



# UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SAN LUIS POTOSÍ

FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS, INGENIERÍA Y MEDICINA  
PROGRAMA MULTIDISCIPLINARIO DE POSGRADO EN CIENCIAS  
AMBIENTALES

TESIS QUE PARA OBTENER EL GRADO DE  
**DOCTORADO EN CIENCIAS AMBIENTALES**

**MUESTREO PASIVO DE HIDROCARBUROS AROMÁTICOS  
POLICÍCLICOS EN LAS HOJAS DE LA ESPECIE VEGETAL *Eriobotrya*  
*japonica*"**

PRESENTA:

**M.C. MELISSA BOCANEGRA SALAZAR**

**DIRECTOR DE TESIS:**

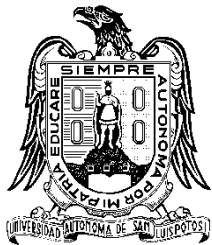
DRA. MARÍA DEOGRACIAS ORTIZ PÉREZ

**ASESORES:**

DRA. BERTHA IRENE JUÁREZ FLORES

DR. FERNANDO DÍAZ-BARRIGA MARTÍNEZ

**ENERO 2011**



# UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SAN LUIS POTOSÍ

FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS, INGENIERÍA Y MEDICINA  
PROGRAMA MULTIDISCIPLINARIO DE POSGRADO EN CIENCIAS  
AMBIENTALES

TESIS QUE PARA OBTENER EL GRADO DE  
**DOCTORADO EN CIENCIAS AMBIENTALES**

## **MUESTREO PASIVO DE HIDROCARBUROS AROMÁTICOS POLICÍCLICOS EN LAS HOJAS DE LA ESPECIE VEGETAL *Eriobotrya japonica***

PRESENTA:

**M.C. MELISSA BOCANEGRA SALAZAR**

**COMITÉ TUTELAR:**

**DIRECTOR:** DRA. MARÍA DEOGRACIAS ORTIZ PÉREZ \_\_\_\_\_

**ASESOR:** DRA. BERTHA IRENE JUÁREZ FLORES \_\_\_\_\_

**ASESOR:** DR. FERNANDO DÍAZ-BARRIGA MARTÍNEZ \_\_\_\_\_

**SINODALES:**

**PRESIDENTE:** DRA. MARÍA DEOGRACIAS ORTIZ PÉREZ \_\_\_\_\_

**SECRETARIO:** DRA. BERTHA IRENE JUÁREZ FLORES \_\_\_\_\_

**VOCAL:** DR. FERNANDO DÍAZ-BARRIGA MARTÍNEZ \_\_\_\_\_

**VOCAL:** DRA. VIOLETA MUGICA ÁLVAREZ \_\_\_\_\_

**VOCAL:** DRA. MARÍA DEL SOCORRO SANTOS DÍAZ \_\_\_\_\_

# **CRÉDITOS INSTITUCIONALES**

**PROYECTO REALIZADO EN:**

**LABORATORIO DE BIOQUÍMICA DE LA FACULTAD DE MEDICINA**

**DE LA**

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SAN LUIS POTOSÍ,**

**EN EL LABORATORIO DE**

**QUÍMICA APLICADA DEL DEPARTAMENTO DE CIENCIAS BÁSICAS DE LA**

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA AZCAPOTZALCO**

**Y EN EL**

**DEPARTAMENTO DE QUÍMICA ANALÍTICA DE LA FACULTAD DE QUÍMICA DE**

**LA UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID**

**CON FINANCIAMIENTO DE:**

**FONDOS SECTORIALES CONACYT SALUD S0008-2008-1-87579**

**A TRAVÉS DEL PROYECTO DENOMINADO:**

**EVALUACIÓN DE LA CONTAMINACIÓN POR HIDROCARBUROS POLICÍCLICOS**

**AROMÁTICOS EN LAS HOJAS DE LOS ÁRBOLES PRÓXIMOS A UNA**

**LADRILLERA**

**AGRADEZCO A CONACyT EL OTORGAMIENTO DE LA BECA-TESIS**

**Becario No. 205104**

**EL DOCTORADO EN CIENCIAS AMBIENTALES RECIBE APOYO**

**ATRAVÉS**

**DEL PROGRAMA NACIONAL DE POSGRADOS DE CALIDAD (PNPC)**

**AGRADECIMIENTOS**

Agradezco a las personas que contribuyeron de una u otra manera para la realización de este proyecto.

- Laboratorio de Bioquímica de la Facultad de Medicina de la Universidad Autónoma de San Luis Potosí: Dra. María Esther Jiménez-Capdeville, QFB Paulina Guevara Ruiz y Dra. María Deogracias Ortiz Pérez.
- Laboratorio de Toxicología de la Facultad de Medicina de la Universidad Autónoma de San Luis Potosí: Dr. Fernando Díaz-Barriga Martínez y QFB Lilia Elisa Batres Esquivel.

- Instituto de Metalurgia de la Universidad Autónoma de San Luis Potosí:  
Dr. Antonio Aragón Piña y M.C. Arturo Alberto Campos.
- Instituto de Investigación de Zonas Desérticas de la Universidad Autónoma de San Luis Potosí: Dra. Bertha Irene Juárez Flores, Dr. Rogelio Aguirre, MC Carlos Sandoval y Tax. José García.
- Laboratorio de Bioquímica de la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad Autónoma de San Luis Potosí: Dra. María del Socorro Santos Díaz y Dr. Ramón Fernando García de la Cruz.
- Departamento de Química Analítica de la Facultad de Química de la Universidad Complutense de Madrid: Dra. Carmen Cámara Rico y Dr. Jon Sanz Landaluze.
- Laboratorio de Química Aplicada del Departamento de Ciencias Básicas de la Universidad Autónoma Metropolitana Azcapotzalco: Dra. Violeta Mugica Álvarez, IA Angélica Neria Hernández e IQ Rodolfo Ángulo Olais.
- Asociación de ladrilleros de la colonia Tercera Chica de la Ciudad de San Luis Potosí: Sr. Juan Gutiérrez Ramírez.

ÍNDICE.....	5
INTRODUCCIÓN .....	9
Figura 1. Estructura química de los hidrocarburos aromáticos policíclicos (PAHs). .....	10
Formación de los PAHs.....	11
FUENTES.....	11
IDENTIFICACIÓN DE LA FUENTE DE PAHS .....	12
PROPIEDADES FISICOQUÍMICAS DE LOS PAHS .....	12
Tabla 1. Volatilidad de PAHs .....	14
Tabla 2. Valores de $K_{oc}$ para PAHs .....	15
TIEMPO DE VIDA MEDIA .....	15
Tabla 3. Vida media de PAHs bajo condiciones atmosféricas simuladas .....	16
TRANSPORTE ATMOSFÉRICO, TIEMPO DE RESIDENCIA Y REACCIONES.....	17
Los PAHs en distintos compartimentos ambientales.....	19
a) Vegetación.....	19
b) Suelo.....	20
c) Sedimentos.....	20
Efectos en salud .....	21

Mecanismos de acción .....	23
Biotransformación en humanos.....	23
Evaluación de la exposición a PAHs en organismos acuáticos.....	24
Estudios de los PAHs en especies vegetales .....	25
Especie vegetal utilizada en el presente estudio: <i>Eryobotria japonica</i> .....	26
OBJETIVO GENERAL.....	28
OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	28
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA .....	29
METODOLOGÍA.....	31
Descripción del sitio de estudio .....	31
Figura 2. Sitio de estudio.....	31
Muestreo.....	32
PRIMERA FASE: MUESTREO DE HOJAS.....	32
Tabla 4. Muestras obtenidas de los sitios seleccionados.....	34
SEGUNDA FASE: MUESTREO DE AIRE Y HOJAS.....	35
Material y reactivos.....	35
Equipos.....	36
Limpieza del material .....	38
Secado y pulverizado de las hojas.....	38
Extracción y análisis de los PAHs en las hojas .....	38
Tabla 5. Condiciones cromatográficas empleadas para la separación de los PAHs.....	39

Tabla 6. Programa de longitudes de onda del detector de fluorescencia .....	40
Extracción y análisis de los PAHs en los filtros de cuarzo .....	42
Determinación del contenido de humedad .....	43
Determinación del contenido de lípidos .....	43
Validación de los métodos analíticos .....	43
RESULTADOS .....	45
DESEMPEÑO ANALÍTICO .....	45
Tabla 7. Linealidad y sensibilidad del método analítico empleado para la determinación de PAHs en hojas.....	46
Tabla 8. Límites de detección (LOD) y límites de cuantificación (LOC) para cada uno de los PAHs determinados en hojas .....	47
Tabla 9. Precisión del método empleado para la determinación de PAHs en hojas expresada como repetibilidad (%CV) a diferentes concentraciones.....	49
Tabla 10. Precisión del método empleado para la determinación de PAHs en hojas expresada como reproducibilidad intralaboratorio (%CV) a diferentes concentraciones. ....	50
Tabla 11. Exactitud del método analítico empleado para la determinación .....	51
de PAHs en las hojas.....	51
ANÁLISIS DE LAS MUESTRAS .....	52
PRIMERA FASE .....	52
Tabla 12. Concentraciones de PAHs en las muestras de hojas para el sitio de referencia .....	53
Tabla 13. Concentraciones de PAHs en las muestras de hojas para el sitio problema.....	54
SEGUNDA FASE.....	55



Tabla 14. Concentraciones de PAHs en los filtros de cuarzo para el sitio de problema .....	56
Tabla 15. Concentraciones de PAHs en las hojas para el sitio de problema durante el muestreo simultáneo con los filtros de cuarzo .....	58
Tabla 16. Concentraciones de PAHs en los filtros de cuarzo para el sitio de problema durante el muestreo simultáneo con las hojas.....	60
DETERMINACIÓN DEL CONTENIDO DE HUMEDAD Y DE LÍPIDOS.....	61
Figura 3. Captación de PAHs en hojas de níspero en el sitio de referencia y en el sitio problema .....	62
Figura 4. Captación de PAHs en hojas de níspero y en filtros de cuarzo en el muestreo simultáneo.....	62
Figura 5. Asociación entre las concentraciones de PAHs en hojas y filtros de cuarzo.....	63
DISCUSIÓN.....	64
CONCLUSIONES .....	70
REFERENCIAS.....	71

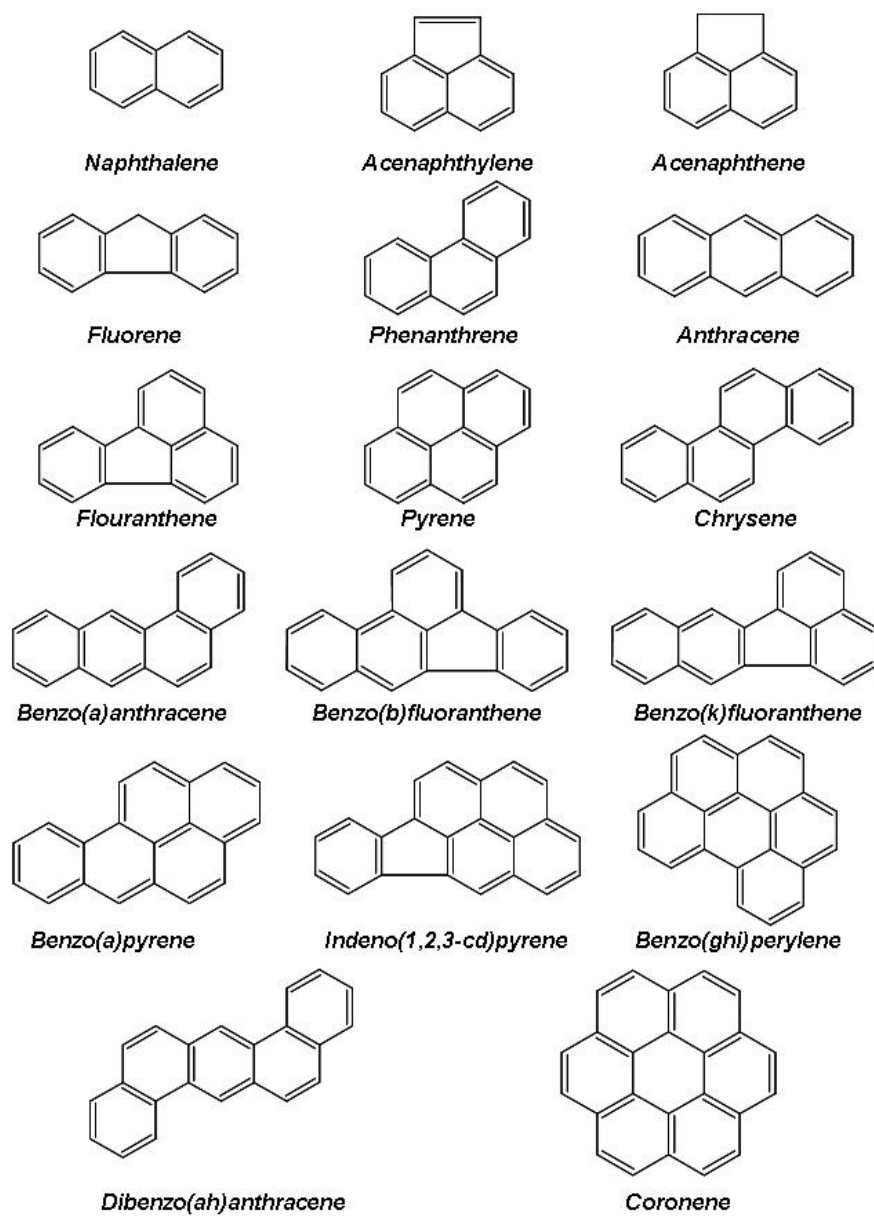
---

## INTRODUCCIÓN

Los hidrocarburos policíclicos aromáticos (PAHs por sus siglas en inglés) son una clase única de contaminantes orgánicos persistentes (COPs) constituidos por cientos de sustancias individuales. Esos compuestos contienen dos o más anillos aromáticos fusionados y están constituidos por átomos de carbono e hidrógeno (Fig. 1) (Douben, 2003).

La Agencia para Sustancias Tóxicas y el Registro de Enfermedades (ATSDR) seleccionó 16 de estos compuestos debido a que existe una mayor información con respecto a los demás, se establece que son más peligrosos y que exhiben efectos representativos de los PAHs, además, existe una mayor posibilidad de estar expuesto a ellos y de todos los que han sido analizados, estos 16 compuestos fueron encontrados en las más altas concentraciones en sitios de residuos peligrosos en la Lista de Prioridades Nacionales de los Estados Unidos de Norteamérica (ATSDR,1995). Los 16 PAHs prioritarios son: acenaftileno, acenafteno, antraceno, benzo (a) antraceno, benzo (a) pireno, benzo (b) fluoranteno, benzo (k) fluoranteno, benzo (g,h,i) perileno, criseno, dibenzo (a,h) antraceno, fluoranteno, fluoreno, indeno (1,2,3-cd) pireno, naftaleno, fenantreno y pireno. Estos compuestos tienen de 2-6 anillos fusionados y pesos moleculares de 128-278 g/mol. Los valores de solubilidad van desde altamente insoluble a ligeramente soluble y las presiones de vapor de altamente volátiles a relativamente no volátiles. Son considerados altamente lipofílicos (Douben, 2003).

FIGURA 1. ESTRUCTURA QUÍMICA DE LOS HIDROCARBUROS AROMÁTICOS POLICÍCLICOS (PAHs).



## FORMACIÓN DE LOS PAHS

Son compuestos orgánicos formados por dos o más anillos aromáticos condensados que pueden estar en forma recta, angulados o racimados (Mastandrea *et al.*, 2005). Los mecanismos que pueden explicar su formación son principalmente dos: pirosíntesis y pirólisis. Cuando la temperatura excede 500°C, las uniones carbono-hidrógeno y carbono-carbono se rompen formándose radicales libres que al combinarse con acetileno se condensan en estructuras de anillos aromáticos, los cuales son resistentes a la degradación térmica (Ravindra *et al.*, 2008).

## FUENTES

En general se consideran cinco fuentes de emisión principales de PAHs: domésticas, móviles, industriales, agrícolas y naturales (Ravindra *et al.*, 2008).

Los PAHs son liberados al ambiente a través de fuentes naturales y antropogénicas con grandes emisiones a la atmósfera. Dentro de las primeras se incluyen emisiones de volcanes e incendios forestales. Las fuentes antropogénicas proveen mayores volúmenes de emisiones que las naturales, siendo la principal la combustión de madera en los hogares, así como las emisiones de automóviles y camiones (ATSDR, 1995).

Estos compuestos se forman durante la combustión incompleta de carbón, aceite, gas, madera, basura u otras sustancias orgánicas como el tabaco y la carne asada. Pueden encontrarse en el asfalto utilizado en la construcción de caminos, en sustancias como aceite crudo, carbón, alquitrán de carbón, entre otros (ATSDR, 1995).

En México, además del uso de leña existen otras fuentes de exposición fijas que contribuyen a la contaminación atmosférica como son la alfarería y la fabricación de ladrillos, estas últimas microindustrias conocidas como ladrilleras. En ellas se emplean:

residuos sólidos domésticos, biomasa y residuos industriales (plásticos, madera, aceites usados, llantas de automóviles, fibras sintéticas, etc.) con la finalidad de generar energía en los hornos de cocimiento del ladrillo (COFEPRIS, 2002).

## IDENTIFICACIÓN DE LA FUENTE DE PAHS

La composición de las emisiones de PAHs varía dependiendo de la fuente de combustión. Por ejemplo, las emisiones de la combustión de madera residencial contiene más acenaftileno que otros PAHs; las emisiones de los autos contienen más benzo(g,h,i)perileno y pireno; en los escapes de diesel como partículas predominan fluoranteno, fenantreno y pireno, mientras que como vapor dominan fenantreno y antraceno. En las emisiones totales de diesel (partículas y vapor) predominan acenafteno, fluoreno y fenantreno. En alquitrán de carbón se han reportado las mayores concentraciones de fenantreno y pireno, mientras que para el humo del cigarro hay una gran variedad de PAHs predominando benzo(a)pireno (ATSDR, 1995).

## PROPIEDADES FISICOQUÍMICAS DE LOS PAHS

La constante de la ley de Henry representa el coeficiente de partición que expresa la proporción de las concentraciones del compuesto químico en el aire y el agua en el equilibrio, es utilizado como un indicador del potencial del compuesto para volatilizarse. Este valor ha sido determinado para los PAHs de acuerdo a su peso molecular (Tabla 1). El  $K_{OC}$  de un químico es un indicador de su potencial para unirse a carbono orgánico en suelo y sedimento. En la Tabla 2 se pueden observar los valores de acuerdo al peso molecular de los PAHs. En general los PAHs tienen baja solubilidad en agua. Se ha establecido que el factor de bioconcentración es mayor para los compuestos de alto peso

molecular que para los de bajo peso en peces y crustáceos (ATSDR, 1995).

**TABLA 1. VOLATILIDAD DE PAHS**

Peso molecular	Constante ley de Henry (atm·m <sup>3</sup> /mol)	PAHs
Bajo	$10^{-3} - 10^{-5}$	Acenafteno, acenaftileno, antraceno, fluoreno y fenantreno
Medio	$10^{-6}$	Fluoranteno y pireno
Alto	$10^{-5} - 10^{-8}$  (menos volatiles)	Benzo(a)antraceno, benzo(b)fluoranteno, benzo(j)fluoranteno, benzo(k)fluoranteno, benzo(g,h,i)perileno, benzo(a)pireno, benzo(e)pireno, criseno, dibenzo(a,h)antraceno e indeno(1,2,3-c,d)pireno

**TABLA 2. VALORES DE  $K_{oc}$  PARA PAHS**

<b>Peso</b>	<b><math>K_{oc}</math></b>	<b>Potencial para ser adsorbidos</b>
Bajo	$10^3 - 10^4$	Moderado
Medio	$10^4$	Medio
Alto	$10^5 - 10^6$	Alto

#### TIEMPO DE VIDA MEDIA

Se tienen algunos datos de tiempo de vida media de los PAHs basados en experimentos en laboratorio, en los cuales se han simulado las condiciones atmosféricas (Tabla 3). Se estima que en el aire los PAHs se asocian a partículas de hollín, las cuales tienen tiempos de residencia de semanas y están sujetas al transporte a grandes distancias (ATSDR, 1995; Ravindra *et al*, 2008).



**TABLA 3. VIDA MEDIA DE PAHS BAJO CONDICIONES ATMOSFÉRICAS SIMULADAS**

PAHs	Luz solar simulada	Luz solar simulada y ozono (0,2 ppm)
	Vida media (horas)	
Antraceno	0,20	0,15
Benzo(a)antraceno	4,20	1,35
Dibenzo(a,h)antraceno	9,60	4,80
Dibenzo(a,c)antraceno	9,20	4,60
Pireno	4,20	2,75
Benzo(a)pireno	5,30	0,58
Benzo(e)pireno	21,10	5,38
Benzo(b)fluoranteno	8,70	4,20
Benzo(k)fluoranteno	14,10	3,90

## TRANSPORTE ATMOSFÉRICO, TIEMPO DE RESIDENCIA Y REACCIONES

En el aire, los PAHs pueden encontrarse en fase gaseosa y/o sorbidos a partículas. Algunos autores han propuesto como regla general que los PAHs con dos y tres anillos están principalmente en fase gaseosa (naftaleno, acenafteno, acenaftileno, antraceno, fluoreno, fenantreno), los de cuatro anillos se encuentran en fase gaseosa y de partícula (fluoranteno, pireno, criseno, benzo(a)antraceno); los de cinco y seis anillos están principalmente adheridos a partículas (benzo(a)pireno, benzo(g,h,i)perileno) (Bostrom *et al.*, 2002; ATSDR, 1995).

PAHs con más de cinco anillos bencénicos se caracterizan por una alta temperatura de condensación y que son sorbidos a partículas atmosféricas, son clasificados en la categoría de baja movilidad y se depositan cerca de la fuente rápidamente, mientras que los compuestos de más bajo peso molecular (2-3 anillos de benceno) que son más abundantes en fase gaseosa, pueden sufrir una amplia dispersión atmosférica y acumulación preferentemente en regiones polares (Ravindra *et al.*, 2008).

El transporte, deposición y transformación química de estos compuestos depende de su partición gas/partícula, la cual a su vez depende del peso molecular de los compuestos, temperatura, humedad y precipitación. La presión de vapor de los PAHs, la temperatura ambiente, la concentración PAH/cantidad, el tipo de partículas finas presentes en la atmósfera pueden influenciar esta partición (Ravindra *et al.*, 2008; Bostrom *et al.*, 2002; ATSDR, 1995).

Las concentraciones más altas de PAHs encontradas en el aire ocurren durante la estación de invierno, esto debido a que hay una dispersión vertical reducida por la inversión, ocurren menos reacciones atmosféricas, hay menor movilidad y mayor sorción a partículas a temperaturas bajas, esto es como resultado de la presión de vapor reducida

y/o al cambio en la distribución gas/partícula inducida por la variación de la temperatura ambiente aunado al incremento en las emisiones durante ésta época del año (Ravindra *et al.*, 2008).

En el aire las concentraciones de PAHs varían enormemente dependiendo de la región. En Norteamérica están en el rango de 3.7-450 ng/m<sup>3</sup> con los valores más altos observados en ambientes urbanos. En Europa los valores son similares y van desde 0.2 ng/m<sup>3</sup> (Alemania) hasta 137 ng/m<sup>3</sup> (Londres). En Asia, los valores reportados son de 25-500 ng/m<sup>3</sup> (China e India). En la mayoría de los casos predomina la presencia de fenantreno, fluoranteno y pireno (Douben, 2003).

La remoción de los PAHs desde la atmósfera se puede llevar a cabo por deposición húmeda o seca de vapores y partículas, prevaleciendo la deposición de éstas últimas. Esto depende de sus propiedades químicas (solubilidad en agua, constante de la ley de Henry, presión de vapor), su partición vapor/partícula y parámetros meteorológicos (lluvia, temperatura). La mayoría de los PAHs derivados de la combustión (pirogénicos) son depositados cerca de su fuente, el transporte atmosférico puede llevar cantidades significativas de esos compuestos a lugares remotos, por lo que pueden encontrarse en sedimentos de lagos a grandes altitudes, sedimentos marinos y nieve y/o hielo del ártico (Ravindra *et al.*, 2008).

Las transformaciones fotoquímicas son también consideradas un proceso significativo de remoción de los PAHs atmosféricos. Los PAHs en fase de vapor son más susceptibles a estas reacciones que en fase de partícula. Al adsorberse a grandes partículas de carbono altamente porosas como el hollín o cenizas se les provee protección contra la fotooxidación. También pueden reaccionar con los componentes atmosféricos y producir derivados como los nitro-PAH (Ravindra *et al.*, 2008).

Los PAHs son transportados de la superficie del agua por volatilización; se transforman en

las aguas superficiales por foto-oxidación, oxidación química y metabolismo microbiano. En suelo y sedimentos, el metabolismo microbiano es el mayor proceso para la degradación de PAHs. Si bien son acumulados en plantas terrestres y acuáticas, peces e invertebrados, muchos animales son capaces de metabolizar y eliminar esos compuestos (ATSDR, 1995).

## **LOS PAHs EN DISTINTOS COMPARTIMENTOS AMBIENTALES**

### **A) VEGETACIÓN**

La vegetación ha demostrado ser un importante compartimiento en el ciclo ambiental de los hidrocarburos policíclicos aromáticos (Howsam *et al.*, 2001). Los PAHs dependiendo de su fase existente en la atmósfera, alcanzan la vegetación como fase de vapor y/o partícula, vía deposición húmeda o seca y pueden ingresar a ella dentro de las ceras cuticulares o por los estomas. Las características de las hojas tales como la superficie, las ceras cuticulares, las pubescencias y el número de estomas juegan un importante rol en el secuestro y acumulación de estos compuestos. Otros estudios además consideran parte importante a los componentes de las hojas, como los lípidos y las ceras epicuticulares, por la acumulación de los PAHs en las hojas dado que son compuestos lipofílicos (De Nicola *et al.*, 2005).

Se considera que en las plantas, la principal ruta de acumulación para los contaminantes orgánicos lipofílicos es del aire a la superficie de las hojas, y que en general estos no son translocados dentro de la planta además de que el metabolismo no es significativo (Simonich y Hites, 1995).

Se ha demostrado que los compuestos de 4, 5 y 6 anillos se acumulan más efectivamente por las hojas que los más volátiles. Esto concuerda con un modelo de predicción a partir

del cual solamente los compuestos orgánicos persistentes que presentan un valor del logaritmo del coeficiente de partición octanol-aire entre 7 y 11 podrían filtrarse y acumularse en ecosistemas como bosques y selvas (Howsam *et al.*, 2001).

## **B) SUELO**

El suelo parece ser el almacén de los PAHs y es considerado un indicador de la contaminación ambiental. Estos compuestos se adsorben fuertemente a la superficie de las partículas del suelo y materia orgánica y por ello no están disponibles para ser biodegradados. Está reportado que los valores de PAHs disminuyen con la profundidad del suelo y que son más altas las concentraciones en la estación de invierno (Srogi, 2007).

## **C) SEDIMENTOS**

Los sedimentos tanto de ambientes de agua dulce como los marinos están frecuentemente contaminados con compuestos orgánicos industriales, incluyendo los PAHs, que provienen de derivados del petróleo, derrames de combustibles (accidentales o ilegales), tráfico vehicular y hornos de coque en plantas de acero, entre otras fuentes (Botello *et al.*, 1998; Salazar-Coria *et al.*, 2007; Fragoso *et al.*, 2006; Carvalho *et al.*, 2009).

Los sedimentos son depósitos de material consistente de materia orgánica en varios estados de descomposición, materia particulada mineral y material orgánico de origen biogénico; además proveen una eficiente herramienta para identificar impactos ambientales. Los PAHs entran al ambiente acuático y debido a su hidrofobicidad se asocian rápidamente a los sedimentos y partículas suspendidas, por lo que representan una importante fuente de contaminación para animales acuáticos (Srogi, 2007).

## EFFECTOS EN SALUD

Los PAHs son compuestos tóxicos, persistentes, hidrofóbicos y se ha demostrado que se acumulan en la biota (Muller *et. al*, 2001); se puede estar expuesto a ellos por vía dérmica, inhalatoria u oral. Existen más de 100 diferentes compuestos y los efectos en salud de los PAHs individuales no son semejantes. A nivel inmunológico está descrito que la exposición a altas concentraciones atmosféricas de Benzo (a) pireno ( $0,5 \text{ mg/m}^3$ ) se reducen los niveles de las inmunoglobulinas séricas IgG, IgA e IgM.

En un estudio realizado en niños residentes en Estados Unidos que estuvieron expuestos en la etapa prenatal a concentraciones de  $0,49\text{-}34,48 \text{ ng/m}^3$  para ocho PAHs carcinogénicos, asocian estos niveles de exposición con la presencia de asma (Perera *et al.*, 2009).

Hay reportes de efectos genotóxicos, esto es, incremento de mutaciones en linfocitos periféricos y formación de aductos en el ADN cuando se está expuesto a concentraciones de  $7\text{-}15 \text{ ng/m}^3$  de Benzo (a) pireno (ATSDR, 1995; Schoket, 1999; Tang *et al.*, 2006). Algunos PAHs son carcinógenos transplacentarios en bioensayos experimentales, por lo que producen tumores en hígado, pulmón, tejido linfático y sistema nervioso.

Existen dos estudios realizados por el mismo grupo de trabajo en Polonia y Estados Unidos en niños que estuvieron expuestos en la etapa prenatal a concentraciones de  $1,8\text{-}36,47 \text{ ng/m}^3$  para ocho PAHs. En ellos se ha demostrado que las madres y recién nacidos con las más altas exposiciones al aire ambiental contaminado con PAHs se encuentra un incremento en la formación de aductos. Además en los recién nacidos con la mayor cantidad de aductos se observa una disminución significativa del peso (Choi *et al.*, 2006), y

la estatura al nacer, así como la circunferencia de la cabeza. (Tang *et al.*, 2006). También se han reportado asociaciones entre el daño al ADN y la reducción del crecimiento fetal (Choi *et al.*, 2006). Otros estudios sugieren un alto impacto sobre el desarrollo cognitivo en niños de tres años de edad expuestos durante la etapa prenatal, por lo que tienen el riesgo de presentar déficits en el lenguaje, la lectura y las matemáticas en los primeros años escolares (Perera *et al.*, 2006).

Los ocho PAHs que son considerados típicamente como posibles o probables carcinógenos son: benzo (a) antraceno, cryseno, benzo (b) fluoranteno, benzo (k) fluoranteno, benzo (a) pireno e indeno (1,2,3,c-d) pireno (Menzie, 1992). Aunque no existen datos en humanos para cada uno de los PAHs, hay evaluaciones completas realizadas por la Agencia Internacional para la Investigación del Cáncer (IARC, por sus siglas en inglés) que ha clasificado al benzo (a) antraceno, benzo (a) pireno, y dibenzo (a,h) antraceno como probables carcinogénicos en humanos y al dibenzo (a,e) pireno, dibenzo (a,h) pireno, dibenzo (a,i) pireno, dibenzo (a,l) pireno, benzo (b) fluoranteno, benzo (j) fluoranteno, benzo (k) fluoranteno e indeno (1,2,3,c-d) pireno como posibles carcinogénicos (Bostrom *et al.*, 2002). Recientemente la IARC ha cambiado la evaluación de varios PAHs, por lo que ahora el benzo (a) pireno está clasificado como carcinogénico a humanos (grupo 1) (Misaki *et al.*, 2007). Hay evidencia suficiente que los PAHs son los agentes que causan cáncer de pulmón (Armstrong *et al.*, 2004), vejiga y piel (Ruan *et al.*, 2007).

## **MECANISMOS DE ACCIÓN**

Hasta la fecha se consideran los siguientes mecanismos de acción de los PAHs:

- a) Conversión metabólica a intermediarios reactivos electrofílicos que pueden unir covalentemente blancos nucleofílicos en el DNA, RNA y proteínas, por lo que además de formar aductos en el DNA e inducir mutaciones y eventualmente tumores, los metabolitos reactivos pueden reaccionar con otras células blanco e interferir con la transcripción, replicación del DNA y la síntesis de proteínas. Ciertos metabolitos de los PAHs pueden inducir procesos inflamatorios (Bostrom et al., 2002).
- b) Alta afinidad al receptor de grupos arilo citosólico (receptor Ah), y la subsecuente sobre-regulación transcripcional de una batería de genes involucrados en la biotransformación, crecimiento y diferenciación. La estimulación del crecimiento parece ser el principal componente de promoción en la carcinogénesis química (Bostrom et al., 2002).
- c) Efecto inhibitorio sobre la comunicación intercelular (Bostrom et al., 2002).

## **BIOTRANSFORMACIÓN EN HUMANOS**

Los PAHs se absorben por cualquiera de sus vías de exposición y debido a su capacidad lipofílica se facilita su paso a través de las membranas celulares. Su metabolismo se lleva a cabo en todos los tejidos y el proceso involucra diferentes vías de transformación química. Estos compuestos son metabolizados principalmente en hígado y pulmones mediante la activación enzimática de las isoenzimas CYP1A1 y CYP1B1 del Citocromo P-450 responsables de la activación metabólica de los PAHs para la formación de derivados epóxidos, que una vez formados pueden ser transformados a dihidrodioles y posteriormente a dioles-epóxidos o transformarse a fenoles en una reacción catalizada



por la enzima epóxido hidrolasa. Los fenoles a su vez son transformados a quinonas y dioles-fenol, posteriormente reaccionan covalentemente con las moléculas de glutatión y sulfatos mediante reacciones enzimáticas con glutatión-s-transferasa y sulfatasas, así forman complejos orgánicos glucurónidos o sulfónicos, que son eliminados del organismo a través de heces y orina (ATSDR, 1995; Penning *et al.*, 1999; Shimada *et al.*, 1999; Ruan *et al.*, 2007; Misaki *et al.*, 2007). Estos complejos o metabolitos encontrados en heces y orina, conocidos como biomarcadores de exposición, son indicadores de la dosis interna por exposición reciente a PAHs por las diferentes vías de exposición y proporcionan información acerca de la biodisponibilidad o absorción de estos contaminantes en el humano (Jongeneelen, 1987, 1997; Kuusimaki *et al.*, 2004; Wang *et al.*, 2005).

## **EVALUACIÓN DE LA EXPOSICIÓN A PAHs EN ORGANISMOS ACUÁTICOS**

Los organismos acuáticos están expuestos a los PAHs por distintas rutas: agua, sedimento y alimento. Los peces absorben estos compuestos a través de sus agallas o por ingesta de alimento contaminado y/o partículas suspendidas. En hígado son metabolizados rápidamente y biotransformados por el sistema de enzimas oxigenasas de función mixta (fase I), resultando en la formación de intermediarios más lipofílicos que son considerados carcinogénicos y mutagénicos. La mayoría de estos metabolitos son combinados con moléculas endógenas por medio de las enzimas de fase II para formar conjugados. Finalmente los metabolitos (polihidroxi compuestos) son eliminados por la bilis y almacenados en la vesícula (Fenet *et al.*, 2006).

Los peces tienen la habilidad de metabolizar estos compuestos lo que podría explicar que por ejemplo el benzo(a)pireno frecuentemente no es detectado o encontrado en peces que habitan en ambientes altamente contaminados con PAHs. La biomagnificación no ha

sido reportada en organismos acuáticos debido a que tienden a eliminar esos compuestos rápidamente (ATSDR, 1995, Aas *et al.*, 2000). La exposición a PAHs se ha relacionado con el desarrollo de tumores en hígado de peces (Fragoso *et al.*, 2006; Aas *et al.*, 2000).

Los biomarcadores de exposición ampliamente utilizados en peces son los metabolitos de PAHs en bilis; 1-hidroxipireno es reconocido como el mejor biomarcador para el metabolismo total de PAHs (Fenet *et al.*, 2006). Además la determinación de metabolitos en bilis representa la captación de todas las rutas de exposición y provee valores más exactos (Meador *et al.*, 2008) Un segundo biomarcador de exposición y toxicidad potencial es la concentración de aductos de ADN, los cuales pueden causar mutaciones y cáncer. Para evaluar la biodisponibilidad de los PAHs se determina la inducción del Citocromo P450 (CYP1A) mediante la actividad de la enzima hepática dependiente etoxiresorufin-*o*-dietilasa (EROD) (Fragoso *et al.*, 2006; Pathiratne *et al.*, 2008; Meador *et al.*, 2008).

## **ESTUDIOS DE LOS PAHs EN ESPECIES VEGETALES**

La vegetación ha demostrado ser un importante compartimiento en el ciclo ambiental de los hidrocarburos policíclicos aromáticos; por lo que se han determinado los niveles de estos compuestos en hojas de roble (*Quercus robur*), fresno común (*Fraxinus excelsior*) y del avellano (*Corylus avellana*) en el noroeste de Inglaterra. En este estudio se evaluaron 22 PAHs durante los meses de mayo a septiembre, considerando una muestra por mes. Los valores encontrados como  $\sum$ PAHs ng/g (peso seco) son de  $84\pm 27$ ,  $69\pm 14$  y  $92\pm 18$ , respectivamente para cada especie. (Howsam *et al.*, 2001).

Por otro lado se determinaron los niveles de 9 PAHs en hojas de *Laurus nobilis* en 13 sitios urbanos y rurales en Italia que demuestran que el contenido foliar de PAHs está

correlacionado con los niveles de estos compuestos en el aire, lo cual presenta las ventajas de simplificar los procedimientos de muestreo, por lo que es factible monitorear la contaminación de áreas extensas, además que se provee un estimado total de deposición en el tiempo, dadas las fluctuaciones diarias de las mediciones de los contaminantes particulados en el aire. Los niveles reportados  $\Sigma$ PAHs ng/g son de 11.3 a 477 ng/g (peso seco) (Lodovici *et al.*, 1998).

En Australia se realizó un estudio que sugiere el uso de las hojas del árbol *Melaleuca leucadendra* como un indicador de los niveles atmosféricos de los PAHs. Se evaluaron 15 PAHs en 2 sitios distintos durante 6 meses, los resultados encontrados fueron los siguientes: sitio 1  $\Sigma$ PAHng/g 180-240; sitio 2: 2100 a 2200 ng/g (Muller *et al.*, 2001).

Por otro lado se analizaron agujas de pino de Corea, Estados Unidos y de la Ciudad de México donde se reportan concentraciones totales de PAHs de 31 a 563 ng/g (peso húmedo), siendo las más altas para la zona norte de la Ciudad de México, con aproximadamente 50 % de PAHs de 4 anillos y el pireno como el compuesto más abundante (Hwang *et al.*, 2003).

## **ESPECIE VEGETAL UTILIZADA EN EL PRESENTE ESTUDIO: *ERYOBOTRIA***

### ***JAPONICA***

*Eriobotrya*, del griego, significa racimo lanudo, aludiendo al racimo de frutos tomentoso. *Japonica*, alude a su procedencia oriental, ya que es muy cultivado en Japón desde tiempos inmemoriales.

Arbolito siempre verde de 4-6 m de altura con la copa redondeada, densa, y la corteza gris, fisurada; pertenece a la familia *Rosaceae*. Hojas alternas, de 15-25 cm de longitud,

oblongo-elípticas, coriáceas, cortamente pecioladas. El margen es dentado y son pubescentes cuando jóvenes. Las hojas adultas son de color verde oscuro en el haz y pubescentes en el envés. El ápice es acuminado y la nervación prominente. Flores blancas, fragantes, de unos 1.7 cm de diámetro, dispuestas en panículas terminales pubescentes. Tienen 5 pétalos y el cáliz y los pedúnculos tomentosos. El cáliz persiste en el fruto, el cual es comestible de color amarillo, globoso, de 3-5 cm de longitud, con 2-4 semillas alargadas de color marrón. Pulpa algo ácida, amarilla, de olor agradable. Especie poco exigente y resistente al frío y a la sequedad, así como a diferentes tipos de suelos (Sánchez de Lorenzo-Cáceres, 1999).

---

## OBJETIVO GENERAL

Evaluar la contaminación atmosférica por hidrocarburos policíclicos aromáticos en una zona ladrillera mediante el empleo de hojas de la especie vegetal *Eriobotrya japonica* (níspero), como una alternativa de muestreo pasivo.

## OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Realizar el muestreo en las hojas así como el muestreo clásico mediante el empleo de un equipo tipo High Volume.
2. Desarrollar y validar el método analítico necesario para la extracción y determinación de los PAHs en las hojas de la especie vegetal seleccionada.
3. Comparar y analizar los resultados para determinar la factibilidad y ventajas del muestreo pasivo.

---

## PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

En nuestro país se encuentran reportadas 15 entidades federativas con actividad ladrillera: Baja California Norte, Nayarit, Durango, Colima, Zacatecas, Aguascalientes, San Luis Potosí, Querétaro, Guanajuato, Guerrero, Veracruz, Tlaxcala, Oaxaca, Chiapas y Tabasco (COFEPRIS, 2002). Aunque no existe un censo global del número de ladrilleras en México, se tiene reporte de que en algunos lugares existen más de 300 hornos ladrilleros (Martínez, 2005). En este tipo de industria se utilizan hornos ladrilleros artesanales para la cocción de los ladrillos, en los cuales se emplean distintos combustibles como llantas, basura, plásticos, telas, aceites, aserrín, etc. Debido a procesos de combustión incompleta se generan PAHs al ambiente por lo que es necesario monitorear las concentraciones de los mismos en estos sitios, dada la relevancia de los efectos que pueden presentarse en la salud por la exposición inhalatoria.

Para llevar a cabo el monitoreo de los PAHs se pueden utilizar dos tipos de muestreo de en aire:

1. Muestreo activo.

Es el muestreo clásico que emplea equipos de alto volumen. Se requiere de personal capacitado para su manejo y calibración; además utiliza distintos tipos de filtros (fibra de vidrio, cuarzo, etc.) lo cual eleva los costos del mismo.

2. Muestreo pasivo.

Este tipo de muestreo utiliza las hojas de distintas especies vegetales (roble, laurel, fresno, avellano, etc.) o bien las agujas de pino. Presenta varias ventajas: a) se simplifican los procedimientos de muestreo, con lo cual es factible monitorear la contaminación atmosférica en grandes áreas y b) se provee un estimado del total de la deposición en el tiempo, dadas las fluctuaciones diarias de las mediciones de los contaminantes en el aire (Ludovici *et al.*, 1998). Por otra parte se recomienda el

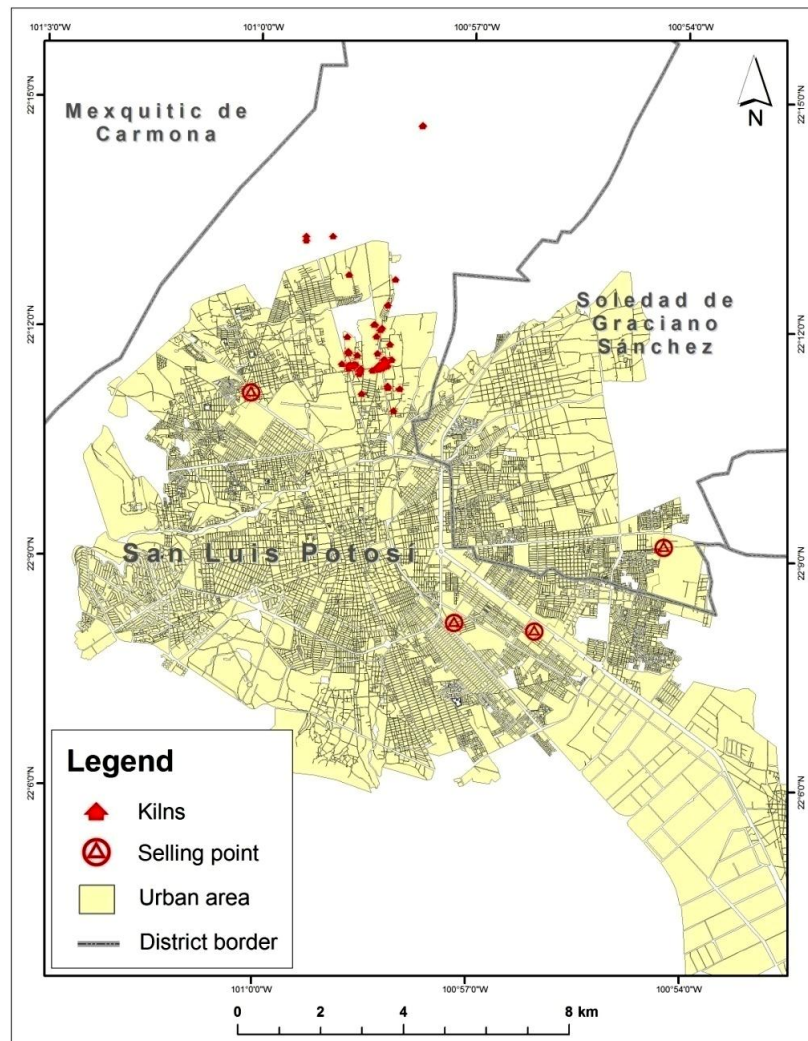
uso de estos muestreadores pasivos porque además es económico (Tomaniová *et al.*, 1998).

En este trabajo proponemos el empleo de hojas de árboles de la especie *Eriobotrya japonica* en macetas para evaluar la contaminación del aire por PAHs en una zona ladrillera, como una alternativa de muestreo pasivo.

**DESCRIPCIÓN DEL SITIO DE ESTUDIO**

El sitio de estudio seleccionado se encuentra ubicado al norte de la ciudad de San Luis Potosí, en la colonia Tercera Chica (Fig. 2) (Erbe, 2011). La producción de ladrillos es intensiva en esta zona y en ella se encuentran ubicados más de 120 hornos ladrilleros de acuerdo a la información proporcionada por la Secretaría de Ecología y Gestión Ambiental del Estado (SEGAM).

**FIGURA 2. SITIO DE ESTUDIO**





## MUESTREO

El proyecto se llevó a cabo en dos fases:

A) La primera se realizó durante los meses de mayo, junio y julio de 2010 y consistió en la recolecta de hojas de *Eriobotrya japonica* cada semana. En esta etapa se incluyó un sitio de referencia y un sitio problema.

B) La segunda fase comprendió el muestreo simultáneo de aire mediante un equipo High Volume con filtros de cuarzo y de las hojas de la misma especie vegetal durante el mes de julio del mismo año, se realizó únicamente en el sitio problema.

### PRIMERA FASE: MUESTREO DE HOJAS

Ocho arbustos de la especie vegetal *Eriobotrya japonica* (comúnmente llamado níspero) fueron instalados en el sitio de estudio en mayo del 2010 colocados en macetas. La disposición de los mismos se hizo con ayuda de una brújula en los 8 puntos cardinales: norte, sur, este, oeste, noreste, noroeste, sureste y suroeste. Se recolectaron 3 hojas de cada arbusto el día de su instalación y a continuación cada semana se recolectó la misma cantidad de muestras durante doce semanas. Se eligió como sitio de referencia, es decir un sitio que no estuviera impactado por la contaminación de los hornos ladrilleros, la azotea de la Facultad de Medicina de la UASLP misma que se ubica al Poniente de la Ciudad de San Luis Potosí. Aquí se ubicaron únicamente 4 arbustos de níspero en 4 puntos cardinales: norte, sur, este y oeste. En total se obtuvieron 156 muestras en esta primera

etapa de muestreo (Tabla 4).

**TABLA 4. MUESTRAS OBTENIDAS DE LOS SITIOS SELECCIONADOS**

<b>Semana</b>	<b>Fecha</b>	<b>Muestras en el sitio de referencia  (N, S, E, O)</b>	<b>Muestras en el sitio problema  (N, S, E, O, NE, NO, SE, SO)</b>
0	07.05.2010	4	8
1	14.05.2010	4	8
2	21.05.2010	4	8
3	28.05.2010	4	8
4	04.06.2010	4	8
5	11.06.2010	4	8
6	18.06.2010	4	8
7	25.06.2010	4	8
8	02.07.2010	4	8
9	09.07.2010	4	8
10	16.06.2010	4	8
11	23.07.2010	4	8
12	30.07.2010	4	8
Total		52	104

## SEGUNDA FASE: MUESTREO DE AIRE Y HOJAS

La segunda etapa inició en julio del mismo año, ésta se llevó a cabo durante 4 semanas. Un equipo tipo High Volume fue instalado en el sitio de estudio al mismo tiempo que un arbusto en maceta. Se instaló un filtro de cuarzo previamente acondicionado en el equipo. Se recolectaron 3 hojas de este arbusto (muestra blanco) y transcurridas 24 h de exposición a los contaminantes se recolectaron 3 hojas más del mismo arbusto y el filtro fue retirado del equipo de muestreo. Esta operación se repitió durante catorce días dejando un día intermedio entre cada muestreo. Al finalizar esta segunda etapa se tuvo un total de 14 filtros y 14 arbustos de níspero siguieron el mismo protocolo de instalación y muestreo. Las hojas recolectadas se transportaron en sobres de papel aluminio dentro de bolsas de polietileno a 4 °C, teniendo cuidado de tener el mínimo contacto con la superficie de las mismas. Se conservaron a -20 °C hasta su análisis.

Los filtros de cuarzo fueron transportados en portafiltros también a 4 °C, se resguardaron en cuarto frío dentro de sobres de aluminio para su posterior pesaje y tratamiento.

## **MATERIAL Y REACTIVOS**

Se emplearon solventes (metanol, acetonitrilo, acetona y n-hexano) grado HPLC de la marca Burdick & Jackson; cloruro de metileno grado HPLC marca Fermont.

Para la preparación de las curvas de calibración se utilizó la mezcla PNA-550RPM en acetonitrilo (Polynuclear Aromatic Hydrocarbons mixture-550) conteniendo 16 PAHs y cuya concentración es 200 mg/L, a partir de la cual se realizaron diluciones intermedias (1 mg/L). También se empleó la mezcla de 17 PAHs a 1000 mg/L en cloruro de metileno de la

marca Ultra Scientific para las determinaciones por cromatografía de gases.

Se empleó como estándar interno una solución de benzo (b) criseno en acetonitrilo de la marca Dr. Ehrenstorfer cuya concentración es de 10 mg/L. Fluoranteno-d10 en metanol a una concentración de 200 mg/L (Chem Service) fue empleada como estándar interno en las determinaciones por cromatografía de gases. Pireno-d10 en acetona a 500 mg/L (Chem Service) fue utilizado como estándar surrogado en las determinaciones por cromatografía de gases.

El material de referencia certificado IAEA-140 OC (organochlorine compounds and petroleum hydrocarbons in seaweed) fue empleado durante el análisis de las muestras de hojas.

Filtros de cuarzo de la marca Whatman QMA y de dimensiones 8X10 pulgadas se utilizaron para el muestreo de aire. Filtros de jeringa de Nylon de 33 mm y 4 mm con tamaño de poro de 0.2  $\mu\text{m}$  marca Millipore (GN-Millex) fueron empleados para la preparación de las muestras de hojas; mientras que para los filtros de cuarzo se emplearon acrodiscos Millex-HN de 33 mm de nylon y tamaño de poro de 0.45  $\mu\text{m}$  de Millipore. Microjeringas de 10  $\mu\text{L}$  marca Hamilton se requirieron para la preparación de las curvas de calibración.

## **EQUIPOS**

El muestreo de aire se llevó a cabo con un muestreador tipo High Volume para partículas PM10 Venturi modelo P6762 marca TISCH.

Se utilizó una balanza digital marca Sartorius modelo LA130 S/F con plato para filtros de 8X10 pulgadas y con una sensibilidad de 0.1 mg para el pesaje de los filtros de cuarzo.

Para el acondicionamiento de los filtros de cuarzo se emplearon desecadores de acrílico de diseño propio del Instituto de Metalurgia de la Universidad Autónoma de San Luis Potosí, bajo condiciones controladas de temperatura ( $22 \pm 3^{\circ}\text{C}$ ) y humedad ( $35 \pm 5\%$ ), así como una estufa de secado marca Lumistell modelo HEC-41.

Un liofilizador marca FreeZone® 6 Liter Benchtop Labconco modelo 77520 fue utilizado para el secado de las hojas y un molino analítico de Cole Parmer modelo 4301-00 para la pulverización de las muestras.

El procesador ultrasónico modelo GEX130 (115 V 50/60 Hz) equipado con punta de titanio de 3 mm se utilizó para la extracción de los analitos. Se requirió para concentrar los extractos de hojas de un evaporador con nitrógeno de Zymark; mientras que para los extractos de filtros de cuarzo se empleó un rotavapor Buche modelo 461.

Para la extracción de los analitos en los filtros de cuarzo se empleó un baño ultrasónico Branson modelo 1510 equipado con sistema de refrigeración con anticongelante. La determinación de los PAHs en hojas se llevó a cabo con Cromatógrafo de Líquidos Agilent 100 series equipado con un detector de fluorescencia marca Agilent y termostato. La columna LiChrospher PAH (250 mm x 4.6 mm; 5  $\mu\text{m}$  de tamaño de partícula) se empleó para la separación y cuantificación.

Por otro lado para la determinación de los PAHs en filtros de cuarzo se utilizó un Cromatógrafo de gases GC-System modelo HP-6890 con detector de masas modelo MSD 5973. Se empleó una columna capilar HP-5MS (30 m de longitud, 0.250 mm de diámetro interno y espesor de película de 0.25  $\mu\text{m}$ ).

## **LIMPIEZA DEL MATERIAL**

El material empleado fue lavado con detergente suave, el cual fue eliminado con agua purificada y desionizada. Finalmente se enjuagó con acetona grado HPLC.

## **SECADO Y PULVERIZADO DE LAS HOJAS**

Las hojas previamente congeladas a  $-20^{\circ}\text{C}$  se depositaron individualmente en vasos de precipitado de 100 mL y fueron sometidas a 16 h de liofilización a  $-44^{\circ}\text{C}$ .

Una vez que terminó el proceso de liofilización las muestras fueron pulverizadas con un molino analítico con aspas de acero inoxidable y conservadas al abrigo de la luz y la humedad.

## **EXTRACCIÓN Y ANÁLISIS DE LOS PAHS EN LAS HOJAS**

El método empleado para la extracción y determinación de PAHs en las hojas fue optimizado previo a la validación del mismo en el departamento de Química Analítica de la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad Complutense de Madrid. De esta parte del trabajo se obtuvo la publicación presentada en el Anexo I. A partir del método optimizado se implementó y validó el mismo en el Laboratorio de Toxicología Ambiental de la Universidad Autónoma de San Luis Potosí como se describe a continuación.

Se pesaron 0,5 g de hojas secas y pulverizadas previamente y se le adicionaron 5 mL de una mezcla de n-hexano-acetona (1:1) en tubo cónico de vidrio. Se sometió al proceso de extracción con la sonda ultrasónica durante 2 minutos con pulsación continua y a 20% de

potencia. Este proceso se realizó por duplicado sobre un baño de agua. En seguida las muestras fueron filtradas y se le adicionaron 5 mL más de la mezcla de solventes al tubo de vidrio para enjuagar y evitar pérdidas en el proceso. El filtrado recolectado se llevó a evaporación a sequedad a 35°C con flujo de nitrógeno. Finalmente se adicionaron 0,25 mL de acetonitrilo, se agitaron los tubos en vórtex y llevó a viales de 2 mL con insertos de vidrio silanizado de 250 microlitros previa filtración.

La fase móvil empleada fue metanol/acetonitrilo/agua (50:25:25) (A) y acetonitrilo (B) a un flujo de 0,8 mL/min. La temperatura de la columna fue de 35°C. El volumen de inyección de la muestra fue de 20 µL. Se utilizó gradiente en la fase móvil como se indica en la Tabla 5.

**TABLA 5. CONDICIONES CROMATOGRÁFICAS EMPLEADAS PARA LA SEPARACIÓN DE LOS PAHS**

<b>Tiempo (min)</b>	<b>A</b>	<b>B</b>
1.0	100	0
22.0	0	100
35.0	0	100
40.0	100	0

El programa de longitud de onda empleado en el detector se muestra en la tabla 6.



**TABLA 6. PROGRAMA DE LONGITUDES DE ONDA DEL DETECTOR DE FLUORESCENCIA**

<b>Tiempo (min)</b>	<b><math>\lambda</math> Excitación</b>	<b><math>\lambda</math> Emisión</b>
0.00	280	330
11.30	246	370
12.30	250	406
14.00	280	450
15.00	270	390
17.50	265	380
22.20	290	430
27.40	290	410
32.50	300	500
34.00	295	410
40.00	280	330
45.00	280	330



## **EXTRACCIÓN Y ANÁLISIS DE LOS PAHS EN LOS FILTROS DE CUARZO**

El filtro de cuarzo fue medido con ayuda de una regla metálica (previa limpieza con acetona) para proceder a dividirlo en dos partes iguales. Se adicionaron 10  $\mu\text{L}$  de pireno-d10 de 500 mg/L sobre una mitad del filtro como estándar surrogado para determinar la pérdida de compuestos desde la extracción hasta el análisis. La otra mitad del filtro queda como resguardo. Con ayuda de tijeras limpias se cortó el filtro en trozos pequeños y fueron colocados en matraz Erlenmeyer de 125 mL. Se adicionó cloruro de metileno en cantidad suficiente hasta cubrir el filtro. Se llevó al baño ultrasónico por 30 minutos al abrigo de la luz. Transcurrido este tiempo se trasvasó el extracto a un matraz de bola. Se repitió una vez más el proceso de extracción al mismo filtro y se juntaron los dos extractos en el mismo matraz de bola. Se llevó a un rotavapor a una temperatura de 35-40° C para concentrar el extracto hasta un volumen aproximado de 2 mL. El extracto fue filtrado y recibido en matraz volumétrico de 1 mL en el cual se evapora con un flujo de nitrógeno grado cromatográfico, ajustando el volumen a 1 mL, se pasó el extracto a un vial ámbar de 2 mL. Finalmente se adicionaron 25  $\mu\text{L}$  de la solución de fluoranteno-d10 a 200 mg/L como estándar interno.

El análisis de las muestras se llevó a cabo en el cromatógrafo de gases con detector de masas siendo el volumen de inyección de la muestra de 1  $\mu\text{L}$  en modo splitless pulsado y empleando Helio como gas de arrastre. La temperatura del inyector fue de 250 °C. Se trabajó un programa de temperatura en el horno iniciando en 60 °C manteniéndose así por 4 minutos, posteriormente se incrementó 13 °C/min hasta 150 °C permaneciendo 1 minuto, luego 7 °C/min hasta 300 °C durante 7 minutos. Bajo estas condiciones se obtuvieron los tiempos de retención para cada analito.

## **DETERMINACIÓN DEL CONTENIDO DE HUMEDAD**

Se recolectaron tres hojas de tres diferentes arbustos de níspero, se pesaron en balanza analítica por separado y sometieron a un tratamiento de secado durante 16 h. Transcurrido este tiempo se pesaron y fueron llevadas a un desecador hasta obtener un peso constante. El contenido de humedad fue calculado por la pérdida de peso.

## **DETERMINACIÓN DEL CONTENIDO DE LÍPIDOS**

El contenido de lípidos se determinó empleando 2 g de hojas (peso seco) con 30 mL de hexano:acetona (1:1) en baño ultrasónico durante 2 h. El extracto resultante fue filtrado y puesto en recipiente de aluminio previamente pesado. Se dejó evaporar el solvente en campana de extracción y el peso del residuo fue determinado y la masa de lípido calculado (Howsam *et al.*, 2001).

## **VALIDACIÓN DE LOS MÉTODOS ANALÍTICOS**

Se evaluó la linealidad y sensibilidad para cada analito con el promedio de tres curvas en matriz preparadas independientemente, comprendidas en el intervalo lineal de 5-70  $\mu\text{g/L}$ , expresando la linealidad como el coeficiente de correlación y la sensibilidad como la pendiente de la curva.

Se calcularon los límites de detección (LOD) y de cuantificación (LOC) para cada uno de los analitos mediante el método de Miller y Miller (2002) empleando los datos obtenidos de tres curvas preparadas independientemente en un intervalo lineal menor al de trabajo (4-7  $\mu\text{g/L}$ ).

Se determinó la precisión como repetibilidad mediante el cálculo de los coeficientes de variación de tres curvas preparadas independientemente el mismo día. Mientras que la precisión intermedia se evaluó con los resultados de curvas preparadas en 5 días distintos. La exactitud fue evaluada mediante el empleo del estándar de referencia certificado IAEA-140 0C que fue sometido al mismo tratamiento de extracción y análisis que las muestras.

### DESEMPEÑO ANALÍTICO

Para evaluar la linealidad y sensibilidad del método analítico desarrollado se consideraron los datos generados de las curvas de calibración preparadas en matriz durante seis días distintos. En la Tabla 7 se presentan los resultados para cada uno de los analitos determinados en el intervalo lineal de 5-70  $\mu\text{g/L}$ . Se calcularon los límites de detección y de cuantificación para cada uno de los analitos determinados, los resultados se muestran en la Tabla 8.

En las Tablas 9 y 10 se presentan los resultados de los coeficientes de variación obtenidos al evaluar la precisión del método empleado para la determinación de PAHs en hojas (repetibilidad y reproducibilidad intralaboratorio). De acuerdo a los criterios de aceptación establecidos por Horwitz (1982), el método cumple con estos parámetros.

En la Tabla 11 se muestran los valores obtenidos para el material de referencia certificado, puede observarse que a excepción del benzo(a)pireno, todos los demás analitos entran dentro del intervalo de confianza (95%) proporcionado por el laboratorio certificado.

**TABLA 7. LINEALIDAD Y SENSIBILIDAD DEL MÉTODO ANALÍTICO EMPLEADO PARA LA DETERMINACIÓN DE PAHs EN HOJAS**

PAH	Linealidad (r)*	Sensibilidad (m)**
Acenafteno	0,9921	4,01 ± 0,16
Fluoreno	0,9962	4,63 ± 0,28
Fenantreno	0,9972	7,73 ± 0,45
Antraceno	0,9988	31,49 ± 0,48
Fluoranteno	0,9985	1,52 ± 0,45
Pireno	0,9976	8,53 ± 0,39
Benzo(a)antraceno	0,9990	5,76 ± 0,33
Criseno	0,9985	14,53 ± 0,47
Benzo(b)fluoranteno	0,9949	2,35 ± 0,25
Benzo(k)fluoranteno	0,9982	17,56 ± 0,29
Benzo(a)pireno	0,9974	10,56 ± 0,43
Dibenzo(a,h)antraceno	0,9952	4,45 ± 0,37
Benzo(g,h,i)perileno	0,9921	1,37 ± 0,20

\* Expresada como el coeficiente de correlación.

\*\* Expresada como la pendiente de la curva de calibración.

**TABLA 8. LÍMITES DE DETECCIÓN (LOD) Y LÍMITES DE CUANTIFICACIÓN (LOC) PARA CADA UNO DE LOS PAHS DETERMINADOS EN HOJAS**

PAH	(LOD) $\mu\text{g/L}$	(LOD) $\text{ng/g}$	(LOC) $\mu\text{g/L}$	(LOC) $\text{ng/g}$
Acenafteno	0,39	0,32	0,61	0,50
Fluoreno	1,35	1,12	2,06	1,71
Fenantreno	1,08	0,9	1,67	1,39
Antraceno	1,37	1,14	2,11	1,75
Fluoranteno	0,83	0,69	1,3	1,08
Pireno	0,66	0,55	1,03	0,85
Benzo(a)antraceno	1,16	0,96	1,8	1,5
Criseno	1,63	1,35	2,48	2,06
Benzo(b)fluoranteno	1,19	0,99	1,84	1,53
Benzo(k)fluoranteno	1,13	0,94	1,74	1,45
Benzo(a)pireno	0,57	0,47	0,9	0,75
Dibenzo(a,h)antraceno	1,01	0,84	1,56	1,3
Benzo(g,h,i)perileno	1,31	1,09	2,01	1,67





**TABLA 9. PRECISIÓN DEL MÉTODO EMPLEADO PARA LA DETERMINACIÓN DE PAHS EN HOJAS  
EXPRESADA COMO REPETIBILIDAD (%CV) A DIFERENTES CONCENTRACIONES**

PAH	5	10	25	40	55	70
	Concentración en µg/L					
Acenafteno	11	9	10	10	10	11
Fluoreno	10	9	9	9	10	9
Fenantreno	10	11	11	10	10	10
Antraceno	8	8	7	7	7	5
Fluoranteno	8	8	7	8	8	6
Pireno	7	8	6	6	7	6
Benzo(a)antraceno	5	8	6	4	5	3
Criseno	8	8	7	4	5	3
Benzo(b)fluoranteno	7	7	7	4	4	3
Benzo(k)fluoranteno	7	6	5	5	5	3
Benzo(a)pireno	6	7	5	4	4	3
Dibenzo(a,h)antraceno	5	6	5	5	5	3
Benzo(g,h,i)perileno	8	7	7	8	8	8
Valores permisibles*	16	16	16	16	16	16

\*Horwitz 1982

**TABLA 10. PRECISIÓN DEL MÉTODO EMPLEADO PARA LA DETERMINACIÓN DE PAHS EN HOJAS  
EXPRESADA COMO REPRODUCIBILIDAD INTRALABORATORIO (%CV) A DIFERENTES CONCENTRACIONES.**

PAH	5	10	25	40	55	70
	Concentración en µg/L					
Acenafteno	15	15	16	15	15	14
Fluoreno	14	14	14	14	13	13
Fenantreno	15	15	15	16	14	14
Antraceno	13	13	14	14	14	13
Fluoranteno	13	13	13	14	14	14
Pireno	13	11	11	11	10	10
Benzo(a)antraceno	8	8	9	9	8	8
Criseno	9	8	8	8	8	7
Benzo(b)fluoranteno	9	8	8	8	8	8
Benzo(k)fluoranteno	8	8	6	7	6	6
Benzo(a)pireno	8	8	8	6	6	6
Dibenzo(a,h)antraceno	8	8	8	6	5	5
Benzo(g,h,i)perileno	11	11	11	10	8	8

Valores permisibles*	21	21	21	21	21	21
----------------------	----	----	----	----	----	----

\*Horwitz 1982

**TABLA 11. EXACTITUD DEL MÉTODO ANALÍTICO EMPLEADO PARA LA DETERMINACIÓN DE PAHS EN LAS HOJAS**

PAH	Valor certificado	IC 95 %	Valor obtenido
	(ng/g)		
Fenantreno	76	40 - 110	87 ± 2,25
Antraceno	14	4 - 93	11 ± 0,89
Fluoranteno	88	57 - 110	90 ± 1,75
Pireno	67	46 - 79	65 ± 2,52
Benzo(a)antraceno	25	14 - 32	21 ± 0,75
Criseno	40	25 - 49	38 ± 2,04
Benzo(b)fluoranteno	37	33 - 37	34 ± 1,76
Benzo(k)fluoranteno	19	15 - 27	17 ± 1,16
Benzo(a)pireno	20	16 - 22	15 ± 0,51
Dibenzo(a,h)antraceno	4,5	2.6 - 160	6 ± 1,16
Benzo(g,h,i)perileno	20	17 - 35	19 ± 1,50

## ANÁLISIS DE LAS MUESTRAS

### PRIMERA FASE

Con la finalidad de establecer la influencia de los hornos ladrilleros en la contribución del total de la captación de los PAHs en las hojas de la especie vegetal, se determinaron las concentraciones de los mismos en el sitio de referencia y el sitio problema.

En la Tabla 12 se presenta el promedio de las concentraciones de PAHs determinadas en las hojas de los árboles que fueron colocados en los cuatro puntos cardinales (norte, sur, este y oeste) para cada semana de muestreo en el sitio de referencia. Las concentraciones de la  $\Sigma$ PAHs analizados se encuentran en el rango comprendido de 21-75 ng/g de muestra seca.

El promedio de las concentraciones de los PAHs para los 8 puntos cardinales (norte, sur, este, oeste, noreste, noroeste, sureste y suroeste) establecidos en el sitio problema se presentan en la Tabla 13 para cada semana de muestreo. Las concentraciones de la  $\Sigma$ PAHs fluctúan de 20-820 ng/g de muestra seca. Correspondiendo la concentración más baja para la semana cero (instalación de los arbustos de níspero) a 20 ng/g y 820 ng/g para la semana 4.

**TABLA 12. CONCENTRACIONES DE PAHS EN LAS MUESTRAS DE HOJAS PARA EL SITIO DE REFERENCIA**

PAH	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
	Semanas												
Acenafteno	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Fluoreno	ND	7	7	11	7	16	12	10	8	8	9	10	11
Fenantreno	5	21	11	10	22	25	23	26	26	23	10	10	20
Antraceno	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Fluoranteno	6	11	8	15	12	14	12	11	13	11	9	9	9
Pireno	5	14	11	11	16	11	10	9	9	9	6	6	6
Benzo(a)antraceno	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Criseno	5	8	8	7	8	9	9	7	6	6	ND	ND	ND
Benzo(b)fluoranteno	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Benzo(k)fluoranteno	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Benzo(a)pireno	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Dibenzo(a,h)antraceno	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Benzo(g,h,i)perileno	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
ΣPAHs	21	61	45	54	65	75	66	63	62	57	34	35	46

Resultados expresados en ng/g de muestra (peso seco).

**TABLA 13. CONCENTRACIONES DE PAHS EN LAS MUESTRAS DE HOJAS PARA EL SITIO PROBLEMA**

PAH	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
	Semanas												
Acenafteno	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Fluoreno	ND	15	12	22	17	16	32	21	22	29	20	21	22
Fenantreno	6	43	32	118	228	137	106	113	106	132	126	116	127
Antraceno	ND	ND	ND	3	15	7	6	5	6	7	5	6	7
Fluoranteno	5	31	24	88	219	96	57	48	79	66	76	56	67
Pireno	3	29	23	86	198	94	56	54	92	67	74	65	59
Benzo(a)antraceno	ND	ND	5	ND	63	46	7	38	39	37	39	37	33
Criseno	6	20	23	64	51	56	44	39	38	44	52	43	39
Benzo(b)fluoranteno	ND	9	6	28	18	21	14	20	17	24	20	18	19
Benzo(k)fluoranteno	ND	4	5	12	6	6	9	6	5	7	7	6	8
Benzo(a)pireno	ND	ND	ND	9	6	8	5	5	5	5	5	4	6
Dibenzo(a,h)antraceno	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	5	ND	12	ND	ND
Benzo(g,h,i)perileno	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
ΣPAHS	20	150	130	428	820	486	336	347	414	418	435	372	387

Resultados expresados en ng/g de muestra (peso seco).

## SEGUNDA FASE

En la segunda fase del proyecto se determinaron las concentraciones atmosféricas totales para 17 PAHs en los filtros de cuarzo para poder determinar la eficiencia del muestreo pasivo. Estos resultados corresponden a los valores reales en aire y se encuentran en el rango de 13,83 a 54,35 ng/m<sup>3</sup> (Tabla 14).

En la Tabla 15 se muestran las concentraciones para las hojas recolectadas después de 24 h de exposición, tiempo en el cual se muestreó simultáneamente el aire con los filtros de cuarzo. Se encuentran en el rango de 61 a 194 ng/g de peso seco, que corresponden a las concentraciones más baja y alta en los filtros respectivamente.

Las concentraciones para los filtros de cuarzo después de 24 h de muestreo de aire fueron estimados por gramo de filtro (peso seco) para fines comparativos con las concentraciones de las hojas (Tabla 16). Los resultados se encuentran en el rango de 429 a 1255 ng/g de filtro, que corresponden al filtro 11 y 8 respectivamente.



**TABLA 14. CONCENTRACIONES DE PAHS EN LOS FILTROS DE CUARZO PARA EL SITIO DE PROBLEMA**

PAH	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
	Filtros													
Naftaleno	1,35	1,40	2,32	ND	1,46	1,81	1,36	1,49	0,70	ND	0,90	0,79	1,06	ND
2 Metil naftaleno	0,92	ND	ND	0,84	ND	1,12	ND	0,96	ND	0,59	0,59	ND	ND	0,63
Acenaftileno	0,18	0,23	0,32	0,18	0,20	0,31	0,19	0,35	ND	ND	ND	0,11	0,21	0,13
Acenafteno	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Fluoreno	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Fenantreno	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0,91	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Antraceno	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Fluoranteno	0,60	1,34	1,21	0,72	0,64	1,55	0,62	2,92	0,60	0,61	0,45	0,60	0,78	0,65
Pireno	0,78	1,54	1,53	0,91	0,83	1,87	0,82	3,17	0,71	0,78	0,56	0,75	0,89	0,82
Benzo(a)antraceno	1,93	2,55	3,81	1,97	2,12	3,64	2,03	4,44	1,20	1,62	1,38	1,45	1,76	1,66
Criseno	1,96	2,85	3,99	2,00	2,12	4,48	2,09	5,59	1,34	1,69	1,36	1,59	1,99	1,79
Benzo(b)fluoranteno	2,44	3,32	4,90	2,29	2,48	5,09	2,31	5,92	1,99	2,51	1,49	1,92	2,12	2,44
Benzo(k)fluoranteno	2,17	3,24	4,98	2,13	2,25	5,25	2,15	4,99	1,90	2,55	1,44	1,81	1,90	2,45
Benzo(a)pireno	1,64	2,66	3,53	1,78	1,85	4,73	1,79	5,21	1,39	1,81	1,16	1,32	1,57	2,12

PAH	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
	Filtros													
Indeno 1,2,3 cd pireno	2,50	3,56	5,04	2,56	2,67	5,56	2,41	7,31	2,55	3,01	1,61	2,10	2,13	2,97
Dibenzo(a,h) antraceno	2,01	2,18	3,53	1,91	2,16	2,95	2,03	3,40	1,18	1,69	1,43	1,26	1,62	1,51
Benzo (g,h,i) perileno	2,34	3,09	4,21	2,27	2,25	5,88	2,09	7,65	2,87	2,98	1,46	1,89	1,89	2,94
ΣPAHs	20,82	27,98	39,35	19,55	21,04	44,22	19,90	54,35	16,43	19,83	13,83	15,59	17,92	20,11

Resultados expresados en ng/m<sup>3</sup>.

**TABLA 15. CONCENTRACIONES DE PAHs EN LAS HOJAS PARA EL SITIO DE PROBLEMA DURANTE EL MUESTREO SIMULTÁNEO CON LOS FILTROS DE CUARZO**

PAH	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
	Muestreo													
Acenafteno	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Fluoreno	11	12	10	11	8	12	9	20	8	11	7	9	11	13
Fenantreno	28	47	27	27	22	29	21	44	17	25	15	18	26	21
Antraceno	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Fluoranteno	21	30	28	20	18	29	22	39	20	27	19	21	18	20
Pireno	25	31	30	23	21	28	20	49	19	29	16	13	23	26
Benzo(a)antraceno	ND	ND	ND	ND	ND	3	5	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Criseno	9	12	10	8	5	11	9	15	6	9	4	6	10	11
Benzo(b)fluoranteno	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	13	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Benzo(k)fluoranteno	2	1	3	ND	ND	3	4	3	ND	ND	ND	ND	2	3
Benzo(a)pireno	ND	5	ND	ND	ND	ND	3	4	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Dibenzo(a,h)antraceno	ND	ND	ND	ND	ND	5	ND	7	ND	ND	ND	ND	ND	ND

PAH	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
	Muestreo													
Benzo(g,h,i)perileno	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
ΣPAHs	96	138	108	89	74	120	93	194	70	101	61	67	90	94

Resultados expresados en ng/g de muestra (peso seco).

**TABLA 16. CONCENTRACIONES DE PAHs EN LOS FILTROS DE CUARZO PARA EL SITIO DE PROBLEMA DURANTE EL MUESTREO SIMULTÁNEO CON LAS HOJAS**

PAH	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
	Muestreo													
Acenafteno	255	250	243	ND	247	254	239	255	250	ND	241	246	247	ND
Fluoreno	34	40	33	33	34	44	33	60	ND	ND	ND	34	49	33
Fenantreno	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Antraceno	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Fluoranteno	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	156	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Pireno	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Benzo(a)antraceno	112	240	127	132	109	218	109	502	214	164	120	188	182	159
Criseno	147	275	160	169	141	263	143	544	253	209	151	234	206	202
Benzo(b)fluoranteno	363	455	400	364	358	511	356	762	428	434	368	452	407	409
Benzo(k)fluoranteno	368	510	419	370	358	628	366	960	476	452	363	497	461	441
Benzo(a)pireno	460	593	514	423	418	714	406	1016	708	674	398	600	492	602
Dibenzo(a,h)antraceno	408	578	523	394	379	736	378	857	675	686	384	566	442	604

PAH	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
	Muestreo													
Benzo(g,h,i)perileno	293	475	371	329	312	664	314	894	495	485	310	413	364	522
ΣPAHs	470	636	529	474	450	780	422	1255	907	808	429	656	494	733

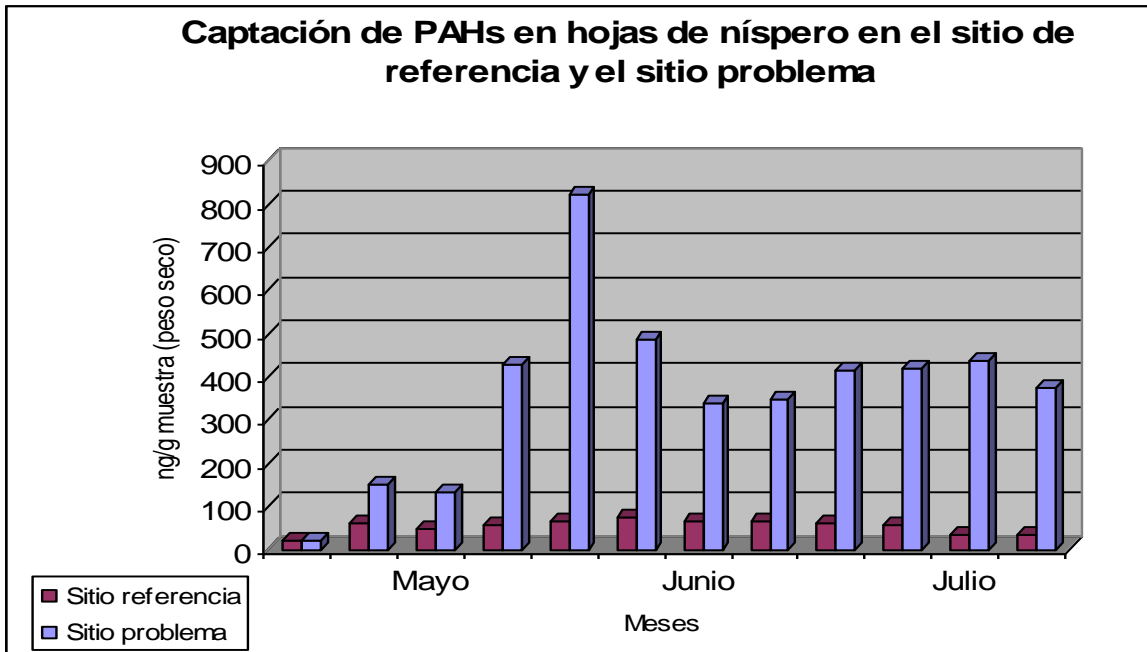
Resultados expresados en ng/g de muestra (peso seco).

La comparación de la captación de la ΣPAHs en las hojas de níspero en el sitio de referencia y en el sitio problema se puede observar en la Figura 3, mientras que en la Figura 4 se muestra la captación de la ΣPAHs en las hojas de níspero y en los filtros de cuarzo en el sitio problema.

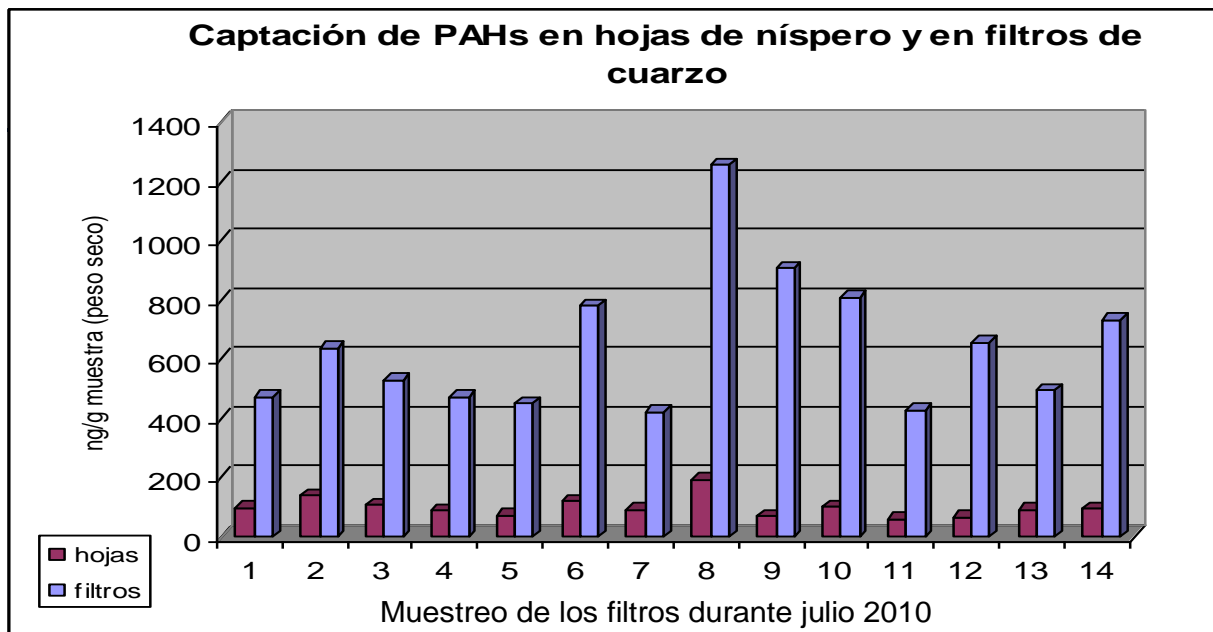
#### DETERMINACIÓN DEL CONTENIDO DE HUMEDAD Y DE LÍPIDOS

El contenido de humedad y de lípidos para la especie vegetal en estudio fue determinado con la finalidad de contar con la información necesaria para lograr compararla con las especies vegetales empleadas por otros autores. Encontramos que el contenido de humedad fue de 59 % y de 4,2 % el contenido de lípidos.

**FIGURA 3. CAPTACIÓN DE PAHS EN HOJAS DE NÍSPERO EN EL SITIO DE REFERENCIA Y EN EL SITIO PROBLEMA**

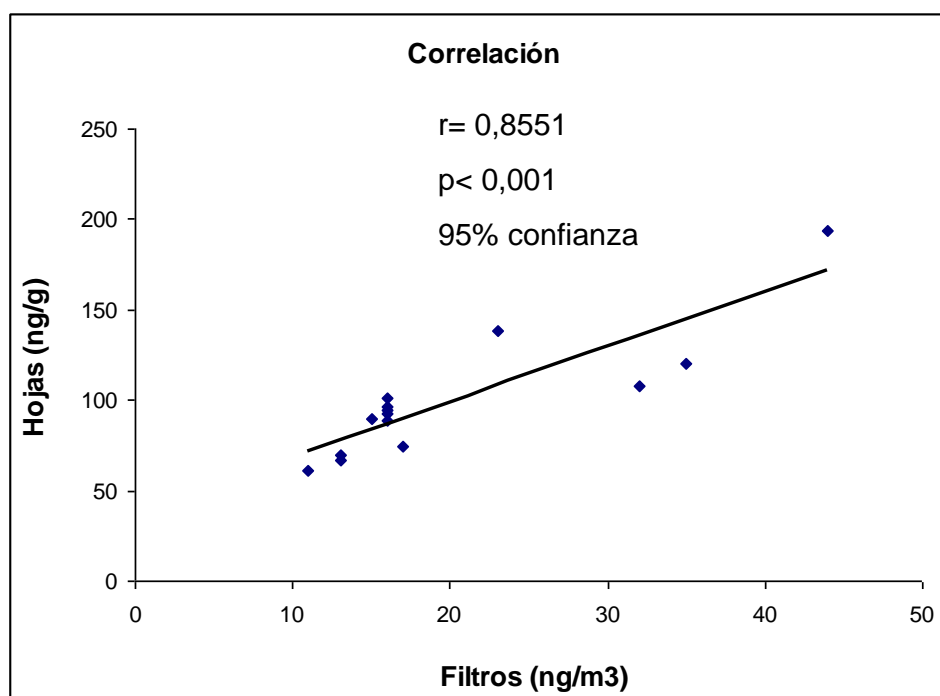


**FIGURA 4. CAPTACIÓN DE PAHS EN HOJAS DE NÍSPERO Y EN FILTROS DE CUARZO EN EL MUESTREO SIMULTÁNEO**



En la segunda etapa de muestreo se estableció la asociación entre las concentraciones de PAHs en las hojas de los árboles y los filtros de cuarzo (Fig.5).

**FIGURA 5. ASOCIACIÓN ENTRE LAS CONCENTRACIONES DE PAHs EN HOJAS Y FILTROS DE CUARZO.**





---

## DISCUSIÓN

Existen varias técnicas en la literatura para la determinación de PAHs en especies vegetales, por lo que deberá elegirse la más adecuada dependiendo del objetivo del estudio. Van desde la extracción clásica con soxhlet, extracción con líquidos presurizada, extracción con fluidos supercríticos, extracción asistida con microondas, hasta la extracción ultrasónica asistida con sonda.

En este estudio empleamos una de las técnicas más recientes que presentan distintas ventajas como tiempos de extracción muy cortos, bajo consumo de solventes, eficiencias de extracción cercanas al 100% y el empleo de pequeñas cantidades de muestra (Sanz-Landaluze *et al.*, 2010). Por otro lado reemplazamos la etapa de limpieza por un sencillo proceso de filtración y la determinación de los analitos se llevó a cabo por cromatografía de líquidos de alta eficiencia con detector de fluorescencia. Esto permite realizar a un menor costo un estimado de las concentraciones de los PAH's en el ambiente. La metodología analítica desarrollada para la determinación de los PAHs en las hojas de los árboles fue de utilidad para el análisis de las muestras en el intervalo lineal de trabajo de 5-70  $\mu\text{g/L}$  (que corresponde a 12,5-175  $\text{ng/g}$ ), el método mostró un buen desempeño al ser repetible, reproducible y exacto.

Actualmente la tendencia del muestreo de PAHs en aire se inclina hacia el empleo de muestreadores pasivos debido a las ventajas que presentan frente a los muestreadores clásicos con equipos sofisticados, que por su complicada operación y necesidad de capacitación para su uso, se lleva a cabo en tiempos prolongados que elevan el costo. Es por ello que en países como México, donde los recursos son escasos, es importante

desarrollar metodologías que permitan evaluar estos contaminantes.

El proyecto incluyó tanto la determinación directa de los PAHs depositados en las hojas, como una segunda etapa en la cual se realizó la comparación entre las concentraciones en aire evaluadas mediante filtros de cuarzo en equipo High Volume con las encontradas en las hojas de la especie *Eriobotrya japonica*, bajo las mismas condiciones ambientales.

Las concentraciones obtenidas para las muestras de aire (PM<sub>10</sub>) se encuentran en el rango de 13,83 a 54,35 ng/m<sup>3</sup> para 17 PAHs. Podemos observar que predominan los PAHs de mayor peso molecular en los filtros de cuarzo (cuatro, cinco y seis anillos aromáticos), siendo la contribución de éstos del 85 %. En general para las muestras de hojas se logró la captación de los PAHs de más bajo peso molecular, lo cual coincide con un estudio realizado en agujas de pino en Ohio, USA (Tomashuk, 2010). Hasta el momento el trabajo realizado en este proyecto y el desarrollado por Tomashuk, son los únicos que hacen la comparación entre la capacidad de captación de los filtros y la especie vegetal obteniendo resultados muy semejantes, lo cual muestra la utilidad del empleo de los muestreadores pasivos.

La Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos (USEPA) ha identificado 16 PAHs prioritarios por su potencial carcinogénico y mutagénico, sin embargo hasta la fecha no se han establecido guías ambientales para la calidad del aire. La Administración sobre Salud y Seguridad Ocupacional ha establecido un límite de 0,2 mg/m<sup>3</sup> de PAHs para una jornada de trabajo de 8 horas diarias y un total de 40 horas por semana. La Directiva de la Unión Europea propone un valor de 1 ng/m<sup>3</sup> de Benzo(a)pireno para el contenido total en la fracción PM<sub>10</sub> promediado por año. Mientras que una guía de 10 ng/m<sup>3</sup> de Benzo(a)pireno por año ha sido propuesta por la Agencia Federal Ambiental Alemana (Ravindra *et al.*, 2008). Esta misma directiva sugiere evaluar la contribución de otros PAHs relevantes.

Considerando la guía Europea, en nuestro estudio encontramos que el 100% de las muestras sobrepasan el valor establecido para Benzo(a)pireno en 24 horas con un rango de 1,16 – 5,21 ng/m<sup>3</sup>/día y un promedio mensual de 2,33 ng/m<sup>3</sup>. Varias de las guías ambientales se establecen en periodos largos, por ejemplo promedios anuales, esto es debido principalmente a que los efectos en la salud son observables por exposiciones prolongadas y a la problemática para determinar las concentraciones de PAHs en el aire en tiempos cortos por las variaciones climáticas y diferencias de metodologías para el muestreo.

Con el método de muestreo pasivo en las hojas presentado en este trabajo, realizado durante doce semanas en el sitio de referencia y en el sitio problema cercano a una ladrillera, es clara la contribución de PAHs por la combustión de los hornos utilizados para el cocimiento de los ladrillos. En la semana cinco se presentó la concentración más alta de los analitos contribuyendo fenantreno, fluoranteno y pireno (tres y cuatro anillos aromáticos) en un 79%. Como podemos observar en la Tabla 12, en la semana 10 y 11 para el sitio de referencia hay un ligero descenso en las concentraciones de los PAHs, que coincide en esas semanas con fuertes lluvias y vientos del este hasta de 26 km/h. Aunque las condiciones climáticas fueron muy similares para ambos sitios, en las hojas de los árboles situados cerca de la ladrillera mostrados en la Tabla 13, la disminución observada es de menor proporción, lo cual puede ser debido a que los hornos ladrilleros siguen funcionando aún en estas condiciones, debido a que la venta del producto es la fuente de sustento para las familias.

Las concentraciones reportadas por otros autores en distintas especies vegetales varían en la determinación de los PAHs evaluados. En la ciudad de Colonia (Alemania) se evaluaron los 16 PAHs prioritarios de la USEPA en un área urbana empleando la especie *Pinus nigra*, los autores reportan de 51-410 ng/g de muestra (Lehndorff and Schwarck,

2004). En Nápoles (Italia) emplearon hojas de árboles de *Quercus ilex* de al menos 50 años de edad en un parque urbano, las concentraciones encontradas van de 376 a 722 ng/g de muestra (Alfani *et al.*, 2001). Mientras que en Barcelona (España) evaluaron la contaminación atmosférica en una área control y una urbana con la especie vegetal *Pinus pinaster*; los valores encontrados son de 235 ng/g para el área control y de 620-790 ng/g para el área urbana (Ratola, 2009). En el presente estudio para la especie *Eriobotrya japonica* reportamos hasta 820 ng/g de muestra para 13 PAHs en la cuarta semana del muestreo. La mayoría de los trabajos en vegetación se han realizado en periodos largos de muestreo (de 5 a 10 meses de muestreo) o bien como un muestreo único en algún sitio con vegetación ya existente. Así, al mes del muestreo se observan concentraciones de PAHs en las hojas más altas de lo encontrado en estudios realizados en otros países y que ameritan el determinar la exposición, para una posible intervención con la población.

Actualmente ante la falta de normativa para determinar los máximos permisibles de PAHs en aire, la mayoría de los estudios comparan los resultados obtenidos en sitios industrializados con sitios control o de referencia. De esta manera se puede establecer la influencia de distintos tipos de industria. En el presente trabajo, como se puede observar en la Figura 3, en el sitio control las concentraciones encontradas de la sumatoria de los PAHs es alrededor de 10 veces menor que la encontrada en el sitio problema, y que corresponde a una zona de fabricación de ladrillos para la construcción, en la cual se cuece el producto en hornos que utilizan: basura, plásticos, llantas y aceites como combustible.

En la comparación de los valores encontrados en el muestreo de los PAHs que se realizó simultáneamente en las hojas y en los filtros de cuarzo utilizando un muestreador High Volume, se observa en la figura 4 que el filtro de cuarzo capta alrededor de 4 a 6 veces más concentración de los PAHs que las hojas; sin embargo lo interesante de los resultados, es que mantienen una proporcionalidad demostrada en la figura 5 con un valor de  $r = 0,85$  y una significancia de 0,001. Esto demuestra una asociación entre las

concentraciones de PAHs en las hojas de los árboles y los filtros de cuarzo.

Alrededor de 120 hornos ladrilleros se encuentran ubicados en la colonia Tercera Chica que generan una producción promedio de 3,000,000 de piezas anuales. La población es de alrededor de 3,500 habitantes que están siendo afectadas por las emisiones de los hornos ladrilleros. Sin embargo hay ausencia de estudios que relacionen la exposición a estos contaminantes con los efectos en salud para lograr establecer valores guía que contribuyan a prevenir la exposición y a disminuir las emisiones de los mismos hacia la atmósfera.

Es importante mencionar que la época de muestreo en este trabajo fue llevada a cabo en un corto tiempo (tres meses), sin embargo a las pocas semanas se encontraron concentraciones más altas que las reportadas en sitios tan contaminados como la ciudad de Nápoles o la Ciudad de México. Aunado a esto, el muestreo se llevó a cabo en el verano donde se han reportado menores concentraciones de PAHs que en el invierno, se presentaron lluvias intensas a lo largo del muestreo y por ende la producción ladrillera fue menor, por lo que pueden suponerse mayores concentraciones en otra época del año.

Existe evidencia de varios estudios llevados a cabo en distintas especies vegetales como muestreadores pasivos de PAHs, pero hasta el momento se discute el tipo de especie a utilizar. Algunos autores sugieren que las hojas pequeñas tienen mayor habilidad para acumular y retener partículas que las más grandes; otros autores refieren que el contenido de lípidos de la vegetación está relacionado con la capacidad de sorción de los compuestos orgánicos semivolátiles y algunos más concluyen que las hojas con mayor cantidad de pubescencias tienen mayor concentración total de PAHs (Jouraeva *et al.*, 2002).

En este estudio empleamos la especie *Eriobotrya japonica* cuyas hojas son grandes, pubescentes y el contenido de lípidos muy similar a las agujas de pino que son consideradas el muestreador pasivo por excelencia. Además de estas características

buscamos una especie que fuera capaz de adaptarse a las condiciones climáticas de la ciudad, pues todos los trabajos publicados anteriormente se han llevado a cabo con hojas o agujas de árboles establecidos en el sitio de estudio. En este trabajo varios arbustos de níspero se instalaron en macetas, lo cual incrementa su utilidad en distintas áreas sea en interiores o exteriores; esta es una ventaja al no depender de la presencia de vegetación en el sitio del muestreo.

---

## CONCLUSIONES

Uno de las mayores aportaciones de este trabajo es precisamente la generación de información en cuanto a las concentraciones de PAHs en aire en una zona ladrillera, pues en el Estado de San Luis Potosí existe ausencia de la misma. En los resultados obtenidos en alrededor de un mes de muestreo se observa que la especie vegetal utilizada es útil para la captación de los PAHs.

Comparando las concentraciones de PAHs del muestreo en la segunda fase del proyecto realizada tanto con filtros de cuarzo y en las hojas (Fig. 4) podemos notar que los filtros captan de 4 a 6 veces mayor cantidad de PAHs que las hojas de níspero. Sin embargo, aún cuando es menor la captación, los valores encontrados denotan la contaminación con los PAHs.

Los resultados indican que los filtros de cuarzo tienen la capacidad de captar PAHs de alto peso molecular mientras que las hojas retienen mejor los de menor peso que corresponden a los compuestos de 3 y 4 anillos aromáticos (fenantreno, fluoranteno, pireno y criseno), lo cual coincide con lo reportado por otros autores.

Por lo anterior podemos establecer la utilidad de las especies vegetales, resultando en un muestreo de mucho menor costo, que aunque no tiene la misma eficiencia en captación que el muestreo tradicional, su utilidad es alta ya que existe una proporcionalidad en los valores encontrados y se pueden estimar las concentraciones reales. En muchas ocasiones en que se dificulta el uso de un muestreador High Volume simplemente por la escasez de estos equipos en nuestro medio, las especies vegetales resultan ser una excelente opción para evaluar las concentraciones atmosféricas de los PAHs.

---

## REFERENCIAS

Aas E., Beyer J., Goksoyr A., 2000. Fixed wavelength fluorescence (FF) of bile as a monitoring tool for polyaromatic-hydrocarbon exposure in fish: an evaluation of compound specificity, inner filter effect and signal interpretation. *Biomarkers Vol. 5, No. 1, 9-23*.

Armstrong, B., Hutchinson, E., Unwin, J., Fletcher, T., 2004. Lung cancer risk after exposure to Polycyclic Aromatic Hydrocarbons: a review and meta-analysis. *Environ Health Perspect 112*): 978-978.

ATSDR. 1995. Toxicological profile for Polycyclic Aromatic Hydrocarbons. Agency for Toxic Substances and Disease Registry.

Bostrom, C.E., Gerde, P., Hanberg, A., Jernstrom, B., Johansson, C., Kyrklund, T., Rannung, A., Tornqvist, M., Victorin, K., Westerholm, R., 2002. Cancer Risk Assessment, indicators, and Guidelines for Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in the ambient air. *Environ Health Perspect 110 (3)*: 451-489.

Botello A.V., Villanueva S.F., Díaz G.G., Escobar-Briones E., 1998. *Marine pollution Bulletin. Vol. 36, No. 7, pp.554-558*.

Carvalho F.P., Villeneuve J-P, Cattini Ch., Rendón J., Mota de Oliviera J., 2009. Ecological risk assessment of PCBs and other organic contaminants residues in Laguna de Termintos, Mexico. *Ecotoxicology 18*: 403-416. DOI 101007/s10646-008-0295-9.

COFEPRIS (2002) Comisión Federal para la Protección contra Riesgos Sanitarios. Dirección General de Salud Ambiental. "Primer Diagnóstico Nacional de Salud Ambiental y Ocupacional" .

[www.cofepris.gob.mx/bv/libros/131.pdf](http://www.cofepris.gob.mx/bv/libros/131.pdf)



<Choi, H., Jedrychowski, W., Spengler, J., Camann, D.E., Whyatt, R.M., Rauh, V., Tsai, W.Y., Perera, F., 2006. Internaciona studies of prenatal exposure to Polycyclic Aromatic Hydrocarbons and fetal growth. *Environ Health Perspect* 114: 1744-1750.

De Nicola, F., Maisto, G., Prati, M.V., Alfani, A., 2005. Temporal variations in PAH concentrations in *Quercus ilex* L. (holm oak) leaves in an urban area. *Chemosphere* 61 432-440.

Douben Peter E.T., 2003. PAHs: An Ecotoxicological Perspective. Wiley.

Erbe Swen, 2011. Master Thesis UASLP: Technical, Economical and Organizational Analysis of Informal Brick Production in Tercera Chica, SLP, Mexico.

Fenet H., Gomez E., Rosain D., Casellas C., 2006. Polycyclic Aromatic Hydrocarbon Metabolites and 7-Ethoxyresorufin-O-Deethylase Activity in Caged European Eels. *Arch.Environ. Contam. Toxicol.* 51, 232-236.

Fragoso N.M., Hodson P.V., Zambon S., 2006. Evaluation o fan exposure assay to mesure uptake of sediment PAH by fish. *Environmental Monitoring and Assessment* 116: 481-511.

Horwitz W., 1982. Evaluation of analytical methods used for regulation of foods and drugs. *Anal. Chem.* 54, 185-190.

Howsam, M., Jones, K.C., Ineson, P., 2001. PAHs associated with the leaves of three deciduos tree species II: uptake during a growing season. *Chemosphere* 44 (2001) 155-164.

Hwang H-M., Wade T.L., Sericano J.L., 2003. Concentrations and source characterization of polycyclic aromatic hydrocarbons in pine needles from Korea, Mexico, and United States. *Atmospheric Environment* 37 (2003) 2259-2267.

Jongeneelen, F.J., 1987. Determination of hydroxylated metabolites of polycyclic aromatic

hydrocarbons in urine. *Journal of Chromatography* 413: 227-232.

Jouraeva V.A., Johnson D.L., Hassett J.P., Nowak D.J., 2002. Differences in accumulation of PAHs and metals on the leaves of *Tiliaceuchlora* and *Pyrus calleryana*. *Environmental Pollution* 120, 331-338.

Kuusimaki L., Peltonten Yrjo., Mutanen P., Peltonten K. and Savela K., 2004. Urinary hydroxy-metabolites of naphthalene, phenantrene and pyrene as marker of exposure to diesel exhaust. *Int. Arch. Occuo. Environ. Health* 77: 23-30.

Ludovici, M., Akpan, V., Casalini, C., Zappa, C., Dolara, P., 1998. Polycyclic aromatic hydrocarbons in *Laurus nobilis* leaves as a measure of air pollution in urban and rural sites of Tuscany. *Chemosphere* 36 (8) 1703-1712.

Martínez Salinas, R.I., 2005. Exposición a hidrocarburos aromáticos policíclicos en población infantil. Tesis de Maestría. Universidad Autónoma de San Luis Potosí, SLP.

Mastandrea C., Chichizola C., Ludueña B., Sánchez H., Álvarez H., Gutiérrez A, 2005. Hidrocarburos aromáticos policíclicos. Riesgos para la salud y marcadores biológicos. *Acta Bioquím Clín Latinoam* 39 (1):27-36.

Meador J.P., Buzitis J., Bravo C., 2008. Using fluorescent aromatic compounds in bile from juvenile salmonids to predict exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons. *Environmental Toxicology and Chemistry Vol. 27, No. 4, pp. 845-853.*

Menzie, C.A., Potocki, B.B., Santodonato, J., 1992. Exposure to carcinogenic PAHs in the environment. *Environ. Sci. Technol., Vol. 26, No. 7, pp 1278 – 1284.*

Miller, J.N. y Miller, J.C., 2002. Estadística y Quimiometría para Química Analítica. Prentice Hall.

Misaki, K., Matsui, S., Matsuda, T., 2007. Metabolic enzyme induction by HepG2 cells exposed to oxygenated and nonoxygenated Polycyclic Aromatic Hydrocarbons. *Chem. Res. Toxicol., 20, 277-*

283.

Muller, J.F., Hawker, D.W., McLachlan, M.S., Connell, D.W., 2001. PAHs, PCDD/Fs, PCBs and HCB in leaves from Brisbane, Australia. *Chemosphere* 43 (2001) 507-515.

Pathiratne A., Chandrasekera L.W.H.U., Pathiratne K.A.S., 2008. Use of biomarkers in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) to assess the impacts of pollution in Bolgoda Lake, an urban water body in Sri Lanka. *Environ Monit Assess.* DOI 10.1007/s10661-008-0490-4.

Perera, F.P., Rauh, V., Whyatt, R.M., Tsai, W.Y., Tang, D., Diaz D., Hoepner, L., Barr, D., Tu, YH., Camann, D., Kinney, P., 2006. Effect of prenatal exposure to airborne Polycyclic Aromatic Hydrocarbons on neurodevelopment in the first 3 years of life among Inner-City children. *Environ Health Perspect* 114: 1287-1292.

Perera F, Tang W-y, Herbstman J, Tang D, Levin L, *et al.* (2009) Relation of DNA Methylation of 59-CpG Island of ACSL3 to Transplacental Exposure to Airborne Polycyclic Aromatic Hydrocarbons and Childhood Asthma. *PLoS ONE* 4(2): e4488.

Ravindra K., Sokhi R., van Grieken R., 2008. Atmospheric polycyclic aromatic hydrocarbons: Source attribution, emission factors and regulation. *Atmospheric Environment* 42, 2895-2921.

Ruan, Q., Gelhaus, S.L., Penning, T.M., Harvey, R.G., Blair, I.A., 2007. Aldo-Keto Reductase- and Cytochrome P450-Dependent Formation of Benzo[a]pyrene-Derived DNA Adducts in Human Bronchoalveolar Cells. *Chem. Res. Toxicol., A-H.*

Salazar-Coria L., Amescua-Allieri M.A, Tenorio-Torres M, González-Macías C., 2007. Polyaromatic Hydrocarbons (PAHs) and Metal Evaluation After a Diesel Spill in Oaxaca, Mexico. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 79: 462-467.

Sanz-Landaluze J., Bocanegra-Salazar M., Ortiz-Pérez D., Cámara C., 2010. Miniaturised method

for the análisis of polycyclic aromatic hydrocarbons in leaf simples. *Journal of Chromatography A*. 1217, 3567-3574.

Shimada, T., Gillam, E.M.J., Oda, Y., Tsumara, F., Sutter, T.R., Guengerich, F.P., Inoue K., 1999. Metabolism of Benzo (a) pyrene by recombinant human Cytocrome P450 1B1 and purified liver epoxide hydrolase. *Chem. Res. Toxicol.*, 12, 623-629.

Shoket, B., 1999. DNA damage in humans exposed to environmental and dietary polycyclic aromatic hydrocarbons. *Mutation Research* 424, 143-453.

Simonich, SL, Hites, RA., 1995. Organic pollutant accumulation in vegetation. *Environ. Sci. Technol.*, Vol. 29, No. 12.

Srogi K., 2007. Monitoring of environmental exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons: a review. *Environ Chem Lett* 5:169-195. DOI 10.1007/s10311-007-0095-0.

Tang, D., Li, T., Liu, J.J., Chen, Y., Qu, L., Perera, F., 2006. PAH-DNA adducts in cord blood and fetal and child development in a chinese cohort. *Environ Health Perspect* 114: 1297-1300.

Tomaniová, M., Hajslová, H., PavelkaJr, J., Kocourek, V., Holadová, K., Klímová, I., 1998. Microwave-assisted solvent extraction – a new method for isolation of polynuclear aromatic hydrocarbons from plants. *Journal of Chromatography A*. 827 (1998) 21-29.

Tomashuk T. A., 2010. A comparison of atmospheric PAHs in pine needles and High-Volume sampler filters in the Dayton metro area. Thesis of master of science. Wright State University.

Wang Y., Zhang W., Dong Y., Fan R., Sheng G. and Jiamo Fu, 2005. Quantification of several monohydroxylated metabolites of polycyclic aromatic hydrocarbons in urine by high-performance liquid chromatography with fluorescence detection. *Anal. Bioanal. Chem.* 383: 804-809.

# **A N E X O I**

