), las magnitudes de las constantes determinan él o los caminos por los cuales la molécula libera la energía absorbida. Las ecuaciones que describen cada uno de los procesos con su correspondiente constante velocidad son:



Las constantes de velocidad para los procesos anteriores pueden ser determinadas experimentalmente en forma directa o indirecta.

Frecuentemente se utiliza el término de rendimiento cuántico (ϕ) que define la eficiencia de un proceso. Así, el rendimiento cuántico de un proceso x queda definido por la siguiente ecuación;

$$\phi_x = \frac{N^\circ \text{ de fotones proceso } x}{N^\circ \text{ de fotones absorbidos}} \quad (1)$$

Cuando un proceso es eficiente ϕ_x tendrá un valor cercano a 1,0 y si un proceso es poco eficiente ϕ_x tendrá un valor cercano a cero.

Los rendimientos cuánticos de cada uno de los procesos expuestos en el diagrama de Jablonski se expresan en términos de las constantes de velocidad, en las siguientes ecuaciones:

$$\phi_f = \frac{k_f^o}{k_f^o + k_{st} + k_{IC}} \quad \text{Rendimiento cuántico de Fluorescencia} \quad (2)$$

$$\phi_{ic} = \frac{k_{IC}}{k_f^o + k_{st} + k_{IC}} \quad \text{Rendimiento cuántico de Conversión Interna} \quad (3)$$

$$\phi_{st} = \frac{k_{st}}{k_f^o + k_{st} + k_{IC}} \quad \text{Rendimiento cuántico del Cruce Intersistema} \quad (4)$$

$$\phi_p = \phi_{st} \frac{k_p^o}{k_p^o + k_{is}} \quad \text{Rendimiento cuántico de Fosforescencia} \quad (5)$$

$$\phi_{st} = \phi_{st} \frac{k_{is}}{k_p^o + k_{is}} \quad \text{Rendimiento cuántico del Cruce Intersistema} \quad (6)$$

El tiempo de vida del estado fluorescente singulete τ_s es igual al inverso de la suma de todas las constantes de velocidad de desactivación del estado S_1 y en forma análoga el tiempo de vida del estado triplete τ_T es igual al inverso de la suma de todas las constantes de velocidad que desactivan el T_1 es decir:

$$\tau_S = 1/k_f^o + k_{st} + k_{IC} \quad (\text{Expresión para } S_1) \quad (7)$$

$$\tau_T = 1/k_p^o + k_{is} \quad (\text{Expresión para } T_1) \quad (8)$$

Los tiempo de vida radiativos τ_F^o y τ_p^o son respectivamente $1/k_F^o$ y $1/k_p^o$, y corresponden al tiempo de vida que presenta el sistema molecular si solo existiese un único canal de desactivación. En cuanto a los valores de τ_S y τ_P son del orden de 10^{-9} - 10^{-7} y 10^{-4} - 10^2 segundos para la Fluorescencia y Fosforescencia respectivamente.

En relación a los valores de τ_S para los hidrocarburos aromáticos estos se encuentran en un rango de 5 a 200 ns (nanosegundo) y pueden resumirse en la siguiente tabla.

Tabla 3 Tiempos de vida de la fluorescencia para algunos HAPs

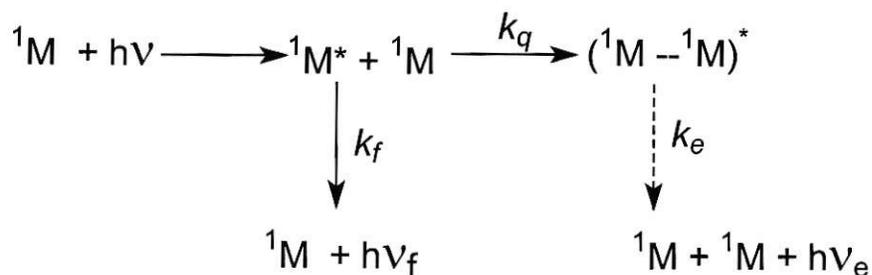
Compuesto	Disolvente	Tiempo de vida (τ_s ns)*
Naftaleno	Ciclohexano	96
Fluoreno	Ciclohexano	10
Antraceno	Benceno	4.9
Criseno	Ciclohexano	45
Benzo(α)pireno	Ciclohexano	49

* Birks J. B. "Photophysics of Aromatic Molecules". Wiley-Interscience. Ed. 1980.

3.3 PROCESOS BIMOLECULARES

Los procesos fotofísicos enumerados anteriormente ocurren para una molécula aislada o soluciones diluidas de éstas, pero a medida que la concentración de estos sistemas aumenta se producen interacciones moleculares que pueden dar origen a nuevos procesos de desactivación que compiten con la fluorescencia. Algunos de estos procesos son descritos a continuación:

a.- La formación de excímeros moleculares que ocurre cuando la concentración de especies moleculares es alta, genera la interacción intermolecular entre una molécula en el estado excitado ($^1M^*$) con otra en estado fundamental (1M), dando origen al complejo ($^1M \cdots ^1M$)* el cual se disocia una vez que retorna al estado fundamental ⁽²⁾. El excímero molecular formado tiene características espectrales propias y compite con la fluorescencia de la especie $^1M^*$, como se muestra en el siguiente diagrama.



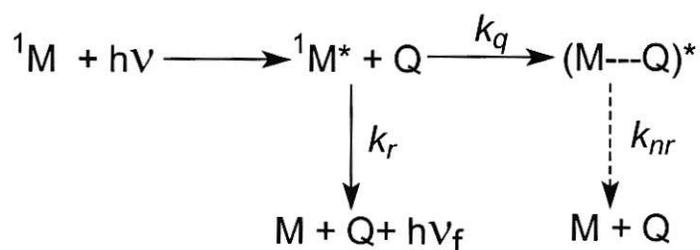
k_f = Const. de Emisión fluorescente

k_q = Const. de formación Excímero

k_e = Const. de Emisión del Excímero

b.- Otros tipos de complejo molecular formado en el estado excitado, son los exciplejos, y se producen por la interacción entre una molécula en estado fundamental 1M y una especie molecular o atómica Q en el estado fundamental. La interacción entre las especies $(^1M\cdots Q)^*$ da origen al apagamiento fluorescente, debido a que la molécula Q desactiva al estado excitado en forma no radiativa. Este apagador de la emisión de la especie $^1M^*$ puede ser una especie molecular neutra o cargada (aniónica o cationica) ⁽²⁾.

En el siguiente esquema se muestra la interacción de una molécula en un estado excitado con un apagador.



$k_q =$ Const. formación complejo ($^1M\cdots Q$)

$k_{nr} =$ Const. no radiativa

$k_r =$ Const. de Emisión de $^1M^*$

Además de los dos procesos bimoleculares antes mencionados existen otros que no se describen en este estudio debido a que no tienen relación con el tema aquí tratado.

3.4 FUNDAMENTOS DE LA FLUORESCENCIA

SINCRONICA

A fines de los años 70 estudios realizados por Vo-Dinh demostraron la posibilidad de identificar y cuantificar Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos a través de un nuevo espectro generado a partir de la medición simultánea de la excitación y emisión fluorescente; este nuevo espectro es llamado Espectro Fluorescencia Sincrónico (F.S.)⁽⁸⁾.

Para entender lo que es un espectro sincrónico debemos conocer como se obtiene, desde el punto de vista instrumental, un espectro de emisión y un espectro excitación (absorción).

Un espectro de emisión se obtiene fijando la longitud de onda de excitación (λ_{ex}), correspondiendo generalmente a un máximo del espectro de absorción, para luego barrer con el monocromador de excitación en el rango de longitudes de onda en que se presenta la emisión (ver Figura 7).

Para el caso de un espectro de excitación (absorción), se selecciona una longitud de onda del espectro de emisión, generalmente el máximo, luego se realiza con el monocromador de excitación, un barrido en el rango de longitud de onda en que aparece el espectro de absorción (ver Figura 7).

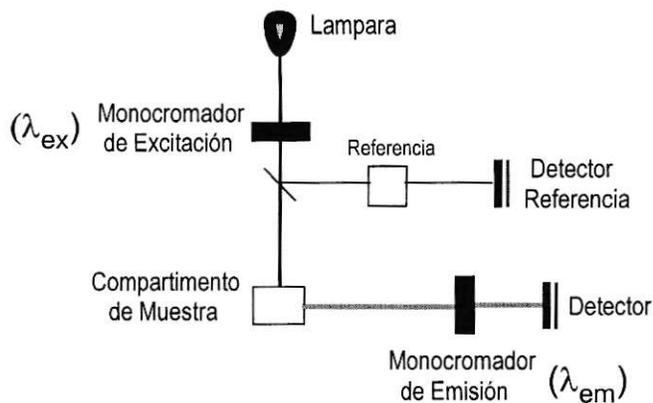


Figura 7 Esquema de un Equipo de Fluorescencia

Tomando en cuenta lo anterior, la definición de un Espectro Sincrónico desde un punto de vista instrumental corresponde a un barrido simultáneo o sincrónico de ambos monocromadores, de excitación (λ_{ex}) y de emisión (λ_{em}) (ver Figura 8).

La condición principal de este barrido simultáneo para obtener este tipo de espectros es que exista una ventana espectral que permite observar el pico o señal sincrónica. Esta ventana espectral estará asociado al corrimiento de las bandas cero cero de los espectros de absorción y emisión, denominado corrimiento de Stokes.

3.4.1 Fundamento Teórico de la *Fluorescencia Sincrónica*

Para una muestra excitada a una longitud de onda λ_{ex} se tiene que la intensidad de emisión I está en función de la longitud de onda de la emisión λ_{em} , y puede describirse mediante la ecuación

$$I(\lambda) = R(\lambda_{ex})E_M(\lambda_{em}) \quad (9)$$

$E_M(\lambda_{em})$, es la intensidad del espectro de emisión a la longitud de onda λ_{em} y $R(\lambda_{ex})$ es un función dependiente de factores instrumentales, de las características de la especie molecular y de su concentración

$$R(\lambda_{ex}) = k\phi I_0(\lambda_{ex})\varepsilon(\lambda_{ex})cd \quad (10)$$

Los parámetros que definen a R_{λ^*} son: ϕ = rendimiento cuántico, I_0 = intensidad de luz incidente, ε = coeficiente de extinción molar, c = concentración del analito y d = paso óptico de la celda.

Por otro parte el producto $\phi \times I_0 \times \varepsilon$ depende exclusivamente de la longitud de onda de excitación, por lo tanto, es proporcional al espectro de excitación.

$$E_{ex}(\lambda_{ex}) \propto \phi I_0(\lambda_{ex})\varepsilon(\lambda_{ex}) \quad (11)$$

Si combinamos la ecuación 9,10 y 11 se obtiene la expresión para la intensidad de la señal Sincrónica (I_s), a un par de longitudes de onda.

$$I_S(\lambda_{ex}, \lambda_{em}) = KcdE_{ex}(\lambda_{ex})E_{em}(\lambda_{em}) \quad (12)$$

donde K = es una constante de proporcionalidad dependiente de las características del instrumento empleado.

La principal condición de barrido es que el desfase o ventana espectral que permite visualizar la señal sincrónica debe tener un $\Delta\lambda$ determinado, que se define como $\lambda_{em} - \lambda_{ex} = \Delta\lambda$ ó $\lambda_{em} = \Delta\lambda + \lambda_{ex}$ (figura 8). Re escribiendo la ecuación anterior la ecuación final se representa como:

$$I_S(\lambda_{ex}, \lambda_{em}) = KcdE_{ex}(\lambda_{ex})E_{em}(\lambda_{ex} - \Delta\lambda) \quad (13)$$

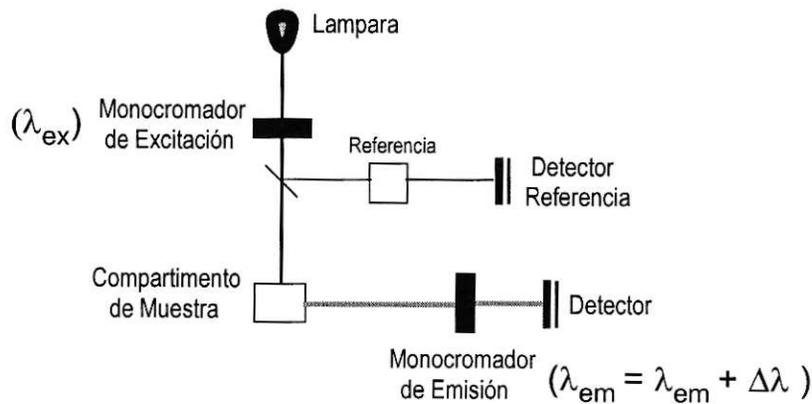
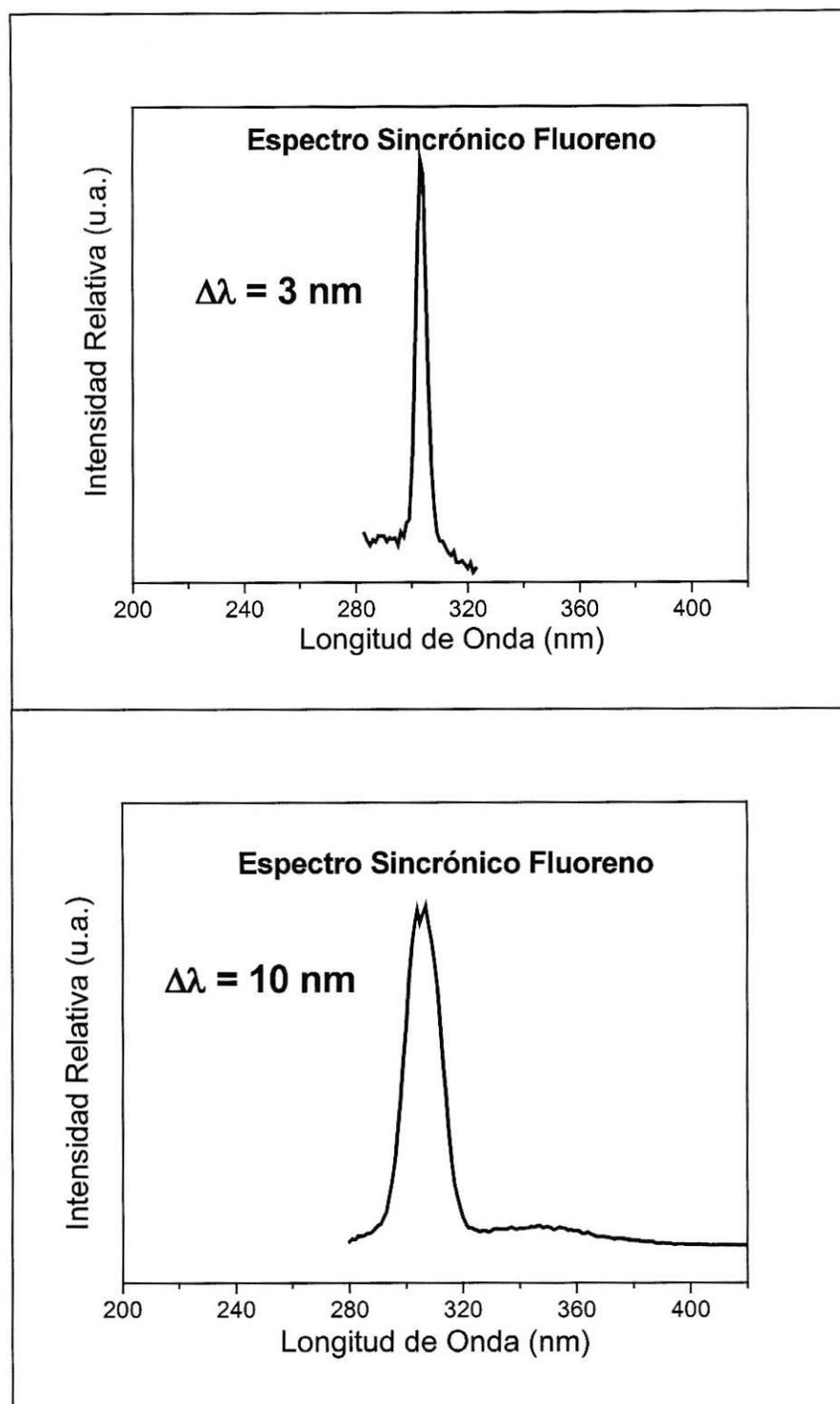


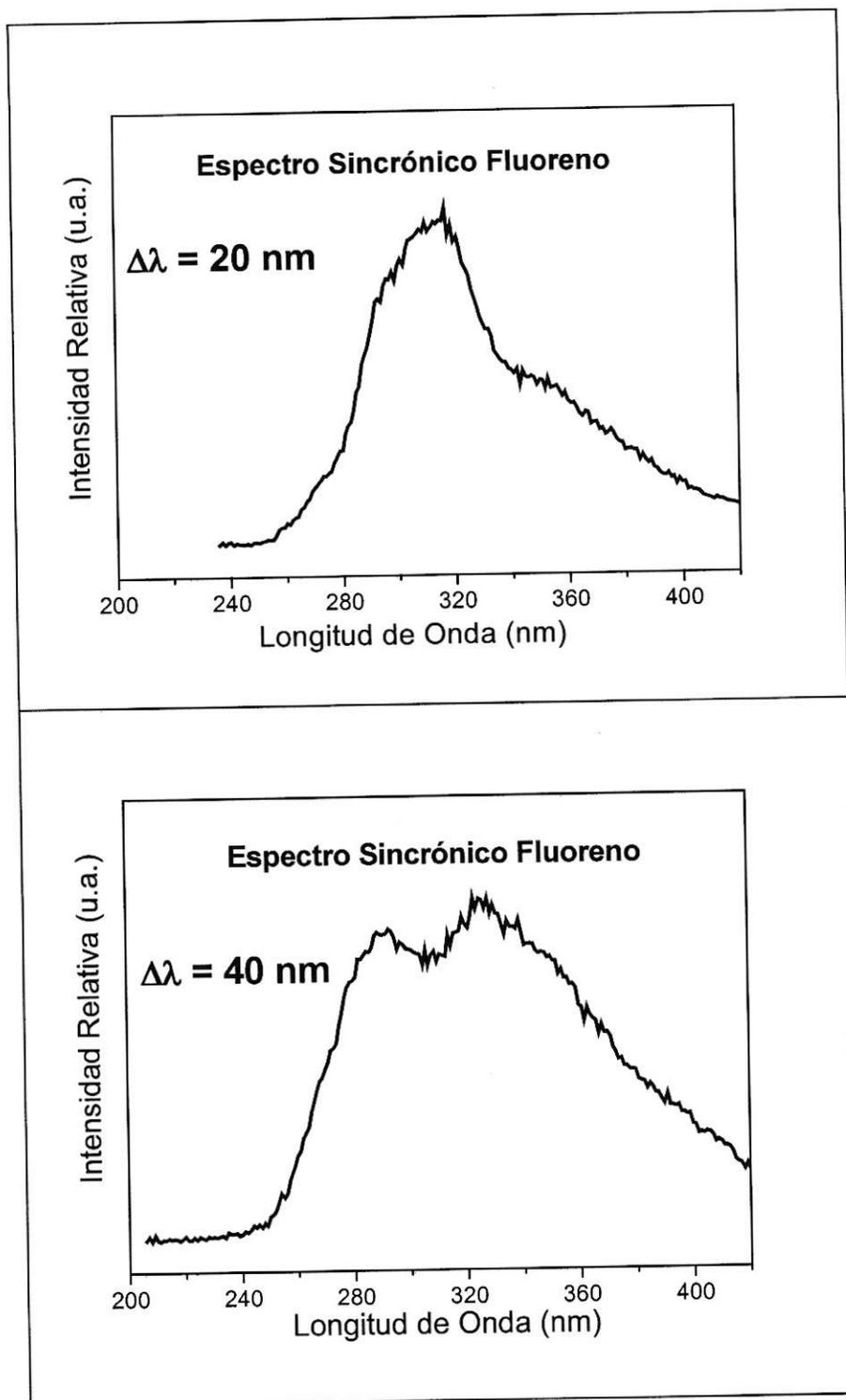
Figura 8 Esquema de un equipo de fluorescencia acondicionado para medir un espectro sincrónico

El valor que tenga el $\Delta\lambda$ o ventana espectral, afecta significativamente la forma y la intensidad de los espectros ⁸, por ello es importante elegir el valor adecuado de desfase, para utilizar adecuadamente la técnica de fluorescencia sincrónica en la determinación e identificación de una mezcla de HAP.

En las siguientes figuras 9, 10, 11 y 12 se muestra el efecto que tiene el aumento de la ventana espectral sobre los espectros sincrónicos.



Figuras 9 y 10 Efecto del aumento de la ventana espectral sobre el espectro de Fluorescencia Sincrónico



Figuras 11 y 12 Efecto del aumento de la ventana espectral sobre el espectro

Fluorescencia Sincrónico

El aumento en el valor de la ventana espectral como se observa en las figuras anteriores, genera una deformación de los espectros sincrónicos y un cambio en la posición de la señal. Este experimento se realizó para otros hidrocarburos aromáticos policíclicos, obteniendo el mismo resultado, por ello este parámetro asociado a la generación de estos espectros generalmente se fija en un valor de $\Delta\lambda = 3 \text{ nm}$, ya que, es este el valor que permite visualizar de mejor forma el espectro sincrónico, de acuerdo a los trabajos realizados por Tuan Vo-Dinh y otros^{8,10}.

De acuerdo a los antecedentes antes descritos se puede inferir que, la señal sincrónica es particular para cada hidrocarburo aromático policíclico, ya que, cada molécula se ubica en una posición particular dentro del rango espectral (Figuras 13,14,15,16,17), determinada por el número de anillos o aumento de la conjugación de sus enlaces π , por ello en principio, este tipo de espectros permitiría identificar al mismo tiempo un grupo de hidrocarburos aromáticos y asignar una posición espectral particular para cada especie molecular.

En la Figura 18 se muestra un espectro sincrónico de un conjunto de HAPs y es posible asignar la posición de cada señal a un HAP utilizando como guía los espectros de las Figuras 13 a 16.

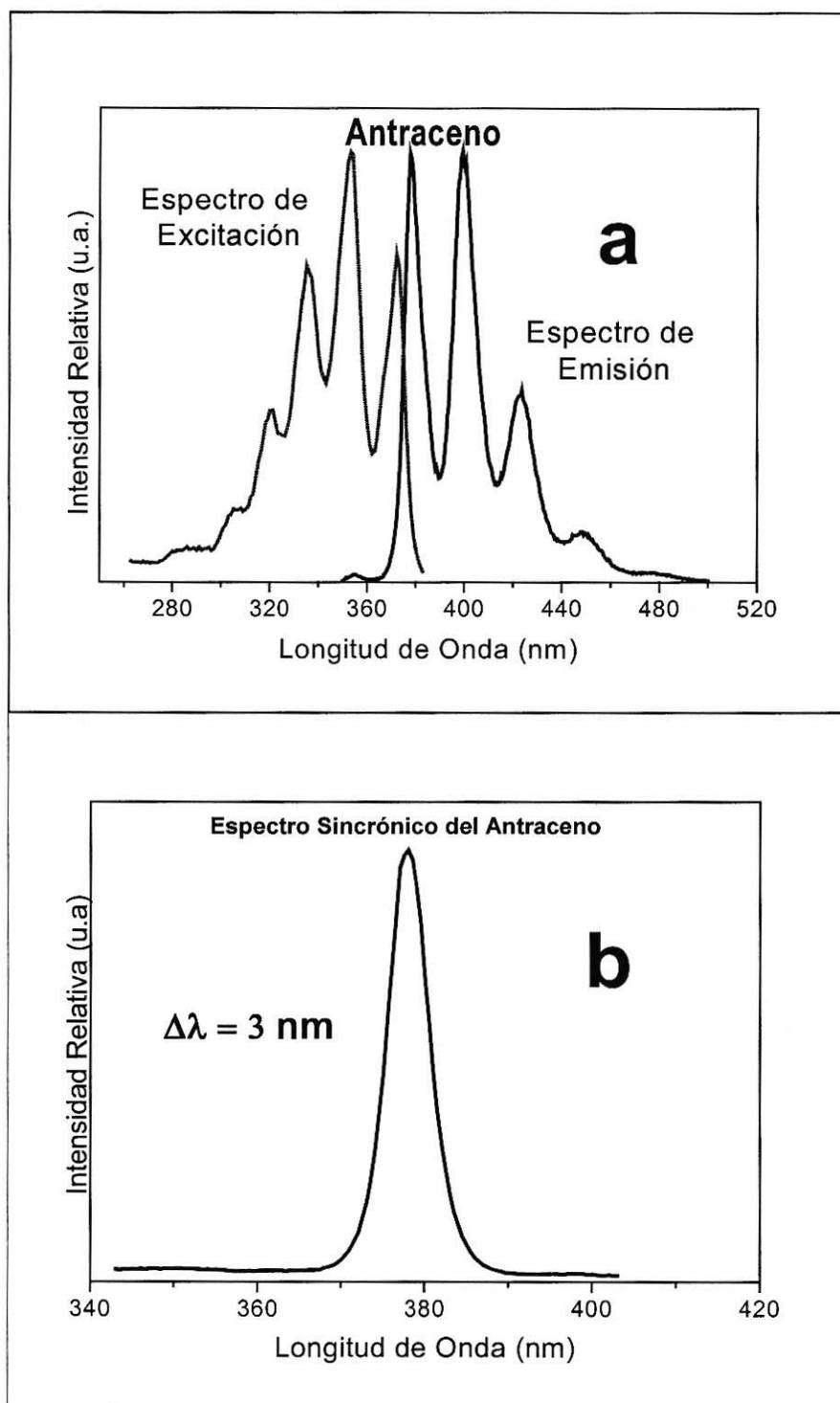


Figura 13 (a) Espectros de absorción y emisión del Antraceno y
(b) Espectro Sincrónico del Antraceno

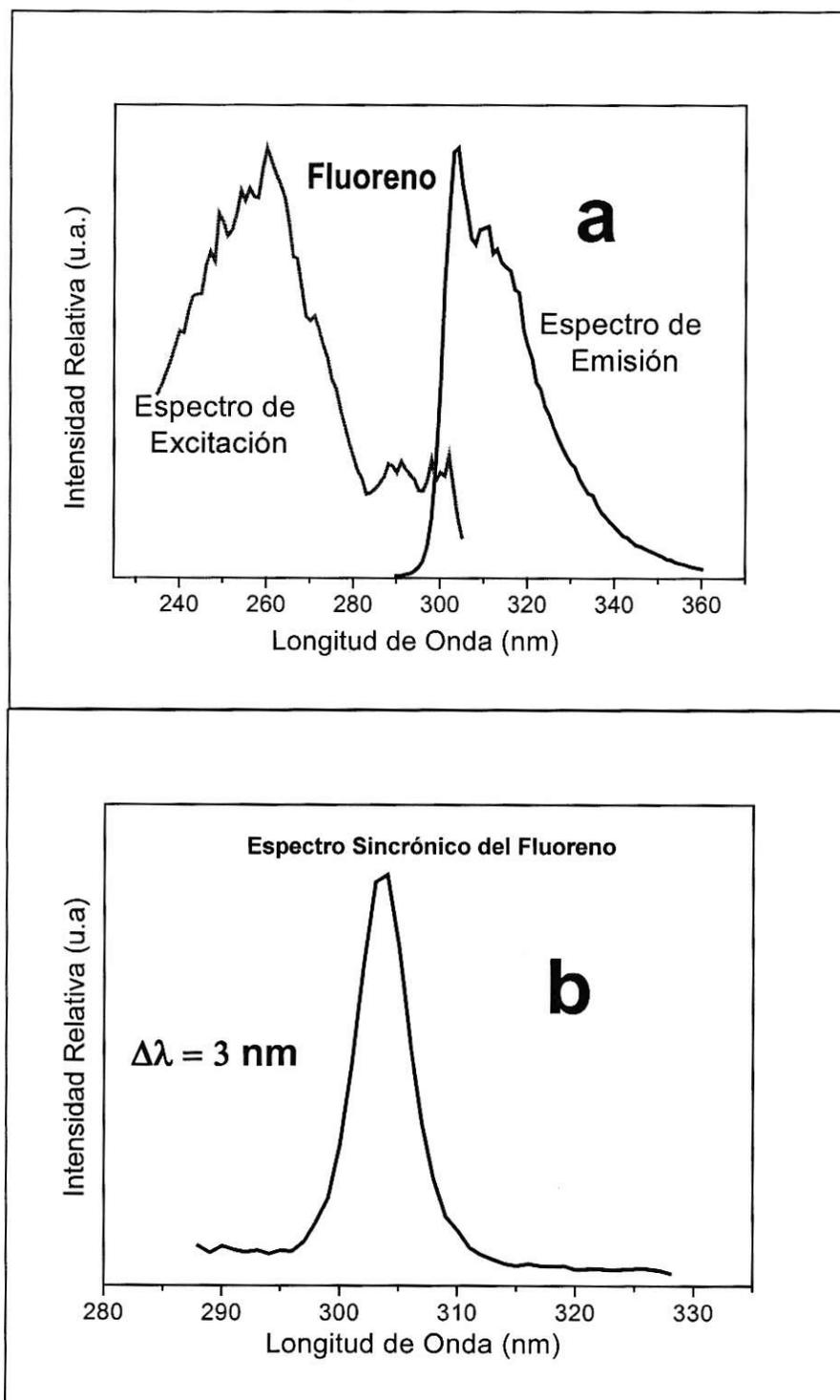


Figura 14 (a) Espectros de absorción y emisión del Fluoreno y
(b) Espectro Sincrónico del Fluoreno

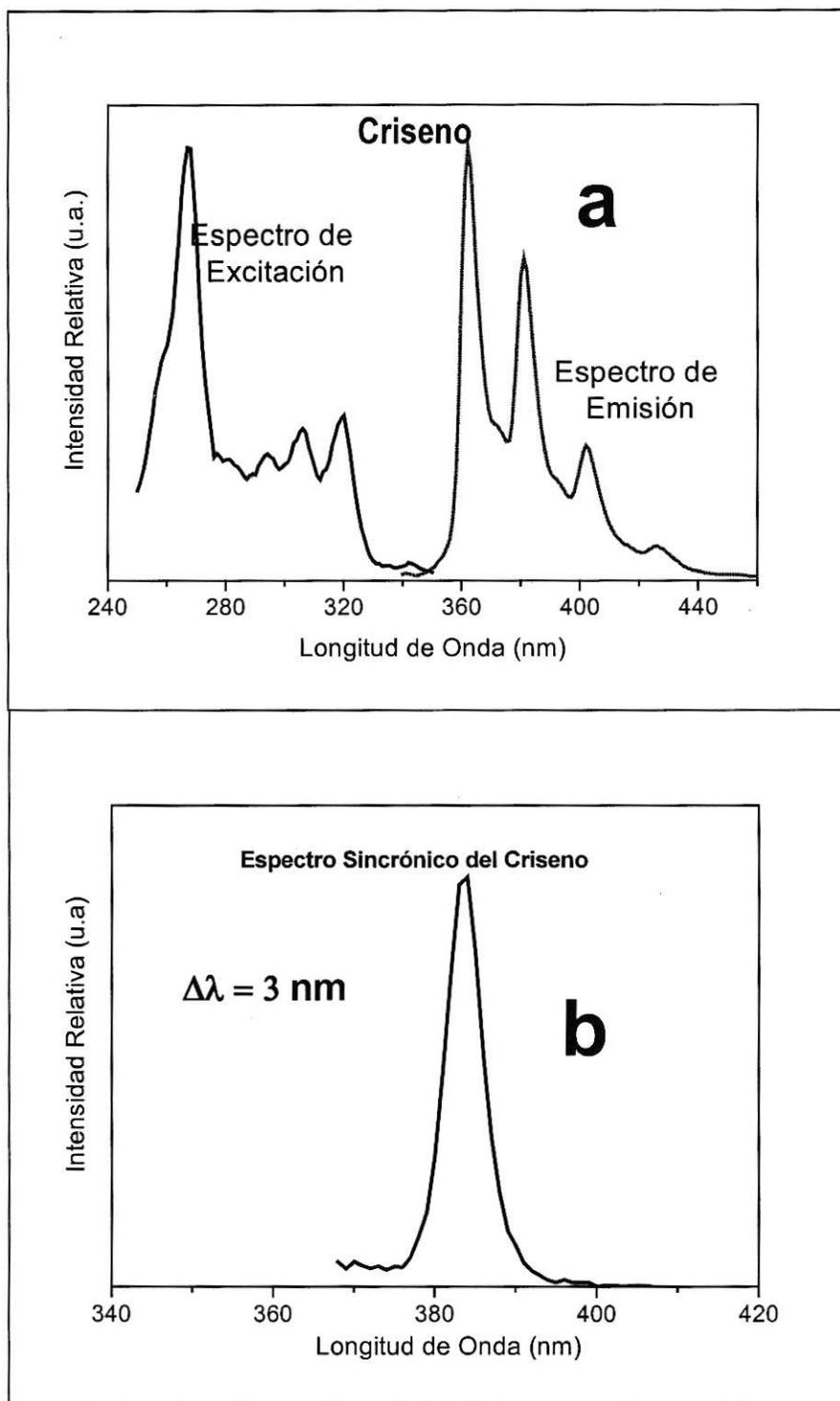


Figura 14 (a) Espectros de absorción y emisión del Criseno y
(b) Espectro Sincrónico del Criseno

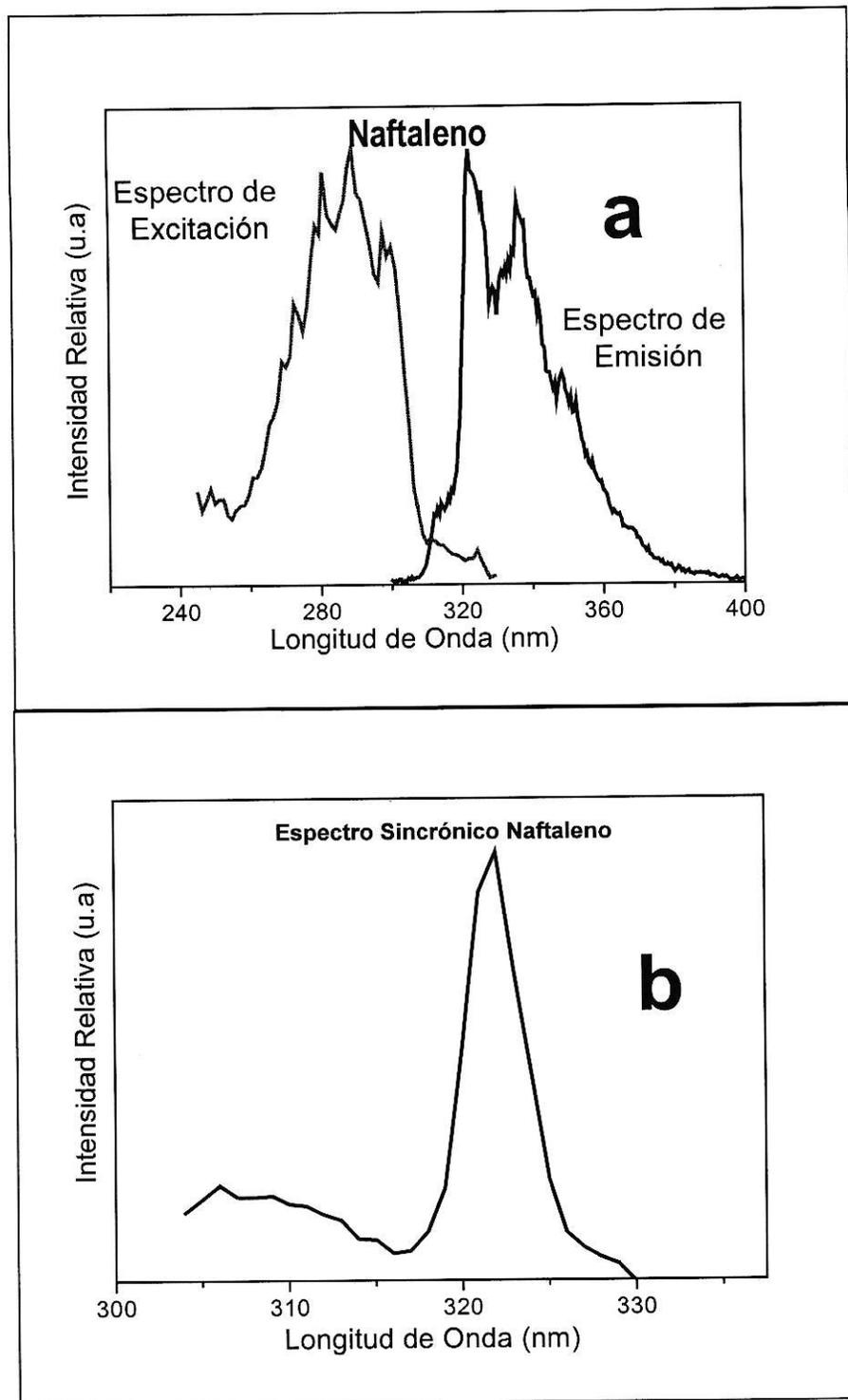


Figura 16 (a) Espectros de absorción y emisión del Naftaleno y
(b) Espectro Sincrónico del Naftaleno

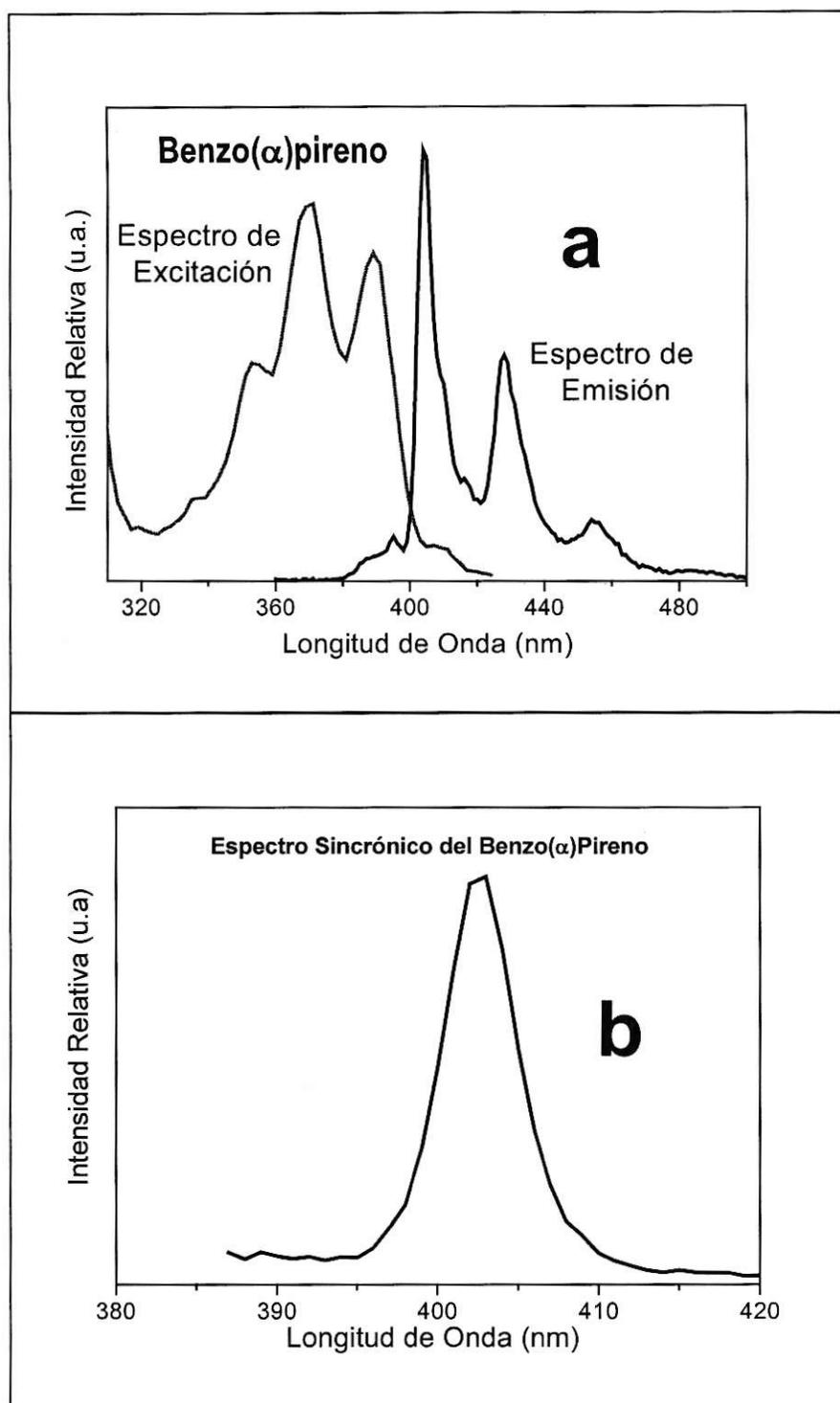


Figura 17 (a) Espectros de absorción y emisión del Benzo(α)pireno y
(b) Espectro Sincrónico del Benzo(α)pireno"

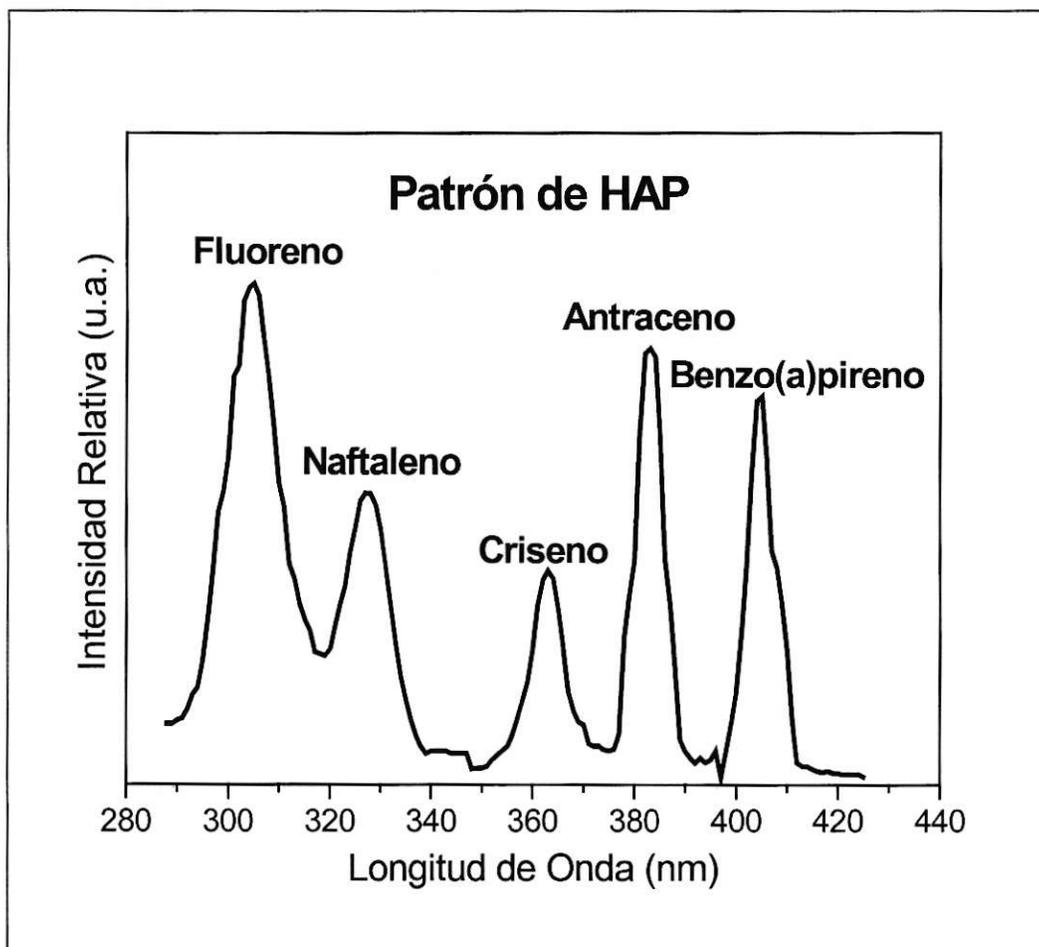


Figura 18 Espectro sincrónico de una mezcla de HAPs en diclorometano

4.0 MATERIALES Y METODOS

En los párrafos siguientes se detalla cada uno de los métodos y materiales utilizados en el desarrollo de este seminario de título, ya sea, en la elaboración de las curvas de calibración o en los procesos de extracción de los HAPs de las muestras.

4.0.1 Estándares y Disolventes

Se empleó diclorometano grado P.A. (Aldrich) como disolvente en la preparación de disoluciones de patrones y para el proceso de extracción.

Los HAPs utilizados como patrones son de procedencia Merck y Aldrich de pureza mayor a 99% y se emplearon sin purificar.

Es importante destacar que todo el material de vidrio fue previamente lavado con un detergente líquido Marca Aquet libre de iones sulfato.

4.0.2 Equipo Utilizado

El equipo utilizado fue un Espectrofluorímetro ISS PC1 que opera con una lámpara de Xenón 300 W, 2 monocromadores (uno de excitación y el otro utilizado en la emisión (ver figura 7). Se usó una ranura o paso de luz de 0,5 que permite un ancho de banda mínimo de 4 nm y un detector de tubo fotomultiplicador. Además, el equipo está conectado a un computador que tiene la función de controlar el equipo y despliega en pantalla los registros espectrales.

El barrido espectral se realizó a razón de 1nm/por segundo, además cada medida se integra 2 veces; esto quiere decir que cada 1nm medido se realizaban 2 medidas de intensidad a esa longitud de onda, obteniendo un promedio de las 2 medidas de intensidad, siendo ese valor el graficado en los espectros.

5.0 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

5.0.1 Validación de la Técnica de la *Fluorescencia Sincrónica*

Se validó el método de la fluorescencia sincrónica usando una mezcla de HAPs patrones con lo que se determinó la longitud de onda de la señal correspondiente a cada HAPs, resolución y reproducibilidad donde además se comprobó el porcentaje de recuperación de los HAPs a través de un proceso de extracción.

La definición matemática del espectro sincrónico definida en la ecuación 13 describe la dependencia de la intensidad del espectro con respecto a una concentración dada. Esta relación está asociada a través de una pendiente m que contiene los parámetros espectroscópicos E_{em} , E_{ex} y la constante K .

$$I_S(\lambda_{ex}, \lambda_{em}) = mcd \quad (14)$$

Donde, m = pendiente, c = concentración y d = paso óptico.

La sensibilidad descrita por la letra m será distinta para cada HAP que podría estar contenido en una muestra, ya que los parámetros espectroscópicos E_{ex} y E_{em} son particulares para cada hidrocarburo.

En cuanto a la identificación de un determinado número de HAPs, esta se lleva a cabo comparando los espectros sincrónicos de las muestras con el espectro sincrónico de un patrón de HAPs.

El análisis de las muestras se realizó en dos etapas; la primera se realizó los estudios de gravimetría y el proceso de extracción de los HAP de las muestras de particulado atmosférico. En una segunda etapa se realizó la determinación de HAP a través de la fluorescencia sincrónica.

También se realizaron para cada una de las muestras estudios que incluyeron; la posición de las señales de los espectros sincrónicos del patrón con las muestras (Estudio de identificación), efecto de la irradiación o número de barridos en la señal sincrónica (Reproducibilidad) y un estudio de resolución o mejor dicho capacidad de la técnica de diferenciar entre una señal u otra.

5.0.2 Métodos Numéricos

Se realizó el ajuste matemático de cada una de las señales sincrónicas, a una función lorentziana, tanto para la realización de las curvas de calibración, como los estudios a los distintos tipos de muestras analizados. Esta función está definida por la siguiente ecuación:

$$y = y_0 + \frac{2Aw}{\pi 4(x - x_c)^2 + w^2} \quad (15)$$

Donde, y_0 = línea base, A = es el área bajo la curva, w = el área a media altura del pico y X_c = la posición de la señal en el eje X.

En la figura 19 se muestra la parametrización de un espectro sincrónico; este procedimiento fue realizado con el programa ORIGEN 6.0.

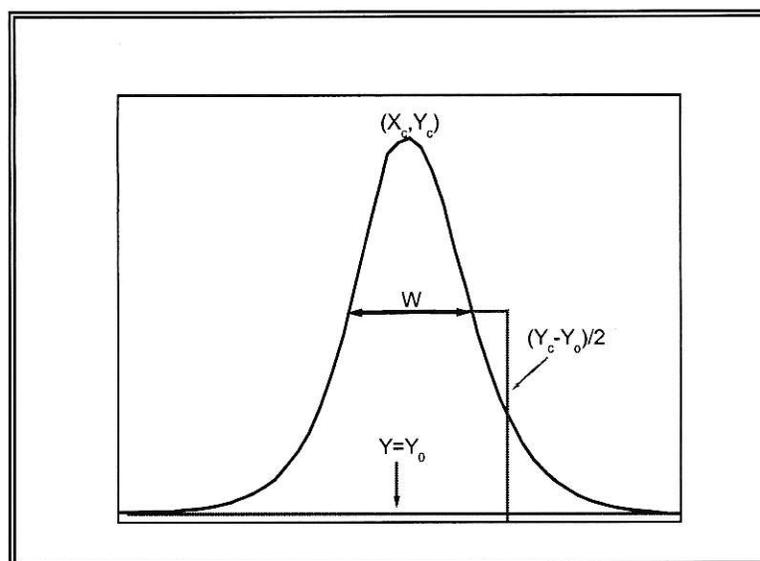


Figura 19 Parámetros relacionados con una curva lorentziana

5.0.3 Preparación de Estándares de Fluorescencia Sincrónico

Las soluciones stock de los estándares se prepararon pesando la cantidad de PAHs necesaria y llevando a matraz volumétrico de 10 ml con CH_2Cl_2 en algunos casos. A partir de las soluciones stock, se prepararon soluciones de al menos cinco niveles de concentración, mediante diluciones sucesivas.

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

Para las curvas de calibración se tomaron alícuotas sucesivas de los estándares preparados que fueron adicionadas a una celda de fluorescencia que contenía 2 mL de diclorometano y luego se registro, midió el espectro sincrónico para cada una de las alícuotas agregadas. Esta operación se repite 6 veces por alícuota. Luego de obtener los espectros sincrónicos se procedió a medir el área bajo la curva con la metodología matemática descrita en el punto anterior.

Con los valores obtenidos se generaron curvas de calibración de área bajo la curva v/s concentración de HAP. Estas curvas se muestran a continuación en las Figuras 20, 21, 22, 23 y 24, además en la tabla 8 se muestran algunos de los parámetros relacionados con las curvas de calibración obtenidas para cada uno de los HAPs.

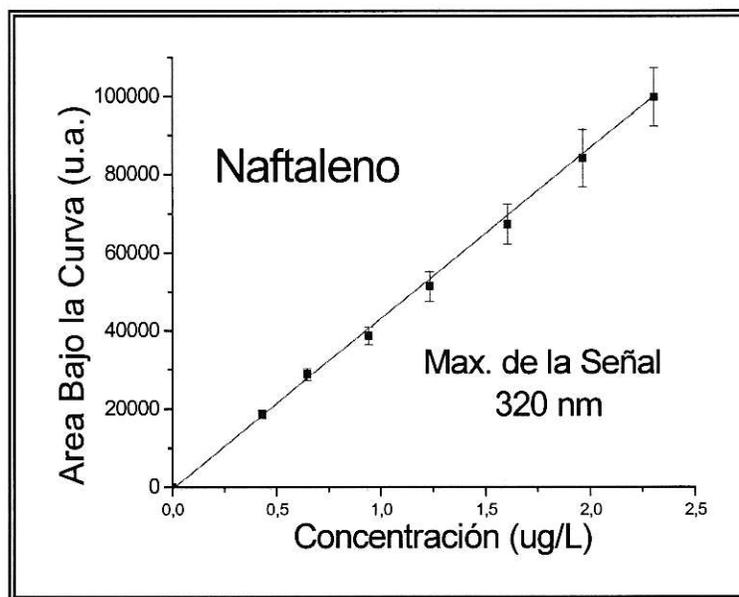


Figura 20 Curva de calibración para Naftaleno

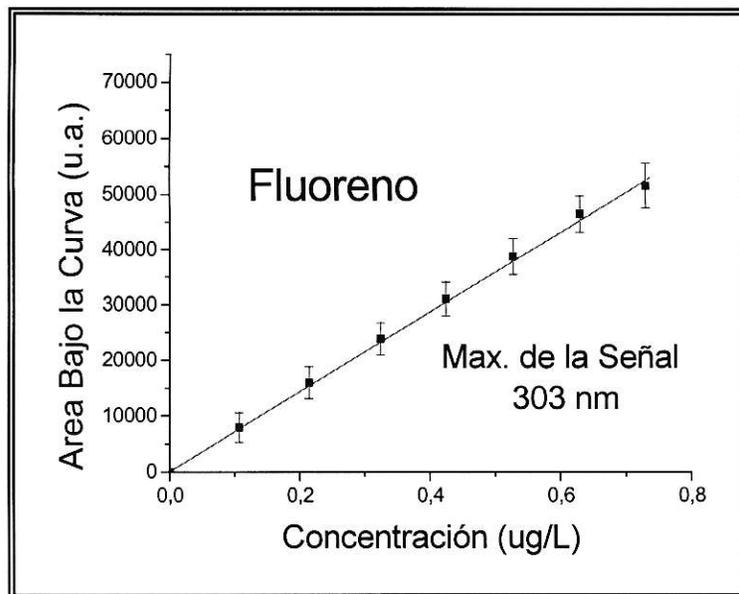


Figura 21 Curva de calibración para Fluoreno

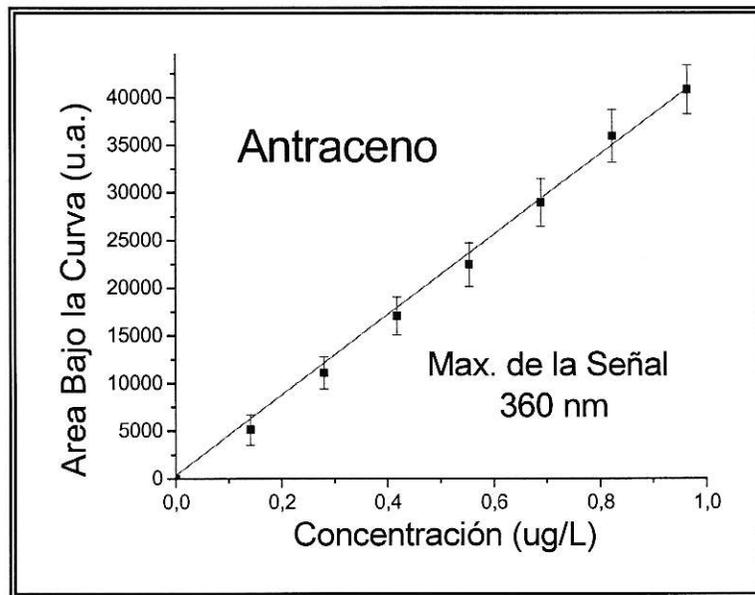


Figura 22 Curva de calibración para Antraceno

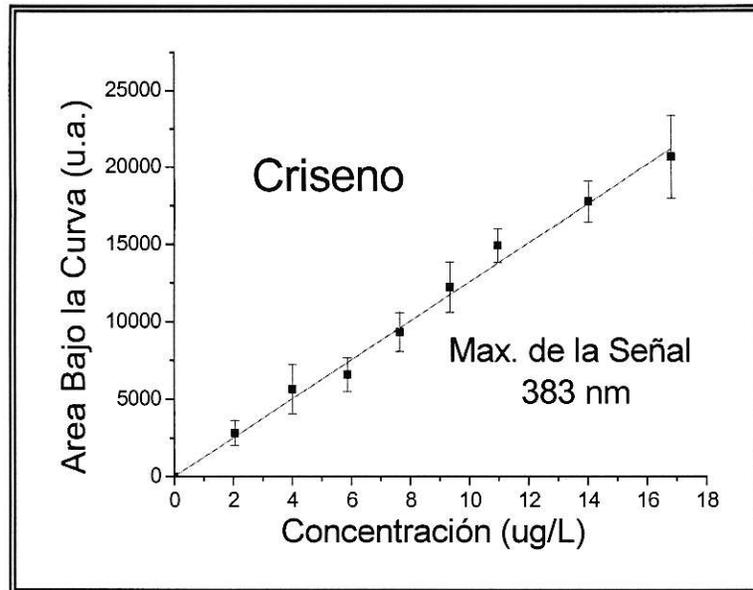


Figura 23 Curva de calibración para Criseno

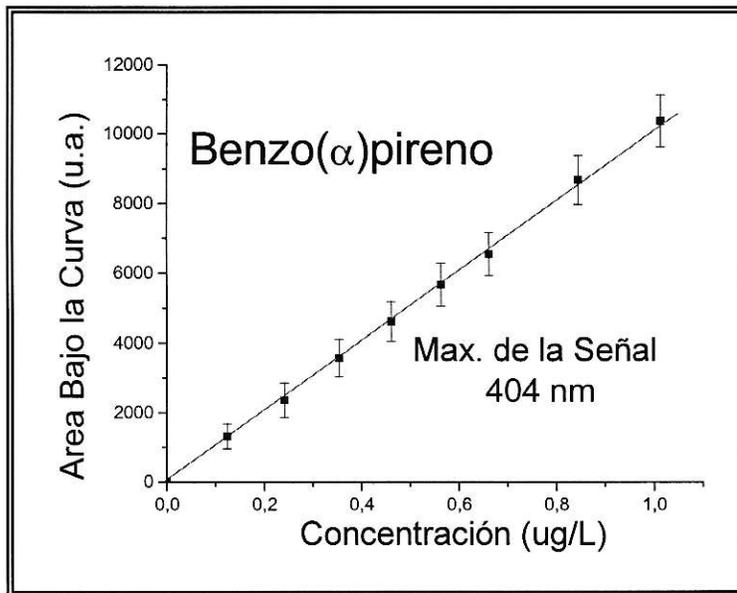


Figura 24 Curva de calibración para Benzo(α)pireno

Tabla 4a Resumen de algunos de los parámetros obtenidos para las curvas de calibración de los HAPs

Molécula	Máximo del Espectro Sincrónico (nm)	Pendiente ($m \pm \Delta m$) (Área / $\mu\text{g/L}$)	Ch^2_{red}	r^2
Naftaleno	320	46237 ± 1953	0,899	0,999
Fluoreno	303	78266 ± 2832	0,830	0,999
Antraceno	360	43278 ± 2349	0,805	0,998
Criseno	383	2531 ± 95	0,705	0,998
Benzo(α)pireno	404	10210 ± 538	1,204	0,999

De la observación de los valores de r^2 y Ch^2_{red} , las curvas de calibración mostraron tener una respuesta lineal entre la intensidad de los espectros sincrónico y la concentración de HAP, por ello la función matemática asociada a los datos experimentales quedó definida por:

$$y = m \cdot x \quad (16)$$

Donde y es el área relativa, m es la pendiente de la curva y x la concentración del HAP ($\mu\text{g/L}$).

De la tabla 8a se puede hacer el análisis de las pendientes, que por definición representan la sensibilidad analítica de cada curva, encontrándose que la curva que tiene mayor sensibilidad es la del Fluoreno y el de más baja sensibilidad es Criseno.

En relación al límite de detección (LD) que se define como la mínima concentración de analito detectada para un nivel de confianza del 95% ⁹ (Tabla 4b), la concentración más baja detectada por el método es para Benzo(α)pireno (0,03 $\mu\text{g/L}$).

En cuanto al límite de cuantificación (LC) que se define como la concentración mas pequeña a la cual se puede realizar una medida cuantitativa ⁹, este valor fue obtenido multiplicando $10 \cdot S_{bl}$ (Desviación estándar del Blanco).

Una vez determinado el valor más bajo cuantificable, se establece el rango lineal que determina la zona de trabajo para la determinación cuantitativa de los HAPs propuestos en este seminario de título (Tabla 4b).

En relación a la metodología de determinación de los parámetros LC y LD, estas se encuentran ampliamente desarrolladas y especificadas en la literatura.^{9,12 y 13}

Tabla 4b Limite de Detección (LD) y Rango de Cuantificación (RC) para la curvas de calibración obtenidas

Molécula	Limite de Detección ($\mu\text{g/L}$)	Rango de Cuantificación ($\mu\text{g/L}$)
Naftaleno	0,07	0,14-2,60
Fluoreno	0,04	0,08-0,50
Antraceno	0,07	0,15-1,20
Criseno	1,12	1,68-16,0
Benzo(α)pireno	0,03	0,07-1,20

5.1 ESTUDIO DE LAS MUESTRAS

5.1.1 Efecto de Irradiación de las Muestras

A diferencia de las soluciones estándar de HAPs, las muestras presentaron pérdida de algunas señales al ser irradiadas durante la etapa de identificación y determinación.

Por ello a modo de comprobar la reproducibilidad se realizaron sucesivos espectros sincrónicos a intervalos de 2 minutos a una misma muestra. El resultado de este estudio se observa en el siguiente espectro.

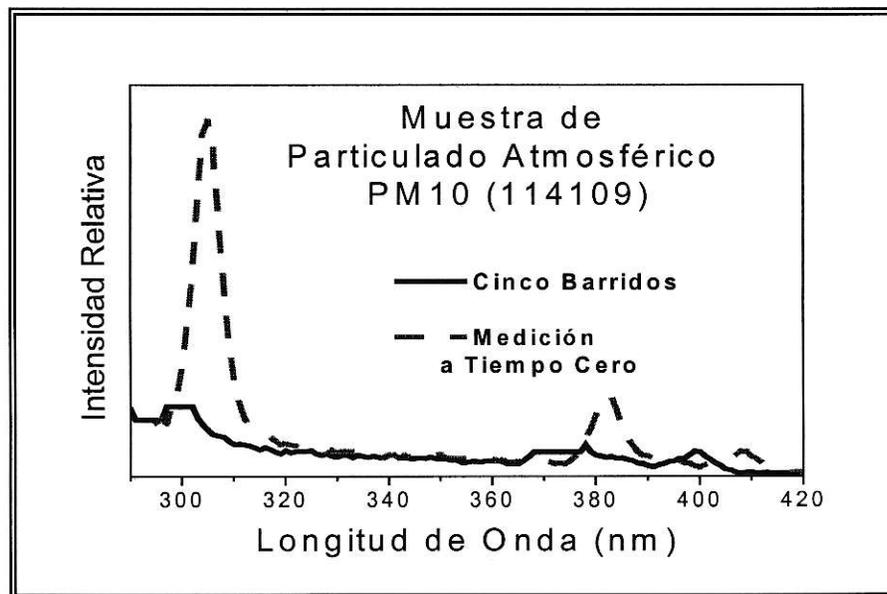


Figura 25 Efecto de la Irradiación sobre las Muestras

Como se observa claramente en el espectro anterior las señales desaparecen una vez que se realiza un número superior a cinco mediciones, este hecho podría deberse a que la irradiación permite acelerar ciertas reacciones fotoquímicas que destruyen la naturaleza real de las muestras. Debido a lo anterior todas las mediciones de las muestra analizadas se tomaron a tiempo cero o solo una vez.

Para comprobar entonces la reproducibilidad se tomó la misma cantidad de muestra dos veces y se comparó los espectros sincrónicos. El resultado se muestra en el siguiente espectro.

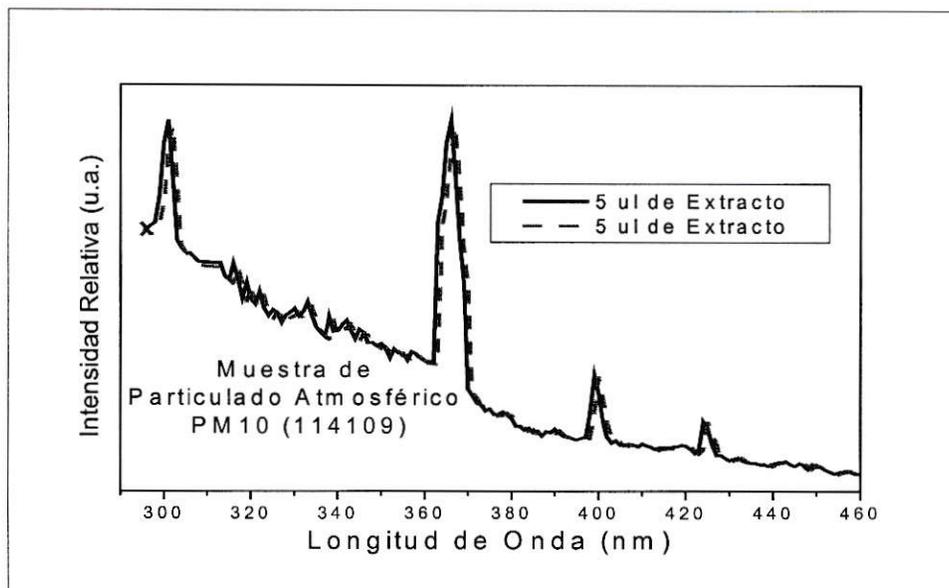


Figura 26 Medición a Tiempo Cero de una Misma Muestra

Como se observa en el espectro anterior tanto la posición de las señales como el número de picos coinciden para ambas muestras. Con esto se comprueba que la fluorescencia sincrónica es una técnica destructiva de las matrices analizadas, ya que, solo es posible realizar el análisis de las muestras solo una vez.

5.1.2 Efecto de la concentración del extracto

Se tomaron alícuotas del concentrado entre 5 uL hasta 45 uL. El objetivo era obtener el espectro sincrónico representativo de cada una de las muestras, por ello, cada una de las alícuotas se agregó directamente a la celda de fluorescencia que contenía 2 mL de diclorometano y no de forma sucesiva, ya que, como se desarrolló en el punto anterior la irradiación afectaba el resultado final de las muestras, el resultado de este estudio se observa en los siguientes espectros.

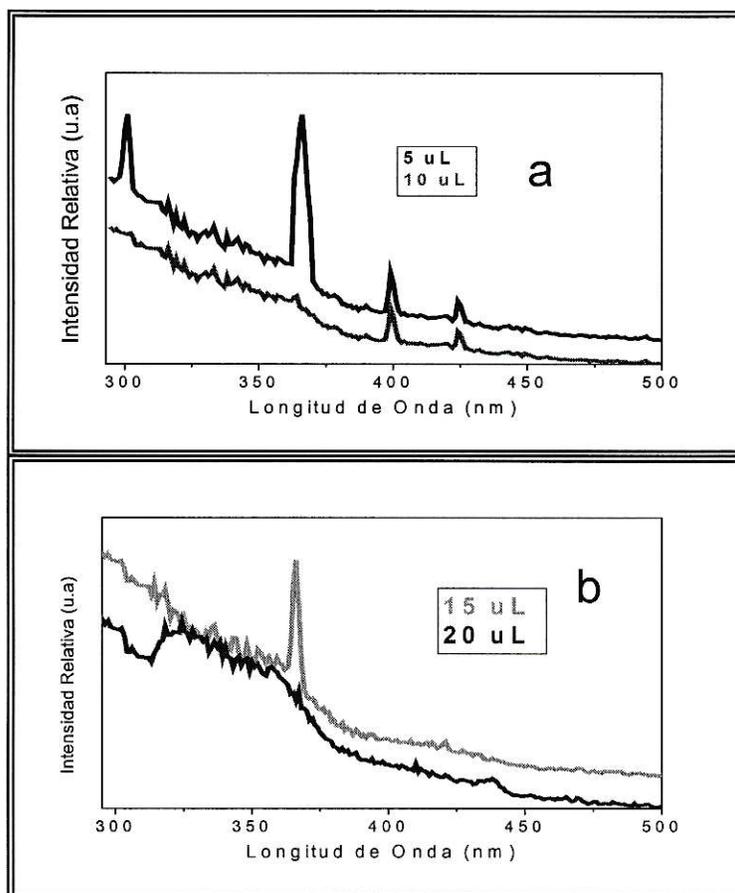


Figura 27a y b Efecto de la concentración en la señal del espectro sincrónico

En los espectros 27a y 27b se observa que a medida que se aumenta la concentración del extracto las señales disminuyen y finalmente desaparecen. Esto puede deberse a que en el seno de la solución están ocurriendo otros procesos fotofísicos adicionales tales como: formación de excímeros y/o formación de complejos (exciplejos).

5.2 TOMA DE MUESTRAS

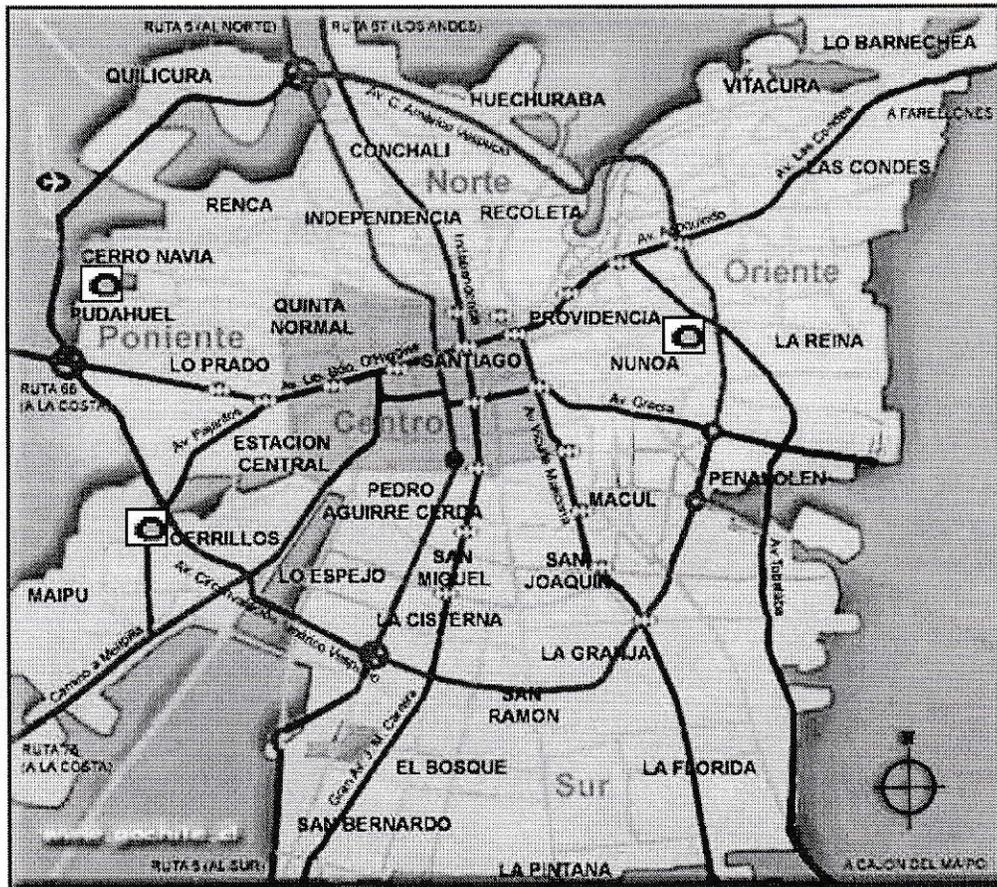
5.2.1 Material Particulado

Las campañas de muestreo del material particulado fueron realizadas el 10 de Junio y 28 de Junio 2003, en tres distintos puntos de la ciudad de Santiago; dos de esos puntos corresponden a las estaciones de monitoreo de la Red MACAM (Cerrillos y Pudahuel) y el tercer punto corresponde a una estación móvil que fue ubicada en la Plaza Ñuñoa (Comuna de Ñuñoa). En el siguiente se detalla la posición geográfica de los puntos de muestreo.

El material particulado urbano se colectó sobre filtros de microfibra de cuarzo de 20x25 cm, marca Whatman y solo se obtuvo medio filtro por campaña. El muestreo se realizó con un equipo HI-VOL PM10 ubicado a aproximadamente 3 m sobre el suelo. Las condiciones de muestreo para cada una de las campañas se especifican en la siguiente tabla 2.

Tabla 5 Resumen condiciones de muestreo de PM10 analizadas

Comuna (N° de Filtro)	Fecha de Muestreo	Tiempo de colección (Horas)	Volumen de Muestreo (m ³)
Pudahuel (118126)	10/06/03	23.56	3276
Pudahuel (118108)	28/06/03	22.36	2899
Cerrillos (127126)	10/06/03	24.00	3545
Cerrillos (127108)	28/06/03	21.63	2698
Ñuñoa (114127)	10/06/03	24.00	3526
Ñuñoa (114109)	28/06/03	22.00	2780



 Lugares de Recolección de Particulado

Figura 28 En el mapa se indican los lugares donde se colectó el material particulado

5.2.2 Proceso de Extracción de los HAPs

Para aplicar la técnica de fluorescencia sincrónica a las muestras propuestas en este seminario de título se debe realizar la extracción de los analitos de la matriz ambiental. Para ello se aplica una metodología de extracción que consiste en la extracción con un equipo Soxhlet de los filtros durante 16 horas; con ello se logra realizar 48 ciclos de reflujo. El disolvente utilizado para la extracción fue diclorometano, el que es recomendado por la metodología EPA para la extracción de este tipo de compuestos.

Durante la extracción de los HAPs el material de vidrio fue cubierto con papel de aluminio para evitar la degradación de los PAH con la luz.

En una segunda etapa el extracto obtenido después de 16 horas de extracción fue concentrado. Este proceso se realizó de la siguiente forma: con el mismo balón de vidrio utilizado en el proceso de extracción, el extracto fue llevado para su concentración a un rotavapor Büchi. Las condiciones de evaporación fueron sumergir el balón en un baño de agua termoregulado a 25-30 °C y reducir el volumen de extracto hasta 80 ml; luego se extrajo una alícuota de éste y fue medida en el equipo de fluorescencia.

La metodología de extracción de HAP se basa en una modificación del método TO13 recomendado por la USEPA, ya que, esta metodología está adaptada para análisis de cromatografía GC-MS (Cromatografía Gaseosa Acoplada a un detector de Masa) y en nuestro caso solo es necesario llegar a la etapa de concentración del extracto, para luego llevar este al análisis en el equipo de fluorescencia. En la figura 29 se presenta el esquema de la metodología de extracción.

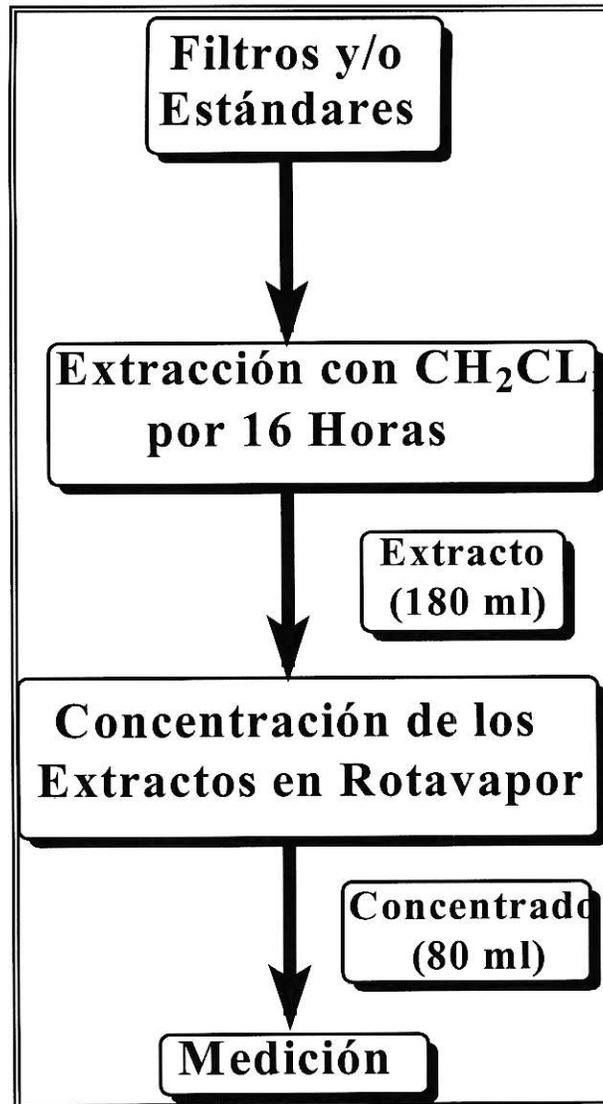


Figura 29 Esquema de la Metodología de Extracción

En la metodología de extracción modificada se obtuvo un porcentaje de recuperación para cada uno de los 5 HAP estudiados en esta memoria y su resultado se resume en la siguiente tabla.

Tabla 6 Porcentaje de Recuperación de HAP

Molécula	Porcentaje de Recuperación (% \pm Δ %)
Naftaleno	78.6 \pm 2.2
Fluoreno	75.2 \pm 4.5
Antraceno	72.3 \pm 3.2
Criseno	82.9 \pm 3.6
Benzo(α)pireno	85.6 \pm 6.9

Estos valores fueron considerados al momento de calcular los valores obtenidos para cada una de las muestras analizadas.

5.2.3 Identificación de los HAPs

Después del proceso de extracción-concentración de la muestra y teniendo presente que existe descomposición de los HAPs al ser irradiados, se tomaron de la solución concentrada alícuotas de 5 μ L que se adicionaron directamente a una celda de fluorescencia que contiene 2 mL de diclorometano y se procedió a medir los espectros sincrónicos para cada una de las muestras. Esta operación se repitió 6 veces por muestra.

Es importante destacar que con la alícuota de 5 μ L las muestras quedaron dentro del rango lineal de las curvas de calibración.

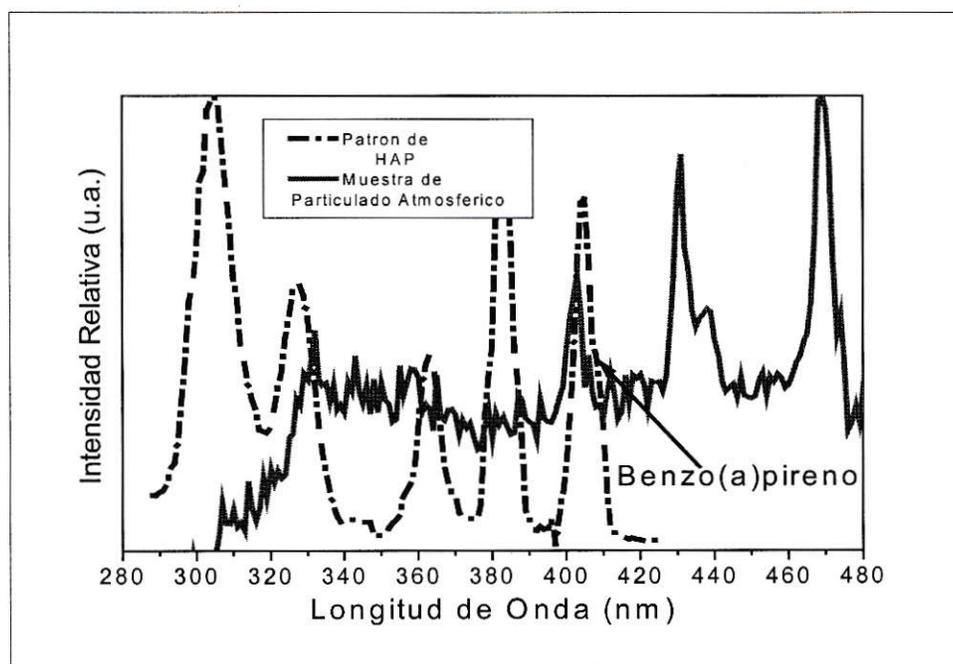


Figura 30 Espectros Sincrónicos del Patrón de HAP y de la muestra 114109 de PM 10

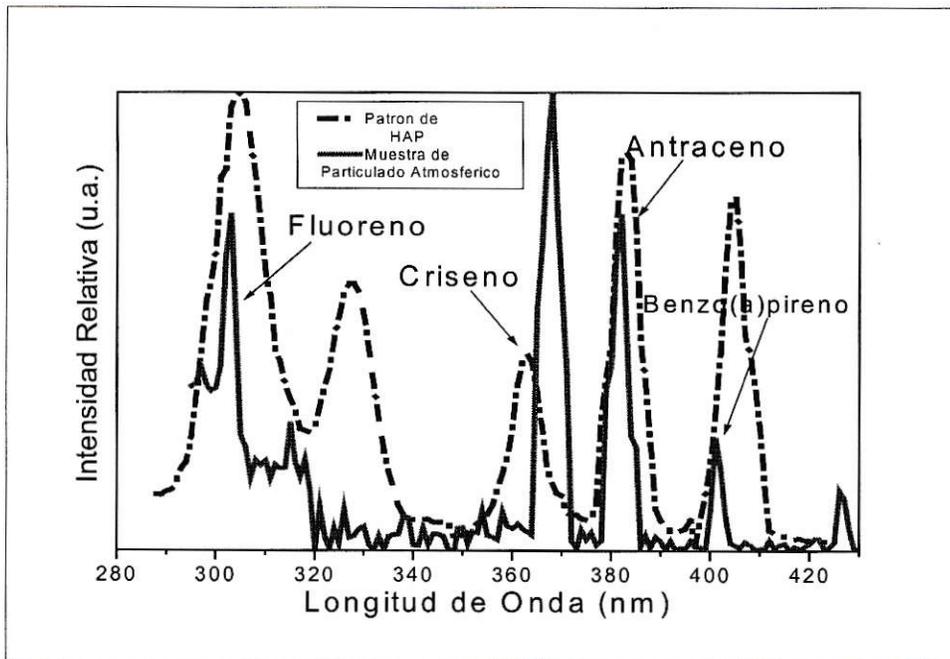


Figura 31 Espectro Sincrónico del Patrón de HAP y de la Muestra 118109 de PM10

Como se observa en los espectros anteriores (Figuras 30 y 31) no todas las señales sincrónicas de las muestras coinciden con los espectros sincrónicos del patrón de HAP, y solo se pudo realizar una identificación efectiva de las señales en las muestras 114109 de la estación de Ñuñoa y en la muestra 118108 de Pudahuel .

Para las señales que coinciden es posible realizar la identificación como se muestra en los espectros de las Figuras 30 y 31.

En las siguientes tablas se muestra el resumen de la etapa de identificación.

Tabla 7 Identificación de HAP en PM10 Atmosférico 114109

Molécula	Posición de la señal del Patrón (nm)	Posición de la señal de la Muestra (nm)
Benzo(α)pireno	405	406

Tabla 8 Identificación de HAP en PM10 Atmosférico 118109

Molécula	Posición de la señal del Patrón (nm)	Posición de la señal de la Muestra (nm)
Fluoreno	305	303
Antraceno	383	382
Benzo(α)pireno	405	406

En cuanto a las muestras de Pudahuel (118126), Cerrillos (127126), Cerrillos (127108), Ñuñoa (114127), no se obtuvieron señales identificables, al realizar lo espectros sincrónicos. Este hecho se puede deber a que las concentración de HAP que se encuentra en estas muestras, probablemente están bajo el límite de detección de la técnica de Fluorescencia Sincrónica.

En cuanto a las señales sincrónicas de las muestras que no coinciden con el patrón y que se encuentran desplazadas en algunos casos hasta 10 nm, es posible que estos espectros sincrónicos correspondan a hidrocarburos aromáticos derivados ya sea metilados, clorados, etc. Estos grupos funcionales generan corrimientos de las bandas de excitación y emisión lo que provoca otras señales sincrónicas muy cercanas a las señales sincrónicas de los HAP sin funcionalizar.

5.3 DETERMINACIÓN DE HAPs EN MATERIAL PARTICULADO ATMOSFÉRICO

En las siguientes tablas se muestra los valores obtenidos para los distintos filtros analizados.

Tabla 9 Resultados Muestra de PM10 (118108)

Molécula	Máximo de la señal (nm)	Concentración en el Extracto ($\mu\text{g/L} \pm \mu\text{g/L}$)	Concentración ($\text{ng/m}^3 \pm \text{ng/m}^3$)
Benzo(α)pireno	403	$49,79 \pm 2,45$	$4,86 \pm 0,24$

Tabla 10 Resultados Muestra de PM10 (114109)

Molécula	Máximo de la señal (nm)	Concentración en el Extracto ($\mu\text{g/L} \pm \mu\text{g/L}$)	Concentración ($\text{ng/m}^3 \pm \text{ng/m}^3$)
Fluoreno	299	$45,90 \pm 2,20$	$4,16 \pm 0,21$
Antraceno	388	$56,26 \pm 2,74$	$5,10 \pm 0,27$
Benzo(α)pireno	400	$43,02 \pm 0,45$	$3,90 \pm 0,20$

Es importante hacer notar que en algunos de los filtros no se encontró por la técnica de fluorescencia sincrónica la presencia de HAP.

Además de los cálculos anteriores para cada una de las concentraciones, se calculó la desviación estándar (s) y el valores promedio (x) de los datos obtenidos de concentración. La razón por la cual se incluyó el calculo de estos parámetros estadísticos radica, en el llamado coeficiente de variación (CV) que permite dar una idea de cuan preciso es el método analítico validado. La función que permite calcular dicho estadístico es la siguiente:

$$CV = \frac{s}{x} \cdot 100\% \quad (17)$$

Finalmente en la siguiente tabla se resumen los valores de CV para cada una de las curvas de calibración del método analítico validado.

Tabla 9 Coeficiente de Variación (CV) para el método analítico validado

Molécula	Precisión % CV
Naftaleno	1,323
Fluoreno	0,834
Antraceno	2,201
Criseno	7,856
Benzo(α)pireno	4,219

Como se observa en tabla el Coeficiente de Variación de cada una de las curvas de calibración del método validado están por debajo del 10%, siendo el valor más alto para Criseno (7,856 %) y el más bajo para el Fluoreno (0,834 %).

6.0 DISCUSIÓN

Al evaluar los estadísticos r^2 y Ch_{red}^2 se demostró que existe regresión entre las variables concentraciones y las respuestas medidas, además se comprobó que se cumple la condición de proporcionalidad. El error sistemático del método, tanto de extracción como de medición, en el equipo de fluorescencia está dentro de los valores aceptados en la metodología de validación (% de extracción mayor al 60% y error en la medición menor al 5%) *Aguilar y Col.* en, 1992.

Por otra parte, el estudio de precisión mostró una buena reproducibilidad de los resultados, a pesar de que las muestras presentaban el efecto de tiempo de irradiación. Además la precisión expresada como porcentaje de coeficiente de variación (%CV) debe ser menor que 15 %, (US EPA), de acuerdo a este criterio de aceptación. Para esta validación en todos los analitos se cumple dicha condición, ya que se obtuvieron valores > 10 % CV para los HAP estudiados.

Es importante destacar que el método tiene sensibilidades distintas, ya que, la respuesta de la señal sincrónica depende de las características espectroscópicas de cada molécula.

En resumen, los resultados obtenidos en la validación del método cumplen los criterios de validación informados por *Aguilar y Col.* en 1992 y US EPA.

En relación a la identificación fue posible correlacionar las señales de las muestras con las del patrón correspondiente (Figuras 30 y 31) y con ello establecer la identificación de los HAPs respectivos. En cuanto a las señales sincrónicas de las muestras que no coinciden con el patrón y que se encuentran desplazados en algunos casos hasta 10 nm, de ellas se puede decir que corresponderían a señales de derivados de hidrocarburos aromáticos ya sea metilados, clorados, etc. Estos grupos

funcionales generan corrimientos de las bandas de excitación y emisión lo que eventualmente podría generar otras señales sincrónicas muy cercanas a las señales sincrónicas de los HAPs sin funcionalizar.

Finalmente para el caso de la cuantificación se encontró un valor para el Benzo(α)pireno de $4.86 \pm 0.24 \mu\text{g}/\text{m}^3$ para la comuna de Pudahuel que está dentro del orden de magnitud reportado en otros trabajos para esta especie molecular en esta comuna (Tesis Q. A. año 2004 Alejandra Ríos). En el caso de la comuna de Ñuñoa la gran cantidad de Hidrocarburos detectados y cuantificados, se puede deber a que, esta estación móvil está cercana a un sin número de locales de venta de comida, incluso existen en los alrededores de la plaza locales de venta de comida, que se encontraban muy cerca de la estación móvil y que sin duda estarían influyendo en la determinación ambiental de los hidrocarburos aromáticos policíclicos. Estos datos de influencia en los valores obtenidos así como también la ubicación de la estación móvil, fueron proporcionados por el SESMA, ya que, los filtros utilizados en esta tesis fueron proporcionados por esa institución.

7.0 CONCLUSIONES

La evaluación del método analítico propuesto se cumplió satisfactoriamente, ya que, se determinaron para cada HAP su rango de cuantificación, límite de detección y cuantificación, su precisión y linealidad dentro de los criterios de aceptación establecidos por la EPA.

Los rangos de trabajo que se manejaron para las curvas de calibración de los 5 analitos se establecen en $\mu\text{g/L}$ (ppb), pero con los límites de detección estimados en este trabajo de tesis es posible cuantificar muestras con niveles de concentración del orden de 1,12 a 0,03 $\mu\text{g/L}$. Estos límites de detección están en el orden de magnitud informado para métodos cromatográficos (GC-EM).

En relación a la técnica de Fluorescencia Sincrónica, los resultados expuestos en esta tesis demuestran que, es posible la identificación y cuantificación de Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos en muestras complejas de material particulado atmosférico y cuenta con todas las condiciones necesarias para ser una alternativa de determinación e identificación de HAPs (HPLC y/o cromatografía gaseosa).

8.0 Bibliografía:

- 1) Pine, S.H. "Química Orgánica". Cuarta edición. Capítulo 13 pag. 695-702. 1982.
- 2) Birks J. B. "Photophysics of Aromatic Molecules". Capítulos 2 y 3. 1970.
- 3) Finlayson-Pitts, B. J. and Pitts, J.N. Jr. Tropospheric Air Pollution: Ozone, Airborne Toxics, Polycyclic Hydrocarbons and Particles. Science, 276, 1045 (1997).
- 4) Peltonen y Kuljukka "Air Sampling and analysis of polycyclic aromatic hydrocarbons. J. Chromatographic A 710, 93 (1995).
- 5) R. Romero, R. Sierna and P. Richter "Efficient screening method for determination of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in airborne particles application in real sample of Santiago-Chile metropolitan urban area". Atmospheric Environment. (2002).
- 6) "Contaminación Atmosférica de Santiago". Margarita Prendez. Primera edición. Pag.176-185. 1992.
- 7) R. Ferrer, J.L. Beltrán and J. Guiteras "Multivariate calibration applied to synchronous fluorescence spectrometry. Simultaneous determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in water sample". Talanta, 45, 1073-1080. (1998).
- 8) Digambara Patra and A.K. Mishra "Concentration dependent red shift: qualitative and quantitative investigation of motor oils by synchronous fluorescence scan". Talanta, 53. 783-790. (2001).
- 9) Skoog. "Análisis Instrumental". Cuarta edición. Capítulo 9 pag. 201-213.
- 10) Hatkiss "Fisicoquímica Molecular" Capítulo 19 *Determinación de la estructura molecular: Espectroscopia electrónica*. Pag. 540-546. 1998.
- 11) Tuan Vo-Dinh. "Multicomponent Analysis by Synchronous Luminescence Spectrometry". Analytical Chemistry, 50, N° 3, 3256-3262. 1978.
- 12) H. Kaiser. Analytical Chemistry., 42, 53A (1987).
- 13) G. L. Long. Analytical Chemistry., 55, 712A (1983).
- 14) Base de datos de la nomenclatura recomendada por la IUPAC para los HAPs <http://www.ispac.org/Nomenclature.htm>