

PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DEL PERÚ  
ESCUELA DE POSGRADO



# PUCP

**ESTUDIO E IMPLEMENTACIÓN DE  
METODOLOGÍAS PARA EL ANÁLISIS DE  
HIDROCARBUROS POLICÍCLICOS AROMÁTICOS EN  
ZONAS REMOTAS FRÍAS DE LOS ANDES  
PERUANOS.**

Tesis para optar el grado de Magíster en Química que presenta  
la alumna

**ILY MARILÚ MAZA MEJÍA**

**ASESORA**

Dra. NADIA ROSA GAMBOA FUENTES

**JURADO**

Dr. RICHARD PAUL KORSWAGEN EDERY

Dr. MAYNARD JORGE KONG MORENO

**Febrero, 2013**



## AGRADECIMIENTOS

En primer lugar, quisiera agradecer a la Pontificia Universidad Católica del Perú (DGI - PUCP) y al Concytec (PROCYT 188-2005) por brindarme la beca de estudios de maestría 2004-2005. Sin la contribución de estas grandes entidades quizás no hubiera podido hacer lo que realmente me gusta.

Deseo agradecer especialmente a la Dra. Nadia Gamboa Fuentes por su confianza y por su asesoramiento científico; quien además no sólo cumplió como asesora sino también como una gran amiga.

Agradezco profundamente el apoyo del Dr. Carlos Tavares Corrêa, por sus enseñanzas, y a todos los profesores de la Sección Química quienes fueron guiando mis conocimientos y el camino que he seguido.

Agradezco a Natalia Vinelli, Evelyn Quispe y el Dr. Luis Chirinos quienes siempre colaboraron conmigo y un especial agradecimiento al Sr. Angel Chuquihuanca, quien colaboró con el trabajo de muestreo. A Carmen Alvarez Agüero por su apoyo con el equipo de HPLC y su gran paciencia.

Agradezco a Christian Jacinto y Patricia López P. por su amistad, por sus asesorías y consejos que siempre tendré presente.

Agradezco a mis padres Zósimo y Esperanza, quienes siempre apoyan mis decisiones y colaboran conmigo en todo momento, mis hermanos Johan y Evelyn quienes son mi fuerza, y ahora tres personas en especial, Joaquín y Gabriel, mis hijos, y Oscar, mi esposo, que son el motivo de mi vida.

## *El científico que quería "arreglar" el mundo*

*Un científico, que vivía preocupado con los problemas del mundo, estaba resuelto a encontrar los medios para aminorarlos. Pasaba días en su laboratorio en busca de respuestas para sus dudas. Cierta día, su hijo de 7 años invadió su santuario decidido a ayudarlo a trabajar. El científico, nervioso por la interrupción, le pidió al niño que fuese a jugar a otro lado. Viendo que era imposible sacarlo, el padre pensó en algo que pudiese darle con el objetivo de distraer su atención. De repente se encontró con una revista, en donde había un mapa con el mundo, justo lo que precisaba. Con unas tijeras recortó el mapa en varios pedazos y junto con un rollo de cinta se lo entregó a su hijo diciendo:*

*- "Como te gustan los rompecabezas, te voy a dar el mundo todo roto para que lo repares sin ayuda de nadie". Entonces calculó que al pequeño le llevaría 10 días componer el mapa, pero no fue así. Pasadas algunas horas, escuchó la voz del niño que lo llamaba calmadamente. - "Papá, papá, ya hice todo, conseguí terminarlo". Al principio el padre no creyó en el niño. Pensó que sería imposible que a su edad haya conseguido recomponer un mapa que jamás había visto antes. Desconfiado, el científico levantó la vista de sus anotaciones con la certeza de que vería el trabajo digno de un niño. Para su sorpresa, el mapa estaba completo. Todos los pedazos habían sido colocados en sus debidos lugares. ¿Cómo era posible? ¿Cómo el niño había sido capaz de hacerlo? De esta manera el padre preguntó con asombro a su hijo:*

*- "Hijito, tu no sabías como era el mundo, ¿cómo lo lograste?*

*- Papa, respondió el niño, yo no sabia como era el mundo, pero cuando sacaste el mapa de la revista para recortarlo vi que del otro lado estaba la figura de un hombre.*

*Así que di vuelta los recortes y comencé a recomponer al hombre, que sí sabía cómo era. Cuando conseguí arreglar al hombre, di vuelta la hoja y vi que había arreglado al mundo.*

*Gabriel García Márquez*

## RESUMEN

Los compuestos orgánicos persistentes (COPs) como los pesticidas organoclorados, bifenilos policlorados (PCBs) y los hidrocarburos policíclicos aromáticos (PAHs) son sustancias de características hidrofóbicas, es decir, poco solubles en medios acuosos. Además, presentan gran resistencia química y biológica y, cuando son liberados al medio ambiente, tienden a ingresar a la cadena trófica y, en consecuencia, se magnifican y acumulan en diversos ecosistemas. Los materiales de características lipídicas son fuentes de acumulación de estos compuestos orgánicos. Diversos estudios de estas sustancias en alimentos y seres humanos comprueban su acumulación y muy lenta eliminación. Muchas de estas sustancias demostraron ser carcinógenas y neurotóxicas.

Con la finalidad de demostrar la dinámica de circulación y acumulación de algunos de estos compuestos, como los hidrocarburos policíclicos aromáticos, se realizaron estudios en este trabajo en muestras de aguas y suelos. De acuerdo a las propiedades que presentan estos compuestos, se acumulan en zonas remotas frías, como la Cordillera Central de los Andes Peruanos, por ejemplo en Ticlio. En este lugar se pudo comprobar que la presencia de algunos PAHs en aguas disminuye conforme aumenta el carácter hidrofóbico, y aumenta en suelos, debido a sus características químicas, esto también relacionado con la altitud, comprobando así la teoría del transporte translatitudinal o efecto de condensación fría.

Este trabajo también implementó una metodología para el estudio de los hidrocarburos policíclicos aromáticos en muestras de aguas y suelos, basada en la extracción con solventes por separación cromatográfica (HPLC con arreglo de diodos), utilizando estándares certificados para la evaluación de algunos parámetros de calidad analítica y la calibración.

## ÍNDICE

### 1. FUNDAMENTO TEÓRICO

#### 1.1 Compuestos Orgánicos Persistentes (COPs)

|  |    |
|--|----|
| 1.1.1 Clasificación .....              | 2  |
| 1.1.2 Características y propiedades .. | 7  |
| 1.1.3 Distribución .....               | 10 |

#### 1.2 Hidrocarburos Policíclicos Aromáticos (PAHs)

|  |    |
|--|----|
| 1.2.1 Clasificación.....                                       | 11 |
| 1.2.2 Propiedades físicas y químicas..                         | 12 |
| 1.2.3 Fuentes de PAHs en el ambiente.....                      | 15 |
| 1.2.4 Presencia de PAHs en el ambiente.....                    | 17 |
| 1.2.5 Aplicaciones de PAHs en la industria ..                  | 21 |
| 1.2.6 Toxicidad de los PAHs y sus efectos sobre la salud ..... | 22 |

#### 1.3 Muestreo Ambiental

|  |    |
|--|----|
| 1.3.1 Muestreo aleatorio simple .....        | 25 |
| 1.3.2 Muestreo aleatorio estratificado ..... | 26 |
| 1.3.3 Muestreo aleatorio sistemático.....    | 26 |
| 1.3.4 Muestreo aleatorio compuesto .....     | 26 |

#### 1.4 Análisis de PAHs

|  |    |
|--|----|
| 1.4.1. Métodos de extracción para muestras ambientales..             | 27 |
| 1.4.2. Métodos de purificación y limpieza del extracto de PAHs ..... | 28 |

#### 1.5 Cromatografía Líquida

|   |    |
|---|----|
| 1.5.1 Cromatografía líquida de alta resolución .. | 29 |
| 1.5.2 Fase móvil y fase estacionaria..            | 29 |
| 1.5.3 Detectores .....                            | 32 |

#### 1.6 Estandarización o Validación del Método Cromatográfico

|   |    |
|---|----|
| 1.6.1 Características fundamentales de la validación..... | 34 |
| 1.6.2 Control de calidad de datos analíticos.....         | 36 |

#### 1.7 Tratamiento de Datos Analíticos Ambientales

|  |    |
|--|----|
| 1.7.1 Análisis multivariante - análisis de componentes principales ..... | 38 |
|--|----|

#### 1.8 Justificación del Problema .....

#### 1.9 Objetivos

|                                   |    |
|-----------------------------------|----|
| 1.9.1 Objetivos generales .....   | 42 |
| 1.9.2 Objetivos específicos ..... | 42 |

### 2. PARTE EXPERIMENTAL

#### 2.1 Plan de Muestreo

|  |    |
|--|----|
| 2.1.1 Área de estudio .....                | 43 |
| 2.1.2 Diseño y cronograma de muestreo..... | 46 |

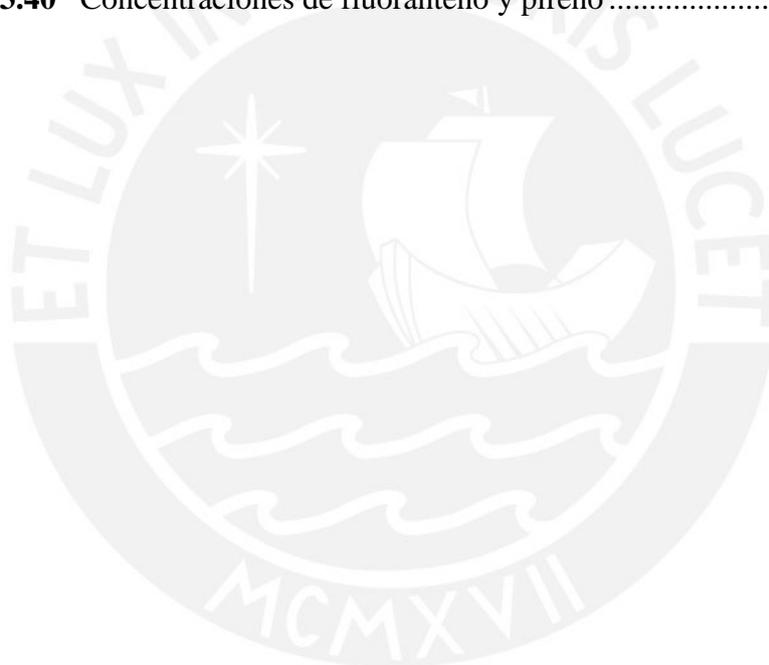
|            |   |     |
|------------|---|-----|
| <b>2.2</b> | <b>Consideraciones Analíticas para Muestras Ambientales</b> |     |
| 2.2.1      | Recipientes de muestreo .....                               | 47  |
| 2.2.2      | Conservación de la muestra .....                            | 49  |
| <b>2.3</b> | <b>Tipos de Muestras y Características</b>                  |     |
| 2.3.1      | Muestras de agua.....                                       | 50  |
| 2.3.2      | Muestras de suelo .....                                     | 50  |
| <b>2.5</b> | <b>Análisis Químico</b>                                     |     |
| 2.5.1      | Preparación de soluciones estándares .....                  | 52  |
| 2.5.2      | Método de extracción para muestras de aguas.....            | 52  |
| 2.5.3      | Método de extracción para muestras de suelo.....            | 54  |
| 2.5.4      | Limpieza del extracto de PAHs.....                          | 56  |
| 2.5.5      | Concentración del extracto de PAHs.. ..                     | 58  |
| 2.5.6      | Determinación por cromatografía líquida - HPLC.....         | 59  |
| <b>2.6</b> | <b>Estandarización del Método Cromatográfico.</b> .....     | 59  |
| <b>3.</b>  | <b>DISCUSIÓN DE RESULTADOS</b>                              |     |
| <b>3.1</b> | <b>Estandarización del Método Cromatográfico HPLC</b>       |     |
| 3.1.1      | Linealidad del método.....                                  | 62  |
| 3.1.2      | Límite de cuantificación, límite de detección .. ..         | 64  |
| 3.1.3      | Precisión.....  | 66  |
| 3.1.4      | Reproducibilidad.....                                       | 72  |
| 3.1.5      | Exactitud .....   | 74  |
| 3.1.6      | Curva de calibración .....                                  | 77  |
| <b>3.2</b> | <b>Evaluación de Datos de Garantía</b>                      |     |
| 3.2.1      | Enfoque prescriptivo .....                                  | 87  |
| 3.2.2      | Enfoque basado en el rendimiento .....                      | 89  |
| <b>3.3</b> | <b>Análisis de Muestras</b>                                 |     |
| 3.3.1      | Interpretación preliminar de datos analíticos .....         | 96  |
| 3.3.2      | Análisis y pretratamiento de datos analíticos .....         | 103 |
| 3.3.3      | Análisis de componentes principales.. ..                    | 108 |
| 3.3.4      | Evaluación con sistemas de información geográfica.. ..      | 117 |
| <b>4.</b>  | <b>CONCLUSIONES</b>   |     |
| <b>5.</b>  | <b>RECOMENDACIONES</b>                                      |     |
| <b>6.</b>  | <b>REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b>                           |     |
|            | <b>ANEXOS</b>   |     |

## ÍNDICE DE FIGURAS

|                    |   |    |
|--------------------|---|----|
| <b>Figura 1.1</b>  | Estructuras químicas de plaguicidas organoclorados...   | 3  |
| <b>Figura 1.2</b>  | Estructura del DDT y sus compuestos de degradación...   | 4  |
| <b>Figura 1.3</b>  | Estructura química de PCBs.                             | 5  |
| <b>Figura 1.4</b>  | Estructuras químicas de PAHs.                           | 6  |
| <b>Figura 1.5</b>  | Proceso de deposición global                            | 10 |
| <b>Figura 1.6</b>  | Clasificación de PAHs como alternados y no alternados   | 12 |
| <b>Figura 1.7</b>  | Estructura de 4,9 dihidroxiperileno-3,10- quinona       | 17 |
| <b>Figura 2.1</b>  | Zona de nevados y lagunas de Ticlio                     | 43 |
| <b>Figura 2.2</b>  | Puntos reales de las estaciones de muestreo             | 44 |
| <b>Figura 2.3</b>  | Estación E1- Ticlio 1                                   | 45 |
| <b>Figura 2.4</b>  | Estación E2- Ticlio 2                                   | 45 |
| <b>Figura 2.5</b>  | Estación E3- Chicla I                                   | 45 |
| <b>Figura 2.6</b>  | Estación E4- Anchi I                                    | 45 |
| <b>Figura 2.7</b>  | Estación E5- Tamboraque I                               | 46 |
| <b>Figura 2.8</b>  | Estación E6- Puente Los Ángeles                         | 46 |
| <b>Figura 2.9</b>  | Envases para muestreo de agua                           | 48 |
| <b>Figura 2.10</b> | Envases para muestreo de suelos                         | 49 |
| <b>Figura 2.11</b> | Extracción de PAHs en muestras de agua                  | 53 |
| <b>Figura 2.12</b> | Extracción líquido-líquido                              | 54 |
| <b>Figura 2.13</b> | Sistema de destilación simple                           | 54 |
| <b>Figura 2.14</b> | Extracción de PAHs en muestras de suelo                 | 55 |
| <b>Figura 2.15</b> | Extracción Soxhlet                                      | 56 |
| <b>Figura 2.16</b> | Procesos de limpieza de extracto de PAHs                | 57 |
| <b>Figura 2.17</b> | Cromatografía líquida en columna con sílica gel         | 58 |
| <b>Figura 2.18</b> | Concentración del extracto de PAHs                      | 58 |
| <b>Figura 3.1</b>  | Variabilidad de metodologías usadas para aguas y suelos | 71 |
| <b>Figura 3.2</b>  | Exactitud para muestras de aguas y suelos               | 76 |
| <b>Figura 3.3</b>  | Curva de calibración para naftaleno                     | 78 |
| <b>Figura 3.4</b>  | Curva de calibración para acenaftileno                  | 78 |
| <b>Figura 3.5</b>  | Curva de calibración para acenafteno                    | 79 |
| <b>Figura 3.6</b>  | Curva de calibración para fluoreno                      | 79 |

|                    |  |     |
|--------------------|--|-----|
| <b>Figura 3.7</b>  | Curva de calibración para fenantreno .....   | 80  |
| <b>Figura 3.8</b>  | Curva de calibración para antraceno .....  | 80  |
| <b>Figura 3.9</b>  | Curva de calibración para fluoranteno.....   | 81  |
| <b>Figura 3.10</b> | Curva de calibración para pireno.....  | 81  |
| <b>Figura 3.11</b> | Curva de calibración para benzo[a]antraceno .....  | 82  |
| <b>Figura 3.12</b> | Curva de calibración para criseno .....  | 82  |
| <b>Figura 3.13</b> | Curva de calibración para benzo[b]fluoranteno .....  | 83  |
| <b>Figura 3.14</b> | Curva de calibración para benzo[k]fluoranteno .....  | 83  |
| <b>Figura 3.15</b> | Curva de calibración para benzo[a]pireno.....  | 84  |
| <b>Figura 3.16</b> | Curva de calibración para dibenzo[a,h]antraceno .....  | 84  |
| <b>Figura 3.17</b> | Curva de calibración para benzo[g,h,i]piroleno .....   | 85  |
| <b>Figura 3.18</b> | Gráfica de control del fluoreno .....  | 89  |
| <b>Figura 3.19</b> | Gráfica de control del antraceno.....  | 90  |
| <b>Figura 3.20</b> | Gráfica de control del fluoreno.....   | 90  |
| <b>Figura 3.21</b> | Gráfica de control del antraceno.....  | 91  |
| <b>Figura 3.22</b> | Aceites y lubricantes en E5, E6 y E4 .....   | 95  |
| <b>Figura 3.23</b> | Porcentaje de distribución o movilidad de PAHs. Muestras de agua -<br>Septiembre del 2006 .....              | 96  |
| <b>Figura 3.24</b> | Porcentaje de distribución o movilidad de PAHs. Muestras de agua-<br>Noviembre del 2006.....                 | 97  |
| <b>Figura 3.25</b> | Porcentaje de distribución o movilidad de PAHs. Muestras de agua-<br>Marzo del 2007 .....                    | 98  |
| <b>Figura 3.26</b> | Concentración de PAHs. Muestras de agua-set.2006/nov. 2006/marzo<br>2007 .....                               | 99  |
| <b>Figura 3.27</b> | Porcentaje de distribución o movilidad de PAHs. Muestras de suelo-<br>Septiembre del 2006 .....              | 100 |
| <b>Figura 3.28</b> | Porcentaje de distribución o movilidad de los PAHs. Muestras de<br>suelo- Noviembre del 2006.....            | 101 |
| <b>Figura 3.29</b> | Porcentaje de distribución o movilidad de los PAHs. Muestras de<br>suelo-Marzo 2007 .....                    | 102 |
| <b>Figura 3.30</b> | Porcentaje de distribución o movilidad de los PAHs. Muestras de<br>suelo-set. 2006/nov. 2006/marzo 2007..... | 102 |

|   |     |
|---|-----|
| <b>Figura 3.31</b> Gráfica de sedimentación de los autovalores para 16 componentes principales..... | 109 |
| <b>Figura 3.32</b> Gráficos de dispersión de medias de las coordinaciones de puntuaciones .....     | 111 |
| <b>Figura 3.33</b> Gráfico de dispersión de las coordinaciones de cargas .....                      | 113 |
| <b>Figura 3.34</b> Influencia del origen de PAHs por períodos de muestreo .....                     | 115 |
| <b>Figura 3.35</b> Influencia del origen de PAHs por tipo de muestra.....                           | 116 |
| <b>Figura 3.36</b> Influencia del origen de PAHs por estaciones de muestreo .....                   | 116 |
| <b>Figura 3.37</b> Estaciones de muestreo.....  | 117 |
| <b>Figura 3.38</b> Concentraciones de fluoranteno, pireno, fenantreno y antraceno .                 | 118 |
| <b>Figura 3.39</b> Concentraciones de fluoranteno, pireno .....                                     | 119 |
| <b>Figura 3.40</b> Concentraciones de fluoranteno y pireno .....                                    | 120 |



## INDICE DE TABLAS

|                   |  |     |
|-------------------|--|-----|
| <b>Tabla 1.1</b>  | Valores de presión de vapor $P_v$ , coeficiente de partición octanol-aire $K_{OA}$ y temperatura de condensación $T_C$ de COPs.....  | 8   |
| <b>Tabla 1.2</b>  | Clasificación de los contaminantes en cuatro categorías de acuerdo a la movilidad en el ambiente global basada en $P_v$ , $K_{OA}$ y $T_C$ de contaminantes específicos..... | 9   |
| <b>Tabla 1.3</b>  | Propiedades físicas y químicas de 16 PAHs. ....  | 14  |
| <b>Tabla 1.4</b>  | Mecanismos de dispersión de los PAHs en la atmósfera.....  | 19  |
| <b>Tabla 1.5</b>  | Concentraciones de benzo[a]pireno en diversos alimentos .....  | 20  |
| <b>Tabla 1.6</b>  | Límites máximos permisibles de PAHs. ....  | 22  |
| <b>Tabla 1.7</b>  | Potencial carcinógeno relativo al benzo[a]pireno.....  | 23  |
| <b>Tabla 1.8</b>  | Factor de toxicidad equivalente relativo al benzo[a]pireno.....  | 23  |
| <b>Tabla 1.9</b>  | Condiciones cromatográficas para análisis de PAHs por HPLC. ....   | 31  |
| <b>Tabla 2.1</b>  | Ubicación de las estaciones de muestreo. ....  | 44  |
| <b>Tabla 2.2</b>  | Cronograma de muestreo . ....  | 47  |
| <b>Tabla 2.3</b>  | Características de las muestras de aguas .....   | 50  |
| <b>Tabla 2.4</b>  | Características de las muestras de suelo.....  | 51  |
| <b>Tabla 2.5</b>  | Programa de elución HPLC .....   | 59  |
| <b>Tabla 2.6</b>  | Concentraciones para evaluar linealidad y curva de calibración ....  | 60  |
| <b>Tabla 3.1</b>  | Condiciones para evaluar la linealidad .....   | 62  |
| <b>Tabla 3.2</b>  | Parámetros de evaluación de la linealidad .....  | 63  |
| <b>Tabla 3.3</b>  | Límite de detección y límite de cuantificación .....   | 66  |
| <b>Tabla 3.4</b>  | Áreas cromatográficas de PAHs .....  | 67  |
| <b>Tabla 3.5</b>  | Precisión instrumental.....  | 68  |
| <b>Tabla 3.6</b>  | Precisión del método .....   | 70  |
| <b>Tabla 3.7</b>  | Evaluación de la reproducibilidad .....  | 73  |
| <b>Tabla 3.8</b>  | Evaluación de la exactitud del método.....   | 75  |
| <b>Tabla 3.9</b>  | Soluciones estándar para la curva de calibración.....  | 77  |
| <b>Tabla 3.10</b> | Parámetros de calibración .....  | 85  |
| <b>Tabla 3.11</b> | Linealidad, repetibilidad y sensibilidad analítica.....  | 87  |
| <b>Tabla 3.12</b> | Concentración de PAHs en muestras de aguas .....   | 92  |
| <b>Tabla 3.13</b> | Concentración de PAHs en muestras de suelos .....  | 93  |
| <b>Tabla 3.14</b> | Parámetros estadísticos para concentraciones de agua y suelo.....  | 104 |

|                   |  |     |
|-------------------|--|-----|
| <b>Tabla 3.15</b> | Normalización de datos obtenidos en muestras de agua .....                                 | 106 |
| <b>Tabla 3.16</b> | Normalización de datos obtenidos en muestras de suelo .....                                | 107 |
| <b>Tabla 3.17</b> | Componentes principales de datos transformados y autoescalados de la matriz de datos ..... | 109 |



## LISTADO DE ANEXOS

|                |  |     |
|----------------|--|-----|
| <b>Anexo 1</b> | Formato de control de muestreo .....   | 138 |
| <b>Anexo 2</b> | Clasificación de sustancias químicas según la Agencia Internacional de Investigación del Cáncer..... | 139 |
| <b>Anexo 3</b> | Certificado de soluciones patrón .....   | 140 |



## ABREVIATURAS

|                  |   |
|------------------|---|
| a                | Pendiente de la curva de calibración                                      |
| ATSDR            | Agency for Toxic Substances and Disease Registry                          |
| b'               | Ordenada en el origen de la curva de calibración                          |
| %CV              | Coefficiente de variación   |
| CEPIS            | Centro Panamericano de Ingeniería Sanitaria y de Ciencias del Ambiente    |
| CP               | Componentes principales   |
| CG               | Cromatografía de gases  |
| COPs             | Compuestos orgánicos persistentes   |
| EPA              | Environmental Protection Agency   |
| FID              | Detector de ionización de flama   |
| IEA              | International Energy Agency   |
| IQR              | Rango intercuartílico   |
| L.A.S            | Límite de alerta superior   |
| L.A.I            | Límite de alerta inferior   |
| L.C.S            | Límite de control superior  |
| L.C.I            | Límite de control inferior  |
| LC               | Límite de cuantificación  |
| m                | Pendiente de la ecuación de la recta                                      |
| n                | Número de pares de datos  |
| NIOSH            | Instituto Nacional de Seguridad Ocupacional y Salud de los Estados Unidos |
| NO <sub>x</sub>  | Óxidos de nitrógeno   |
| OMS              | Organización Mundial de Salud   |
| OSHA             | Occupation Safety and Health Administration                               |
| PAHs             | Hidrocarburos policíclicos aromáticos                                     |
| PCBs             | Bifenilos policlorados  |
| PCA              | Análisis de componentes principales                                       |
| PM <sub>10</sub> | Material particulado menor a 10 µm  |
| PUF              | Espuma de poliuretano   |
| Q <sub>1</sub>   | Primer cuartil  |

|           |  |
|-----------|--|
| $Q_3$     | Tercer cuartil   |
| $\sigma$  | Desviación estándar  |
| $S_a$     | Desviación estándar de la pendiente en la curva de calibración             |
| $S_{b'}$  | Desviación estándar de la ordenada en el origen de la curva de calibración |
| $S_b$     | Desviación estándar de la respuesta a concentración cero                   |
| $S_m$     | Desviación estándar de la pendiente  |
| $S_{y/x}$ | Desviación de la calibración o regresión                                   |
| $\mu$     | Valor medio esperado   |
| $X_i$     | Variable   |
| $\bar{X}$ | Media de los datos   |
| $Y_b$     | Respuesta de la ecuación de la recta a concentración cero                  |
| $Y$       | respuesta de la ecuación de la recta                                       |
| $Z$       | Variable normalizada   |

## 1. FUNDAMENTO TEÓRICO

Desde el siglo XX se viene dando un acelerado crecimiento industrial con el objetivo de mejorar nuestra calidad de vida y facilitar los medios de producción. En consecuencia, hay efectos positivos y negativos, como el progreso y el incremento de las concentraciones de diversos contaminantes en el medio ambiente, respectivamente.

Entre las posibles fuentes de contaminación natural se encuentran los derivados del petróleo, que constituyen la fuente de producción más importante de hidrocarburos policíclicos aromáticos (PAHs). Otras fuentes de contaminación antropogénicas son la producción y el uso de contaminantes orgánicos para la práctica agrícola (pesticidas) y diversas actividades industriales, como la fabricación de aceites dieléctricos, los cuales son responsables de la producción de bifenilos policlorados (PCBs). Estos compuestos orgánicos tienen gran implicancia, debido a los efectos nocivos que ocasionan sobre el ambiente y la salud humana, causando desde ligeros mareos hasta daños genéticos y cáncer<sup>1,2,3</sup>.

Se han realizado distintos estudios para la determinación de compuestos orgánicos persistentes en zonas remotas o alejadas de la influencia antrópica. Se realizan en estas zonas debido a las características fisicoquímicas de estas sustancias, a su persistencia y a los puntos de acumulación de estos compuestos. Así, el desafío a escala mundial es evaluar estos contaminantes en zonas alejadas de los focos de contaminación antropogénicas de acuerdo a la hipótesis del transporte de estos compuestos orgánicos<sup>1,4</sup>.

Con el fin de identificar los mecanismos de transporte y tomar decisiones a futuro, en Canadá se trabaja arduamente<sup>4,5,6</sup> en fenómenos de transporte global de estos compuestos orgánicos hacia las zonas frías como son los casquetes polares.

En el ámbito sudamericano, en diciembre de 2002 se presentó un informe regional sobre la evaluación de sustancias tóxicas persistentes al Programa de las Naciones Unidas para el Medio Ambiente<sup>2</sup>, donde la información que proporcionó el Perú

fue escasa. En el 2007 se puso en marcha el “Plan Nacional de Implementación del Convenio de Estocolmo sobre Contaminantes Orgánicos Persistentes (COPs) en el Perú”.

## 1.1 Compuestos Orgánicos Persistentes (COPs)

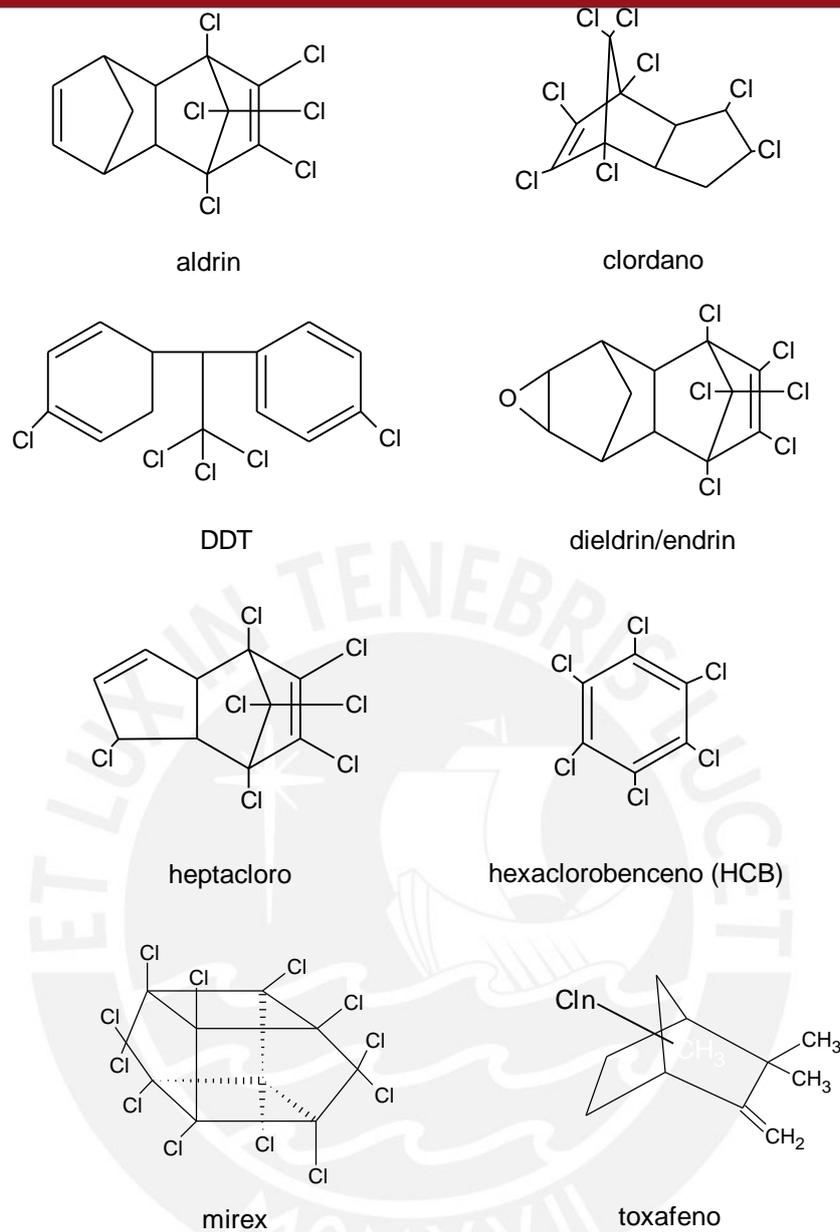
Los COPs<sup>7</sup> son aquellas sustancias de alta toxicidad causantes de efectos negativos sobre los seres humanos y el ambiente. Poseen características que los hacen persistentes, como la resistencia a las degradaciones fotolítica, química y biológica, su baja solubilidad en agua y alta en lípidos. Por esta última propiedad son bioacumulables en los tejidos adiposos<sup>8</sup> de los organismos vivos. Debido a su semivolatilidad, pueden transportarse en concentraciones bajas en los cuerpos de aguas y en la atmósfera y se depositan en regiones muy distantes de la fuente originaria, dando lugar a una amplia distribución en todo el planeta.

### 1.1.1 Clasificación

Los COPs se pueden diferenciar en tres grandes grupos<sup>1,9,10,11</sup>:

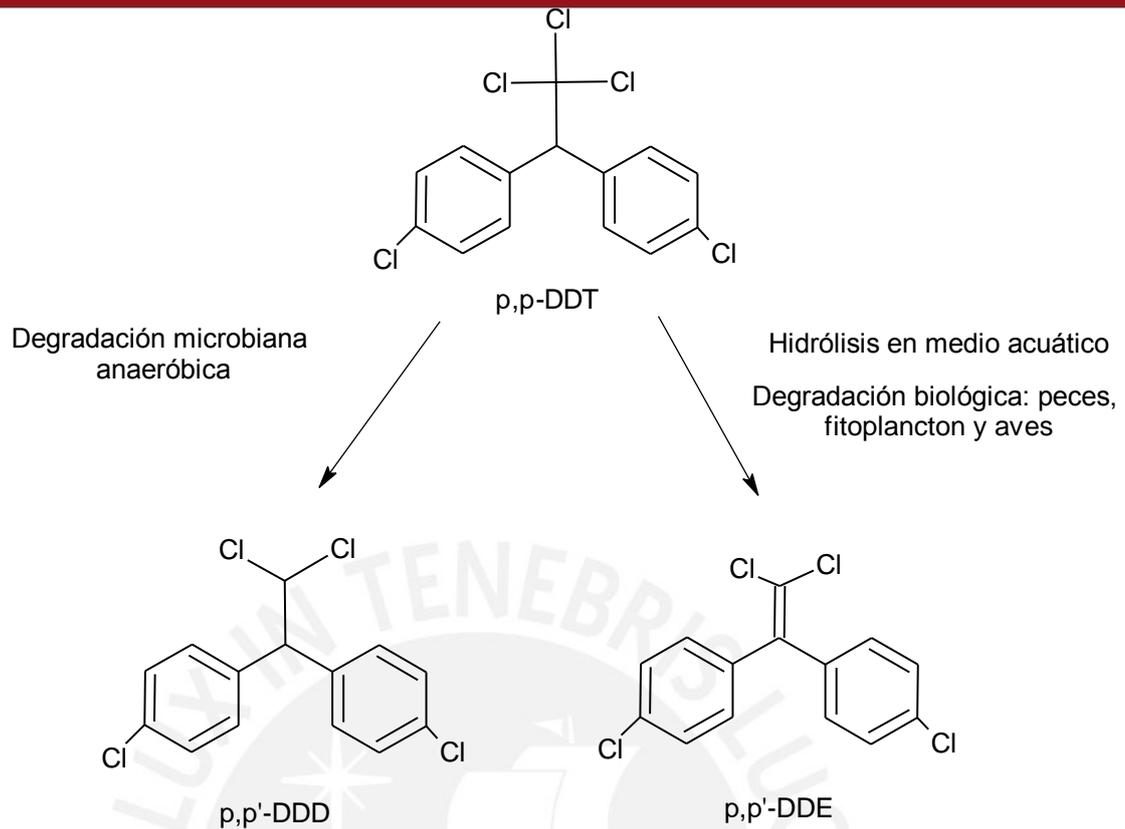
#### a) Plaguicidas o pesticidas organoclorados<sup>10</sup>

Entre 1950 y 1960 se originó la mayor demanda por plaguicidas organoclorados a nivel mundial. Muchos de los plaguicidas son venenosos no sólo para las plagas para las cuales fueron diseñados sino, también, para otras formas de vida, lo que incluye a los seres humanos. Entre estos compuestos están aldrin, clordano, dicloro difenil tricloroetano (DDT), dieldrin, endrin, heptacloro, hexaclorobenceno (HCB), mirex y toxafeno, cuyas estructuras se muestran en la *figura 1.1*.



**Figura 1.1 Estructuras químicas de plaguicidas organoclorados**

Algunos plaguicidas, como los insecticidas organofosforados, se desintegran con facilidad en el suelo por la acción del calor y la luz solar. En cambio, otros plaguicidas como los organoclorados y aquellos que contienen metales pesados, son resistentes en el ambiente por largo tiempo (más de un año) o se desintegran en sustancias más persistentes aún. Un ejemplo del proceso de degradación para el DDT se muestra en la [figura 1.2](#). En el ambiente, este se acumula en los tejidos adiposos de los organismos vivos, debido a lo cual ha causado graves problemas ecotoxicológicos, toxicológicos y se ha prohibido su propósito agrícola.



**Figura 1.2 Estructura del DDT y sus compuestos de degradación<sup>11</sup>.**

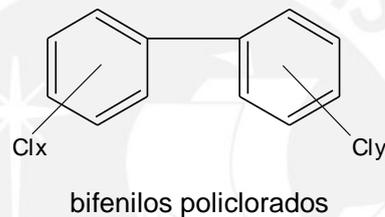
En el Perú desde el año 1991 existen normas de carácter general que prohíben el uso y comercialización de algunos plaguicidas; así, el decreto supremo N° 037-91-AG(12.09.91) manifiesta, “Prohibición total de Aldrín, Endrín, Dieldrín, BCH/HCH, Heptacloro, Canfecloro/toxafeno, 2,4,5-T y DDT así como los derivados y compuestos que con ellos se pueden formular. Restricción de los plaguicidas arsenicales sólo para ser usados en los cultivos de algodón”.

### b) Productos químicos industriales

Los COPs utilizados en la industria como insumos químicos son los PCBs. Constituyen una de las familias de hidrocarburos clorados y se fabrican comercialmente mediante la cloración progresiva del difenilo<sup>9</sup> (figura 1.3), en presencia de un catalizador apropiado. Estos compuestos son utilizados en el comercio desde 1930, en termocambidores, capacitores, transmisor hidráulico,

como líquidos de transferencia de calor, como adhesivos de pinturas, en papel de copia sin carbón y plásticos<sup>10</sup>.

Tienen distintos nombres comerciales como: Aroclor (EU), Phenochlor (Francia), Kanechlor (Japón). Su gran aplicabilidad industrial es debida a su inactividad química, termorresistencia, incombustibilidad, baja presión de vapor (sobre todo, en los más clorados) y su elevada constante dieléctrica. Asimismo, cada fabricante tiene su propio sistema de identificación del compuesto. Por ejemplo, en la serie Aroclor, Aroclor 1260, indica que se trata de un bifenilo con doce átomos de carbono y con un contenido de cloro de un 60%. La cloración del difenilo puede producir la sustitución hasta de 10 átomos de hidrógeno por átomos de cloro. Se ha calculado que es posible producir 210 difenilos diferentes con distinto contenido de cloro.



**Figura 1.3 Estructura química de PCBs**

### c) Subproductos de otros procesos

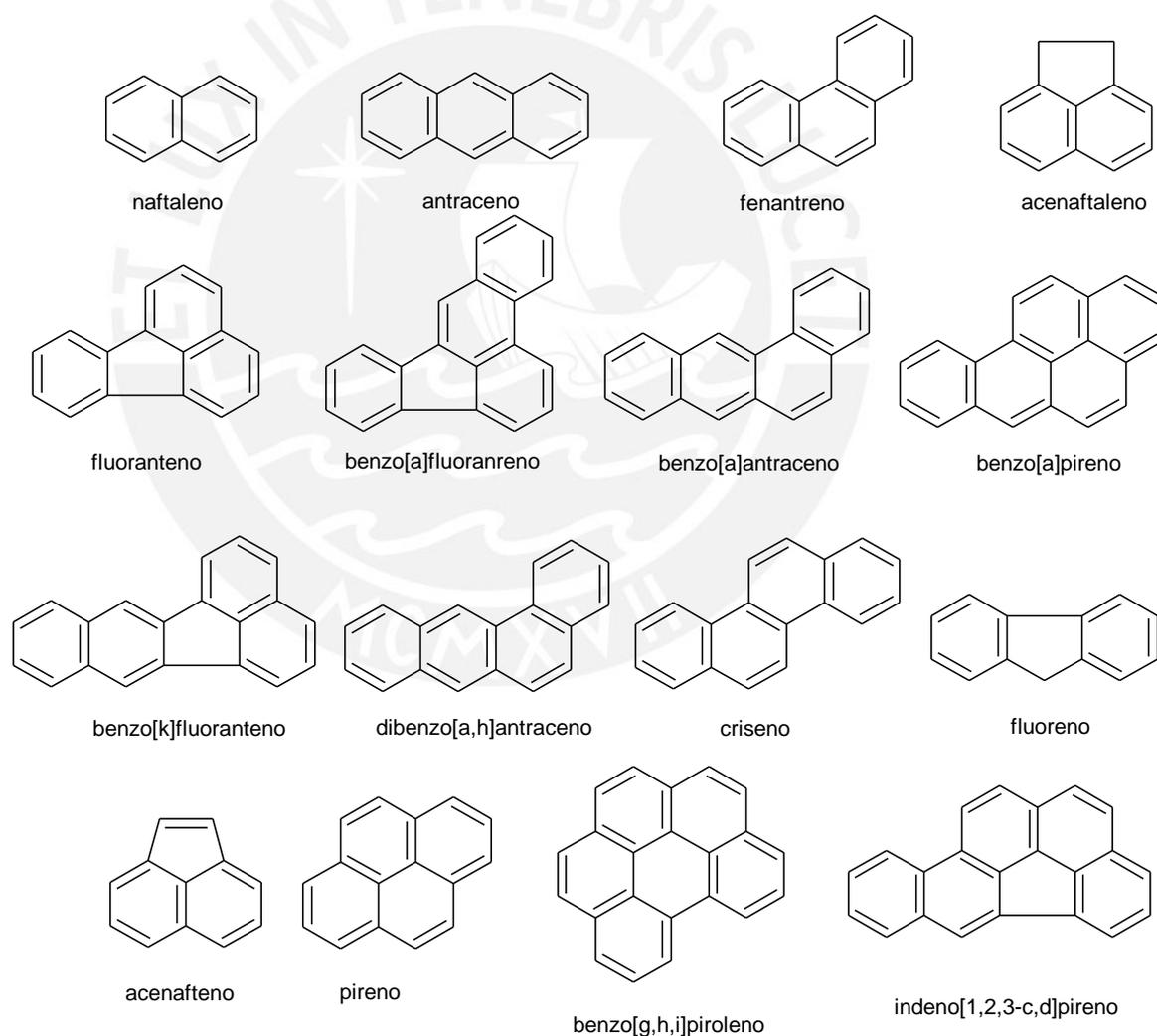
Las sustancias que no se producen intencionalmente son consideradas subproductos indeseables como las dioxinas, los furanos y los PAHs.

Algunas sustancias, como las policlorodibenzo-*p*-dioxinas (PCDD) y los policlorodibenzofuranos (PCDF), se generan de forma no intencional por la combustión incompleta de materiales clorados como el policloruro de vinilo (PVC), así como durante la fabricación de algunos plaguicidas y otros productos químicos. Las fuentes son la quema de residuos sólidos en las áreas urbanas y rurales, las quemadas a cielo abierto en botaderos de basura, los incendios forestales, la fabricación de papel, plástico, vidrios y las plantas térmicas.

Los PAHs forman un amplio grupo de compuestos orgánicos caracterizados por dos o más anillos bencénicos acoplados entre sí o junto a otros ciclos no

aromáticos con los que comparten dos átomos de carbono. Algunos compuestos típicos son fluoreno, naftaleno y antraceno.

Estos PAHs provienen de la combustión incompleta de ciertos compuestos orgánicos, así como por la biosíntesis promovida en algunas bacterias, algas e incluso plantas superiores. Suelen ser poco solubles en aguas y se acumulan principalmente en arcillas, sedimentos del fondo del agua y suelos. Algunos de estos compuestos son<sup>27</sup> naftaleno, antraceno, acenaftaleno, fluoreno, fenantreno, fluoranteno, benzo[a]antraceno, benzo[b]fluoranteno, benzo[a]pireno, benzo[a,h]antraceno, benzo[g,h,i]piroleno, acenafteno, pireno, criseno, benzo[k]fluoranteno, indeno[1,2,3-c,d]pireno. Sus estructuras químicas se muestran en la *figura 1.4*.



**Figura 1.4 Estructuras químicas de PAHs**

## 1.1.2 Características y propiedades

Una vez liberados al ambiente, los PAHs no se descomponen con facilidad y pueden permanecer por largos períodos, ya que pueden circular fácilmente en el aire, agua y suelo<sup>10,12</sup>. Por ejemplo, los PCBs podrían ingresar al aire por evaporación desde agua y suelo. Cuando se encuentran en el aire pueden transportarse a distancias lejanas, así se les puede encontrar en nieve, agua y suelos de áreas muy lejanas de donde se vertieron. Estudios recientes los reportan en los Alpes europeos<sup>25</sup>, las montañas del oeste de Canadá<sup>15</sup> y el ártico<sup>69</sup>.

Pero, ¿cómo relacionar las características químicas de estos compuestos y el transporte global y la acumulación de los mismos en zonas de climas fríos? Wania y Mackay<sup>1</sup> (1996) establecieron ciertos criterios. Uno de los criterios a tomar en cuenta es la presión de vapor de estos compuestos a 25 °C. Esta presión de vapor describe la tendencia que tienen los líquidos y sólidos para pasar a fase gas, es decir, los líquidos por evaporación y los sólidos por sublimación. Otro criterio es el coeficiente de reparto octanol-aire,  $K_{OA}$ , definido como la relación de concentración de cierta sustancia que se distribuye entre octanol y aire, al establecerse un equilibrio entre estas dos fases. Además, tomaron en cuenta la temperatura de condensación de estos compuestos. Las características para algunos compuestos orgánicos persistentes se presentan en la [tabla 1.1](#).

Al tomar en cuenta estos criterios se puede distinguir cuatro grandes grupos divididos según sus presiones de vapor. El primer grupo se caracteriza por una presión de vapor mayor a 1 Pa. Estos compuestos muestran poca tendencia a condensar a temperaturas ambientales. Compuestos con presión de vapor de 1 - 0,01 Pa condensan a temperaturas cercanas a -30 °C, es decir, generalmente se depositan en las zonas polares. El otro grupo tiene una presión de vapor entre 0,01 y 0,0001 Pa, los compuestos condensan a temperaturas superiores a 0 °C y tienden a depositarse en latitudes medias. Por último, se tiene a los de baja volatilidad que poseen una presión de vapor líquida menor que 0,0001 Pa; estos

no se evaporan o se evaporan muy poco y generalmente se depositan en zonas cercanas a la fuente de emisión.

**Tabla 1.1** Valores de presión de vapor  $P_v$ , coeficiente de partición octanol-aire  $K_{OA}$  y temperatura de condensación  $T_c$  de COPs<sup>7</sup>

| COMPUESTO  |   | log $P_v$ (Pa) | log $K_{OA}$ | $T_c$ (°C) |
|------------|---|----------------|--------------|------------|
| PAHs       | naftaleno                                   | 1,6            | 5,1          |            |
|            | antraceno                                   | -1,1           | 7,3          | -33        |
|            | pireno                                      | -1,9           | 8,6          | -15        |
|            | fluoranteno                                 | -2,1           | 8,6          | -10        |
|            | criseno                                     | -4,0           | 10,4         |            |
|            | benzo[a]antraceno                           | -3,2           | 9,5          | 12         |
|            | benzo[a]pireno                              | -4,7           | 10,8         | 47         |
| PCBs       | 2,4,4'-C <sub>3</sub> B(# 28)               | -1,5           | 7,8          | -22        |
|            | 2,2',5,5'-C <sub>4</sub> B(# 52)            | -1,8           | 7,9          | -15        |
|            | 2,2',4,5,5'-C <sub>5</sub> B(# 101)         | -2,5           | 8,3          | -2         |
|            | 2,2',4,4',5,5'-C <sub>6</sub> B(# 153)      | -3,2           | 8,5          | 10         |
|            | 2,2',3,3',4,4',6-C <sub>7</sub> B(#171)     | -3,7           | 9,5          | 20         |
|            | 2,2',3,3',4,4',5,5'-C <sub>8</sub> B(# 194) | -4,7           | 10,5         | 37         |
|            |   |                |              |            |
| Pesticidas | $\alpha$ -HCH                               | -0,7           | 6,9          | -40        |
|            | $\gamma$ -HCH                               | -1,2           | 7,7          | -30        |
|            | <i>p,p'</i> -DDT                            | -3,3           | 8,7          | 13         |
|            | <i>p,p'</i> -DDE                            | -2,5           | 8,4          | -2         |
|            | <i>p,p'</i> -DDD                            | -3,0           | 8,9          | 7          |
|            | <i>cis</i> -clorano                         | -2,3           | 8,7          | -6         |
|            | <i>trans</i> -clorano                       | -2,2           | 8,5          | -9         |
| dieldrin   | -2,0  | 7,4            | -11          |            |

Wania y Mackay<sup>1</sup> (1996) también establecieron otro criterio a utilizar,  $K_{OA}$ , ya que representa el potencial de suelos y vegetaciones para retener los compuestos químicos debido a la correlación que se puede establecer con las interacciones octanol- aire y aire-agua, que se obtienen a partir de la relación  $K_{OW}$ , coeficiente de reparto octanol-agua, y  $K_{AW}$ , coeficiente de reparto aire-agua. Así se llega a establecer que aquellos compuestos que posean  $K_{OA}$  entre  $10^6 - 10^8$  poseen una

movilidad alta, y los compuestos con  $K_{OA}$  entre  $10^8 - 10^{10}$  poseen una movilidad baja.

Los autores demostraron también que el coeficiente de reparto octanol-aire,  $K_{OA}$ , está altamente correlacionado con la presión de vapor debido a que  $K_{AW}$  (coeficiente de reparto aire- agua) es una función de la presión de vapor. Se dice que el mejor criterio para determinar la tendencia de repartición de los compuestos químicos en los océanos es el  $K_{AW}$ . Para determinar la repartición de los compuestos químicos en el ambiente continental, el mejor criterio es el  $K_{OA}$ .

Las estructuras son también determinantes en el transporte de estas sustancias. Wania, Mackay<sup>1</sup> y Muir<sup>26</sup> concluyeron que, por ejemplo, PAHs con tres anillos tienden a depositarse en altitudes altas y PAHs con cuatro anillos tienden a depositarse a temperaturas por encima de los 0 °C. Según estas consideraciones, presentaron la siguiente *Tabla 1.2*.

**Tabla 1.2 Clasificación de los contaminantes de acuerdo a la movilidad en el ambiente global basada en  $P_v$ ,  $K_{OA}$  y  $T_C$  de contaminantes específicos<sup>1</sup>.**

| Comportamiento global de transporte | Movilidad baja                             | Movilidad relativamente media                | Movilidad relativamente alta                               | Alto grado de movilidad                   |
|-------------------------------------|--|--|--|---|
|                                     | Rápida deposición y retención en la fuente | Deposición y acumulación en latitudes medias | Deposición preferencial y acumulación en latitudes polares | Dispersión atmosférica, no hay deposición |
| $\log K_{OA}$                       | ← 10                                       | 8  | 6  | →   |
| $\log P_v$ (Pa)                     | ← -4                                       | -2   | 0  | →   |
| $T_C$ (°C)                          | ← +30                                      | -10  | -50  | →   |
| Clorobencenos                       | -  | -  | 5 a 6 Cl   | 0 a 4 Cl                                  |
| PCBs                                | 8 a 9 Cl                                   | 4 a 8 Cl                                     | 1 a 4 Cl   | 0 a 1 Cl                                  |
| PCDD/PCDFs                          | 4 a 8 Cl                                   | 2 a 4 Cl                                     | 0 a 1 Cl   | -   |
| PAHs                                | >4 anillos                                 | 4 anillos                                    | 3 anillos  | 1-2 anillos                               |
| Ejem. Plaguicidas organoclorados    | mirex                                      | DDTs   | HCB, HCHs, dieldrin  | -   |

$\log P_v$ (Pa) : Presión de vapor en Pascal del líquido subenfriado

$T_C$ (°C): Temperatura de condensación en grados Celsius

HCH: Hexaclorociclohexano ( $\alpha, \beta, \gamma$  isómeros)

HCB: Hexaclorobenceno

### 1.1.3 Distribución

La predicción del desplazamiento y de la distribución de los COPs en el ambiente es importante para determinar su impacto. Diversos autores<sup>2-6</sup> presentan evidencias de que estos compuestos son lo suficientemente volátiles como para evaporarse y depositarse a temperaturas ambientales normales. Las temperaturas altas de regiones sub-tropicales o tropicales favorecen su evaporación a la atmósfera y su posterior deposición sobre suelo, agua y material biológico en zonas remotas es favorecida por las bajas temperaturas en estos lugares. Debido a ello, los COPs pueden migrar hacia altas latitudes, donde la temperatura es realmente baja, favoreciendo su deposición posterior en cualquier superficie. Las bajas temperaturas también favorecen la adsorción de estos compuestos en el material particulado atmosférico, cuando se depositan en la superficie. Además, debido a las temperaturas bajas, la degradación de estos compuestos químicos es mínima, por lo tanto, son más persistentes.

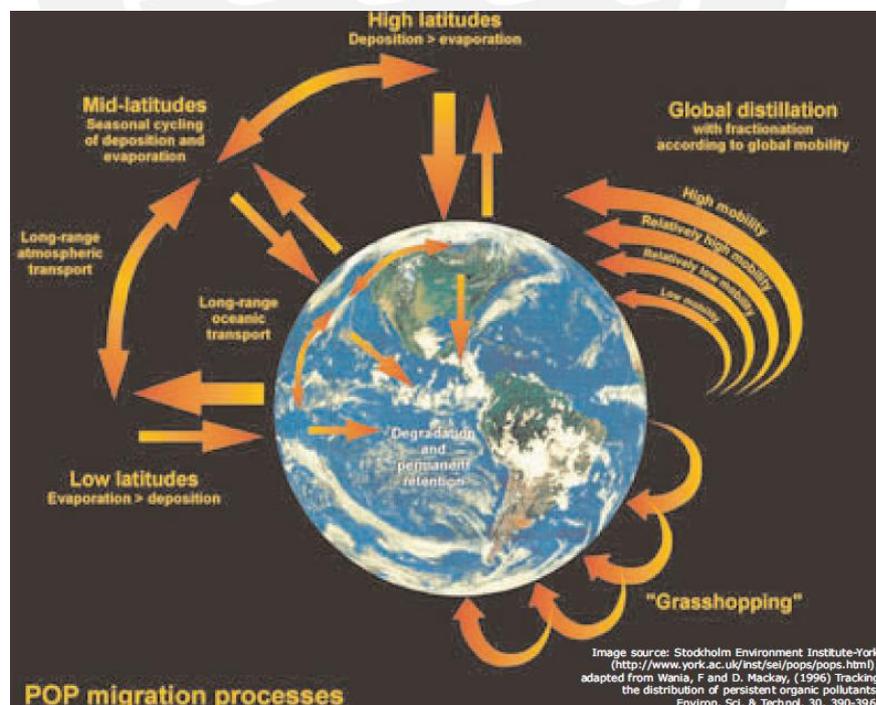


Figura 1.5 Proceso de deposición global según F. Wania y D. Mackay .

El modelo propuesto es que los COPs pueden migrar a zonas remotas frías lejanas por una serie o relaciones de pequeños saltos para lo cual algunos autores<sup>2-6</sup> suelen usar el término “saltamontes” o “efecto de condensación fría global” o también “hipótesis de fraccionamiento global” (*figura 1.5.*)

Este modelo se sustenta en tres hipótesis: la primera toma en cuenta que las concentraciones de COPs móviles en suelos, agua, y otras superficies no gaseosas aumenta en un gradiente a partir de puntos calientes de liberación en el ambiente a puntos fríos de migración. En realidad, se tienen bajas concentraciones en regiones tropicales y altas concentraciones en regiones polares. Segundo, la mezcla de contaminantes puede cambiar en composición: cuanto más constituyentes volátiles, más prevalecen a altas latitudes. Tercero, si durante una temporada hay un pulso de liberación en los trópicos, estos compuestos se moverán hacia los polos<sup>1</sup>.

## 1.2. Hidrocarburos Policíclicos Aromáticos (PAHs)

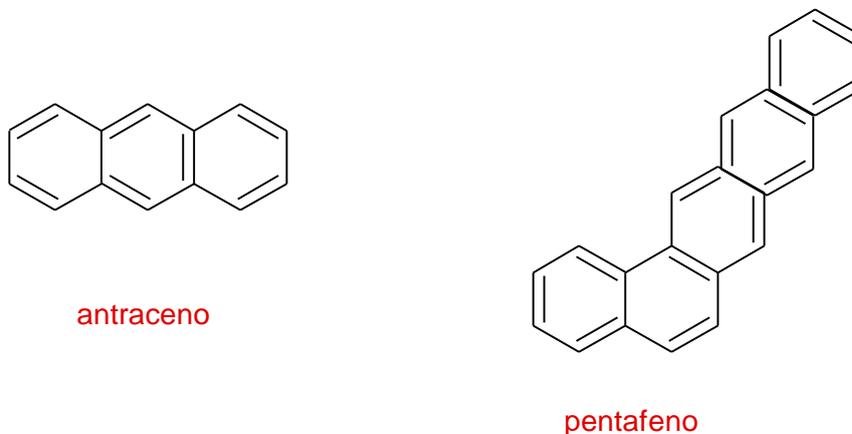
### 1.2.1 Clasificación

Los PAHs pueden ser clasificados como alternantes y no alternantes<sup>30</sup>. Los PAHs alternantes contienen solamente anillos de seis miembros; por el contrario, los no alternantes poseen anillos de diferentes tamaños, inclusive de seis átomos. Por otro lado, si la unión de los anillos bencénicos es lineal, el hidrocarburo es un aceno; por ejemplo, antraceno, tetraceno, etc. Si la unión de los anillos bencénicos es angular, los hidrocarburos son denominados feno, por ejemplo, pentafeno, tal como se puede observar en la *figura 1.6.*

De acuerdo a su toxicidad, facilidad de obtención, exposición a estos compuestos a lo largo de la historia y su frecuente aparición en diversos ambientes, la US EPA ha creído conveniente clasificar a 16, de los más de 100 PAHs que existen, como contaminantes prioritarios. Estos compuestos son: naftaleno, antraceno, acenaftaleno, fluoreno, fenantreno, fluoranteno, benzo[a]antraceno, benzo[b]fluoranteno, benzo[a]pireno, benzo[a,h]antraceno, benzo[g,h,i]piroloeno,

acenafteno, pireno, criseno, benzo[k]fluoranteno, indeno[1,2,3-c,d]pireno; sus estructuras químicas se muestran en la *figura 1.4*.

*PAHs alternados*



*PAHs no alternados*



*Figura 1.6 clasificación de PAHs como alternados y no alternados<sup>30</sup>*

## 1.2.2 Propiedades físicas y químicas

La familia de los PAHs está ampliamente distribuida en el ambiente; se caracterizan por contener dos o más anillos bencénicos unidos entre sí. La mayoría tiene estructuras polinucleares del tipo aromático y sólo contienen átomos de carbono e hidrógeno. Estas sustancias son lipofílicas; esta característica aumenta con el peso molecular. Además, presentan cierta inestabilidad fotoquímica, de acuerdo a diversos estudios de degradación fotoquímica realizados por Albers<sup>27,28</sup>.

Como característica química de estos compuestos se puede mencionar el carácter neutro y apolar que produce gran dificultad en su degradación. En condiciones

normales, son sólidos cristalinos de cierto color, presentan altos puntos de fusión y bajas presiones de vapor. La solubilidad en agua de estas sustancias disminuye al aumentar el peso molecular. Además, los compuestos con anillos aromáticos fusionados en disposición lineal, como naftaleno y antraceno, son normalmente menos solubles que otros con estructuras angulares, como el criseno o fenantreno. Debemos tener en cuenta que, al aumentar la temperatura, aumenta también la solubilidad de estas sustancias<sup>30</sup>.

A medida que aumenta el número de anillos aumenta también la estabilidad de estas sustancias. La reacción foto-oxidativa se presenta tanto en medio acuoso como atmosférico en presencia de luz y oxígeno. Los resultados de esta degradación son la ruptura de anillos y la desalquilación. Tienen gran afinidad a adsorberse en superficies, por lo que diversos estudios se centran en su determinación en material particulado en aire y agua<sup>28</sup>.

Entre las reacciones químicas, ocurren reacciones de sustitución y adición en estos compuestos, generalmente sustitución del hidrógeno o por adición al producirse la saturación, conservándose el sistema de anillos. Como estos compuestos se degradan por foto-oxidación<sup>28</sup>, se menciona que la reacción de foto-oxidación más frecuente es la formación de endoperóxidos, que pueden convertirse en quinonas. Estos compuestos también reaccionan con ácido nítrico. Un caso es la oxidación del antraceno hasta antraquinona que puede dar, también, un derivado nitrogenado por sustitución con NO<sub>2</sub>. De igual forma, el benzo[a]antraceno, que se encuentra en el alquitrán de hulla, en el humo de cigarrillo y en las fábricas de gas, es una sustancia carcinógena débil pero sus derivados como el 6-, 7-, 8- y 12-metilbenzo[a]antraceno y algunos de sus derivados dimetilados son sustancias con un potencial carcinógeno<sup>28</sup> mucho mayor. En la [tabla 1.3](#) se presentan valores para algunas propiedades físicas y químicas de dieciséis hidrocarburos registrados por la ATSR.

Por lo expuesto en los párrafos anteriores, podremos decir que la toxicidad de estos compuestos aumenta<sup>27</sup> con el peso molecular y el carácter lipofílico del compuesto.

Tabla 1.3 Propiedades físicas y químicas de 16 PAH<sup>29</sup>

| PAHs                  | PM (g/mol) | PF (°C) | PE (°C) | Solubilidad (mg/L)            | P <sub>v</sub> (Pa)     | log K <sub>ow</sub> | log K <sub>OA</sub> |
|-----------------------|------------|---------|---------|-------------------------------|-------------------------|---------------------|---------------------|
| naftaleno             | 128,19     | 80,5    | 218     | 1,93                          | 36,81                   | 3,37                | 5,13                |
| acenafteno            | 154,21     | 96,2    | 277,5   | 3,93                          | 1,52                    | 3,92                | 6,23                |
| acenaftileno          | 150,2      | 92      | 265-275 | 0,76                          | 4,14                    | 4                   | 6,47                |
| fluoreno              | 166,2      | 116     | 295     | 1,01                          | 0,72- 0,79              | 4,18                | 6,68                |
| fenantreno            | 178,2      | 101     | 339     | 2,3 x10 <sup>-3</sup>         | 0,11- 0,06              | 4,57                | 7,45                |
| antraceno             | 178,2      | 216,2   | 340     | 0,0012                        | 7,78 x10 <sup>-2</sup>  | 4,54                | 7,34                |
| pireno                | 202,3      | 156     | 360     | 7,6 x 10 <sup>-4</sup> (25°C) |                         | 5,18                | 8,61                |
| fluoranteno           | 202,3      | 111     | 375     | 2,6 x 10 <sup>-4</sup> (25°C) | 8,72x10 <sup>-3</sup>   | 5,22                | 8,60                |
| criseno               | 228,3      | 255     | 448     | 5 x 10 <sup>-4</sup>          | 1,07x10 <sup>-4</sup>   | 5,86                | 10,44               |
| benzo[a]antraceno     | 228,3      | 160     | 435     | 5x10 <sup>-4</sup>            | 6,06 x 10 <sup>-4</sup> | 5,91                | 9,54                |
| benzo[a]pireno        | 252,3      | 175     | 495     | 0,26                          | 2,13x 10 <sup>-5</sup>  | 6,04                | 10,77               |
| benzo[b]fluoranteno   | 252,3      | 168     | 481     | 1,98                          | -                       | 5,8                 | -                   |
| benzo[k]fluoranteno   | 252,3      | 217     | 481     | 0,062                         | 4,12 x 10 <sup>-6</sup> | 6                   | 11,19               |
| benzo[ghi]perileno    | 268,36     | 277     | -       | 0,00003                       | 2,25 x 10 <sup>-5</sup> | 6,5                 | 11,02               |
| dibenzo[a,h]antraceno | 300,4      | >350    | 525     | 1,20                          | -                       | 6,75                | -                   |

PM: peso molecular, PF: punto de fusión, PE: punto de ebullición: P<sub>v</sub>: presión de vapor

K<sub>ow</sub>: coeficiente de partición octanol-agua

K<sub>oa</sub>: coeficiente de partición octanol-aire

### 1.2.3 Fuentes de PAHs en el ambiente

Muchas veces se indica que el petróleo contiene PAHs de manera natural, con concentraciones de alrededor del 1%<sup>31</sup>. Por ello, se señala al crudo como el material de mayor contenido de PAHs y lo que resulta preocupante es que se originan PAHs en mayor cantidad a partir de la pirólisis y la combustión incompleta de muchos materiales que contienen carbono e hidrógeno.

Así como el tipo de combustible, la temperatura y el tiempo de residencia a altas temperaturas determinan también la composición de los productos de la pirosíntesis. Según Zamora y Tarquino<sup>29</sup>, los combustibles que producen PAHs son metano, hidratos de carbono, ligninas, péptidos, entre otros. En la zona de combustión se liberan PAHs y, debido a sus bajas presiones de vapor, la mayoría de PAHs se condensan sobre partículas de hollín o forman partículas muy pequeñas. Estos PAHs también pueden ser arrastrados hacia zonas de latitudes altas, de acuerdo a lo explicado anteriormente.

Son fuentes puntuales de PAHs<sup>27</sup>, los automóviles, aviones, barcos, plantas generadoras de energía eléctrica, incineradores de residuos, sistemas de calefacción, incendios forestales, humo de tabaco, alimentos ahumados, por ejemplo, a la parrilla. También los incendios forestales y las erupciones volcánicas aportan naturalmente. Algunos hábitos como el consumo del tabaco y alimentos expuestos a fuego directo o demasiado fritos suelen exponer a la población a dosis superiores a las recomendadas por los expertos sanitarios<sup>27</sup> como se muestra en la [tabla 1.6](#)

Debido a la gran variabilidad de los PAHs en el ambiente, su origen es bastante diverso. Según García<sup>49</sup>, estas fuentes se pueden diferenciar en cuatro: por pirólisis de la materia orgánica a altas temperaturas, de origen petrogénico, por diagénesis de la materia orgánica sedimentaria a bajas y moderadas temperaturas para formar los combustibles fósiles, y por biosíntesis directa por microorganismos y plantas.

### a) Origen pirolítico

Son aquellos PAHs procedentes de la combustión incompleta<sup>29,30</sup> de la materia orgánica, reciente o fósil, a altas temperaturas; por causas naturales, como incendios de bosques o tierras de cultivos, erupción de volcanes, etc., y por causas antropogénicas, como la utilización de combustibles fósiles, incineración de residuos, sistemas de calefacción, emisiones de vehículos, humo del tabaco, procesos industriales de gasificación, licuefacción del carbón, craqueo del petróleo, etc.

### b) Origen petrogénico

Se produce por vertidos accidentales o intencionados de petróleo o sus derivados<sup>29,30</sup>. Generalmente se caracterizan por ser mezclas complejas formadas por compuestos con cadenas alquílicas de hasta cinco o seis átomos de carbono que predominan sobre sus homólogos no sustituidos. Según estudios anteriores<sup>31</sup>, se dice que los océanos reciben anualmente 0,25% de la producción mundial de petróleo; por esto, se puede esperar que sea una gran fuente de entrada de estos contaminantes al medio ambiente.

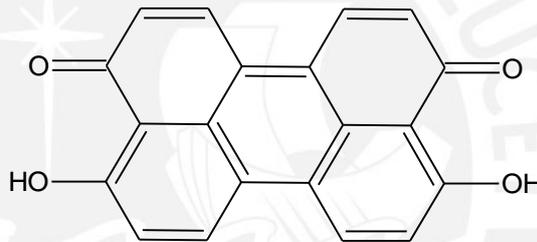
### c) Origen diagenético

Se pueden obtener a partir de materia orgánica sedimentaria<sup>29,30</sup> que sufre una serie de procesos geoquímicos naturales, como son la descarboxilación, aromatización, desfuncionalización, etc., para convertirse en PAHs de origen natural. Según Zamora y Tarquino<sup>29</sup> los más comunes son los derivados del criseno y del pireno, así como del reteno y el perileno, teniendo en cuenta que estos dos últimos también pueden tener origen pirolítico.

Cada tipo de fuente proporciona una distribución de PAHs característica, y esta información se utiliza comúnmente para evaluar las influencias posibles de estos compuestos en el ambiente. Así, los PAHs son buenos indicadores generalmente de las aportaciones pirolíticas o petrogénicas.

#### d) Origen por microorganismos y plantas superiores

La biosíntesis de PAHs se atribuye a las bacterias, hongos y plantas superiores<sup>29,30</sup>. La biosíntesis directa de PAHs no está totalmente demostrada, pero cabe señalar que los productos obtenidos a partir de estos procesos son compuestos sustituidos por oxígeno, nitrógeno y azufre (como los pigmentos quinónicos del hongo diendrina concéntrica, *figura 1,7*). Estas quinonas son reducidas a hidroquinonas y mediante una nueva reducción dan paso a PAHs en medios o superficies adecuadas como son los suelos y sedimentos de agua altamente anaeróbicos. Por ejemplo, diversos estudios reportan concentraciones altas de perileno en lagos continentales anóxicos y sedimentos marinos<sup>32</sup>.



*Figura 1.7 Estructura de 4,9- dihidroxiperileno-3,10- quinona.*

#### 1.2.4 Presencia de PAHs en el ambiente

Ingresa a aguas superficiales principalmente por medio de la atmósfera y vertidos directos. Algunos estudios demuestran la presencia de PAHs en aguas freáticas<sup>30</sup> como resultado de una contaminación de aguas superficiales o suelos contaminados. Estos PAHs en medios acuáticos son mucho más persistentes que en el aire si llegan a encontrarse en sedimentos anóxicos.

Algunos PAHs se evaporan a la atmósfera desde las aguas de superficie, pero la mayoría se adhiere a partículas sólidas y se depositan en el fondo de ríos o lagos en los sedimentos, debido a su baja solubilidad en el medio acuoso. El equilibrio de distribución en el aire y en el agua puede ser expresado mediante la constante de la ley de Henry, que usa el coeficiente de reparto como una medida de la

volatilización de los PAHs. Esta constante varía entre  $10^{-3}$  -  $10^{-5}$  para PAHs de bajo peso molecular y entre  $10^{-5}$  a  $10^{-8}$  para los PAHs de alto peso molecular; en este último grupo se considera a los que no se volatilizaron en grandes proporciones.

Los PAHs presentes en materiales orgánicos como inorgánicos (carbón, material calcáreo, sílice, lodo, etc.), que forman parte de los sedimentos marinos, sufren procesos de lixiviación en el fondo acuático. Esto, sumado a procesos como la actividad biológica, provoca que una pequeña porción de PAHs pase al medio acuático, y que otra parte pase inmediatamente a la fauna marina, y que el resto quede en los sedimentos. Debido a ello, importantes estudios<sup>27,30</sup> se centran en la determinación del contenido de PAHs en sedimentos.

En el medio acuático, los PAHs sufren diversas reacciones de degradación como fotooxidaciones, oxidación química y biodegradación de la fauna marina presente; como productos de estas reacciones están los peróxidos, quinonas y dionas. *La fotodegradación* ocurre fotoinducida por agentes oxidantes como el oxígeno, ozono o radicales 'OH. *La oxidación química*, donde la cloración y ozonización de las aguas para la destrucción de agentes patógenos da lugar también a la oxidación de compuestos orgánicos como los PAHs. *Reacciones de transformación biológica*, se considera que algunos microorganismos oxidan directamente los PAHs a  $\text{CO}_2$  y  $\text{H}_2\text{O}$ , mientras que otros han desarrollado rutas alternativas como los mamíferos acuáticos que metabolizan los PAHs mediante el citocromo-P450 implicado en la función oxidasa.

Para los PAHs que se encuentran en el aire o material particulado, se considera un tiempo de residencia, según García<sup>49</sup> este período es de 30 días y pueden sufrir reacciones de oxidación fotoquímica con el ozono, óxidos de nitrógeno, dióxido de azufre y ser transformados probablemente en dionas, nitro y dinitro derivados y ácidos sulfónicos. Son reconocidos los fenoles, quinonas y dihidrodioles como productos de oxidación fotoquímica de PAHs; estos productos son también mutagénicos. A continuación, se presentan los procesos físico-químicos que pueden sufrir los PAHs en la atmósfera según Nikolau<sup>32</sup>, *tabla 1.4*.

*Tabla 1.4 Mecanismos de dispersión de los PAHs en la atmósfera*<sup>32</sup>

| Mecanismo                                  | Proceso   |
|--|---|
| <b>Transporte</b>                          | El agente de transporte más importante de los PAHs en la atmósfera es el viento, llegándose a encontrar PAHs en Alaska y la Antártica.  |
| <b>Transformación física</b>               | Los PAHs emitidos en estado gaseoso a la atmósfera se agrupan entre ellos y con otros contaminantes, mediante aerosoles y partículas en suspensión, o bien el proceso contrario. Cuanto mayor es la masa molecular del hidrocarburo mayor es su tendencia a la adsorción sobre partículas. En realidad se da un equilibrio entre los PAHs en estado gaseoso, y adsorbidos sobre las partículas en suspensión. |
| <b>Deposición</b>                          | <p>Conjunto de mecanismos por los cuales los PAHs absorbidos sobre la materia en suspensión se depositan sobre la superficie terrestre:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Deposición seca (sedimentación): caída de las partículas en suspensión sobre la superficie terrestre.</li> <li>• Deposición húmeda: mediante precipitaciones.</li> </ul>   |
| <b>Procesos químicos de descomposición</b> | Conjunto de reacciones con otros contaminantes en presencia de radiación solar. En ausencia de radiación solar, durante la noche, estos procesos se ven favorecidos por altas temperaturas.   |

En los suelos, los PAHs están adheridos firmemente a las partículas. Algunos PAHs se evaporan al aire desde la superficie de los suelos y otros pasan a las aguas subterráneas. En los suelos, los PAHs también sufren reacciones de oxidación química, fotooxidación y degradación por parte de microorganismos. La mayor parte de transformaciones está relacionada con microorganismos; esta biotransformación depende de un número de factores como temperatura, pH del suelo, suficiente oxígeno, concentración y propiedades de los PAHs y la composición del suelo. Según Dabestani<sup>33</sup>, en los suelos las bacterias transforman los PAHs en *cis*-dihidrodióles con un intermediario dioxoetano, mientras que los hongos los transforman en *trans*-dihidrodióles con la intervención de un intermediario óxido de areno.

En las plantas y los animales el contenido de PAHs puede ser, muchas veces, más alto que en el suelo o en el agua. Los animales pueden absorber los PAHs por inhalación, contacto dérmico y, muy pocas veces, por ingestión; y las plantas pueden absorberlos por las raíces. Se absorben rápidamente los PAHs de menor peso molecular.

Muchas veces las características del medio favorecen la adsorción o absorción del PAH. Por ejemplo, en los suelos, la adsorción de PAHs es directamente proporcional al contenido de materia orgánica y al mayor peso molecular del PAH, e inversamente proporcional al tamaño de las partículas de suelo. Además, en el agua, los PAHs crecen en toxicidad según incrementa su peso molecular y la bioacumulación tiende a ser más rápida.

Según I. Vives<sup>27</sup>, la concentración de PAHs no parece incrementar a medida que se sube en una cadena trófica, por lo tanto, no sufren el fenómeno de biomagnificación (debido a la capacidad metabolizadora de los depredadores superiores). Lo que sí produce preocupación es su carácter lipofílico, es decir, se puede bioconcentrar en los tejidos vivos en especial aquellos ricos en grasas. Diversos estudios presentados por la autora permiten evaluar la concentración de PAHs en alimentos (*tabla 1.5*). Se debe destacar que son los alimentos ahumados los que presentan mayor contenido de benzo[a]pireno y entre los alimentos no ahumados son los de mayor contenido en grasas los que presentan mayor contenido de benzo[a]pireno.

**Tabla 1.5 Concentraciones de benzo[a]pireno en diferentes alimentos (basado en datos de Fretheim, 1976; Promvanit et al. 1985; Alongue, 1988; Dennis et al. 1991; Akpan et al., 1996 y 1999)<sup>27</sup>**

| Alimento | Benzo[a]pireno<br>( $\mu\text{g}/\text{kg}$ ) | Alimento                                       | Benzo[a]pireno<br>( $\mu\text{g}/\text{kg}$ ) |
|----------|---|--|---|
| tocino   | 0,011   | salchichas españolas de carne ahumada          | ND-0,051                                      |
| chorizo  | 0,12 – 0,34                                   | pescado ahumado tailandés                      | ND-1220                                       |
| jamón    | 0,009   | carne ahumada nigeriana                        | 10,5-66,9                                     |
| atún     | 0,023   | pescado ahumado nigeriano                      | 35,5-139                                      |
| salmon   | 0,04  | aceite crudo de colza                          | 2,46  |
| trucha   | 0,057   | aceite refinado de colza                       | 1,83  |
| sardina  | 2,46  | aceite crudo de soja                           | 1,13  |
| bacalao  | 0,018   | aceite refinado de soja                        | 2,18  |
| arenque  | 0,04  | otros aceites refinados (coco, girasol, oliva) | 1,91  |

ND: valores por debajo del LDD.

### 1.2.5 Aplicaciones de PAHs en la industria

Muchos de los productos elaborados por la industria, como insecticidas, acaricidas o rodenticidas, contienen PAHs. Cabe remarcar que el naftaleno es un PAH y su empleo como antipolillas está muy extendido. Las fuentes más comunes de PAH como el alquitrán, petróleo crudo y creosota se usan en construcción de carreteras y el alquitrán para techado. Actualmente son muy pocos los PAHs que se usan en medicamentos o para fabricar tinturas, pesticidas y plásticos. Otros PAHs también son usados para la producción de aluminio, de hierro y acero en fábricas y fundiciones; la calefacción, centrales de energía y residencias, Estas generalmente son consideradas como fuentes directas de PAHs donde los principales componentes que se emiten son fenantreno, fluoranteno, pireno y criseno.

En las zonas donde predomina el uso de leña en las viviendas, la mayor proporción de PAHs puede derivarse de esta fuente, especialmente en invierno, hecho contrario a la creencia común del fenómeno urbano asociado con los vehículos y las industrias.

En zonas rurales, las fuentes generadoras de PAHs son atribuidas al tráfico de vehículos de motor que liberan compuestos de gasolina principalmente el fluoranteno y el pireno, mientras que en los gases de escape de los vehículos de motor diesel abundan el naftaleno y el acenafteno<sup>29</sup>.

El antraceno se utiliza en la producción de antraquinona, materia prima para la fabricación de colorantes rápidos así también como diluyente para conservantes de madera y en la producción de fibras sintéticas, plásticos y monocristales e insecticidas. El fenantreno se utiliza en la fabricación de colorantes y explosivos, en la investigación clínica y la síntesis de fármacos. El benzofurano se utiliza en la fabricación de resinas de cumaronaindeno. El fluoranteno también se utiliza como material de revestimiento del interior de las tuberías de agua potable de acero y hierro dúctil y los tanques de almacenamiento<sup>29</sup>.

## 1.2.6 Toxicidad de los PAHs y sus efectos sobre la salud

Todos los PAHs son liposolubles, absorbiéndose a través de los pulmones e intestinos de mamíferos, por lo que se acumulan en la sangre e hígado y, en general, en los tejidos grasos del organismo. Aquí sufren una oxidación enzimática o una hidroxilación. Los epóxidos y fenoles generados pueden unirse al glutatión en cierto porcentaje, siendo destoxificados, o también ser biotransformados en dihidrodioles lo que representa otra vía de destoxificación de los PAHs ingeridos. Por otro lado, pueden formar epóxidos de diol de gran potencial cancerígeno.

Los seres humanos están expuestos directamente a los PAHs respirando aire o a través del contacto con agua y suelos contaminados, así también con la ingesta de ciertos alimentos como carnes a la parrilla o ahumadas, cereales, hortalizas, frutas, leche de vaca, grasas y aceites<sup>70</sup>. Según los estudios ecotoxicológicos de Kalf en 1997, los límites máximos permisibles para algunos PAHs fueron determinados y se muestran en la [tabla 1.6](#).

**Tabla 1.6 Concentraciones máximas permisibles de PAHs<sup>71</sup>**

| PAHs                | Sistemas acuáticos<br>(mg/L) | Suelos/Sedimentos<br>(mg/kg) | Concentración<br>Crítica en aire g/m <sup>3</sup> |
|---------------------|------------------------------|------------------------------|---|
| naftaleno           | 1,2                          | 0,14                         | 1,4 x 10 <sup>-4</sup>                            |
| antraceno           | 0,07                         | 0,12                         | 8,6 x 10 <sup>-6</sup>                            |
| fenantreno          | 0,3                          | 0,51                         | 3,3 x 10 <sup>-5</sup>                            |
| fluoranteno         | 0,3                          | 2,6                          | 1,3 x 10 <sup>-5</sup>                            |
| benzo[a]antraceno   | 0,01                         | 0,36                         | 2,2 x 10 <sup>-7</sup>                            |
| Criseno             | -                            | 10,7                         | 1,3 x 10 <sup>-6</sup>                            |
| benzo[k]fluoranteno | 0,04                         | 2,4                          | 2,4 x 10 <sup>-7</sup>                            |
| benzo[a]pireno      | 0,05                         | 2,7                          | 3,2 x 10 <sup>-8</sup>                            |

Los diversos estudios<sup>34,35,36</sup> realizados a trabajadores expuestos directamente a los PAHs demuestran la correlación con enfermedades como cáncer al pulmón o piel desarrollado principalmente por inhalación o contacto con estos PAHs. Grimmer<sup>34</sup> realizó estudios en animales y concluyó que la administración oral de benzo[a]pireno y dibenzo[a,h]antraceno inició un proceso cancerígeno.

Con estos indicios, la EPA<sup>14</sup> desarrolló una lista (*tabla 1.7*) con el poder carcinógeno de estos PAHs con respecto al benzo[a]pireno. Según Juergen<sup>36</sup> los PAHs con más de tres anillos son generalmente agentes carcinógenos. Dabestani<sup>33</sup> usó el factor de toxicidad equivalente como un método para calcular la capacidad carcinógena de una mezcla de PAHs con respecto al benzo[a]pireno, *tabla 1.8*.

*Tabla 1.7 Potencial carcinógeno relativo al benzo[a]pireno*<sup>33</sup>

| PAH                   | Potencial carcinógeno |
|-----------------------|-----------------------|
| benzo[a]pireno        | 1,000                 |
| benzo[a]antraceno     | 0,145                 |
| benzo[b]fluoranteno   | 0,167                 |
| benzo[k]fluoranteno   | 0,020                 |
| criseno               | 0,0044                |
| dibenzo[a,h]antraceno | 1,11                  |

*Tabla 1.8 Factor de toxicidad equivalente relativo del benzo[a]pireno*<sup>33</sup>

| PAH                     | Factor de toxicidad equivalente |
|-------------------------|---------------------------------|
| acenafteno              | 0,001                           |
| acenaftileno            | 0,001                           |
| antraceno               | 0,010                           |
| benzo[a]antraceno       | 0,100                           |
| benzo[a]pireno          | 1,000                           |
| benzo[b]fluoranteno     | 0,100                           |
| benzo[k]fluoranteno     | 0,100                           |
| benzo[g,h,i]perileno    | 0,010                           |
| criseno                 | 0,010                           |
| dibenzo[a,h]antraceno   | 5,000                           |
| fluoranteno             | 0,001                           |
| fluoreno                | 0,001                           |
| indeno[1,2,3-c,d]pireno | 0,100                           |
| fenantreno              | 0,001                           |
| pireno                  | 0,001                           |

La entidad encargada de catalogar las sustancias según su conocimiento de carcinogenicidad es la Agencia Internacional de Investigación del Cáncer (IARC), dependiente de la Organización Mundial de Salud (OMS). Son cuatro grupos en los que se puede clasificar estas sustancias químicas - ver *anexo2*.

Las propiedades carcinógenas y mutagénicas dependen de su estructura química, la que ha sido asociada con el grado de no-planaridad. Por ejemplo: el benzo[a]pireno es un potente agente cancerígeno; su isómero, el benzo[e]pireno, es completamente inocuo. Por lo general, según García<sup>49</sup>, los PAHs planares son más estables, menos reactivos y biológicamente menos tóxicos.

La actividad carcinógena de los PAHs, según García<sup>49</sup>, se expresa por medio de la biotransformación de estos compuestos a reactivos intermedios capaces de enlazar covalentemente con el ADN, incluso forzando la ruptura de sus cadenas mutándolo e iniciando así la formación de tumores. García<sup>49</sup> también explica que cuando una sustancia externa ingresa al organismo, este trata de eliminarla disolviéndola, pero los PAHs, al ser poco solubles, se transforman en derivados hidrosolubles, (que para estos compuestos serían los óxidos de areno correspondientes) los cuales se hidratan en presencia de agua formando dioles. Estas sustancias se pueden excretar fácilmente como también sufrir una segunda epoxidación, dando lugar a diolepóxidos, los cuales son verdaderos agentes cancerígenos ya que, en presencia de ADN, el grupo  $-NH_2$  de la base nitrogenada produce un ataque nucleofílico sobre el epóxido. De esta forma, la unión entre el hidrocarburo y la base nitrogenada no permite que esta se acople adecuadamente a la doble hélice del ADN, impidiendo la formación de puentes hidrógeno con la base nitrogenada conjugada de la hebra opuesta, lo cual permitirá diferentes mutaciones de la molécula.

### 1.3. Muestreo Ambiental

La toma de muestras en un lugar potencialmente contaminado por sustancias orgánicas persistentes proporciona información sobre la contaminación de dichas sustancias en agua y suelo, las cuales son matrices de interés para el presente trabajo. La importancia de un correcto y adecuado muestreo<sup>13,26,66</sup> radica en que la información que proporcione sea significativa y muy confiable con el fin de poder alcanzar los objetivos planteados. Cada lugar posee características ambientales peculiares, para lo cual se deberá adecuar un tipo de muestreo porque

la incertidumbre estadística para cada presencia de contaminante reflejará con mayor o menor precisión el valor real.

Algunas organizaciones, como la EPA<sup>14</sup>, consideran cuestiones muy detalladas sobre procedimientos de muestreo. Así también se considera la abundante información que presenta Larry Keith<sup>73</sup>.

Los contaminantes suelen distribuirse según las características de cada lugar (clima, tipo de suelo, pendiente, etc.) y la anisotropía de la matriz así como la naturaleza y el número de contaminantes.

Para realizar un buen diseño de muestreo es necesario un conocimiento *a priori* de la distribución espacial (homogénea o heterogénea) de los contaminantes, tanto en forma horizontal como en profundidad, estableciendo así el procedimiento de toma de muestra más adecuado.

En el diseño de muestreo se deben considerar dos procedimientos: orientado y aleatorio. En el muestreo orientado, o “a juicio del experto”, el evaluador realiza el muestreo en base a su experiencia y conocimiento. El muestreo aleatorio obedece a normas estrictas basadas en la teoría de la probabilidad y existen varios procedimientos cuya adecuación está en función del tipo de distribución espacial de los contaminantes. Así, podemos distinguir distintos tipos de muestreos aleatorios, como se describen a continuación.

### 1.3.1 Muestreo aleatorio simple

Debe ser aplicado cuando la distribución espacial de contaminantes en un sitio potencialmente contaminado presenta homogeneidad. Este tipo de muestreo se caracteriza porque cualquier punto de muestreo presenta la misma probabilidad de ser seleccionado que los restantes puntos de muestreo. El número de muestras que se tomará en cada sitio puede ser determinado estadísticamente en función a la precisión requerida en cuanto a error de muestreo.

### 1.3.2 Muestreo aleatorio estratificado

Debe aplicarse para el muestreo de lugares en los que se sabe que la distribución espacial de contaminantes no es homogénea, debido a la variabilidad en los factores influyentes en la distribución de contaminantes (por ejemplo, suelo, pendiente, vegetación, etc.). Esa variabilidad debe ser reconocida mediante la delimitación de zonas en las que la distribución de las sustancias es homogénea, a estas zonas se denominan estratos, que constituyen subpoblaciones de muestreo dentro de una misma zona. El número de muestras a tomar en cada estrato estará influenciado estadísticamente por la precisión requerida en el error de muestreo.

### 1.3.3 Muestreo aleatorio sistemático

Con este procedimiento, los puntos de muestreo son localizados a una distancia fija de un primer punto de muestreo aleatorio. Por tanto, únicamente ese primer punto de muestreo es aleatorio y todos los demás son localizados a partir de este. Este tipo de muestreo se aplica cuando no se tiene evidencia previa sobre la distribución espacial de los contaminantes.

### 1.3.4 Muestreo aleatorio compuesto

Este procedimiento consiste en tomar varias muestras y mezclarlas para obtener una muestra compuesta, de la cual se determina la concentración de las sustancias contaminantes. Se asume que el valor que se obtiene de la muestra compuesta es una estimación válida de la media de los resultados de las muestras que la componen.

## 1.4. Análisis de PAHs

Para determinar PAHs en aguas la EPA<sup>14</sup> sugiere los métodos 610, 625, 3510, 8100 y 8310. De igual forma para la determinación de PAHs en suelos la EPA recomienda los métodos 3550, 8100, 8270 y 8310. En cuanto a la extracción de PAHs en aguas se puede considerar los métodos 3510, 3520 y 3535; para

muestras de suelos se recomiendan los métodos 3550, 3540, 3541, 3545, 3560 y 3561 y, para muestras de aire, el método 3542 es el más recomendado. Los métodos de análisis constan de dos partes fundamentales, la extracción del analito de la matriz y su determinación.

El proceso de extracción puede contemplar algún tipo de purificación o limpieza, con el objetivo de eliminar algún compuesto que pueda interferir con la determinación. A continuación detallamos algunas cuestiones del proceso de extracción y purificación.

### 1.4.1 Métodos de extracción para muestras ambientales

Se considera la metodología EPA 610, la cual involucra la extracción líquida para muestras de agua. Esta metodología recomienda el uso de los equipos Kuderna-Danish para concentrar los extractos, el cual puede ser reemplazado por un destilador simple. Ambos tienen el mismo principio, sólo se necesita mayor habilidad al trabajar con un destilador simple para no perder muestra y evaporar totalmente el solvente además de mantener la temperatura establecida.

Para las muestras de suelo, se recomienda el método EPA 3540. Este método considera una extracción del tipo Soxhlet. El proceso de extracción fue modificado para nuestro caso, utilizando una mezcla de diclorometano:metanol 2:1 ( 450 mL), la cual después de realizar varias pruebas de porcentaje de recuperación<sup>39</sup> resultó siendo la mejor mezcla de extracción. El tiempo de extracción fue de 48 horas.

Estas modificaciones muestran ya un encarecimiento del proceso y un problema ambiental adicional por las grandes cantidades de solvente utilizado, pero se recomienda no eliminar estos solventes sino destilarlos y utilizarlos para otros análisis que no requieran tanta pureza. Existe una alternativa para estos problemas como la extracción por ultrasonido. Estos procedimientos presentan la ventaja de utilizar una mínima cantidad de solventes para la extracción, y los tiempos son mucho más cortos en comparación con la extracción Soxhlet.

## 1.4.2 Técnicas de purificación y limpieza del extracto de PAHs

Las técnicas de purificación reducen los compuestos interferentes presentes en el extracto de los analitos antes del análisis, ya que por lo general las muestras medioambientales son matrices extraordinariamente complejas para alcanzar los límites de detección de los métodos. La mayoría de los límites de detección se obtienen de matrices muy simples dopadas con el analito. Es allí donde radica la importancia de la purificación cuando se analizan muestras reales.

La mayoría de los procedimientos de purificación se basan en el uso de la extracción sólido-líquido en columna, los sorbentes sólidos son muy diversos en función de la naturaleza química de las sustancias que se desea purificar, los diversos métodos de purificación para extractos COPs son presentados por los métodos EPA 3611, 3630, 3640; de los cuales el método EPA3630C es el más recomendado para extractos de PAHs.

El método 3630C considera una columna de sílica gel para purificar sustancias no polares, como hidrocarburos del petróleo, PCB, PHA. La sílica gel es la forma precipitada del ácido silícico ( $H_3SiO_3$ ) formándose por adición de ácido sulfúrico al silicato sódico. Forma puentes de hidrógeno muy fuertes con los materiales polares y puede ocasionar la descomposición de los analitos. El material es algo soluble en metanol, que nunca debe usarse como disolvente de elución. La sílica gel permite eliminar cuantitativamente sustancias ligeramente polares de disoluciones de hexano y sirve para aislar los hidrocarburos del petróleo de sus interferencias. El procedimiento puede también aplicarse en el análisis de fenoles derivatizados.

## 1.5 Cromatografía líquida

Existen diversas técnicas aplicadas a la determinación de PAHs en distintas matrices, como la fluorescencia, la fosforimetría inducida con láser y la espectroscopía infrarroja con transformada de Fourier. Las técnicas más utilizadas y que brindan siempre mejores resultados son las técnicas

cromatográficas, entre ellas, la cromatografía líquida de alta resolución en fase reversa y la cromatografía de gases.

Después de la extracción y previo a la determinación de la muestra extraída, es necesario cambiar el disolvente en el cual se encuentran los PAHs en el extracto por uno más adecuado (los disolventes polares se deberían eliminar), luego reducir el volumen en el extracto de análisis. Para cromatografía líquida se suele emplear acetonitrilo, mientras que en cromatografía de gases, tolueno e iso-octano.

### **1.5.1 Cromatografía líquida de alta resolución (HPLC)**

La técnica cromatográfica de alta resolución, en comparación con la cromatografía de gases, tiene una gran ventaja ya que las muestras no necesariamente tienen que ser térmicamente estables y fáciles de volatilizar. Algunas muestras no volátiles pueden analizarse, siempre y cuando hayan aumentado su volatilidad mediante las derivaciones químicas adecuadas.

En HPLC, una muestra líquida o sólida, disuelta en un disolvente adecuado, se eluye en una columna cromatográfica junto con una fase móvil líquida adecuada. La separación se efectúa por las interacciones de las fases soluble y estacionaria, tales como la adsorción líquido-sólido y el reparto líquido-líquido, el intercambio de iones, la exclusión de tamaños y por las interacciones entre las fases soluto y móvil.

### **1.5.2 Fase móvil y fase estacionaria**

La cromatografía HPLC en fase normal se ha venido aplicando principalmente con fines preparativos, ya que no proporciona una resolución adecuada para fines cuantitativos. Una aplicación exitosa para la separación de PAHs en cualquier tipo de matriz, es la cromatografía líquida en fase reversa.

En este caso, la fase estacionaria se caracteriza por ser un material químicamente enlazado, especialmente el octadecilsilano (ODS), lo que ha contribuido a la diversificación de esta técnica como un buen método para la determinación de PAHs. Uno de los solventes más utilizados es la mezcla acetonitrilo/agua (ACN/H<sub>2</sub>O).

En cuanto a las metodologías estas suelen diferenciarse según el tipo de gradiente utilizado o tipo de columna utilizada. Estas diferencias se pueden apreciar en la *tabla 1.9*.



*Tabla 1.9 Condiciones cromatográficas para el análisis de PAHs por HPLC -fase reversa*

| FASE ESTACIONARIA               |               |                       |                          | FASE MOVIL                             |                |         |
|---------------------------------|---------------|-----------------------|--------------------------|--|----------------|---------|
| Relleno                         | Longitud (cm) | Diámetro Interno (mm) | Tamaño de Partícula (µm) | Composición                            | Flujo (mL/min) | T(°C)   |
| Separon SGH C <sub>18</sub>     | 15            | 3,3                   | 10                       | ACN (isocrático)                       |                |         |
| Baker C <sub>18</sub> sílice    | 25            | 4,6                   | 5                        | ACN/H <sub>2</sub> O (gradiente)       | 1,3            | 2,3     |
| Bakerbond wide – Pore PAH       | 25            | 4,6                   | 5                        | ACN/H <sub>2</sub> O (gradiente)       |                |         |
| Bakerbond PAH 16+               | 25            | 3                     | 5                        | ACN/H <sub>2</sub> O (gradiente)       | 0,5            | 25 - 30 |
| Bakerbond PAH 16+               | 25            | 3                     | 5                        | MeOH (gradiente)                       | 0,5            | 30      |
| Cynkotec Intersil ODS II        | 25            | 4,6                   | 5                        | ACN/H <sub>2</sub> O (gradiente)       | 0,9            | 35      |
| Lichrospher PAH                 | 25            | 3                     | 5                        | MeOH/H <sub>2</sub> O (gradiente)      |                |         |
| Lichrospher PAH                 | 25            | 4 – 7                 | 3,5                      | ACN/H <sub>2</sub> O (gradiente)       | 0,5 – 1        | 28      |
| Supelcosil LC-PAH               | 15            | 4,6                   | 5                        | ACN/H <sub>2</sub> O (gradiente)       | 1 - 1,5        |         |
| Hypersil Green PAH              | 10            | 4,6                   | 5                        | ACN/H <sub>2</sub> O (gradiente)       | 1,5            | 30      |
| Vydac TRPR                      | 15            | 5                     | -                        |  |                |         |
| Vydac 201TP                     | 10 – 25       | 2,1 - 4,6             | 5                        | ACN/H <sub>2</sub> O (gradiente)       | 0,46 - 1,5     | 27      |
| ChomSpher PAH                   | 10            | 3                     | -                        | ACN/H <sub>2</sub> O (gradiente)       | 1              |         |
| C <sub>18</sub> Ultrasep ES PAH | 25            | 4                     | -                        | ACN/H <sub>2</sub> O (gradiente)       | 1              |         |
| ODS                             | 25            | 4,6                   | 5                        | ACN/H <sub>2</sub> O (gradiente)       | 1              |         |
| HC-ODS Sil-X                    | 25            | 2,6                   | 5                        | ACN/H <sub>2</sub> O (gradiente)       | 0,5            |         |
| Tracer-Sphrisorb ODS            | 24,3          | 4                     | 5                        | ACN/H <sub>2</sub> O (gradiente)       | 1              |         |
| Nucleosil 5PAH                  | 25            | 4                     | 5                        | MeOH/THF/H <sub>2</sub> O (isocrático) |                |         |
| Agilent Tech. 799 18 PAH-584    | 25            | 4,6                   | 5                        | ACN/H <sub>2</sub> O (gradiente)       | 1,5            | 35      |
| Phenomex Envirosep – PP         | 12,5          | 3,2                   | -                        | H <sub>2</sub> O/ACN/THF (gradiente)   | 1              |         |

En cuanto a las columnas, estas generalmente se presentan con una longitud de 15 - 25 cm, rellenas con partículas de 5  $\mu\text{m}$  de octadecilsilano. Los diferentes fabricantes utilizan rellenos de columna muy parecidos, pero con diferentes nombres comerciales.

Las fases móviles más utilizadas son mezclas acetonitrilo/agua en modo gradiente. Se inicia el proceso con grandes proporciones de agua para terminar con acetonitrilo como único constituyente de la fase móvil. También son utilizadas las mezclas metanol/agua y se inicia de igual forma que en el caso anterior. Es necesario mantener la temperatura de la columna cromatográfica entre 10 - 30  $^{\circ}\text{C}$ .

Hadjmohammadi<sup>41</sup> presentó estudios realizados con HPLC en fase reversa usando fases móviles micelares en una columna Waters (15 cm x 3,9 mm de diámetro interno) de sílice  $\text{C}_{18}$  y un detector por fluorescencia. Por otro lado, Kayali<sup>42</sup> reporta estudios utilizando una fase móvil micelar (SDS) con mejores resultados con fases enlazadas de cadena corta y n-propanol en la fase móvil que con fases enlazadas de cadena larga como el octadecilsilano.

### 1.5.3 Detectores

Debido a las propiedades fluorescentes de los PAHs, el detector por fluorescencia resulta muy adecuado y da buenos resultados<sup>41,42,44</sup>. Pero el detector de absorción UV también presenta resultados comparables con aquellos obtenidos usando el detector por fluorescencia. Los detectores por fluorescencia poseen mayor sensibilidad debido a que se puede trabajar con longitudes de onda de emisión y excitación fijas durante todo el desarrollo cromatográfico o variando estas a lo largo del mismo, con el objeto de excitar lo máximo posible cada compuesto eluído, y registrar su fluorescencia a la longitud de onda donde esta es mayor.

Los detectores ultravioletas permiten registrar el cromatograma a una sola longitud de onda, por lo general 254 nm. La variación en este detector son las filas de diodos, comúnmente utilizados en la determinación de PAHs, que

presenta la ventaja de obtener el espectro ultravioleta completo de cada analito eluido, permitiendo la identificación de los analitos, no sólo en base al tiempo de retención sino también en base al espectro ultravioleta comparando con una biblioteca de espectros.

Claessens<sup>43</sup> propone utilizar los dos detectores en serie para obtener una mayor información de la muestra. Otros autores<sup>44,45</sup> presentan otros tipos de detectores con ciertas ventajas y desventajas, como el amperométrico, sistemas electroquímicos, detector por índice de refracción y, quizás el más importante por las grandes ventajas que presenta, el detector por fluorescencia multidimensional, capaz de proporcionar un espectro tridimensional del analito. Cuando se utiliza un detector de fluorescencia normal, la señal puede ser incrementada gracias a un fotomultiplicador. Este sistema no es compatible con el detector de fluorescencia multidimensional. Para una matriz donde los niveles de PAHs son de ultratrazas, se recomienda el detector de fluorescencia multidimensional, en base a los tiempos de vida de los estados excitados de las moléculas fluorescentes extremadamente cortos, según García<sup>49</sup>.

Una de las técnicas más recientes para la determinación de PAHs en muestras medioambientales es el uso de la cromatografía líquida de alta resolución acoplada con espectrometría de masas. La gran ventaja está en la asignación correcta de los picos cromatográficos del analito, y no es necesaria su volatilización.

## 1.6 Estandarización o validación de métodos cromatográficos

Con la validación se puede obtener un método analítico suficientemente confiable como para producir el resultado previsto dentro de intervalos definidos. Esta estandarización posee características fundamentales de confiabilidad como linealidad, precisión, exactitud, sensibilidad y selectividad. La validación, en muchos casos, es necesaria porque proporciona un alto grado de confianza y seguridad en el método analítico y en la calidad de resultados y, además, permite un conocimiento profundo de sus características de funcionamiento.

### 1.6.1 Características fundamentales de los procesos de validación

La fiabilidad, la idoneidad y lo fácil o práctico que es un procedimiento se consideran como características fundamentales de los procesos de validación. Los parámetros que expresan la confiabilidad de los métodos analíticos<sup>74</sup>, también denominados parámetros de validación, son: linealidad, precisión, exactitud, sensibilidad y selectividad.

Se entiende como **linealidad**<sup>74</sup> la capacidad del método analítico para obtener resultados linealmente proporcionales a la concentración de analito en la muestra, dentro de un intervalo determinado. Debe definirse la linealidad para concentraciones que cubran el ámbito total de interés. El ámbito dinámico lineal (Linear Dynamic Range) es el intervalo de sensibilidad del sistema instrumental de medida.

La determinación de la linealidad se realiza mediante la curva de calibración que relaciona las respuestas (áreas, alturas, absorbancias) con concentraciones o cantidades de analito. Generalmente, se pretende obtener una recta de calibración determinándose los parámetros de la recta por mínimos cuadrados.

La **precisión**<sup>74</sup> indica la distribución de los valores analíticos alrededor de su media o, expresada de otra forma, es la estimación de la variabilidad de las mediciones. Dentro del término precisión del método se pueden distinguir tres tipos de estudios, como se detallan a continuación.

(1) Repetitividad, es la medida de la precisión de un método efectuado en las mismas condiciones, sobre la misma muestra, por un mismo analista, en el mismo laboratorio, con los mismos aparatos y reactivos y en el curso de la misma serie de análisis efectuados, generalmente, en un corto intervalo de tiempo.

(2) Reproducibilidad, es la medida de precisión de los resultados de un método analítico efectuado sobre la misma muestra, pero en condiciones diferentes (diferentes analistas, aparatos, días, etc.)

(3) Robustez, evalúa los efectos de pequeños cambios en las condiciones operacionales del análisis sobre la fiabilidad del método analítico. Mide el grado del procedimiento analítico por las variaciones de los factores que son sospechosos de alterar el método.

La precisión se expresa matemáticamente por la desviación estándar o preferiblemente por el coeficiente de variación, que no es más que la desviación estándar expresada en porcentaje con relación a la media (desviación estándar relativa). La desviación estándar es un parámetro de dispersión que se expresa en las unidades de medida escogidas.

La **exactitud**<sup>74</sup> indica la capacidad del método analítico para dar resultados lo más próximo posible al valor verdadero. Si la diferencia entre el valor hallado y el valor verdadero es pequeña, la exactitud es buena.

No deben confundirse exactitud y precisión. La precisión está relacionada con la dispersión de una serie de mediciones, pero no da ninguna indicación de lo cerca que están las medidas del valor verdadero; por otro lado la exactitud refleja el error sistemático, la precisión refleja el error sistemático y el error aleatorio.

La falta de exactitud puede ser por exceso o por defecto. Las desviaciones por exceso suelen producirse cuando existen interferencias analíticas y la selectividad del método no es la adecuada. Las desviaciones por defecto suelen darse en métodos analíticos muy laboriosos, con varias fases, extracciones y purificaciones, que se traducen en una disminución de la recuperación.

La **sensibilidad**<sup>74</sup> es la capacidad de un método analítico de registrar ligeras variaciones de la concentración. El límite de detección es la menor concentración o cantidad de analito detectable con razonable certeza por un procedimiento analítico dado. Según otros autores<sup>22</sup>, es la menor concentración de analito en una muestra que puede ser detectada, pero no necesariamente cuantificada, bajo las condiciones experimentales establecidas. El límite de cuantificación o determinación, según Calpena Campamany<sup>74</sup>, es la menor concentración o

cantidad de analito de una muestra que puede ser determinada con aceptables precisión y exactitud bajo las condiciones experimentales establecidas.

### 1.6.2 Control de calidad de datos analíticos

El control de calidad considera diferentes actividades realizadas para que un sistema se encuentre bajo control estadístico. Existen dos formas de evaluación o dos enfoques<sup>75</sup>: un enfoque prescriptivo y otro basado en el rendimiento. En el **enfoque prescriptivo** de la evaluación de la calidad se miden las muestras por duplicado, los blancos y patrones, donde los resultados de todos los análisis se comparan con un único límite preestablecido. Cuando este límite se supera, se adopta una acción correctora adecuada. Estos enfoques prescriptivos son generalmente los adecuados en los laboratorios sometidos a regulaciones reglamentarias.

Existe otra forma de evaluación de la calidad de los datos analíticos denominada **enfoque basado en el rendimiento**, donde los métodos aplicados siguen siendo los mismos (muestras por duplicado, blancos, patrones) ya que proporcionan la información necesaria sobre la precisión. Sin embargo, lo que el laboratorio puede controlar además es la frecuencia con que se analizan las muestras de evaluación de calidad y las condiciones que reflejan el momento en que un sistema analítico escapa del control estadístico. Además, este enfoque permite al laboratorio determinar si un sistema analítico corre peligro de salirse del control estadístico, lo que permite aplicar medidas correctivas antes de que el problema se desarrolle. Una herramienta importante en este enfoque es la **gráfica de control**, donde los datos de la evaluación de la calidad medidos en el tiempo pueden ser resumidos a un valor medio y una desviación estándar; estos datos deben mostrar evaluaciones aleatorias en torno al valor medio. Cuando los datos salen de un control estadístico, los datos analíticos se ven influenciados por fuentes de error.

Para desarrollar una **gráfica de control** se calculan el valor medio y la desviación estándar de todos los valores analíticos. Las posiciones o líneas limítrofes son

denominadas límite de acción o alarma superior (LAS), límite de acción inferior (LAI), límites de control superior (LCS) y límites de control inferior (LCI).

## 1.7 Tratamiento de datos analíticos ambientales

La aplicación de la quimiometría en el análisis ambiental puede ser muy útil para solucionar ciertos problemas ambientales o de los métodos analíticos empleados en su análisis. Permite la planificación y optimización del proceso analítico completo, diseñando el muestreo o los experimentos, optimizando las diversas etapas. De igual forma, permite la comprensión de grandes matrices de datos, la visualización de relaciones, la detección e identificación de emisiones, la cuantificación de contaminantes y la investigación de relaciones espaciales y temporales. Adicionalmente, puede emplearse para la caracterización de los factores críticos, la especiación, la interrelación entre contaminantes y su distribución o evaluación del impacto ambiental.

La gran variedad de métodos requiere de una clasificación que permita una orientación adecuada. De forma general, los métodos quimiométricos empleados en los análisis e interpretaciones de datos pueden ser:

- a. análisis estadístico e inferencial de datos
- b. análisis multivariado
- c. análisis de series de tiempo
- d. calibración multivariado
- e. procesamiento de señales
- f. modelamientos matemáticos
- g. optimización y diseño de experimentos.

El pretratamiento de datos es una parte muy importante de cualquier análisis quimiométrico y tiene los mismos objetivos que la estadística descriptiva, pero además pretende detectar anomalías o errores en las distribuciones univariantes de los datos.

### 1.7.1 Análisis multivariado - análisis de componentes principales

Dada una gran matriz de datos analíticos, o también denominados variables cuantitativas, generados después de ciertos análisis químicos, resulta muy complicada la interpretación a simple vista, por lo cual el análisis factorial es una técnica<sup>48</sup> para reducir las variables a un espacio de menor dimensión, denominado espacio factorial, interpretando así las relaciones entre ellas. Dicho espacio permitirá analizar las similitudes entre los elementos de la muestra respecto a su comportamiento en el conjunto de las variables.

Se pueden determinar subconjuntos de elementos diferenciados de variables, donde se puede presentar que cada subconjunto esté muy relacionado con las variables o, por el contrario, las variables y los distintos subconjuntos no presenten ninguna relación.

Este conjunto de variables identificadas podrá ser clasificado como un nuevo conjunto los denominados factores, de tal forma que cada factor represente la información que tienen en común las variables pertenecientes a un mismo subconjunto.

El método de componentes principales se utiliza para la extracción del espacio factorial. Partimos de la representación de los  $n$  datos analíticos como  $n$  puntos en un espacio  $p$ -dimensional; luego se extraerá un nuevo espacio  $p$ -dimensional de tal forma que el primer eje o factor, F1, del nuevo espacio será aquel que presente la mínima deformación; en otras palabras, será aquel factor que tenga la mayor información de los datos o variables cuantitativas, y así sucesivamente para los demás factores F2, F3, etc.

Con el análisis de componentes principales se pretende conseguir la perpendicularidad de los factores para poder pasar de un conjunto de variables correlacionadas entre sí a otro grupo de variables correlacionadas por combinaciones lineales de las originales, que estén incorrelacionadas o no correlacionadas. El espacio factorial permite representar los datos analíticos como

las variables  $y$ , mediante la proyección de variables por los  $p$ -factores, las similitudes entre ellas estarán perfectamente representadas.

Muchas de las grandes aplicaciones medioambientales de estas técnicas están en la interpretación de los resultados para caracterizar y evaluar la calidad de agua, aire y suelo<sup>51,54,68</sup>. Es útil para evidenciar las variaciones temporales y espaciales causadas por las influencias antropógenas y naturales ligadas a los cambios en las estaciones u otros factores.



## 1.8 Justificación del Tema

Para evaluar el impacto de los compuestos orgánicos persistentes en el ambiente se debe realizar monitoreos continuos y estratificados, en zonas o focos de acumulación de los mismos. De acuerdo a estudios recientes<sup>1,78,79,80</sup>, se han identificado diversos compuestos persistentes en zonas ubicadas en alturas (cordilleras y nevados). Esto es debido al proceso de condensación fría y al transporte atmosférico de los contaminantes por las masas de aire, además de las características orográficas y climáticas de cada lugar. Estos contaminantes pueden ser adsorbidos por los suelos, depositarse tanto en sistemas acuáticos como en sistemas biológicos, entrando así a formar parte de la cadena alimentaria, y en la atmósfera se encuentran tanto en aire como en material particulado.

Actualmente, los esfuerzos de investigación sobre la presencia de sustancias tóxicas persistentes en el Perú son muy grandes, pero la escasa instrumentación limita el trabajo.

El transporte de los compuestos orgánicos persistentes se inicia en la fuente de emisión ingresando en las masas de aire que aumentan así su carga contaminante, y favoreciendo el movimiento o transferencia de estos compuestos orgánicos, lo cual está determinado principalmente por condiciones químicas, físicas y biológicas. La hipótesis en este trabajo se refiere al proceso de condensación fría y al transporte atmosférico de los contaminantes por las masas de aire. Los PAHs se acumulan en zonas remotas frías como los nevados de la Cordillera de los Andes, esperándose detectarlos en la zona de Ticlio. De igual forma, se propone que estos contaminantes pueden depositarse en cualquiera de los ecosistemas presentes en el hábitat. Se plantea entonces evaluar componentes abióticos del ecosistema, que sirvan como indicadores de la presencia de los compuestos orgánicos persistentes en zonas de acumulación de las mismas y así, estudiar el desplazamiento de estos compuestos y su distribución.

Este estudio muestra el trabajo de implementación de técnicas y estandarización o validación de las mismas para la determinación de hidrocarburos policíclicos aromáticos por cromatografía de alta resolución (HPLC). Luego, la toma de diversas muestras de agua y suelo en los puntos elegidos como estaciones de

muestreo. Una vez obtenidas las muestras, se procedió a su tratamiento y su posterior análisis. Con las concentraciones de los PAHs en las muestras determinadas se procedió al tratamiento de datos o resultados y su posterior discusión.



## 1.9 Objetivos

### 1.9.1 Objetivos generales

- Implementar una metodología cromatográfica para el análisis de hidrocarburos policíclicos aromáticos (PAHs) seleccionados.
- Aplicar la metodología para la detección, identificación y cuantificación de PAHs en la cuenca del río Rímac - Ticlio (Cordillera Central de Lima, ubicado en el distrito de Chicla, provincia de Huarochiri).

### 1.9.2 Objetivos específicos

- Evaluar parámetros de calidad (linealidad, límite de detección y cuantificación, precisión, reproducibilidad y exactitud) para la determinación de PAHs por HPLC.
- Determinar PAHs en muestras ambientales de agua y suelo mediante cromatografía líquida de alta resolución (HPLC).
- Analizar estadísticamente las concentraciones de PAHs determinados en la zona de estudio.
- Analizar los indicadores geoquímicos que permiten diferenciar los hidrocarburos antropogénicos de aquellos que tienen un origen natural.

## 2. PARTE EXPERIMENTAL

### 2.1. Plan de muestreo

#### 2.1.1 Área de estudio

El área de estudio corresponde a los nevados presentes en la zona de Ticlio, nevados que se caracterizan por estar situados a grandes altitudes, superiores a los 3000 m.s.n.m. hasta los 4810 m.s.n.m. Ticlio pertenece a la Cordillera Central de Lima, ubicado en el distrito de Chicla, provincia de Huarochirí; es una zona que se caracteriza por la presencia de esplendorosos nevados y lagunas como se puede observar en la [figura 2.1](#), además de poseer temperaturas muy bajas entre 8 y -5°C.



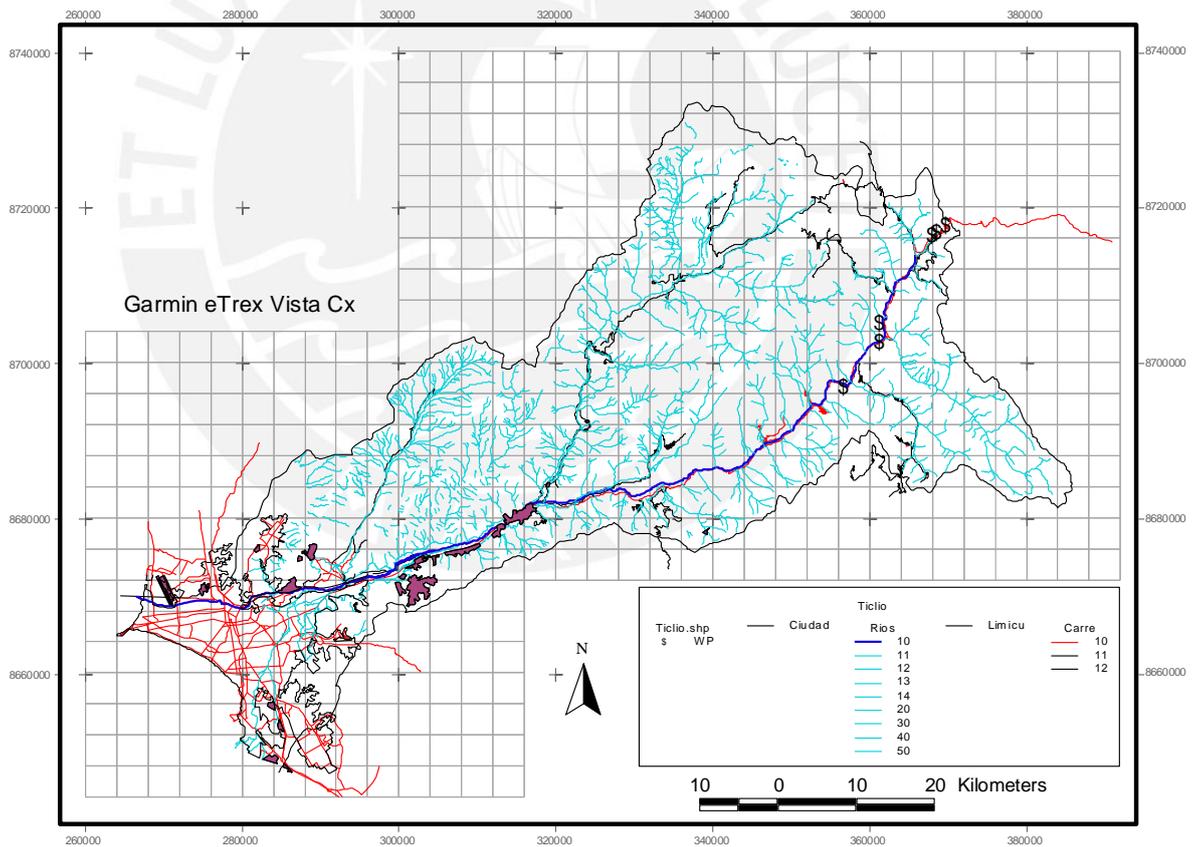
*Figura 2.1 Zona de nevados y lagunas de Ticlio*

Para la ubicación de las estaciones de muestreo se seleccionó lugares accesibles que permitieron la fácil manipulación de las muestras. Cada una de las estaciones de muestreo fue ubicada geográficamente con un GPS. A continuación se muestra la [tabla 2.1](#), con ubicación geográfica en coordenadas UTM y el nombre referencial asignado. Se utilizó un formato de control de muestreo ([anexo 1](#)).

**Tabla 2.1. Ubicación de las estaciones de muestreo**

| Estación de Muestreo    | Coordenadas UTM |         | Altitud m.s.n.m |
|-------------------------|-----------------|---------|-----------------|
|                         | E               | N       |                 |
| E1: Ticlio 2            | 368940          | 8716560 | 4684            |
| E2: Ticlio 2            | 368324          | 8716233 | 4562            |
| E3: Puente Chicla 1     | 361561          | 8704731 | 3744            |
| E4: Puente Anchi 1      | 361585          | 8702552 | 3548            |
| E5: Puente Tamboraque 1 | 357375          | 8696665 | 3056            |
| E6: Puente los Angeles  | 308713          | 8675688 | 900             |

La siguiente *figura 2.2* muestra las estaciones de muestreo ubicadas en un mapa geo-referencial obtenido a partir del GPS:



**Figura 2.2 Puntos reales de las estaciones de muestreo**

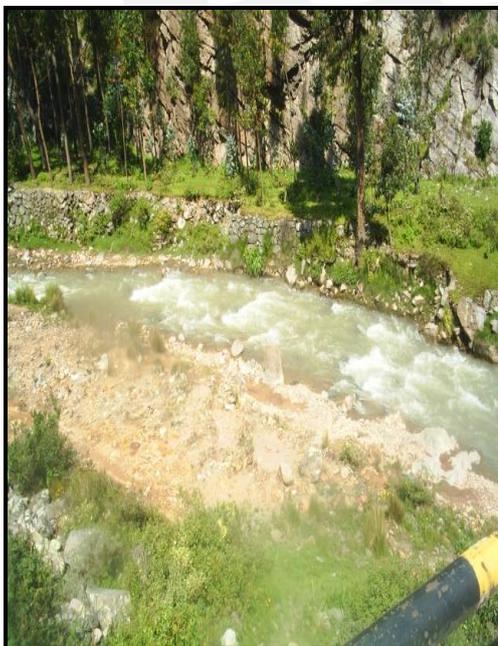
Las *figuras 2.3; 2.4; 2.5; 2.6; 2.7 y 2.8* muestran fotografías de las seis estaciones de muestreo de agua y suelo considerados para los muestreos de campos realizado.



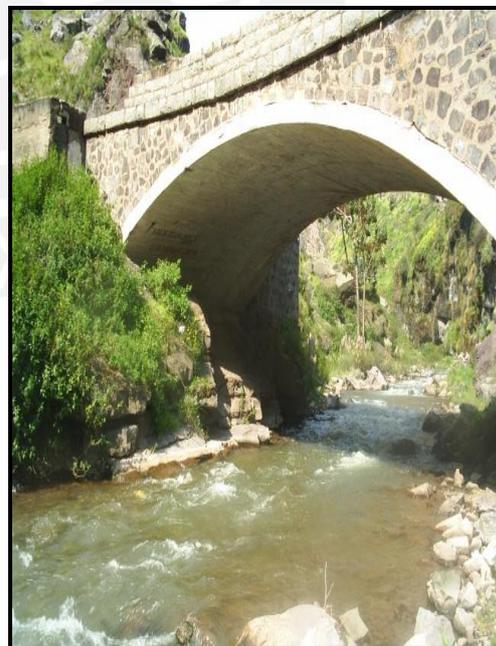
*Figura 2.3 Estación E1- Ticlio 1*



*Figura 2.4 Estación E2- Ticlio 2*



*Figura 2.5 Estación E3- Chicla I*



*Figura 2.6 Estación E4- Anchi I*



*Figura 2.7 Estación E5- Tamboraque I*    *Figura 2.8 Estación E6- Puente los Ángeles*

## 2.1.2 Diseño y cronograma de muestreo

Para el presente trabajo se aplicó un muestreo aleatorio estratificado, debido a la distribución espacial no homogénea de los contaminantes, esto es influenciado por la variabilidad de los factores como, por ejemplo, suelo, pendiente, vegetación, altitud, etc., además de las propiedades químicas de los PAHs determinantes en su distribución en la zona. Esa variabilidad fue reconocida mediante la delimitación de zonas en las que la distribución de las sustancias contaminantes es homogénea. Es por ello que se considera las diferentes altitudes como estratos, que constituyen sub-poblaciones de muestreo dentro de una misma zona.

La aplicación de este modelo consiste, en primer lugar, en la subdivisión del área de estudio en zonas homogéneas o estratos en cuanto a la distribución espacial de sustancias contaminantes, y, en segundo lugar, en la realización de un muestreo aleatorio simple en cada uno de estos estratos.

Antes de implementar el diseño de muestreo estratificado en toda la zona de estudio, se realizó un muestreo preliminar el 23 de abril del 2006. Al corroborar

la presencia de algunos PAHs se decidió implementar el procedimiento de muestreo estratificado en tres fechas más, las cuales se presentan en la [tabla 2.2](#).

**Tabla 2.2 Cronograma de muestreo.**

| Estaciones de muestreo | 23 Abril 2006<br>(muestreo 0) | 2 de Set. 2006<br>(1 <sup>er</sup> muestreo) | 25 de Nov. 2007<br>(2 <sup>do</sup> muestreo) | 10 de Mar. 2007<br>(3 <sup>er</sup> muestreo) |
|------------------------|-------------------------------|--|---|---|
| E1                     | agua- suelo                   | agua- suelo                                  | agua- suelo                                   | agua- suelo                                   |
| E2                     | agua- suelo                   | agua- suelo                                  | agua- suelo                                   | agua- suelo                                   |
| E3                     | agua- suelo                   | agua- suelo                                  | agua- suelo                                   | agua- suelo                                   |
| E4                     | agua- suelo                   | agua- suelo                                  | agua- suelo                                   | agua- suelo                                   |
| E5                     | agua- suelo                   | agua- suelo                                  | agua- suelo                                   | agua- suelo                                   |
| E6                     | agua- suelo                   | agua- suelo                                  | agua- suelo                                   | agua- suelo                                   |

## 2.2. Consideraciones analíticas para muestras ambientales

Para el presente trabajo se tomó en consideración procedimientos recomendados<sup>66</sup> para la realización de buenas prácticas de laboratorio y un buen trabajo de campo, con la finalidad de obtener muestras representativas en tiempo y tamaño.

Para cada salida a campo se utilizó un material de envasado para la recolección de las muestras previamente tratado y las medidas mínimas de seguridad personal como guantes, mascarilla, botas y materiales de preservación a bajas temperaturas, bolsas, papel aluminio, baldes y recipientes térmicos.

### 2.2.1. Recipientes de muestreo

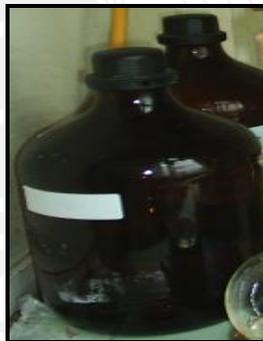
Para el muestreo se tomó en cuenta que el contaminante no podrá ser adsorbido por las paredes de la envoltura o botella que lo contenga. Los recipientes que se recomiendan<sup>66</sup> para este tipo de analitos son generalmente de vidrio borosilicatado o de polietileno de alta densidad (HDPE).

El procedimiento de limpieza de todos los materiales para el muestreo fue el siguiente:

- Lavar con detergente de laboratorio sin fosfatos
- Enjuagar 3 veces con agua destilada
- Enjuagar con ácido nítrico 1:1
- Enjuagar 3 veces con agua libre de compuestos orgánicos
- Secar en estufa durante 1 hora
- Añadir hexano, diclorometano, acetona o metanol
- Secar en estufa durante 1 hora

Las muestras para el análisis se obtuvieron por duplicado en recipientes de vidrio con cinta de Teflón y sin dejar cámara de aire sobre la muestra.

*Para las muestras de aguas* se utilizó botellas ámbar de 2 a 4 litros, [figura 2.9](#). Previo al muestreo, estas botellas fueron tratadas según las recomendaciones anteriores. Después del muestreo se refrigeraron a 4°C hasta su traslado al laboratorio.



*Figura 2.9 Envases para muestreo de agua*

En el laboratorio se tomó 3 L de muestra de agua y se colocó en un embudo de decantación para proceder con la extracción de PAHs con diclorometano y su posterior análisis por HPLC.

*Las muestras de suelo* fueron tomadas del nivel superficial y se almacenaron en envases de vidrio de 250 mL ([Figura 2.10](#)). Se almacenaron cubriendo el envase con papel aluminio (cubriéndolos de la luz), refrigerados a 4°C .



*Figura 2.10 Envases para muestreo de suelos*

En el laboratorio, las muestras de suelo fueron tamizadas (malla 400-600  $\mu\text{m}$ ) y secadas a 60 °C en la estufa por 48 horas. Se pesó en una balanza analítica aproximadamente 10 gramos de muestra seca y se procedió con la extracción de los PAHs y su posterior determinación por HPLC.

### **2.2.2. Conservación de la muestra**

La conservación suele basarse en el empleo de sustancias químicas como ácidos o bases para controlar el pH, pero frecuentemente es el almacenamiento a baja temperatura el más recomendado. Las muestras fueron almacenadas a 4°C en la oscuridad hasta su posterior análisis<sup>66</sup>.

El tiempo necesario entre la toma de muestra y el análisis es crítico ya que los analitos pueden degradarse o sufrir pérdidas a partir de un determinado momento, incluso considerando técnicas de conservación y almacenamiento. Por lo general, es necesario llegar a un compromiso entre el tipo de recipiente utilizado en el muestreo, procedimiento de conservación y tiempo recomendado de conservación.

Para los análisis de PAHs en muestras de suelo y agua la extracción de la matriz se debe llevar a cabo dentro de los 14 días y la determinación en los 40 días siguientes<sup>66</sup>.

## 2.3. Tipos de muestras y características

En las distintas estaciones de muestreo fueron colectadas muestras de agua y suelo según un cronograma establecido (*tabla 2.2*) y de acuerdo al diseño de muestreo implementado.

### 2.2.1 Muestras de agua

A continuación, la *tabla 2.3* muestra las características físico-químicas de las muestras de aguas superficiales recolectadas de orillas del río.

*Tabla 2.3 Características de las muestras de agua.*

| Muestreo       | Estación de Muestreo | pH   | T (°C) | Apariencia                               |
|----------------|----------------------|------|--------|--|
| <b>Primero</b> | E1                   | 8.88 | 9      | Transparente ligeramente amarillenta     |
|                | E2                   | 8.7  | 8      | Transparente ligeramente amarillenta     |
|                | E3                   | 8.73 | 11     | Transparente e incolora                  |
|                | E4                   | 8.73 | 12     | Transparente e incolora                  |
|                | E5                   | 8.48 | 15     | Transparente e incolora                  |
|                | E6                   | 8    | 18     | Transparente e incolora                  |
| <b>Segundo</b> | E1                   | 8.35 | 11     | Transparente e incolora                  |
|                | E2                   | 8.32 | 10.5   | Transparente e incolora                  |
|                | E3                   | 8.45 | 13.6   | Transparente e incolora                  |
|                | E4                   | 8.3  | 11     | Transparente e incolora                  |
|                | E5                   | 8.11 | 15     | Transparente e incolora                  |
|                | E6                   | 8.0  | 18     | Transparente e incolora                  |
| <b>Tercero</b> | E1                   | 6    | 9      | Transparente ligeramente amarillenta     |
|                | E2                   | 6    | 7      | Transparente ligeramente amarillenta     |
|                | E3                   | 6    | 8      | Ligeramente turbia                       |
|                | E4                   | 6    | 11     | Ligeramente turbia                       |
|                | E5                   | 6    | 12     | Turbia con abundante material suspendido |
|                | E6                   | 6    | 16     | Turbia con abundante material suspendido |

### 2.3.2 Muestras de suelo

A continuación se presenta la *tabla 2.4*, donde se muestran las características de las muestras de suelos superficiales recolectadas de máximo 10 cm de profundidad.

*Tabla 2.4 Características de las muestras de suelo.*

| Muestreo | Estación de Muestreo | Apariencia   |
|----------|----------------------|--|
| Primero  | E1                   | Suelo ligeramente rojizo, pedregoso, presencia de cierta vegetación.         |
|          | E2                   | Suelo rojizo, pedregoso.   |
|          | E3                   | Suelo ligeramente rojizo, pedregoso, abundante vegetación y basura.          |
|          | E4                   | Suelo con abundante vegetación.  |
|          | E5                   | Suelo muy pedregoso.   |
|          | E6                   | Suelo arenoso.   |
| Segundo  | E1                   | Suelo ligeramente rojizo, pedregoso, presencia de cierta vegetación.         |
|          | E2                   | Suelo rojizo, pedregoso.   |
|          | E3                   | Suelo ligeramente rojizo, pedregoso, abundante vegetación y basura.          |
|          | E4                   | Suelo con abundante vegetación.  |
|          | E5                   | Suelo muy pedregoso.   |
|          | E6                   | Suelo arenoso.   |
| Tercero  | E1                   | Suelo ligeramente rojizo, pedregoso, presencia de cierta vegetación y húmedo |
|          | E2                   | Suelo rojizo, pedregoso y húmedo.  |
|          | E3                   | Suelo ligeramente rojizo, pedregoso, húmedo, abundante vegetación y basura.  |
|          | E4                   | Suelo con abundante vegetación y húmedo.                                     |
|          | E5                   | Suelo muy pedregoso y húmedo   |
|          | E6                   | Suelo arenoso y húmedo   |

## 2.4 Análisis químico

Mediante la evaluación de algunos parámetros de calidad analítica de un método analítico se muestra la confiabilidad de producir un resultado previsto dentro de intervalos definidos. Para el presente estudio se estableció la linealidad, precisión, exactitud, sensibilidad analítica, límite de detección, y límite de cuantificación para la determinación simultánea de dieciséis hidrocarburos policíclicos aromáticos por cromatografía líquida de alta resolución HPLC. Todos estos trabajos se realizaron a partir de soluciones estándares certificadas.

### 2.4.1 Preparación de soluciones estándar

Para los distintos procedimientos en general se preparó una solución madre a partir de los patrones certificados que contienen los dieciséis PAHs en acetonitrilo (*anexo 3*). Esta solución se almacenó y se tomaron alícuotas correspondientes para obtener soluciones estándar en un rango de concentraciones útiles para la curva de calibración o rango de linealidad evaluada.

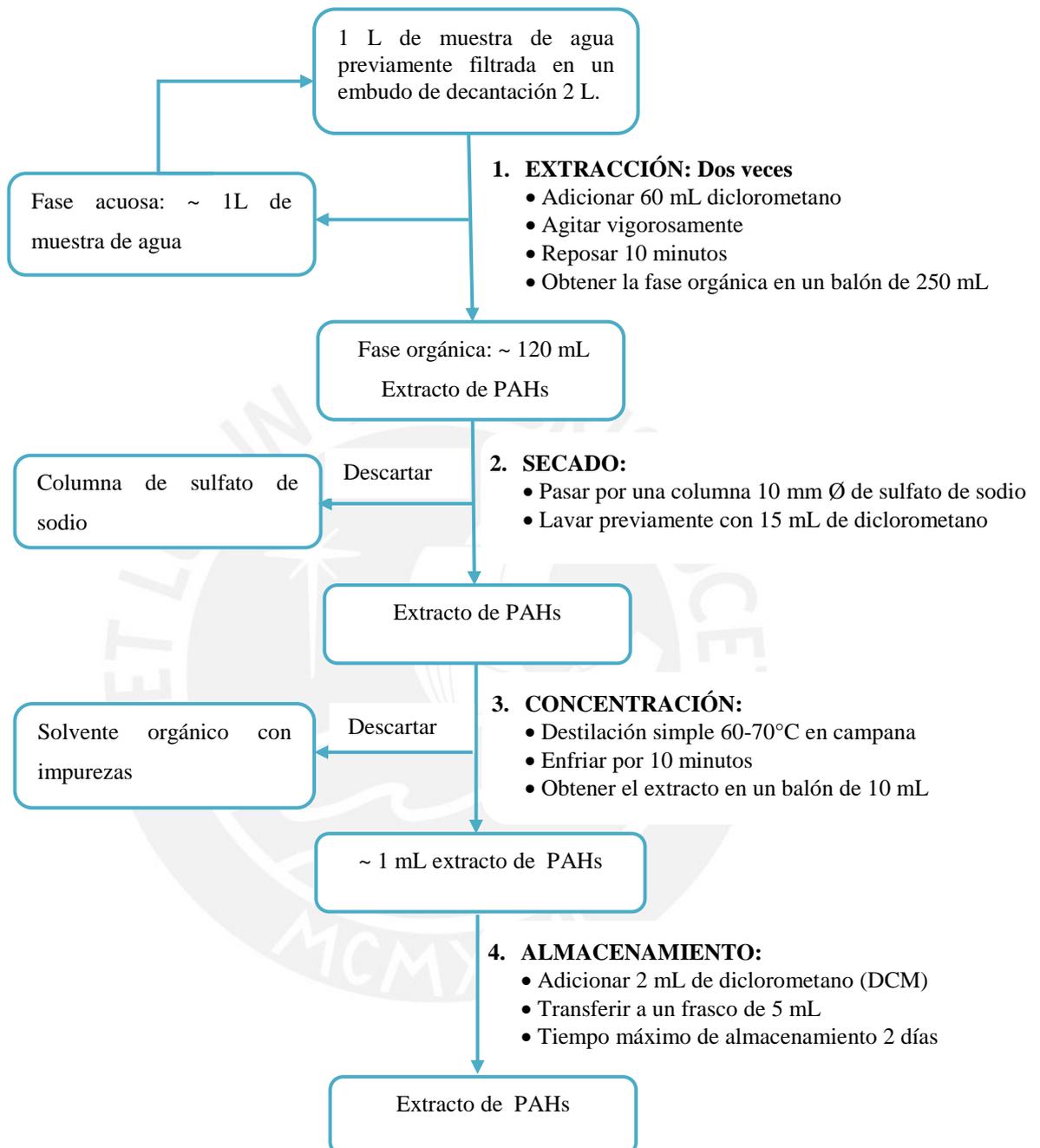
### 2.4.2 Método de extracción para muestras de agua

El método que se desarrolló para determinar algunos PAHs tiene como referencia el método EPA<sup>14</sup> 610, específico para muestras de aguas naturales en comparación con el método EPA<sup>14</sup> 8310.

Se realizó una extracción líquido-líquido con diclorometano. El extracto se sometió a un procedimiento de limpieza, concentración y luego se analizó por HPLC con un detector ultravioleta visible y arreglo de diodos, seleccionando condiciones adecuadas del cromatógrafo para la cuantificación de distintos PAHs.

Para la concentración del extracto se consideró un destilador equivalente al Kuderna- Danish, mencionado en el método normalizado (método EPA 610); este es uno de los motivos por el cual se hace necesaria la validación del procedimiento.

La *figura 2.11* muestra el procedimiento para la extracción líquido-líquido con diclorometano en muestras de aguas.



*Figura 2.11 Extracción de PAHs en muestras de agua*

En las *figuras 2.12 y 2.13* se muestra el sistema utilizado para este procedimiento.



*Figura 2.12 Extracción líquido-líquido. Técnica preparativa para muestras acuosas.*



*Figura 2.13 Sistema de destilación simple. Técnica de concentración*

### 2.4.3 Método de extracción para muestras de suelos

Para el análisis de PAHs en muestras en suelo no existe un método establecido, por tal motivo se implementó una metodología alternativa, realizando una extracción sólido-líquido (Soxhlet) según la EPA<sup>14</sup> 3540, técnica de extracción para muestras de suelos, lodos, sedimentos y tejidos. Se realizaron pruebas con distintas mezclas de solventes para la extracción<sup>39</sup>, donde la mezcla diclorometano: metanol 2:1 fue la que presentó el mayor porcentaje de extracción. Similar al procedimiento con aguas se utilizó un destilador simple para la concentración de los extractos.

La *figura 2.14* muestra el procedimiento de extracción de PAHs en muestras de suelos.

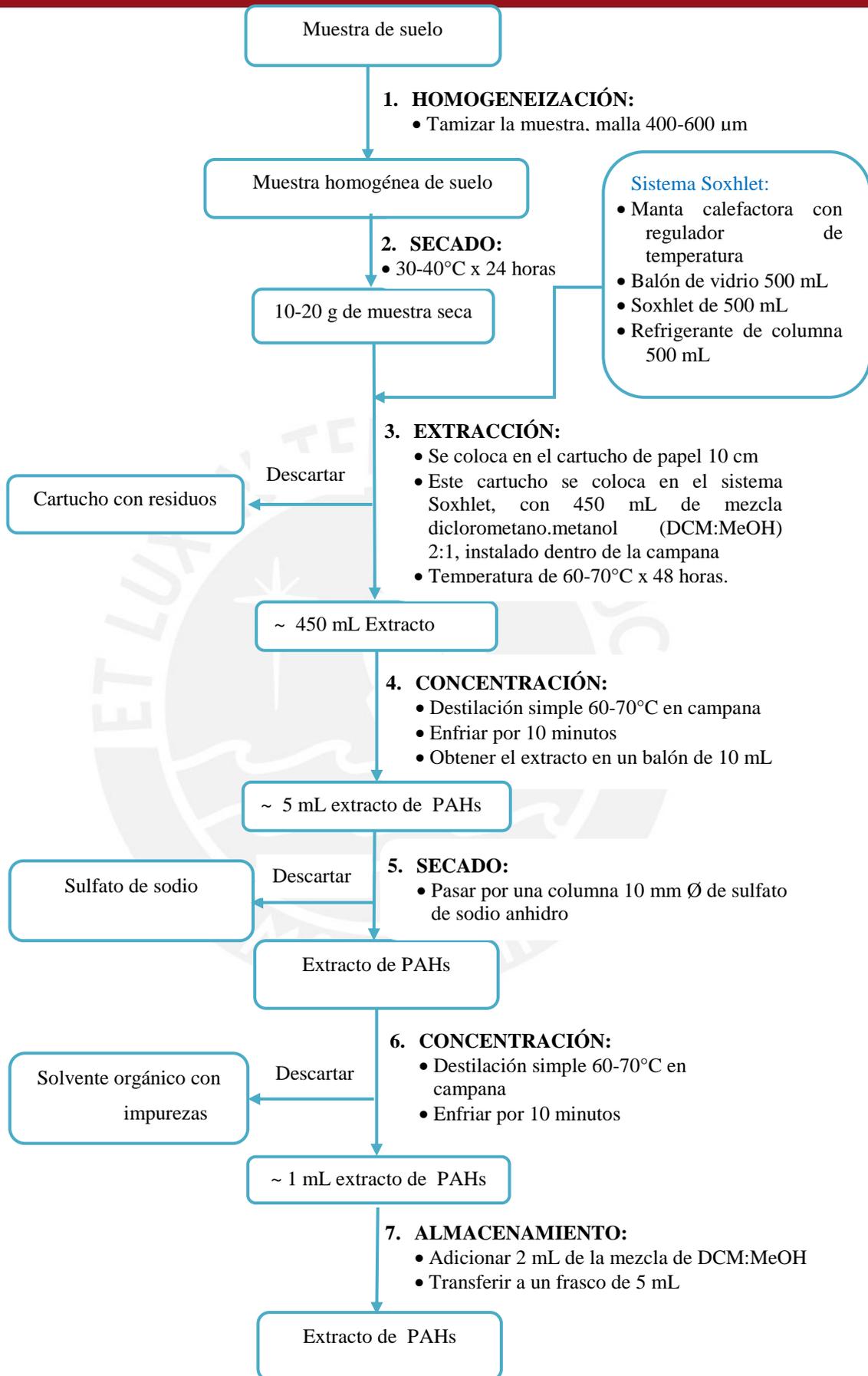


Figura 2.14 Extracción de PAHs en muestras de suelo

El extracto orgánico después de la extracción Soxhlet (*figura 2.15*) se sometió al procedimiento de limpieza y concentración para luego ser analizado por HPLC.

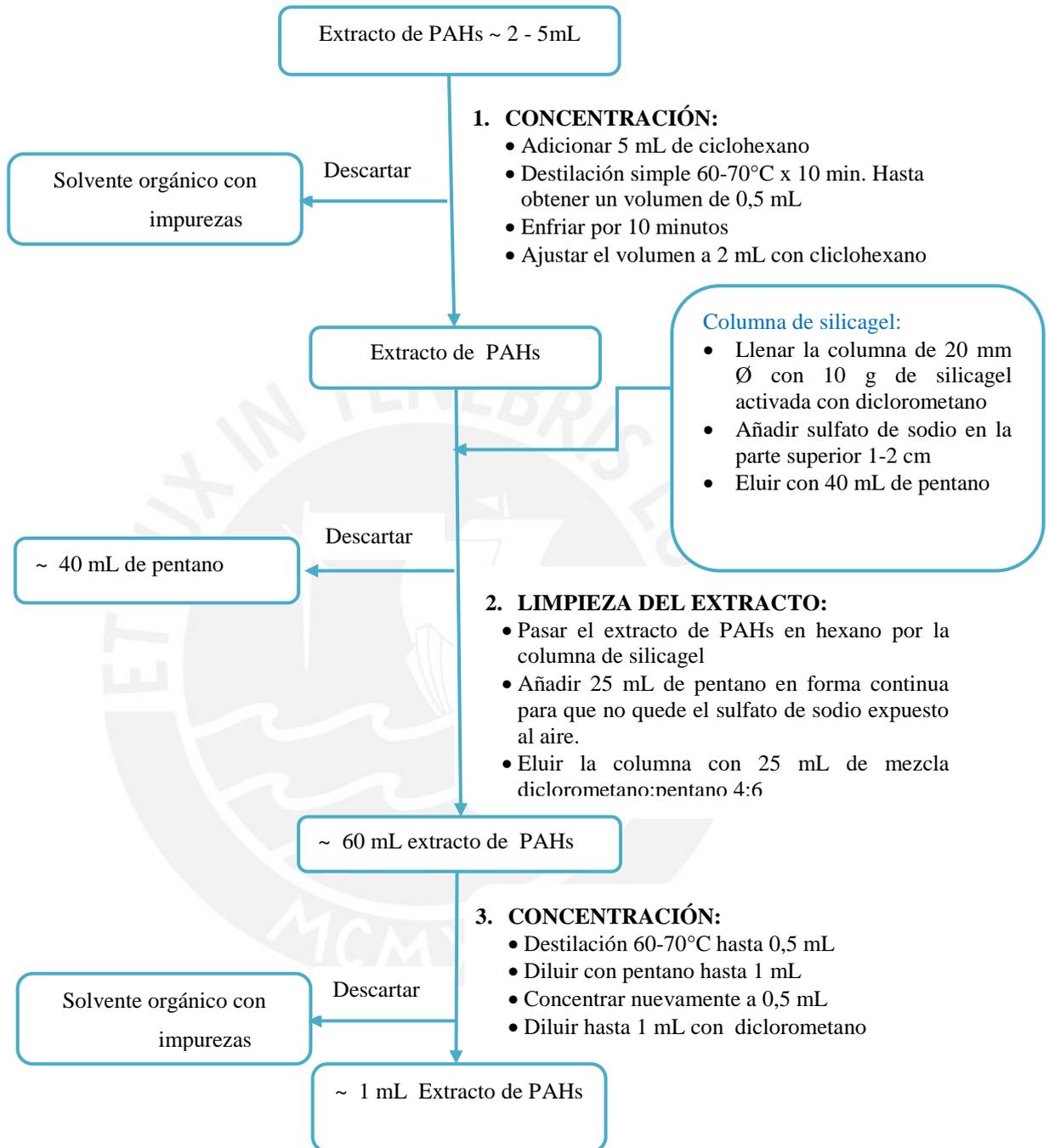


*Figura 2.15 Extracción Soxhlet. Técnica preparativa para muestras de suelos, lodos, sedimentos, tejidos. (Método EPA 3540).*

#### 2.4.4 Limpieza del extracto de PAHs

Según la EPA<sup>14</sup> 3630C, una columna de sílicagel (Silicagel 60 de 35-70  $\mu\text{m}$ -Merck Millipore) permite aislar los PAHs de sus interferentes para poder analizar por HPLC.

La *figura 2.16* muestra el procedimiento de limpieza del extracto de PAHs de muestras de suelo y agua.



*Figura 2.16 Proceso de limpieza del extracto de PAHs*

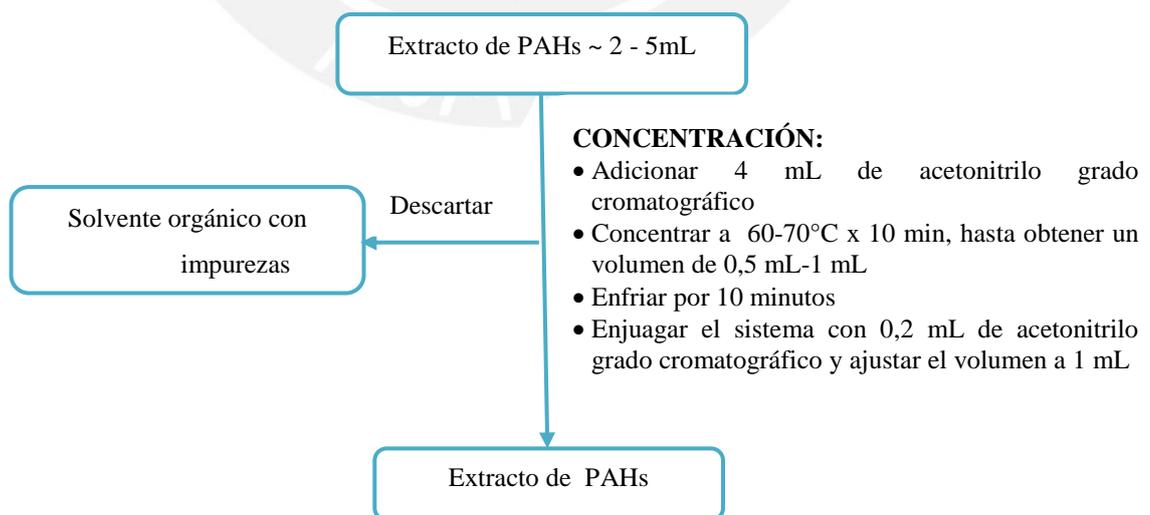
En la siguiente *figura 2.17* se muestra el sistema utilizado para este procedimiento.



*Figura 2.17 Cromatografía líquida en columna con sílicagel.*

#### 2.4.5. Concentración del extracto de PAHs

El extracto obtenido tanto del procedimiento de extracción como del procedimiento de limpieza se coloca en un balón de 10 mL y se procedió con la concentración como muestra la *figura 2.18*.



*Figura 2.18 Concentración del extracto de PAHs*

### 2.5.6. Determinación por Cromatografía Líquida -HPLC

Se empleó un Cromatógrafo Líquido de Alta Resolución HPLC Lachrom Merck Hitachi, constituido por una bomba de gradiente modelo L-7100, un detector UV modelo L-7450 (190 – 450 nm) y arreglo de diodos. Para la separación del sistema cromatográfico se utilizó una columna PAH-Lichrosphere RP18, 250 x 4mm, diámetro de partícula 5 micrómetros.

El programa de elución del HPLC se muestra en la [tabla 2.5](#). El volumen de inyección de muestra fue de 20  $\mu$ L.

**Tabla 2.5 Programa de elución para HPLC ( $\lambda = 254$  nm)**

| Tiempo (min) | %ACN | %Agua | Flujo (mL/min) |
|--------------|------|-------|----------------|
| 0            | 40   | 60    | 1,2            |
| 5            | 40   | 60    | 1,2            |
| 30           | 100  | 0     | 1,2            |
| 44           | 100  | 0     | 1,2            |
| 50           | 40   | 60    | 1,2            |
| 60           | 40   | 60    | 1,2            |

### 2.5 Estandarización del método cromatográfico.

Para determinar los parámetros de calidad del procedimiento analítico se tiene en cuenta los siguientes procedimientos:

**La linealidad del método**, se trabajó con una serie de estándares, preparados entre un rango de concentraciones de cada uno de los PAHs ([tabla 2.6](#)) a partir de la solución madre certificada ([anexo 3](#)). Este procedimiento también ayuda a obtener la curva de calibración con respecto a un blanco.

**Tabla 2.6 Concentraciones para evaluar la linealidad y curva de calibración**

| Nº | Analito                 | Sol. Madre<br>(µg/ml) | Rango<br>linealidad<br>(µg/L) | Rango curva de<br>calibración<br>(µg/L) |
|----|-------------------------|-----------------------|-------------------------------|---|
| 1  | naftaleno               | 1002±5                | 100-1500                      | 100-800                                 |
| 2  | acenaftileno            | 1003±5                | 100-1500                      | 100-800                                 |
| 3  | acenafteno              | 1001±5                | 100-1500                      | 100-800                                 |
| 4  | fluoreno                | 1000±5                | 100-1500                      | 100-800                                 |
| 5  | fenantreno              | 1001±5                | 100-1500                      | 100-800                                 |
| 6  | antraceno               | 1001±5                | 100-1500                      | 100-800                                 |
| 7  | fluoranteno             | 100,0±0,5             | 10-500                        | 10-80                                   |
| 8  | pireno                  | 100,2±0,5             | 10-500                        | 10-80                                   |
| 9  | benzo[a]antraceno       | 100,5±0,5             | 10-500                        | 10-80                                   |
| 10 | criseno                 | 100,4±0,5             | 10-500                        | 10-80                                   |
| 11 | benzo[b]fluoranteno     | 100,0±0,5             | 10-500                        | 10-80                                   |
| 12 | benzo[k]fluoranteno     | 50±0,3                | 5-250                         | 5-40                                    |
| 13 | benzo[a]pireno          | 100,0±0,5             | 10-500                        | 10-80                                   |
| 14 | benzo[a,h]antraceno     | 100,5±0,5             | 10-500                        | 10-80                                   |
| 15 | benzo[g,h,i]perileno    | 100,0±0,5             | 10-500                        | 10-80                                   |
| 16 | indeno[1,2,3-c,d]pireno | *                     | *                             | *                                       |

\*No se logró observar en los cromatogramas

Para los 6 primeros analitos de la tabla se trabajó en un rango de concentraciones de 100 - 5000 µg/L, para fluoranteno, pireno, benzo[a]antraceno, criseno, benzo[b]fluoranteno en un rango de 10 - 500 µg/L, benzo[k]fluoranteno de 5 - 250 µg/L y para los demás analitos de 10 - 500 µg/L, observando que no presentaban linealidad en todo el rango evaluado, por lo que se decidió trabajar en un menor rango de concentraciones, el cual se presenta en la [tabla 2.6](#).

**El límite de detección** es comúnmente expresado como concentración de analito y se calcula de la siguiente forma:

$$LD = Y_b + 3S_b/m$$

Donde:  $Y_b$ : corresponde a la respuesta del blanco (punto en el cual intercepta la ecuación de la recta, en la gráfica concentración vs área de los tres puntos más bajos);  $S_b$ : desviación estándar de la respuesta a concentraciones cero, (punto en el cual intercepta la ecuación de la recta, en la gráfica concentración vs área de los tres puntos mas bajos)

**Límite de cuantificación**, concentración mínima de analito a ser cuantificada y se determina de la siguiente forma:

$$LC = Y_b + 10S_b/m$$

**Precisión**, dispersión de una serie de mediciones. Para determinar la precisión del instrumento evaluamos 8 medidas del estándar (2000/200/100  $\mu\text{g/L}$ ). Esto se evalúa mediante el cálculo del coeficiente de variación:

$$\%CV = \frac{\sigma}{\bar{X}} \times 100$$

$\sigma$  : desviación estándar de las 8 medidas

$\bar{X}$  : promedio de las 8 medidas

Para determinar la precisión del método se evaluó la dispersión de dos muestras inyectadas con 400/40/20  $\mu\text{g/L}$  de PAHs.

**La reproducibilidad** se evalúa mediante una muestra recargada en diferentes días. Para preparar las muestras de agua se tomó 2 litros de agua destilada y se incorporó 1 mL de la solución estándar (200/20/10  $\mu\text{g/L}$ ). Luego de unas horas se inició el proceso de extracción y todo el método descrito anteriormente. Este procedimiento se repitió para tres muestras distintas de agua en tres días.

Las muestras de suelo se prepararon adicionando 1 mL de la solución estándar preparada a 10 gramos de muestras de suelo, que se consideran como blancos para este estudio (ya que fueron caracterizados previamente), luego de unas horas se inicia con el proceso de extracción y todo el método descrito anteriormente. Este procedimiento se repitió para dos muestras distintas de suelo en tres días.

**La exactitud** se mide como porcentaje de recuperación. Las muestras de aguas se obtuvieron al dosificar una muestra de 2 litros de agua con 1 mL de solución estándar previamente preparada, luego de cierto tiempo las muestras se extraen y se procede por el método analítico expuesto anteriormente. Las muestras de suelo se prepararon a partir de la incorporación de 1mL de solución estándar previamente preparada. Luego se procedió a extraer las muestras de suelo y continuó con el procedimiento experimental.

### 3. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

#### 3.1. Estandarización del método cromatográfico

Mediante la evaluación de algunos parámetros de calidad analítica se muestra la confiabilidad de producir un resultado previsto dentro de intervalos definidos. Para el presente estudio se establecieron la linealidad, la precisión, la exactitud, la sensibilidad analítica, el límite de detección y el límite de cuantificación para la determinación simultánea de 16 hidrocarburos policíclicos aromáticos por cromatografía líquida de alta resolución (HPLC). La curva de calibración se realizó midiendo por triplicado las respuestas correspondientes a cada analito de la mezcla de estándares, en cuatro niveles de concentración.

##### 3.1.1 Linealidad del método

En la [tabla 3.1](#) se presentan los rangos de concentración donde se evaluó la linealidad.

**Tabla 3.1** Condiciones para evaluar la linealidad

| Nº | Analito                 | Tiempo de retención (min) | Sol. Madre (µg/ml) | Rango (µg/L) |
|----|-------------------------|---------------------------|--------------------|--------------|
| 1  | naftaleno               | 16,81                     | 1002±5             | 100-1500     |
| 2  | acenaftileno            | 17,59                     | 1003±5             | 100-1500     |
| 3  | acenafteno              | 19,13                     | 1001±5             | 100-1500     |
| 4  | fluoreno                | 21,25                     | 1000±5             | 100-1500     |
| 5  | fenantreno              | 22,41                     | 1001±5             | 100-1500     |
| 6  | antraceno               | 23,12                     | 1001±5             | 100-1500     |
| 7  | fluoranteno             | 24,55                     | 100,0±0,5          | 10-150       |
| 8  | pireno                  | 25,40                     | 100,2±0,5          | 10-150       |
| 9  | benzo[a]antraceno       | 27,33                     | 100,5±0,5          | 10-150       |
| 10 | criseno                 | 29,57                     | 100,4±0,5          | 10-150       |
| 11 | benzo[b]fluoranteno     | 29,83                     | 100,0±0,5          | 10-150       |
| 12 | benzo[k]fluoranteno     | 30,65                     | 50±0,3             | 5-100        |
| 13 | benzo[a]pireno          | 31,29                     | 100,0±0,5          | 10-150       |
| 14 | dibenzo[a,h]antraceno   | 32,67                     | 100,5±0,5          | 10-150       |
| 15 | benzo[g,h,i]perileno    | 33,03                     | 100,0±0,5          | 10-150       |
| 16 | indeno[1,2,3-c,d]pireno | *                         | *                  | *            |

\*No se logró observar en los cromatogramas

La linealidad se evaluó en función a dos parámetros, el coeficiente de correlación ( $r^2$ ), y en términos relativos a la desviación estándar de la pendiente ( $1-S_m/m$ ). Los resultados se muestran en la [tabla 3.2](#).

**Tabla 3.2 Parámetros de evaluación de la linealidad**

| Analito                 | Rango $\mu\text{g/L}$ | $r^2$  | $1-S_m/m$ |
|-------------------------|-----------------------|--------|-----------|
| naftaleno               | 100-1500              | 0,9980 | 0,980     |
| acenaftaleno            | 100-1500              | 0,9990 | 0,990     |
| acenafteno              | 100-1500              | 0,9990 | 0,996     |
| fluoreno                | 100-1500              | 0,9990 | 0,997     |
| fenantreno              | 100-1500              | 0,9990 | 0,995     |
| antraceno               | 100-1500              | 0,9990 | 0,997     |
| fluoranteno             | 10-150                | 0,9990 | 0,996     |
| pireno                  | 10-150                | 0,9980 | 0,985     |
| benzo[a]antraceno       | 10-150                | 0,9990 | 0,997     |
| criseno                 | 10-150                | 0,9980 | 0,990     |
| benzo[b]fluoranteno     | 10-150                | 0,9970 | 0,985     |
| benzo[k]fluoranteno     | 5-100                 | 0,9970 | 0,995     |
| benzo[a]pireno          | 10-150                | 0,9960 | 0,969     |
| dibenzo[a,h]antraceno   | 10-150                | 0,9990 | 0,993     |
| benzo[g,h,i]perileno    | 10-150                | 0,9940 | 0,985     |
| indeno[1,2,3-c,d]pireno | *                     | *      | *         |

\*No se logró observar en los cromatogramas  
 $m$ = pendiente;  $S_m$ = desviación estándar de la pendiente.

Con respecto a la linealidad, este parámetro incluye la proporcionalidad entre la concentración del analito y la respuesta (área del pico cromatográfico) proporcionando el intervalo de concentraciones para el cual el método es satisfactorio.

La linealidad del sistema en el intervalo de concentración estudiado se comprobó mediante un análisis de regresión por el método de mínimos cuadrados, calculado mediante Minitab 15 y Excel. Se obtuvo la ecuación de una línea recta para cada uno de los analitos, la pendiente, una ordenada al origen (intercepto) y un coeficiente de regresión ( $r^2$ ), para cada uno de los PAHs en los intervalos de concentración señalados, ver [tabla 3.2](#). Este coeficiente de correlación  $r^2$  cercano a 1 generalmente mide la linealidad del método. Según María E. Baez<sup>21</sup> no es suficiente determinar el coeficiente de regresión ( $r^2 = 1$ ) sino evaluar el parámetro  $1-S_m/m$ .

Experimentalmente, estos valores del coeficiente de regresión y de linealidad son significativos (*tabla 3.2*) por lo que se determinó la buena linealidad del método para cada uno de los 15 primeros PAHs. No se pudo observar el indeno (1,2,3-c,d) pireno en los cromatogramas, lo cual podría estar relacionado con el tiempo de elución para el análisis por HPLC.

De acuerdo a los resultados presentados en la *tabla 3.2*, se tienen menores valores de linealidad para pireno, benzo[b]fluoranteno, benzo[g,h,i]perileno, naftaleno y benzo[a]pireno en orden decreciente. Esto se puede relacionar con las mayores desviaciones estándar establecidas para un determinado nivel de concentración. Sin embargo, los valores de  $r^2$  son superiores a 0,99 para los quince PAHs evaluados.

### 3.1.2 Límite de detección (LDD) y límite de cuantificación (LDC)

La determinación del límite de detección es importante para el análisis de trazas. Este término ha sido estudiado estadísticamente y existen varios criterios para su determinación. Ninguno tiene una aceptación absoluta, pero existe la convención de diversos autores (Baez, 1999; Fernández 1990 y Skrull 1997) que corresponde a la siguiente expresión:

$$Y = Y_b + 3S_b \quad \dots\dots \text{Ec. 3.1}$$

Para determinar el límite de detección, se midieron tres réplicas de la señal de una solución que contenía los 16 analitos, en tres concentraciones bajas, debido a la dificultad de medir blancos en métodos cromatográficos (Baez, 1999).

El límite de detección (LDD) se define como la mínima concentración de analito detectable por el método. Según diversas bibliografías<sup>20,21</sup> que coinciden en la determinación del LDD para métodos analíticos, se obtiene de la siguiente forma, expresado en unidades de concentración:

$$\text{LDD} = \frac{(Y_b + 3S_b) - b}{m} \quad \dots\dots \text{Ec. 3.2}$$

$Y_b$ : respuesta de la ecuación de la recta a concentración cero.

$S_b$ : Desviación estándar de la respuesta a concentración cero.

$m$ : pendiente de la ecuación de la recta (de los tres puntos más bajos, concentración vs área)

$b$ : intercepto en la ecuación de la recta

En la práctica, los términos  $Y_b$  y  $S_b$  se determinan cuando se utiliza una recta de regresión convencional para la calibración de tres concentraciones más pequeñas. Si se considera que el método de los mínimos cuadrados sin ponderar cada punto en la representación gráfica tiene una distribución normal<sup>46</sup>, es apropiado utilizar  $S_{y/x}$  en lugar de  $S_b$  en la estimación del límite de detección.

Un segundo criterio para determinar el límite de detección lo menciona Baez (1999), el cual relaciona la sensibilidad y los pares de datos ( $n$ ) utilizados para el cálculo de la regresión en la siguiente expresión:

$$LDD = 3 (S_{y/x} / m) [n-2/n-1]^{1/2} \quad \dots \quad \text{Ec. 3.3}$$

Ambos resultados son comparables, por lo cual se tomó en cuenta la ecuación 3.2 por la coincidencia de autores, para el reporte del LDD en la [tabla 3.3](#).

El límite de cuantificación está determinado por:

$$Y = Y_b + 10S_b. \quad \dots \quad \text{Ec. 3.4}$$

El valor numérico de 10 es por convención analítica.

El límite de cuantificación (LC), también llamado límite de determinación, se define como la mínima concentración de analito que puede ser determinada con un aceptable nivel de incertidumbre. Este valor será determinado teniendo en cuenta la siguiente forma, en unidades de concentración:

$$LC = \frac{(Y_b + 10 * S_b) - b}{m} \quad \dots \text{Ec. 3.5}$$

$Y_b$ : respuesta de la ecuación de la recta a concentración cero.

$S_b$ : Desviación estándar de la respuesta a concentración cero.

$m$ : pendiente de la ecuación de la recta (de los tres puntos más bajos, concentración vs área)

$b$ : intercepto en la ecuación de la recta

**Tabla 3.3 Límites de detección y límites de cuantificación**

| Nº | Analito               | Rango µg/L | LDD (ppb) | LC (ppb) |
|----|-----------------------|------------|-----------|----------|
| 1  | naftaleno             | 100-400    | 13,8      | 46,1     |
| 2  | acenaftileno          | 100-400    | 26,6      | 88,8     |
| 3  | acenafteno            | 100-400    | 11,9      | 39,7     |
| 4  | fluoreno              | 100-400    | 11,8      | 39,3     |
| 5  | fenantreno            | 100-400    | 7,37      | 24,6     |
| 6  | antraceno             | 100-400    | 7,3       | 24,3     |
| 7  | fluoranteno           | 10-40      | 0,15      | 0,50     |
| 8  | pireno                | 10-40      | 2,46      | 8,2      |
| 9  | benzo[a]antraceno     | 10-40      | 0,20      | 0,68     |
| 10 | criseno               | 10-40      | 0,16      | 0,52     |
| 11 | benzo[b]fluoranteno   | 10-40      | 4,44      | 14,8     |
| 12 | benzo[k]fluoranteno   | 5-20       | 0,38      | 1,26     |
| 13 | benzo[a]pireno        | 10-40      | 1,15      | 3,82     |
| 14 | dibenzo[a,h]antraceno | 10-40      | 1,62      | 5,39     |
| 15 | benzo[g,h,i]perileno  | 10-40      | 2,72      | 9,8      |

En la [tabla 3.3](#) se muestra el rango de concentración evaluado y los valores para los límites de detección y cuantificación para cada uno de los PAHs. Los valores pequeños de 0,15 y 0,16 para el fluoranteno y criseno respectivamente y valores máximos para el acenaftileno demuestran una buena sensibilidad instrumental, corroborada también por la linealidad observada para cada uno de los analitos ([tabla 3.3](#)).

### 3.1.3 Precisión

La precisión describe el grado de dispersión entre una serie de mediciones obtenidas para una misma muestra bajo las mismas condiciones. Se toman en cuenta dos tipos de precisión, una sobre el sistema instrumental y otra sobre el método desarrollado; ambas fueron evaluadas experimentalmente.

*Tabla 3.4 Áreas cromatográficas para PAHs (n=8)*

| Analito               | Sol. Estándar (µg/L) | Área 1  | Área 2  | Área 3  | Área 4  | Área 5  | Área 6  | Área 7  | Área 8  |
|-----------------------|----------------------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|
| naftaleno             | 2000                 | 144917  | 145000  | 143525  | 144272  | 141195  | 141749  | 141643  | 143289  |
| acenaftileno          | 2000                 | 213484  | 212400  | 212640  | 213840  | 211817  | 211222  | 212511  | 213220  |
| acenafteno            | 2000                 | 119070  | 118150  | 117040  | 118610  | 118500  | 117720  | 118560  | 118300  |
| fluoreno              | 2000                 | 1149265 | 1152100 | 1145381 | 1151573 | 1136358 | 1136878 | 1137688 | 1140965 |
| fenantreno            | 2000                 | 2623445 | 2627777 | 2618461 | 2630474 | 2635635 | 2634805 | 2631382 | 2650137 |
| antraceno             | 2000                 | 8339873 | 8340741 | 8325638 | 8330088 | 8421464 | 8407313 | 8395444 | 8447082 |
| fluoranteno           | 200                  | 57400   | 57200   | 57490   | 58080   | 56820   | 61013   | 57920   | 56780   |
| pireno                | 200                  | 60482   | 58931   | 60139   | 59080   | 58267   | 58072   | 57912   | 57866   |
| benzo[a]antraceno     | 200                  | 333780  | 334920  | 332650  | 336000  | 330010  | 329940  | 330050  | 332380  |
| criseno               | 200                  | 132678  | 133568  | 131368  | 130960  | 142716  | 142391  | 141911  | 143750  |
| benzo[b]fluoranteno   | 200                  | 85511   | 84231   | 82771   | 86340   | 71843   | 71148   | 71688   | 71369   |
| benzo[k]fluoranteno   | 100                  | 128762  | 129336  | 128147  | 129232  | 128009  | 126964  | 127875  | 128706  |
| benzo[a]pireno        | 200                  | 27097   | 28143   | 27912   | 28007   | 28280   | 27655   | 28185   | 28373   |
| dibenzo[a,h]antraceno | 200                  | 206677  | 206785  | 207379  | 208166  | 205099  | 203840  | 205526  | 207819  |
| benzo[g,h,i]perileno  | 200                  | 55203   | 53994   | 53650   | 52893   | 56540   | 55759   | 56583   | 57100   |

### a. Precisión del sistema instrumental

Para evaluar este parámetro se evaluaron ocho inyecciones de una solución estándar preparada a partir de la solución madre de PAHs certificada (*anexo 3*). Las áreas para cada uno de los analitos en los cromatogramas se presentan en la *tabla 3.4*.

El coeficiente de variación (%CV) o desviación estándar relativa es la forma más apropiada de la precisión para fines comparativos. Sus unidades se expresan en porcentajes y se determina en función al promedio ( $\bar{X}$ ) de las ocho inyecciones y la desviación estándar ( $\sigma$ ).

$$\%CV = \frac{\sigma}{\bar{X}} \times 100 \quad \dots\dots\text{Ec. 3.6}$$

Las áreas de los cromatogramas se presentan en la *tabla 3.4* y, para fines comparativos, la precisión fue expresada como porcentaje de variación o desviación estándar relativa. Según estudios presentados por Díaz<sup>76</sup> (normas EPA) el porcentaje de coeficiente de variación debe ser menor que el 15%; comparando con los resultados de la *tabla 3.5*, se tiene valores 0,36% para el fenantreno y valores máximos de 9,13% para el fluoranteno. De acuerdo con este criterio, los resultados están dentro de los valores normales.

**Tabla 3.5 Precisión instrumental evaluada por el %CV**

| Analito               | Promedio  | $\sigma$ | %CV  |
|-----------------------|-----------|----------|------|
| naftaleno             | 143198,8  | 1511,88  | 1,06 |
| acenaftileno          | 212641,8  | 866,11   | 0,41 |
| acenafteno            | 118243,8  | 623,10   | 0,53 |
| fluoreno              | 1143776,0 | 6658,63  | 0,58 |
| fenantreno            | 2631514,5 | 9450,50  | 0,36 |
| antraceno             | 8375955,4 | 47314,73 | 0,56 |
| fluoranteno           | 57837,9   | 1363,90  | 2,36 |
| pireno                | 58843,6   | 1012,59  | 1,72 |
| benzo[a]antraceno     | 332466,3  | 2346,08  | 0,71 |
| criseno               | 137417,8  | 5715,63  | 4,16 |
| benzo[b]fluoranteno   | 78112,6   | 7132,69  | 9,13 |
| benzo[k]fluoranteno   | 128378,9  | 787,77   | 0,61 |
| benzo[a]pireno        | 27956,5   | 413,92   | 1,48 |
| dibenzo[a,h]antraceno | 206411,4  | 1479,61  | 0,72 |
| benzo[g,h,i]perileno  | 55215,3   | 1549,57  | 2,81 |

## b. Precisión del método

La precisión del método mide la variabilidad del método analítico desarrollado. Este parámetro también será expresado por el coeficiente de variación. Se midieron las áreas de muestras (agua o suelo) recargadas con una solución estándar de concentración conocida.

Las muestras de agua se prepararon adicionando 1 mL de la solución estándar a dos litros de agua destilada (previamente caracterizada) y luego se inicia el proceso de extracción y el método descrito en la parte experimental. Las áreas de los cromatogramas obtenidos se muestran en la [tabla 3.6](#).

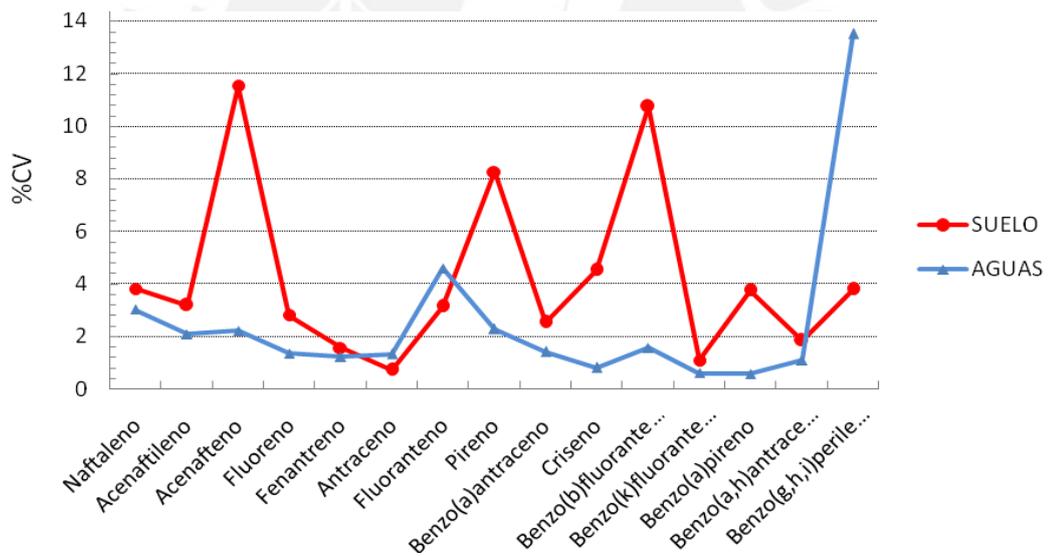
Las muestras de suelo se prepararon adicionando 1 mL de la solución estándar preparada a 10 gramos de muestras de suelo, que se consideran como blancos para el estudio (caracterizado previamente)<sup>39</sup>. Luego se inicia el proceso de extracción y el método descrito en la parte experimental. Las áreas de los cromatogramas obtenidos se muestran en la [tabla 3.6](#).

Tabla 3.6 Precisión del método.

| Analito               | Sol.<br>Estándar<br>(µg/L) | Muestras de agua |         |           |          |       | Sol.<br>Estándar<br>(µg/L) | Muestras de suelo |        |        |          |          |       |
|-----------------------|----------------------------|------------------|---------|-----------|----------|-------|----------------------------|-------------------|--------|--------|----------|----------|-------|
|                       |                            | Área 1           | Área 2  | Promedio  | $\sigma$ | %CV   |                            | Área1             | Área2  | Área3  | Promedio | $\sigma$ | %CV   |
| naftaleno             | 400                        | 104019           | 108560  | 106289,5  | 3210,97  | 3,02  | 200                        | 179740            | 193530 | 189878 | 187716   | 7144,70  | 3,81  |
| acenaftileno          | 400                        | 58740            | 60500   | 59620,0   | 1244,51  | 2,09  | 200                        | 105260            | 99840  | 99520  | 101540   | 3225,59  | 3,18  |
| acenafteno            | 400                        | 46135            | 47602   | 46868,5   | 1037,33  | 2,21  | 200                        | 5780              | 4879   | 4672   | 5110,33  | 589,1    | 11,53 |
| fluoreno              | 400                        | 391940           | 399496  | 395718,0  | 5342,90  | 1,35  | 200                        | 120987            | 127207 | 126921 | 125038,3 | 3511,47  | 2,81  |
| fenantreno            | 400                        | 1528353          | 1555058 | 1541705,5 | 18883,29 | 1,22  | 200                        | 623373            | 643149 | 632681 | 633067,7 | 9893,67  | 1,56  |
| antraceno             | 400                        | 3345866          | 3409101 | 3377483,5 | 44713,90 | 1,32  | 200                        | 990455            | 990395 | 978034 | 986294,7 | 7154,01  | 0,73  |
| fluoranteno           | 40                         | 36080            | 38500   | 37290,0   | 1711,20  | 4,59  | 20                         | 23160             | 24180  | 24630  | 23990    | 753,19   | 3,14  |
| pireno                | 40                         | 28060            | 28977   | 28518,5   | 648,42   | 2,27  | 20                         | 11900             | 13840  | 13720  | 13153,3  | 1087,08  | 8,26  |
| benzo[a]antraceno     | 40                         | 199900           | 203950  | 201925,0  | 2863,78  | 1,42  | 20                         | 114629            | 120450 | 118774 | 117951   | 2996,50  | 2,54  |
| criseno               | 40                         | 102180           | 103356  | 102768,0  | 831,56   | 0,81  | 20                         | 69432             | 64997  | 63758  | 66062,3  | 2983,25  | 4,52  |
| benzo[b]fluoranteno   | 40                         | 40140            | 39263   | 39701,5   | 620,13   | 1,56  | 20                         | 26067             | 31742  | 31441  | 29750    | 3193,12  | 10,73 |
| benzo[k]fluoranteno   | 20                         | 76706            | 77367   | 77036,5   | 467,40   | 0,61  | 10                         | 22260             | 21806  | 21889  | 21985    | 241,75   | 1,10  |
| benzo[a]pireno        | 40                         | 15153            | 15032   | 15092,5   | 85,56    | 0,57  | 20                         | 14360             | 15473  | 14870  | 14901    | 557,15   | 3,74  |
| dibenzo[a,h]antraceno | 40                         | 105839           | 104206  | 105022,5  | 1154,71  | 1,10  | 20                         | 78894             | 81295  | 78609  | 79599,3  | 1475,39  | 1,85  |
| benzo[g,h,i]perileno  | 40                         | 210420           | 254833  | 232626,5  | 31404,73 | 13,50 | 20                         | 60049             | 56058  | 56541  | 57549,3  | 2178,20  | 3,78  |

Nuevamente para fines comparativos se evaluaron los porcentajes del coeficiente de variación para las dos metodologías de aguas y suelos a partir de la *tabla 3.6*. Al tomar en cuenta el criterio EPA<sup>76</sup>, se observó que todos los PAHs presentan valores por debajo del 15% CV. Esto demuestra la poca variabilidad de las metodologías utilizadas para la determinación de PAHs. De acuerdo a estos valores también se puede observar que las metodologías para suelos presentan mayor variabilidad con respecto a las metodologías para las muestras de aguas.

En la *figura 3.1* se muestra la variabilidad de las metodologías. Se puede observar que las metodologías aplicadas a muestras de suelos presentan mayor variabilidad que las metodologías aplicadas a las muestras de aguas. Esto es de esperar por la complejidad de la matriz.



**Figura 3.1** Representación de la variabilidad de las metodologías usadas para muestras de aguas y suelos.

Para el benzo[g,h,i]perileno, el %CV es mucho mayor para las muestras de agua que para las muestras de suelo. Esto puede estar relacionado con su alto peso molecular y su característica lipofílica que hace que pueda encontrarse mucho más estable en muestras sólidas como los suelos que en las muestras de aguas.

### 3.1.4. Reproducibilidad

Se define como el grado de concordancia entre resultados independientes obtenidos con el mismo método a un mismo tipo de muestras, pero en diferentes condiciones (distinto tipo de operador, instrumento, laboratorios, diferentes días, etc.). Para este trabajo se tomó en cuenta la reproducibilidad del instrumento en diferentes días de evaluación.

Para evaluar este parámetro se realizaron las medidas de las muestras recargadas de una solución estándar de concentración conocida y se analizaron en diferentes días.

Las áreas de los cromatogramas para cada uno de los analitos en agua y suelo se muestran en la siguiente [tabla 3.7](#).

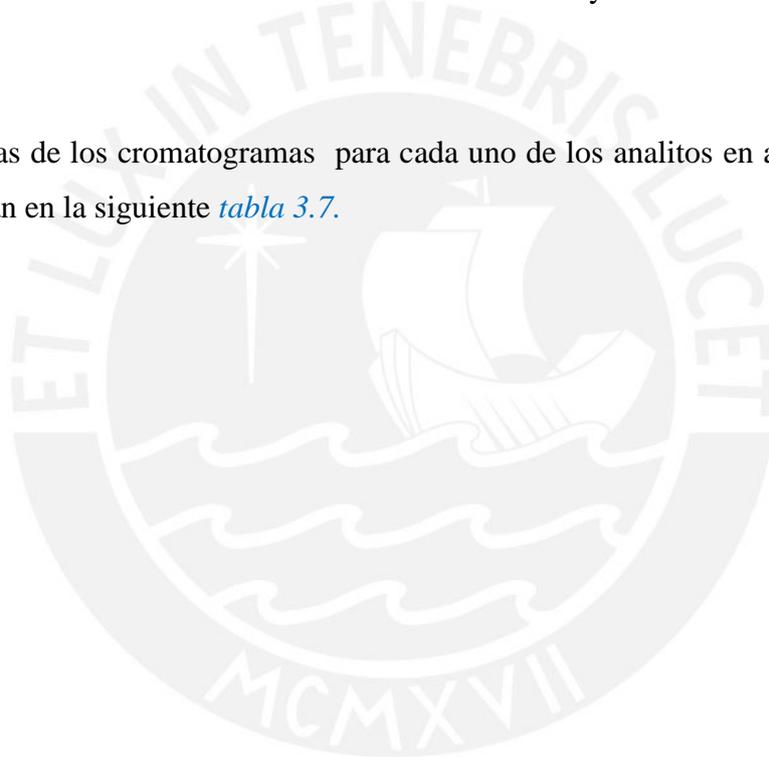


Tabla 3.7 Evaluación de la Reproducibilidad

| Analito               | Sol.<br>Estándar<br>(µg/L) | Muestras de agua |               |               |           |          |             | Sol.<br>Estándar<br>(µg/L) | Muestras de suelo |               |          |          |             |
|-----------------------|----------------------------|------------------|---------------|---------------|-----------|----------|-------------|----------------------------|-------------------|---------------|----------|----------|-------------|
|                       |                            | Día1<br>Área     | Día 2<br>Área | Día 3<br>Área | Promedio  | $\sigma$ | %CV         |                            | Día 1<br>Área     | Día 2<br>Área | Promedio | $\sigma$ | %CV         |
| naftaleno             | 200                        | 52700            | 43754         | 52000         | 49484,7   | 4975,23  | 10,05       | 400                        | 152263            | 147573        | 149918   | 3316,33  | 2,21        |
| acenaftileno          | 200                        | 33200            | 32805         | 33279         | 33094,7   | 253,95   | 0,77        | 400                        | 79197             | 79110         | 79153,5  | 61,52    | 0,08        |
| acenafteno            | 200                        | 31866            | 29747         | 29887         | 30500,0   | 1185,06  | 3,89        | 400                        | 3940              | 3718          | 3829     | 156,98   | 4,10        |
| fluoreno              | 200                        | 218555           | 208496        | 216380        | 214477,0  | 5292,63  | 2,47        | 400                        | 360990            | 322163        | 341576,5 | 27454,83 | 8,04        |
| fenantreno            | 200                        | 833241           | 804581        | 831457        | 823093,0  | 16056,66 | 1,95        | 400                        | 1357306           | 1354864       | 1356085  | 1726,75  | 0,13        |
| antraceno             | 200                        | 1763658          | 1708438       | 1762182       | 1744759,3 | 31463,85 | 1,80        | 400                        | 1929263           | 1961855       | 1945559  | 23046,02 | 1,18        |
| fluoranteno           | 20                         | 19160            | 20700         | 19740         | 19866,7   | 777,77   | 3,91        | 40                         | 52310             | 51340         | 51825    | 685,89   | 1,32        |
| pireno                | 20                         | 13770            | 13450         | 13360         | 13526,7   | 215,48   | 1,59        | 40                         | 22900             | 23280         | 23090    | 268,70   | 1,16        |
| benzo[a]antraceno     | 20                         | 94300            | 91430         | 93220         | 92983,3   | 1449,56  | 1,56        | 40                         | 168916            | 168329        | 168622,5 | 415,07   | 0,25        |
| criseno               | 20                         | 45129            | 45036         | 44497         | 44887,3   | 341,22   | 0,76        | 40                         | 87643             | 85152         | 86397,5  | 1761,40  | 2,04        |
| benzo[b]fluoranteno   | 20                         | 20980            | 17003         | 21382         | 19788,3   | 2420,53  | 12,23       | 40                         | 35184             | 34407         | 34795,5  | 549,42   | 1,58        |
| benzo[k]fluoranteno   | 10                         | 38851            | 36740         | 38300         | 37963,7   | 1094,95  | 2,88        | 30                         | 43560             | 44550         | 44055    | 700,04   | 1,59        |
| benzo[a]pireno        | 20                         | 6478             | 6560          | 6040          | 6359,3    | 279,57   | 4,40        | 40                         | 19390             | 18860         | 19125    | 374,77   | 1,96        |
| dibenzo[a,h]antraceno | 20                         | 43706            | 43064         | 42820         | 43196,7   | 457,66   | 1,06        | 40                         | 212345            | 111057        | 161701   | 71621,43 | 44,29       |
| benzo[g,h,i]perileno  | 20                         | 98633            | 98685         | 99360         | 98892,7   | 405,56   | 0,41        | 40                         | 591933            | 678877        | 635405   | 61478,69 | 9,68        |
| <b>Promedio</b>       |                            |                  |               |               |           |          | <b>3.54</b> |                            |                   |               |          |          | <b>5.50</b> |

La reproducibilidad es otro parámetro que sirve para evaluar la precisión. Para este trabajo la reproducibilidad del instrumento también se evaluó midiendo las muestras recargadas con soluciones estándar en diferentes días, según lo detallado en la parte experimental. Si se compara el valor promedio del %CV de la precisión instrumental de 1,81% (a partir de la [tabla 3.5](#)) con el valor promedio de los %CV de 3,54 y 5,50% para las muestras de aguas y suelos respectivamente (a partir de la [tabla 3.7](#)), se puede observar que aumenta ligeramente pero no se supera el 15%<sup>76</sup>.

### 3.1.5 Exactitud

Es el grado de concordancia entre el valor medido y el valor real. Como nunca se conoce el valor verdadero, un concepto más real es la concordancia entre el valor medido y el valor real aceptado. Experimentalmente este parámetro se obtiene como porcentaje de recuperación.

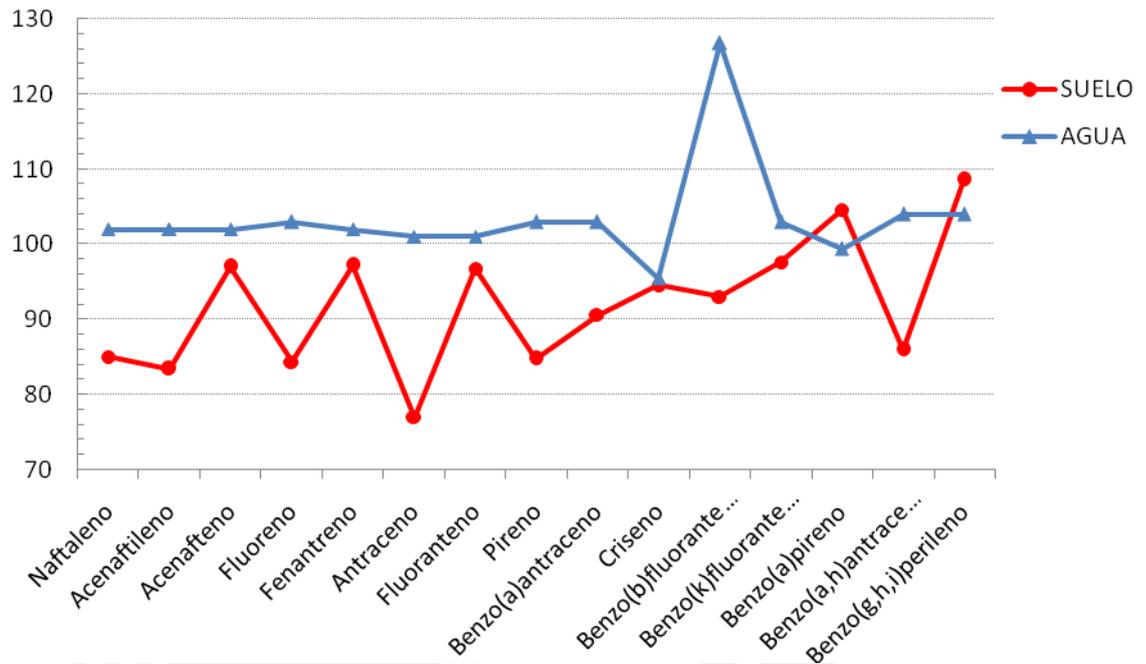
Los resultados obtenidos se presentan en la [tabla 3.8](#) a partir de los cromatogramas.

Tabla 3.8 Evaluación de la exactitud del método.

| Analito               | Muestras de agua |         |           |                                 |                            | %<br>Recupe<br>ración | Muestras de suelo |          |           |                                 |                            | %<br>Recupe<br>ración |
|-----------------------|------------------|---------|-----------|---------------------------------|----------------------------|-----------------------|-------------------|----------|-----------|---------------------------------|----------------------------|-----------------------|
|                       | Área             | Área    | Promedio  | Conc.<br>Experimental<br>(µg/L) | Conc.<br>Teórica<br>(µg/L) |                       | Área              | Área     | Promedio  | Conc.<br>Experimental<br>(µg/L) | Conc.<br>Teórica<br>(µg/L) |                       |
| naftaleno             | 52321            | 53132   | 52726,5   | 1020                            | 1000                       | 102                   | 211252            | 219836   | 215544    | 4250                            | 5000                       | 85                    |
| acenaftileno          | 88660            | 87520   | 88090     | 1020                            | 1000                       | 102                   | 345039            | 359183   | 352111    | 4170                            | 5000                       | 83,4                  |
| acenafteno            | 67360            | 66720   | 67040     | 1020                            | 1000                       | 102                   | 311840            | 322600   | 317220    | 4850                            | 5000                       | 97                    |
| fluoreno              | 482740           | 480480  | 481610    | 1030                            | 1000                       | 103                   | 1878601           | 1964020  | 1921310,5 | 4220                            | 5000                       | 84,4                  |
| fenantreno            | 1488391          | 1488108 | 1488249,5 | 1020                            | 1000                       | 102                   | 6921944           | 7205539  | 7063741,5 | 4860                            | 5000                       | 97,2                  |
| antraceno             | 2656582          | 2660971 | 2658776,5 | 1010                            | 1000                       | 101                   | 9623075           | 10016252 | 9819663,5 | 3850                            | 5000                       | 77                    |
| fluoranteno           | 31520            | 31520   | 31520     | 101                             | 100                        | 101                   | 149570            | 157000   | 153285    | 484                             | 500                        | 96,8                  |
| pireno                | 25022            | 23380   | 24201     | 103                             | 100                        | 103                   | 97149             | 100825   | 98987     | 424                             | 500                        | 84,8                  |
| benzo[a]antraceno     | 158700           | 157200  | 157950    | 103                             | 100                        | 103                   | 666700            | 695140   | 680920    | 453                             | 500                        | 90,6                  |
| criseno               | 74637            | 74497   | 74567     | 95,5                            | 100                        | 95,5                  | 367922            | 365384   | 366653    | 473                             | 500                        | 94,6                  |
| benzo[b]fluoranteno   | 36982            | 35412   | 36197     | 63,4                            | 50                         | 126,8                 | 120698            | 145255   | 132976,5  | 465                             | 500                        | 93                    |
| benzo[k]fluoranteno   | 73130            | 70274   | 71702     | 103                             | 100                        | 103                   | 336864            | 348938   | 342901    | 244                             | 250                        | 97,6                  |
| benzo[a]pireno        | 14920            | 14385   | 14652,5   | 99,4                            | 100                        | 99,4                  | 74595             | 75681    | 75138     | 523                             | 500                        | 104,6                 |
| dibenzo[a,h]antraceno | 87796            | 86999   | 87397,5   | 104                             | 100                        | 104                   | 346216            | 358603   | 352409,5  | 430                             | 500                        | 86                    |
| benzo[g,h,i]perileno  | 35043            | 35300   | 35171,5   | 104                             | 100                        | 104                   | 146888            | 146114   | 146501    | 543                             | 500                        | 108,6                 |

$$\% \text{ Recuperación} = \frac{\text{conc. experimental}}{\text{conc. teórica}} \times 100$$

Los resultados del porcentaje de recuperación se graficaron alrededor del 100% que corresponde a un valor ideal.



**Figura 3.2** Evaluación de la exactitud de la metodología para muestras de aguas y suelos.

A partir de la [tabla 3.8](#) se pudo evaluar la buena exactitud del método desarrollado para la determinación de PAHs tanto en muestras de aguas como muestras de suelos.

En la [gráfica 3.2](#) se puede observar que sólo el benzo[b]fluoranteno presenta un gran porcentaje de recuperación. Esto se puede relacionar con algún tipo de contaminación de las muestras en el proceso del tratamiento que corresponde a un 20% de error para este analito lo cual se tendrá en consideración en los cálculos de las muestras reales.

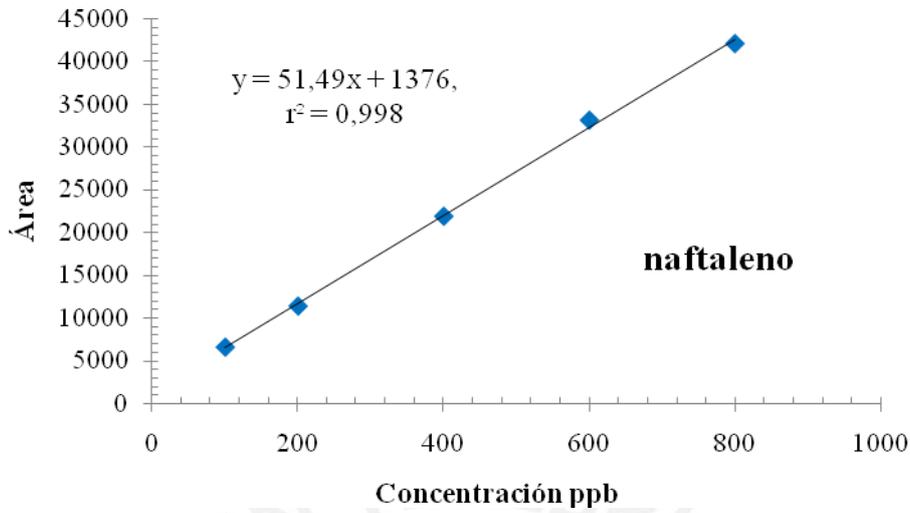
### 3.1.6 Curva de calibración

Se preparó una curva de calibración con soluciones estándares a partir de la solución madre certificada (*anexo 3*) en un rango de concentraciones expuestas en la *tabla 3.9*, cada uno de los estándares contiene los dieciséis PAHs a distintas concentraciones.

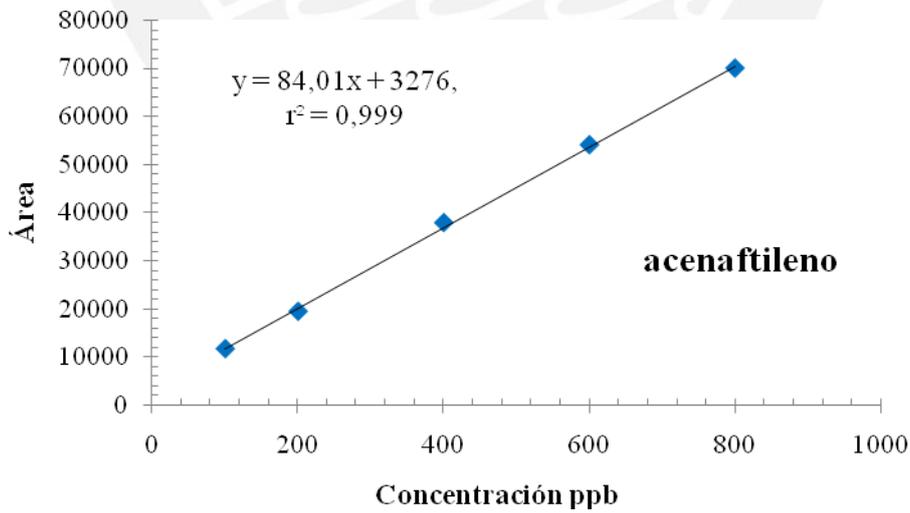
*Tabla 3.9 Soluciones estándar para la curva de calibración.*

| Analito( $\mu\text{g/L}$ ) | STD<br>1 | STD<br>2 | STD<br>3 | STD<br>4 | STD<br>5 |
|----------------------------|----------|----------|----------|----------|----------|
| naftaleno                  | 100      | 200      | 400      | 600      | 800      |
| acenaftileno               | 100      | 200      | 400      | 600      | 800      |
| acenafteno                 | 100      | 200      | 400      | 600      | 800      |
| fluoreno                   | 100      | 200      | 400      | 600      | 800      |
| fenantreno                 | 100      | 200      | 400      | 600      | 800      |
| antraceno                  | 100      | 200      | 400      | 600      | 800      |
| fluoranteno                | 10       | 20       | 40       | 60       | 80       |
| pireno                     | 10       | 20       | 40       | 60       | 80       |
| benzo[a]antraceno          | 10       | 20       | 40       | 60       | 80       |
| criseno                    | 10       | 20       | 40       | 60       | 80       |
| benzo[b]fluoranteno        | 10       | 20       | 40       | 60       | 80       |
| benzo[k]fluoranteno        | 5        | 10       | 20       | 30       | 40       |
| benzo[a]pireno             | 10       | 20       | 40       | 60       | 80       |
| dibenzo[a,h]antraceno      | 10       | 20       | 40       | 60       | 80       |
| benzo[g,h,i]perileno       | 10       | 20       | 40       | 60       | 80       |

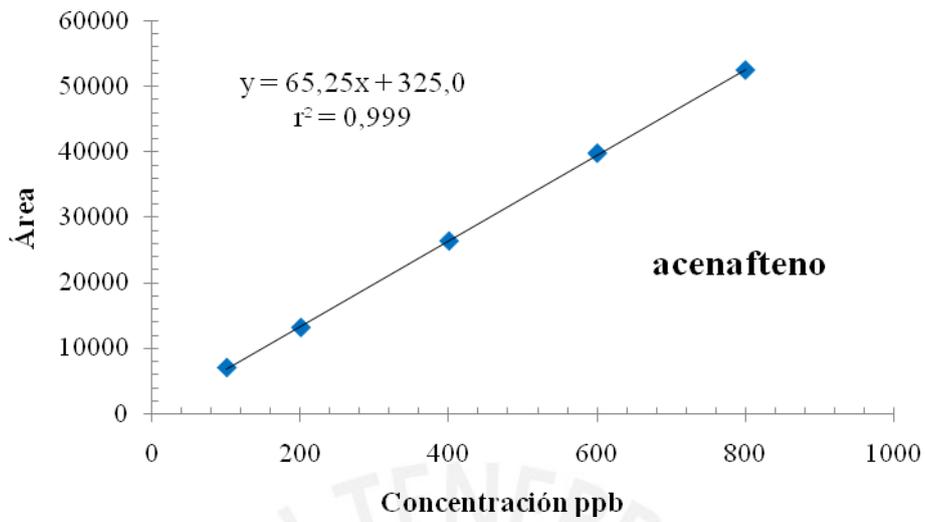
Se realizaron los análisis de los estándares por HPLC y se obtuvieron los cromatogramas. Se calcularon las áreas y se construyeron las curvas de calibración para cada uno de los analitos, con su respectiva ecuación de recta y coeficiente de correlación ( $r^2$ ). A continuación se muestran las curvas de calibración.



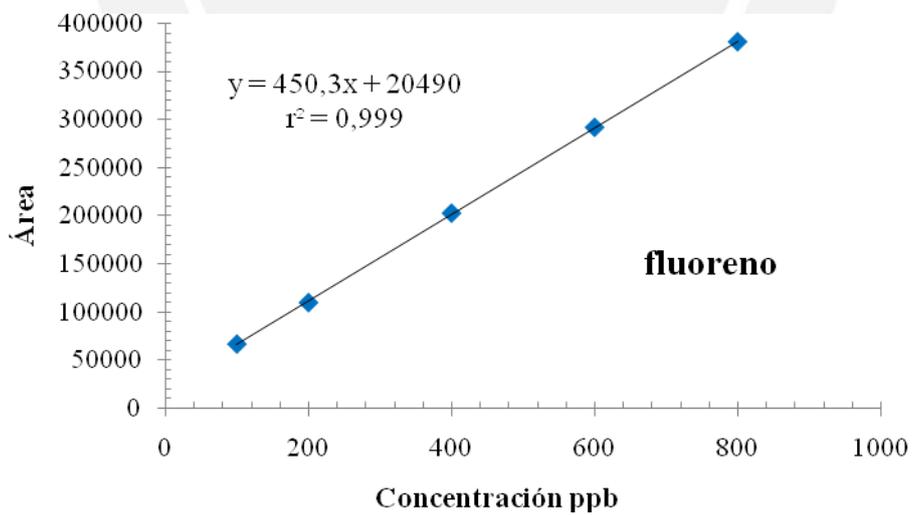
*Figura 3.3 Curva de calibración para el naftaleno*



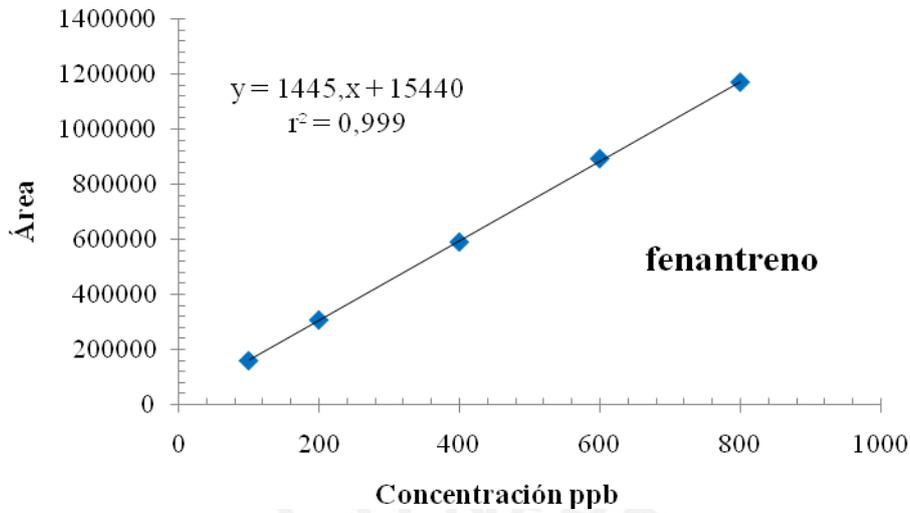
*Figura 3.4 Curva de calibración para el acenaftileno*



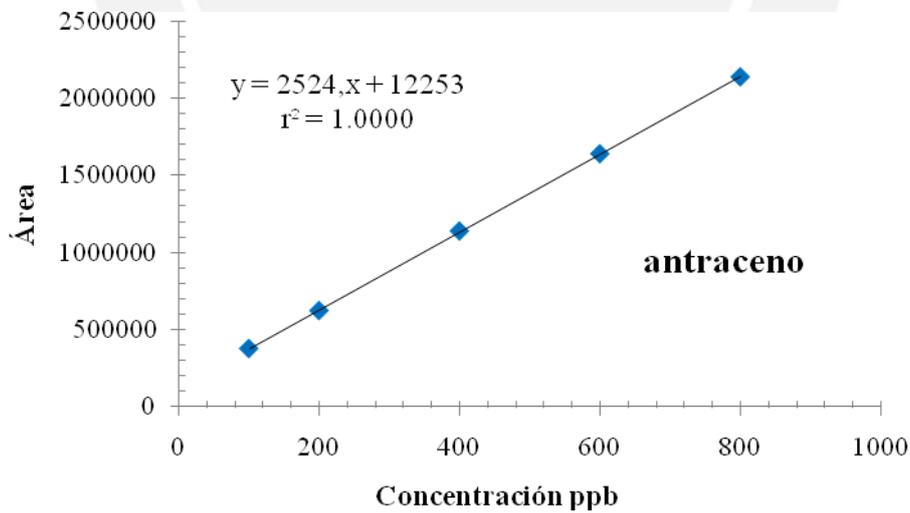
*Figura 3.5 Curva de calibración para el acenafteno*



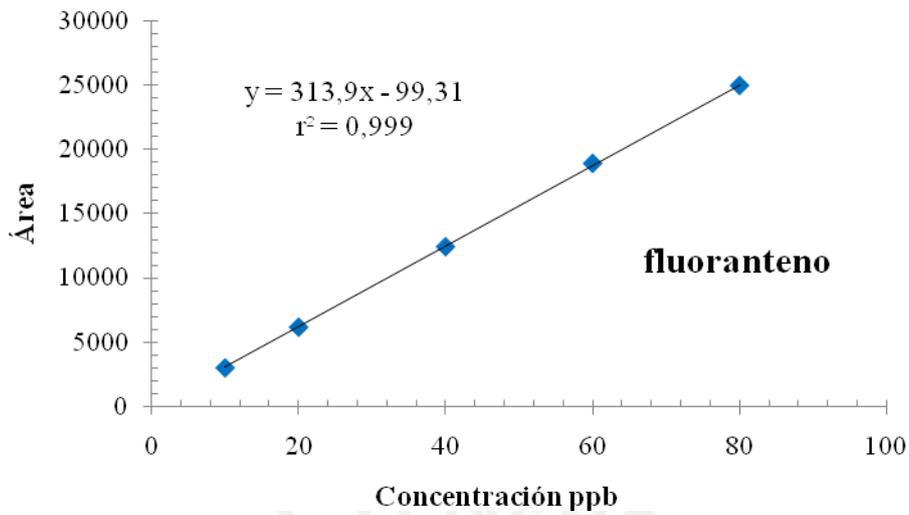
*Figura 3.6 Curva de calibración para el fluoreno*



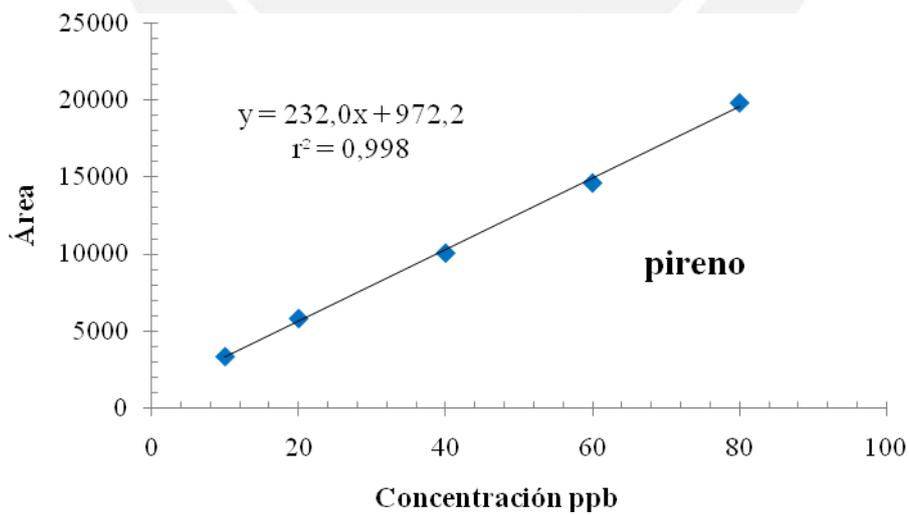
*Figura 3.7 Curva de calibración para el fenantreno*



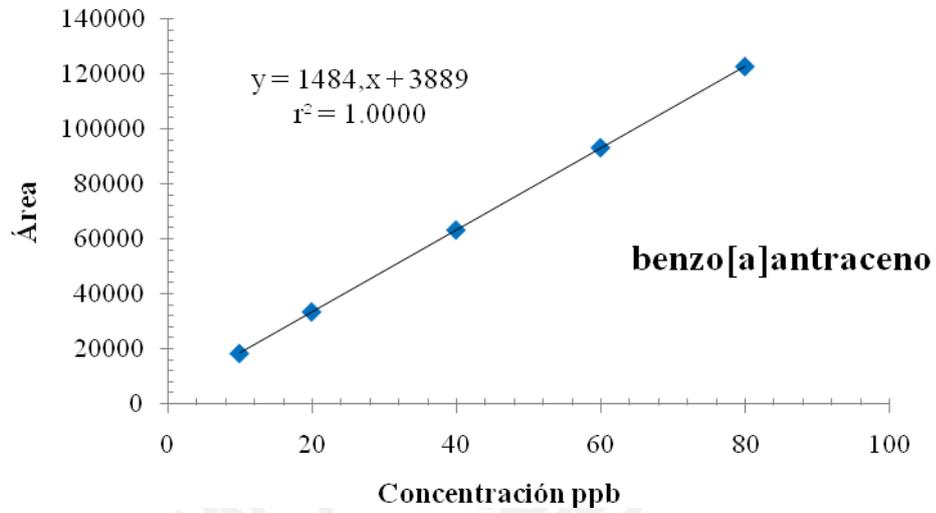
*Figura 3.8 Curva de calibración para el antraceno*



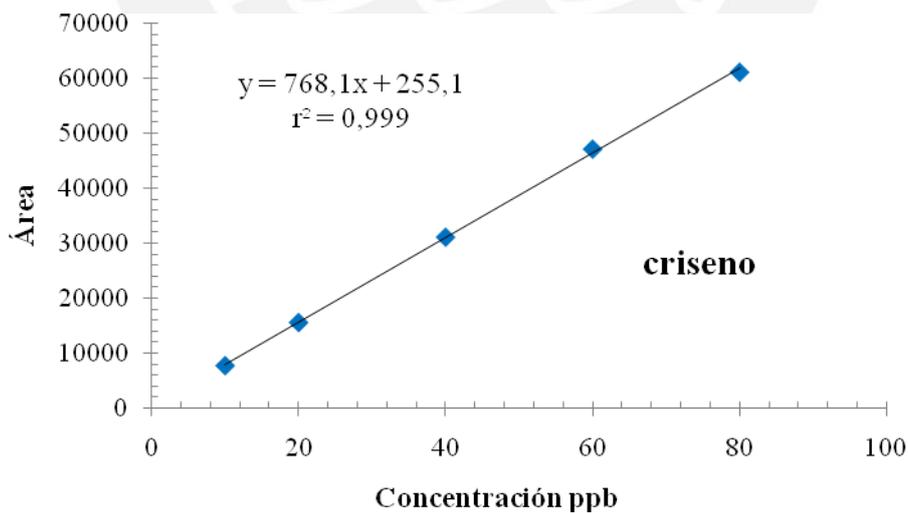
*Figura 3.9 Curva de calibración para el fluoranteno*



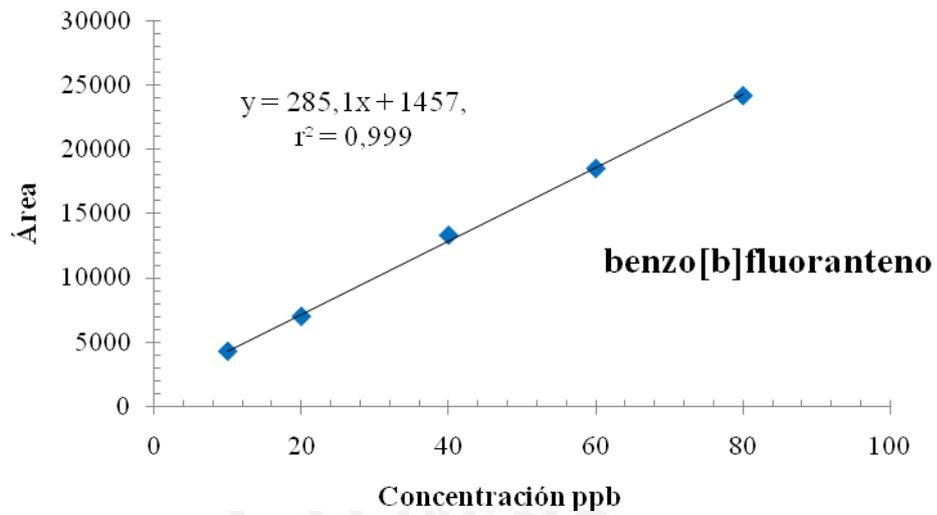
*Figura 3.10 Curva de calibración para el pireno*



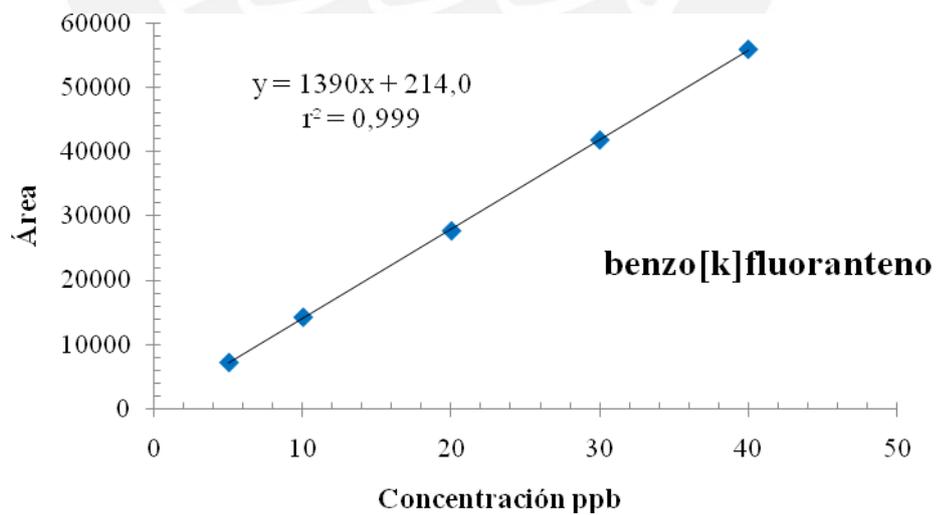
*Figura 3.11 Curva de calibración para el benzo[a]antraceno*



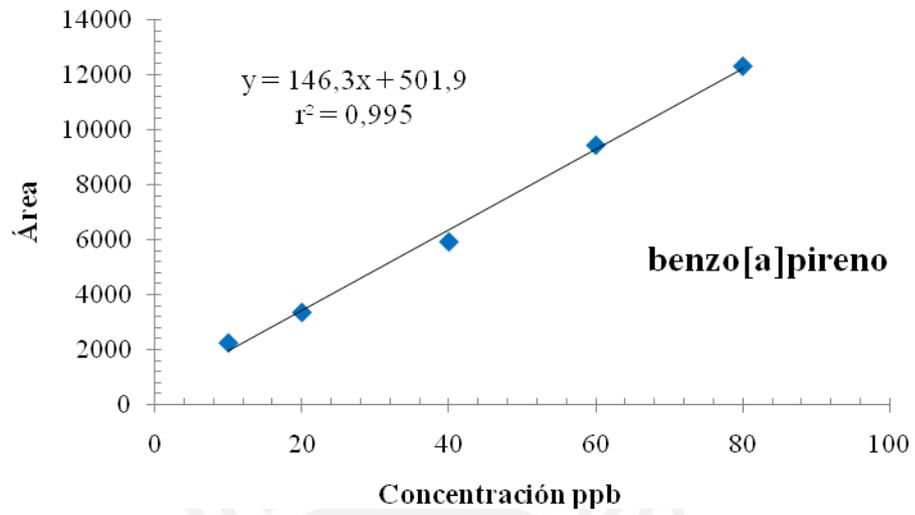
*Figura 3.12 Curva de calibración para el criseno*



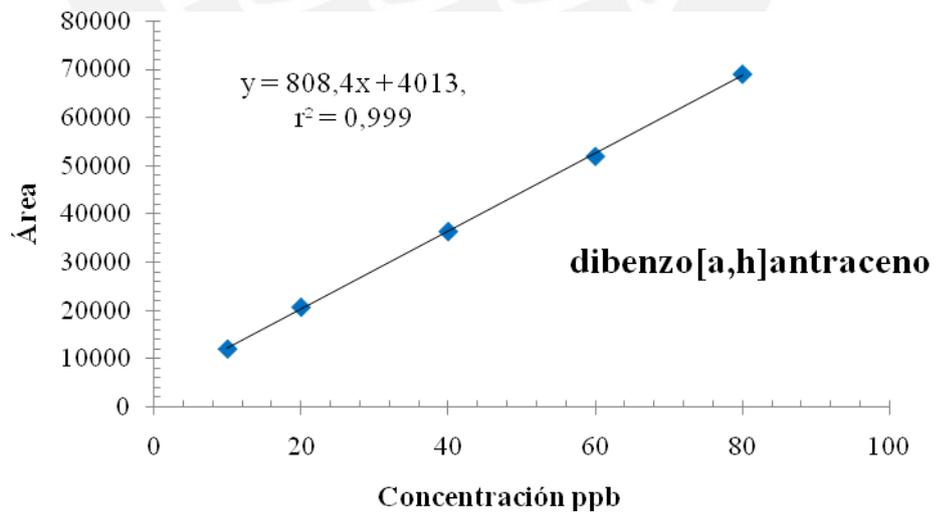
*Figura 3.13 Curva de calibración para el benzo[b]fluoranteno*



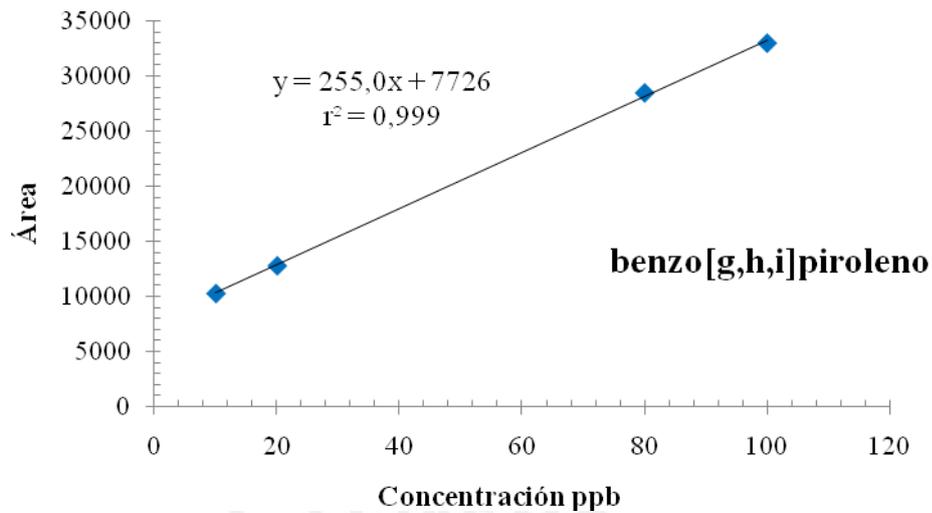
*Figura 3.14 Curva de calibración para el benzo[k]fluoranteno*



*Figura 3.15 Curva de calibración para el benzo[a]pireno*



*Figura 3.16 Curva de calibración para el dibenzo[a,h]antraceno*



**Figura 3.17** Curva de calibración para el benzo[g,h,i]piroleno

Se realizó la curva de calibración midiendo por triplicado las respuestas correspondientes a cada analito dentro de una mezcla, en cuatro niveles de concentración. Los parámetros de la calibración (*Tabla 3.10*) se obtienen como resultado a partir de los datos obtenidos de dicha calibración.

**Tabla 3.10** Parámetros de calibración ( $y = a x + b'$ )

| Nº | Analito               | Rango<br>µg/L | a      | S <sub>a</sub> | b'       | S <sub>b'</sub> | S <sub>x/y</sub> |
|----|-----------------------|---------------|--------|----------------|----------|-----------------|------------------|
| 1  | naftaleno             | 100-800       | 51,5   | 1,0            | 1376,7   | 512,4           | 596,5            |
| 2  | acenaftileno          | 100-800       | 84,0   | 1,3            | 3276,7   | 661,3           | 769,9            |
| 3  | acenafteno            | 100-800       | 65,3   | 0,4            | 325,1    | 204,9           | 238,6            |
| 4  | fluoreno              | 100-800       | 450,3  | 2,2            | 20490,4  | 1102,2          | 1283,1           |
| 5  | fenantreno            | 100-800       | 1445,7 | 10,6           | 15440,4  | 5212,3          | 6068,2           |
| 6  | antraceno             | 100-800       | 2524,9 | 9,1            | 122533,2 | 4483,6          | 5219,9           |
| 7  | fluoranteno           | 10-80         | 313,9  | 1,8            | -99,3    | 88,9            | 103,4            |
| 8  | pireno                | 10-80         | 232,1  | 4,9            | 972,3    | 238,7           | 277,8            |
| 9  | benzo[a]antraceno     | 10-80         | 1484,3 | 2,7            | 3889,0   | 131,5           | 153,1            |
| 10 | criseno               | 10-80         | 768,1  | 10,2           | 255,2    | 501,2           | 583,5            |
| 11 | benzo[b]fluoranteno   | 10-80         | 285,2  | 4,9            | 1457,3   | 241,4           | 281,1            |
| 12 | benzo[k]fluoranteno   | 5-40          | 1390,0 | 7,6            | 214,1    | 186,1           | 216,7            |
| 13 | benzo[a]pireno        | 10-80         | 146,3  | 5,5            | 502,0    | 272,8           | 317,6            |
| 14 | dibenzo[a,h]antraceno | 10-80         | 808,5  | 8,1            | 4013,2   | 398,3           | 463,7            |
| 15 | benzo[g,h,i]perileno  | 10-100        | 255,0  | 3,9            | 7726,0   | 254,4           | 300,0            |

$y$  = señal del instrumento (área);  $x$  = concentración;  $a$  = pendiente;  $S_a$  = desviación estándar de la pendiente;  $b'$  = ordenada en el origen;  $S_{b'}$  = desviación estándar de la ordenada en el origen;  $S_{x/y}$  = desviación estándar de la regresión.

Los valores de la ecuación de regresión para los análisis cromatográficos de los diferentes PAHs se presentan en la [tabla 3.10](#), mostrando la ecuación de la recta así como los errores aleatorios asociados a ellos como la desviación estándar de la pendiente ( $S_a$ ), de la ordenada en el origen ( $S_{b'}$ ), y la desviación estándar de la calibración ( $S_{x/y}$ ). Los más grandes errores en la estimación de la regresión ( $S_{x/y}$ ) se producen para el fenantreno, antraceno y fluoreno. Este caso debido, probablemente, a dificultades en la integración por el fuerte gradiente en la señal de absorbancia; tal como se observaron en los cromatogramas las tres señales más grandes corresponden a estos tres PAHs y puede ser que se cometa un error más grande.

El siguiente parámetro evaluado es la correlación, medida de la asociación entre la señal instrumental y la concentración de los analitos; según la [tabla 3.11](#) todos los valores del coeficiente de correlación lineal de Pearson ( $r$ ) son mayores a 0,05 lo que indica una muy buena correlación lineal entre ambas variables. Según Baez<sup>21</sup> este criterio es aceptado.

Según la [tabla 3.11](#) el benzo[a]pireno, seguido del naftaleno, pireno, acenaftileno y benzo[g,h,i]perileno presentan menor linealidad con respecto a los demás analitos. Esto se relaciona también con la repetibilidad y sensibilidad de los mismos analitos. También se puede observar la excelente linealidad para el benzo[a]antraceno así como la repetibilidad y sensibilidad analítica, por lo que se puede deducir que la linealidad está estrechamente relacionada con la repetibilidad, sensibilidad analítica y la calidad de la regresión evaluada con el parámetro  $S_{x/y}$ .

Estos valores corresponden al análisis realizado en HPLC con un detector UV y medido a la longitud de onda donde presentan mayor absorbancia (254 nm). Estos análisis de regresión o curvas de calibración presentan correlaciones altas (valores de  $r$ ) y, por lo tanto, la expresión de la linealidad es muy satisfactoria.

*Tabla 3.11. Linealidad, repetibilidad y sensibilidad analítica.*

| Nº | Analito              | $r^2$  | r      | Linealidad<br>( $1-S_m/m$ ) | Repetibilidad<br>(%CV)* | Sensibilidad<br>(ng/ml) |
|----|----------------------|--------|--------|-----------------------------|-------------------------|-------------------------|
| 1  | naftaleno            | 0,9988 | 0,9984 | 0,980                       | 3,7                     | 11,58                   |
| 2  | acenaftileno         | 0,9992 | 0,9996 | 0,984                       | 3,4                     | 9,16                    |
| 3  | acenafteno           | 0,9999 | 0,9999 | 0,994                       | 0,6                     | 3,66                    |
| 4  | fluoreno             | 0,9999 | 0,9999 | 0,995                       | 1,0                     | 2,85                    |
| 5  | fenantreno           | 0,9998 | 0,9999 | 0,993                       | 0,5                     | 4,20                    |
| 6  | antraceno            | 1,0000 | 3,1623 | 0,996                       | 0,6                     | 2,07                    |
| 7  | fluoranteno          | 0,9999 | 0,9999 | 0,994                       | 5,0                     | 0,33                    |
| 8  | pireno               | 0,9987 | 0,9993 | 0,979                       | 5,5                     | 1,20                    |
| 9  | benzo[a]antraceno    | 1,0000 | 3,1623 | 0,998                       | 0,4                     | 0,10                    |
| 10 | criseno              | 0,9995 | 0,9997 | 0,987                       | 5,8                     | 0,76                    |
| 11 | benzo[b]fluoranteno  | 0,9991 | 0,9995 | 0,983                       | 6,5                     | 0,99                    |
| 12 | benzo[k]fluoranteno  | 0,9999 | 0,9999 | 0,995                       | 1,9                     | 0,16                    |
| 13 | benzo[a]pireno       | 0,9957 | 0,9978 | 0,962                       | 3,4                     | 2,17                    |
| 14 | benzo[a,h]antraceno  | 0,9997 | 0,9998 | 0,990                       | 1,1                     | 0,57                    |
| 15 | benzo[g,h,i]perileno | 0,9995 | 0,9997 | 0,985                       | 3,0                     | 1,18                    |

(\*) La concentración para la cual se calculó la precisión en todos los casos fue el estándar 2 de la curva de calibración (Tabla N° 3.9).

### 3.2. Evaluación de datos de garantía

En la evaluación de la calidad de los datos se toman dos criterios en consideración. Según Harvey<sup>75</sup>, el **enfoque prescriptivo**, es el que mide muestras duplicadas, patrones, blancos y recuperación por fortificación. El análisis consiste en comparar los resultados con un valor único considerado como límite, donde luego se tomará las acciones correctoras en caso de superar estos límites. El otro criterio es el **enfoque basado en el rendimiento**; se otorga cierta libertad al laboratorio para controlar los datos de evaluación de calidad. Controla básicamente la frecuencia con la que se analizan las muestras y las condiciones que reflejan el momento en que un sistema analítico escapa del control estadístico. La herramienta que considera este enfoque es el gráfico de control.

#### 3.2.1 Enfoque prescriptivo

Los **blancos** evaluados para esta metodología fueron blancos reactivos, considerado al acetonitrilo como medio adecuado para los análisis por HPLC, y un blanco de viaje o viajero, que fue preparado en el laboratorio y que acompaña al conjunto de envases de muestras en el terreno y el laboratorio. Para este trabajo

se consideró agua destilada como blanco de viaje para fines comparativos con las muestras de aguas, mientras que para las muestras de suelos se tomó en cuenta muestras de arena como blancos. Ambos blancos se evaluaron con la misma metodología que para las muestras.

Como se puede apreciar en los cromatogramas, los blancos no ocasionan mayor efecto de interferencias por lo que consideramos los mismos para poder evaluar muestras fortificadas.

**En cuanto a la evaluación de patrones ó estándares** se tomaron en cuenta en la elaboración de la curva de calibración y la evaluación de la precisión del método en la [tabla 3.6](#).

**La recuperación por fortificación** fue evaluada con la exactitud de la metodología donde se demostró valores aceptables para todos los casos ([tabla 3.8](#)).

### 3.2.2. Enfoque basado en el rendimiento

#### Gráficas de control

Las gráficas de control se realizaron con el objeto de observar la estabilidad de muestras en el tiempo. Por ello se determinaron las concentraciones en el tiempo, por duplicado, de las dos muestras A-1, B-1. A continuación se presenta la gráfica de control ([figuras 3.18 hasta 3.21](#)) para las dos muestras, tratadas por los dos métodos utilizados (método A: sin pasar el extracto por la columna de sílica gel, método B: pasando a través de una columna de sílica gel).

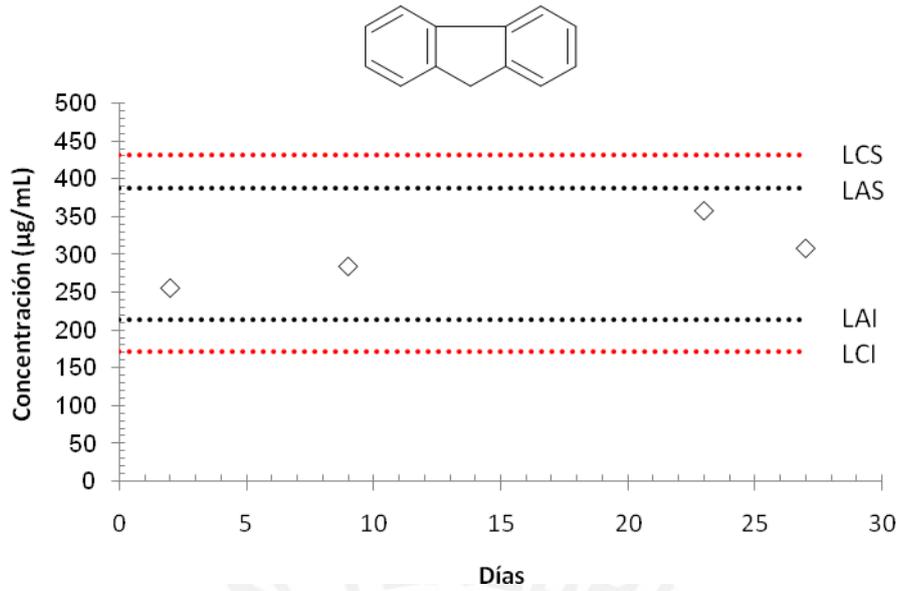


Figura 3.18 Gráfica de control del fluoreno A-1

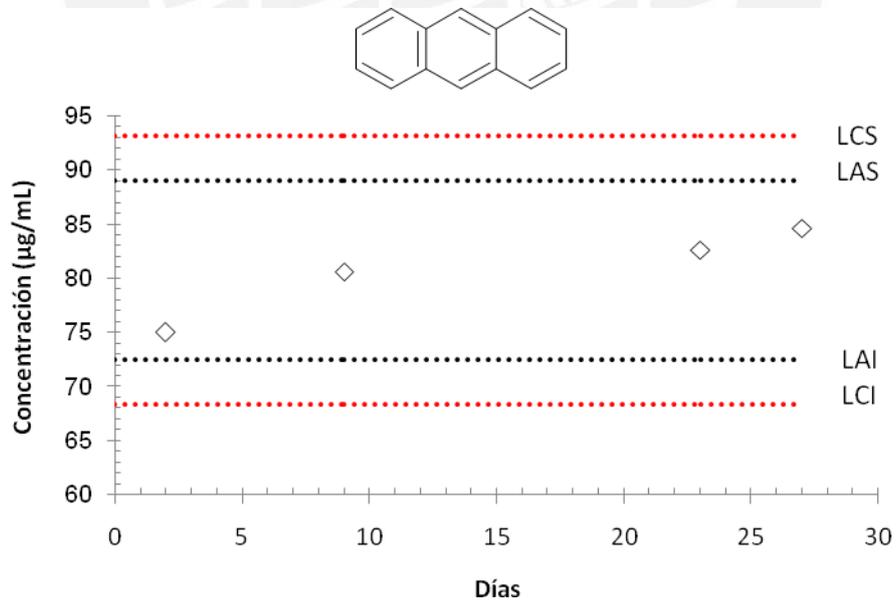


Figura 3.19 Gráfica de control del antraceno A-1

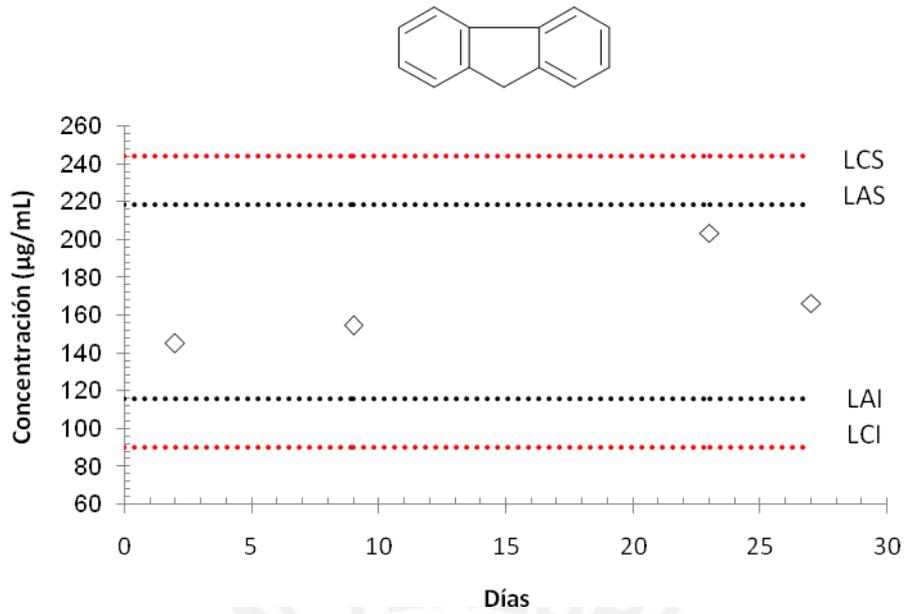


Figura 20 Gráfica de control del fluoreno B-1

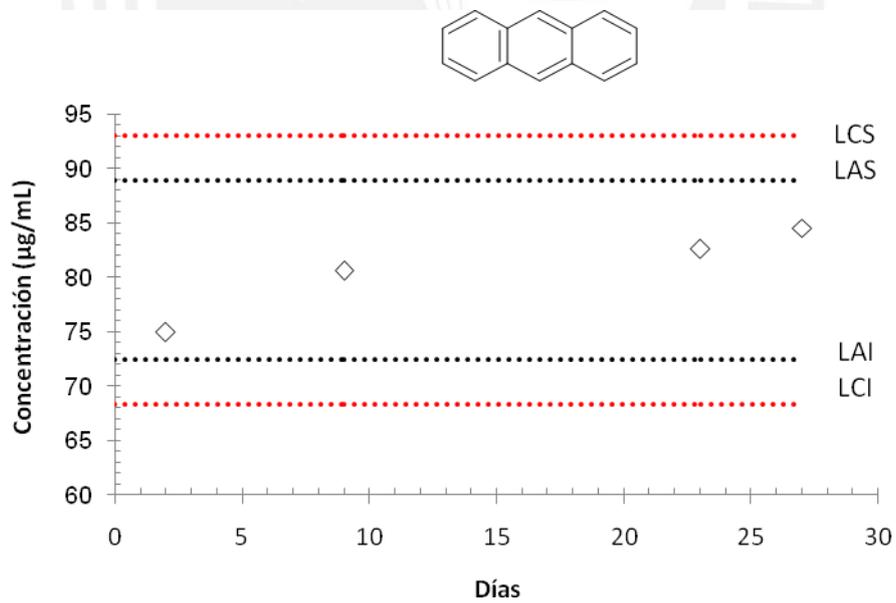


Figura 3.21 Gráfica de control del antraceno B-1

Estas gráficas de control para las distintas muestras de fluoreno y antraceno muestran que los resultados de los análisis proporcionan un registro continuo del estado estadístico del sistema analítico. Según estas gráficas el sistema permanece bajo control estadístico durante los treinta días de evaluación ya que las concentraciones evaluadas se encuentran dentro de los límites de alerta y control. Por tanto, se puede aceptar el análisis de las muestras dentro de los treinta días después de la extracción, por ser satisfactorio el resultado.

### 3. ANÁLISIS DE MUESTRAS

Se procedió a analizar las muestras de agua y suelo de la zona de estudio, según el procedimiento experimental presentado anteriormente; se evaluó las áreas de ciertos picos característicos de PAHs presentes utilizando las curvas de calibración.

En la [tabla 3.15](#) y [3.16](#) se muestran los resultados de los análisis por estaciones de muestreo, tipo de muestra y período de muestreo.

*Tabla 3.12 Concentración de PAHs en muestras de aguas*

| Rotulo  | Unidades | Muestra | Período    | Estación | naftaleno | acenaftaleno | acenafteno | fluoreno | antraceno | fenantreno | fluoranteno | pyreno | benzo(a)antraceno | criseno | benzo(b)fluoranteno | benzo(k)fluoranteno | benzo(a)pireno | benzo(a,h)antraceno | benzo(g,h,i)pireno |
|---------|----------|---------|------------|----------|-----------|--------------|------------|----------|-----------|------------|-------------|--------|-------------------|---------|---------------------|---------------------|----------------|---------------------|--------------------|
| A-01-01 | ng/L     | Agua    | Set. 2006  | Ticlio1  | 54,5      | 13,3*        | 5,95*      | 5,9*     | 3,65*     | 3,7*       | 3,2         | 1,23*  | 0,1*              | 1,6     | 2,22*               | 0,2*                | 0,6*           | 0,8*                | 1,4*               |
| A-01-02 | ng/L     | Agua    | Set. 2006  | Ticlio2  | 24        | 13,3*        | 5,95*      | 5,9*     | 3,65*     | 3,7*       | 1,8         | 1,23*  | 0,1*              | 0,1*    | 2,22*               | 0,2*                | 0,6*           | 0,8*                | 1,4*               |
| A-01-03 | ng/L     | Agua    | Set. 2006  | Ticlio3  | 75        | 13,3*        | 5,95*      | 5,9*     | 3,65*     | 3,7*       | 0,1*        | 1,23*  | 0,7               | 0,1*    | 2,22*               | 0,2*                | 0,6*           | 0,8*                | 1,4*               |
| A-01-04 | ng/L     | Agua    | Set. 2006  | Ticlio4  | 18,45     | 13,3*        | 5,95*      | 5,9*     | 3,65*     | 18,3       | 0,1*        | 1,23*  | 0,1*              | 0,1*    | 2,22*               | 0,2*                | 0,6*           | 0,8*                | 1,4*               |
| A-01-05 | ng/L     | Agua    | Set. 2006  | Ticlio5  | 56        | 13,3*        | 5,95*      | 5,9*     | 3,65*     | 3,7*       | 4,3         | 1,23*  | 0,1*              | 0,1*    | 2,22*               | 0,2*                | 0,6*           | 0,8*                | 1,4*               |
| A-01-06 | ng/L     | Agua    | Set. 2006  | Ticlio6  | 49,3      | 13,3*        | 5,95*      | 5,9*     | 3,65*     | 3,7*       | 0,1*        | 1,23*  | 0,1*              | 2,4     | 3,2                 | 0,2*                | 0,6*           | 0,8*                | 1,4*               |
| A-02-01 | ng/L     | Agua    | Nov. 2006  | Ticlio1  | 27,5      | 13,3*        | 5,95*      | 5,9*     | 3,65*     | 3,7*       | 0,1*        | 1,23*  | 0,1*              | 0,1*    | 2,22*               | 0,2*                | 0,6*           | 0,8*                | 1,4*               |
| A-02-02 | ng/L     | Agua    | Nov. 2006  | Ticlio2  | 18,1      | 13,3*        | 5,95*      | 5,9*     | 3,65*     | 3,7*       | 1,5         | 1,23*  | 0,1*              | 0,1*    | 2,22*               | 0,2*                | 0,6*           | 0,8*                | 1,4*               |
| A-02-03 | ng/L     | Agua    | Nov. 2006  | Ticlio3  | 34,4      | 13,3*        | 5,95*      | 5,9*     | 3,65*     | 3,7*       | 4,0         | 1,23*  | 1,6               | 0,1*    | 2,22*               | 0,2*                | 0,6*           | 0,8*                | 1,4*               |
| A-02-04 | ng/L     | Agua    | Nov. 2006  | Ticlio4  | 38,9      | 13,3*        | 5,95*      | 5,9*     | 3,65*     | 3,7*       | 4,2         | 1,23*  | 0,1*              | 0,1*    | 2,22*               | 0,2*                | 0,6*           | 0,8*                | 1,4*               |
| A-02-05 | ng/L     | Agua    | Nov. 2006  | Ticlio5  | 6,9*      | 13,3*        | 5,95*      | 5,9*     | 3,65*     | 3,7*       | 0,1*        | 1,23*  | 0,1*              | 0,1*    | 2,22*               | 0,2*                | 0,6*           | 0,8*                | 1,4*               |
| A-02-06 | ng/L     | Agua    | Nov. 2006  | Ticlio6  | 6,9*      | 13,3*        | 5,95*      | 5,9*     | 3,65*     | 3,7*       | 0,1*        | 1,23*  | 0,1*              | 0,1*    | 2,22*               | 0,2*                | 0,6*           | 0,8*                | 1,4*               |
| A-03-01 | ng/L     | Agua    | Marzo.2007 | Ticlio1  | 6,9*      | 13,3*        | 5,95*      | 5,9*     | 3,65*     | 3,7*       | 1,7         | 1,23*  | 0,1*              | 0,1*    | 2,22*               | 0,2*                | 0,6*           | 0,8*                | 1,4*               |
| A-03-02 | ng/L     | Agua    | Marzo.2007 | Ticlio2  | 6,9*      | 13,3*        | 5,95*      | 5,9*     | 3,65*     | 3,7*       | 0,1*        | 1,23*  | 0,1*              | 0,1*    | 2,22*               | 0,2*                | 0,6*           | 0,8*                | 1,4*               |
| A-03-03 | ng/L     | Agua    | Marzo.2007 | Ticlio3  | 6,9*      | 13,3*        | 5,95*      | 5,9*     | 3,65*     | 3,7*       | 0,1*        | 1,23*  | 0,1*              | 0,1*    | 2,22*               | 0,2*                | 0,6*           | 0,8*                | 1,4*               |
| A-03-04 | ng/L     | Agua    | Marzo.2007 | Ticlio4  | 6,9*      | 13,3*        | 5,95*      | 5,9*     | 3,65*     | 3,7*       | 0,1*        | 1,23*  | 0,1*              | 0,1*    | 2,22*               | 0,2*                | 0,6*           | 0,8*                | 1,4*               |
| A-03-05 | ng/L     | Agua    | Marzo.2007 | Ticlio5  | 6,9*      | 13,3*        | 5,95*      | 5,9*     | 3,65*     | 3,7*       | 0,1*        | 1,23*  | 0,1*              | 0,1*    | 2,22*               | 0,2*                | 0,6*           | 0,8*                | 1,4*               |
| A-03-06 | ng/L     | Agua    | Marzo.2007 | Ticlio6  | 43,1      | 13,3*        | 5,95*      | 5,9*     | 3,65*     | 3,7*       | 0,1*        | 1,23*  | 0,1*              | 0,1*    | 2,22*               | 0,2*                | 0,6*           | 0,8*                | 1,4*               |

*Valores de color rojo y \* representan los LDD para cada analito.*

*Valores de color negro representan las concentraciones determinadas en las muestras.*

**Tabla 3.13 Concentración de PAHs en muestras de suelos**

| Rotulo  | Unidades | Tipo de Muestra | Periodo    | estación | nafta Leno | acnaf Taleno | acnaf teno | fluoreno | antraceno | fenantreno | fluoranteno | pyreno | benzo(a) antraceno | criseno | benzo(b) fluoranteno | benzo(k) fluoranteno | benzo(a) pireno | benzo(a,h) antraceno | benzo(g,h,i) pireno |
|---------|----------|-----------------|------------|----------|------------|--------------|------------|----------|-----------|------------|-------------|--------|--------------------|---------|----------------------|----------------------|-----------------|----------------------|---------------------|
| S-01-01 | ng/g     | Suelo           | Set. 2006  | Ticlio1  | 1,4*       | 2,1          | 10,3       | 1,2*     | 0,73*     | 28,3       | 123,98      | 43,0   | 0,02*              | 4,79    | 2,4                  | 0,04*                | 0,1*            | 0,2*                 | 0,3*                |
| S-01-02 | ng/g     | Suelo           | Set. 2006  | Ticlio2  | 1,4*       | 2,7*         | 1,2*       | 1,2*     | 0,73*     | 0,7*       | 0,02*       | 0,3*   | 0,34               | 2,99    | 0,4*                 | 1,02                 | 0,1*            | 0,2*                 | 0,3*                |
| S-01-03 | ng/g     | Suelo           | Set. 2006  | Ticlio3  | 70,0       | 70,3         | 1,2*       | 1,2*     | 0,73*     | 28,1       | 0,02*       | 0,3*   | 2,8                | 10,46   | 0,4*                 | 0,04*                | 0,1*            | 0,2*                 | 30,2                |
| S-01-04 | ng/g     | Suelo           | Set. 2006  | Ticlio4  | 2,9        | 2,7*         | 1,2*       | 1,2*     | 0,73*     | 0,7*       | 0,64        | 4,7    | 1,05               | 0,37    | 0,4*                 | 0,04*                | 0,1*            | 17,2                 | 0,3*                |
| S-01-05 | ng/g     | Suelo           | Set. 2006  | Ticlio5  | 37,6       | 2,7*         | 1,2*       | 2,5      | 0,73*     | 3,3        | 28,89       | 0,3*   | 10,06              | 0,02*   | 138,0                | 2,36                 | 80,5            | 1,0                  | 4,1                 |
| S-01-06 | ng/g     | Suelo           | Set. 2006  | Ticlio6  | 5,8        | 2,7*         | 1,2*       | 1,2*     | 0,73*     | 0,9        | 0,02*       | 19,7   | 2,81               | 0,02*   | 45,3                 | 0,79                 | 71,0            | 0,2                  | 0,3*                |
| S-02-01 | ng/g     | Suelo           | Nov. 2006  | Ticlio1  | 28,9       | 36,0         | 14,7       | 1,2*     | 0,73*     | 18,0       | 68,67       | 27,8   | 1,78               | 2,68    | 0,4*                 | 0,04*                | 0,1*            | 0,2*                 | 0,3*                |
| S-02-02 | ng/g     | Suelo           | Nov. 2006  | Ticlio2  | 42,8       | 8,9          | 1,2*       | 1,2*     | 0,73*     | 18,7       | 104,23      | 30,9   | 1,32               | 17,12   | 0,4*                 | 0,04*                | 0,1*            | 0,2*                 | 0,3*                |
| S-02-03 | ng/g     | Suelo           | Nov. 2006  | Ticlio3  | 1,4*       | 41,9         | 11,8       | 1,2*     | 0,73*     | 17,5       | 76,64       | 29,5   | 1,3                | 4,24    | 0,4*                 | 0,04*                | 0,1*            | 0,2*                 | 637,7               |
| S-02-04 | ng/g     | Suelo           | Nov. 2006  | Ticlio4  | 4,1        | 20,1         | 8,9        | 1,2*     | 0,73*     | 8,3        | 47,01       | 17,5   | 0,74               | 4,01    | 0,4*                 | 0,04*                | 0,1*            | 0,2*                 | 0,3*                |
| S-02-05 | ng/g     | Suelo           | Nov. 2006  | Ticlio5  | 1,4*       | 2,7*         | 1,2*       | 1,2*     | 0,73*     | 0,7*       | 0,02*       | 0,3*   | 0,02*              | 0,02*   | 0,4*                 | 0,04*                | 0,1*            | 0,2*                 | 0,3*                |
| S-02-06 | ng/g     | Suelo           | Nov. 2006  | Ticlio6  | 1,4*       | 2,7*         | 1,2*       | 106,8    | 0,73*     | 19,8       | 138,87      | 23,7   | 6,61               | 12,53   | 11,5                 | 15,05                | 16,9            | 0,2*                 | 411,8               |
| S-03-01 | ng/g     | Suelo           | Marzo.2007 | Ticlio1  | 1,4*       | 2,7*         | 1,2*       | 1,2*     | 0,73*     | 0,4        | 7,03        | 0,3*   | 0,44               | 0,02*   | 2,7                  | 0,04*                | 0,1*            | 0,2*                 | 0,3*                |
| S-03-02 | ng/g     | Suelo           | Marzo.2007 | Ticlio2  | 1,4*       | 2,7*         | 1,2*       | 1,2*     | 0,73*     | 0,7*       | 1,46        | 0,3*   | 0,02*              | 0,38    | 0,4*                 | 0,04*                | 0,1*            | 0,2*                 | 0,3*                |
| S-03-03 | ng/g     | Suelo           | Marzo.2007 | Ticlio3  | 19,4       | 15,4         | 12,3       | 17,2     | 0,73*     | 2,1        | 41,4        | 1,5    | 5,88               | 0,02*   | 23,1                 | 0,04*                | 9,1             | 2,2                  | 0,3*                |
| S-03-04 | ng/g     | Suelo           | Marzo.2007 | Ticlio4  | 33,7       | 2,3          | 63,1       | 30,3     | 0,73*     | 6,9        | 47,01       | 9,7    | 3,49               | 6,18    | 0,4*                 | 1,36                 | 6,1             | 0,7                  | 0,3*                |
| S-03-05 | ng/g     | Suelo           | Marzo.2007 | Ticlio5  | 1,4*       | 2,7*         | 1,2*       | 1,2*     | 0,73*     | 0,7*       | 0,02*       | 0,3*   | 0,02*              | 0,02*   | 0,4*                 | 0,04*                | 0,1*            | 0,2*                 | 0,3*                |
| S-03-06 | ng/g     | Suelo           | Marzo.2007 | Ticlio6  | 8,2        | 2,7*         | 13,5       | 1,2*     | 0,73*     | 2,8        | 9,09        | 2,2    | 1,02               | 1,39    | 6,7                  | 0,16                 | 0,1*            | 0,2                  | 0,3*                |

Valores de color rojo y \* representan los LDD para cada analito.  
 Valores de color negro representan las concentraciones determinadas en las muestras.

Las muestras ambientales recolectadas de la zona de estudio fueron muestras de suelos y aguas de las seis estaciones de muestreo y en tres períodos de muestreo distintos. Con el fin de demostrar la hipótesis del transporte translatitudinal y condensación fría en los nevados de la cordillera de los Andes Peruanos, se realizó la cuantificación de PAHs en estas muestras de aguas y suelos de Ticlio a diferentes altitudes y de esta forma se busca comprobar el proceso de fraccionamiento global.

Las *tablas 3.12 y 3.13* muestran las concentraciones de PAHs en suelos y aguas identificadas por cromatografía líquida de alta performance según las metodologías desarrolladas en el presente trabajo y teniendo en cuenta los parámetros de calidad.

A simple vista, de las *tablas 3.12 y 3.13* se puede observar mayor cantidad de analitos o PAHs están presentes en muestras de suelos que en muestras de aguas. Esto podría representar la confirmación de una de las hipótesis planteadas para el presente trabajo, con respecto a las características lipofílicas de los PAHs. Con respecto al aumento de estas sustancias al aumentar la altitud, a simple vista es muy difícil poder observar una relación exacta, por lo que se realizó un tratamiento estadístico con los datos de las concentraciones de PAHs obtenidos y se utilizó softwares como MINITAB, Arc Giss y Excel para poder demostrar las hipótesis planteadas con un nivel de confianza dado y discutir con mayor detalle algunas relaciones que proporcionen mayor información.

Para trabajar toda una planilla de datos consistente, se decidió tener en cuenta el LDD de algunos PAHs que no se determinaron en algunas muestras de aguas y suelos o que podrían encontrarse por debajo del LDD. También cabe mencionar que en algunas muestras de suelos en las estaciones 3, 5 y 6 en los cromatogramas no se determinaron PAHs pues estos tienen bastante interferencia para integrar y obtener el área respectiva. Esto podría estar relacionado con la gran concentración de sustancias aceitosas, posiblemente lubricantes (*figura 3.22*) que dificultaban el aislamiento de los PAHs, por lo cual se decidió no tomar en cuenta estos cromatogramas y representar con el LDD las concentraciones de los

PAHs evaluados. Estas sustancias aceitosas podrían estar relacionadas con las cercanías de estas dos estaciones de muestreo a la carretera.



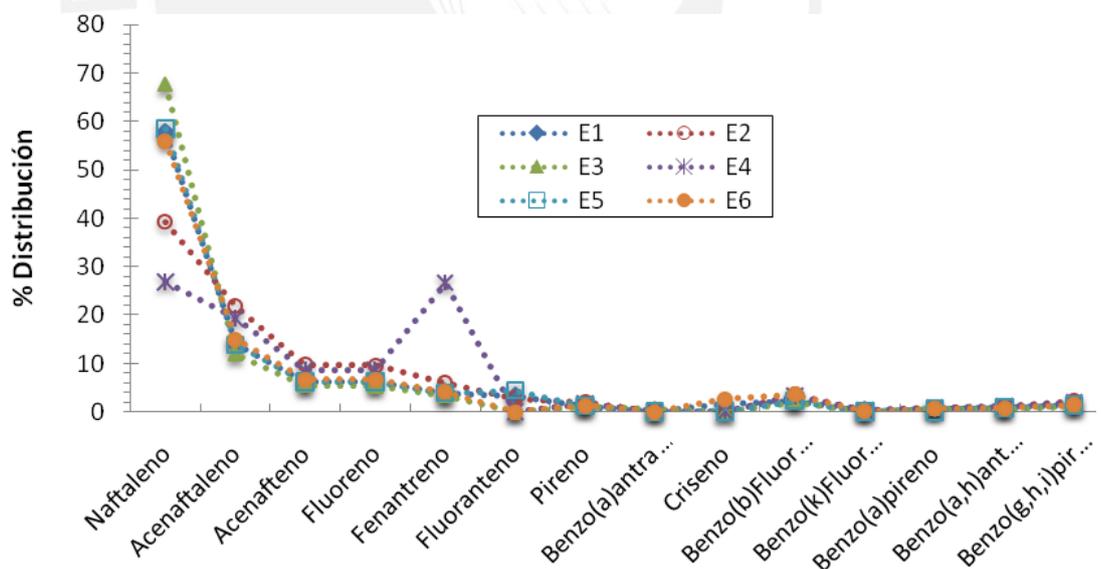
*Figura 3.22 Sustancias aceitosas en muestras de suelos E5 y E6 en comparación E4.*

En las siguientes figuras (*figuras 3.23 hasta 3.25*) se muestran los porcentajes de distribución de los contaminantes por estaciones de muestreo, tipos de muestras y temporadas de muestreo para poder observar en forma general qué tipo de influencia existe o como están relacionados los diferentes datos obtenidos.

### 3.3.1 Interpretación preliminar de los resultados analíticos.

Para esta representación de la [figura 3.23](#) se trabajó con las distintas concentraciones de PAHs en las muestras de agua con respecto a los porcentajes de distribución ([anexo11](#)) de los analitos por estaciones de muestreo, para el primer muestreo, realizado en septiembre del 2006.

La [figura 3.23](#) muestra que sólo el naftaleno tiene cierta variabilidad con respecto a los otros analitos que presentaron concentraciones por debajo del LDD y lo que se puede observar en la gráfica para estos analitos sería sólo la representación de los valores del LDD. Esta variabilidad del naftaleno está relacionada con la cercanía de las diferentes estaciones de muestreo con la carretera Central por lo que se atribuye que este hidrocarburo esté presente en el agua. Este PAHs es uno de los más ligeros de los hidrocarburos estudiados. La gráfica también muestra la poca afinidad de los hidrocarburos con el agua debido a su lipofilicidad.



*Figura 3.23 Porcentaje de distribución o movilidad de PAHs. Muestras de agua-set. 2006.*

El punto que se observa para el fenantreno se atribuye a un dato anómalo. Este dato no fue descartado por estar trabajando con muestras ambientales donde un

dato que representa anomalías puede deberse a un acontecimiento inusual en esa época y brinda generalmente ese tipo de información.

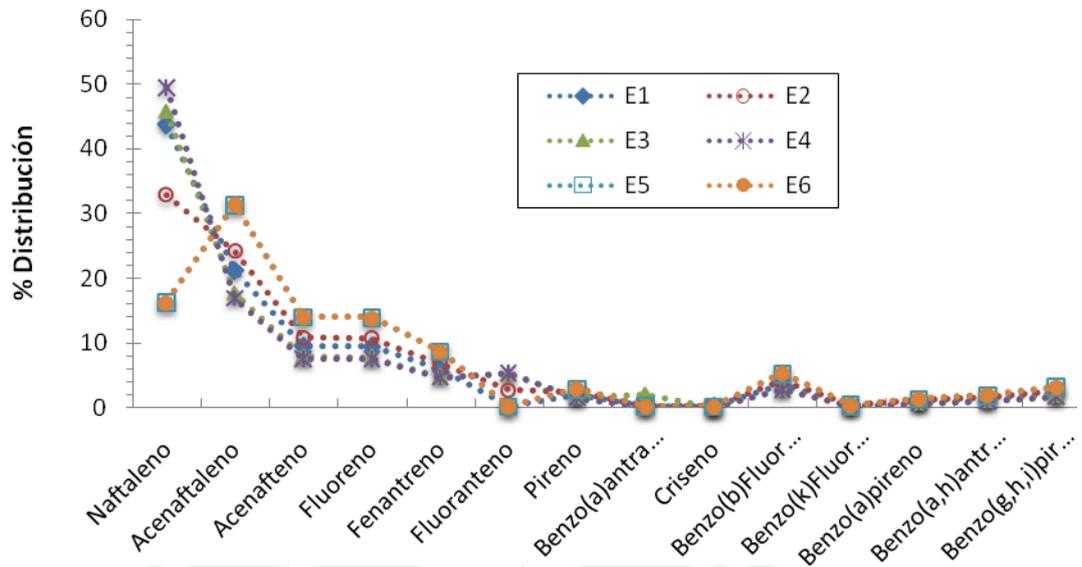


Figura 3.24 Porcentaje de distribución o movilidad de PAHs. Muestras de agua- nov. 2006.

La influencia de las distintas altitudes de las estaciones de muestreo puede considerarse descartada debido a variabilidad de las concentraciones de naftaleno o a la movilidad del mismo en las distintas estaciones de muestreo que no obedecen a un parámetro. Esto también puede ser discutido a partir de las siguientes *figuras 3.24 y 3.25* donde el dato considerado anómalo para el fenantreno ya no existe. Debemos tener en cuenta que el fenantreno es un compuesto muy estable termodinámicamente y este se relaciona con una fuente petrogénica de PAHs, que para esta temporada de muestreo (noviembre del 2006) no se presentó como en el caso anterior de la *figura 3.23*.

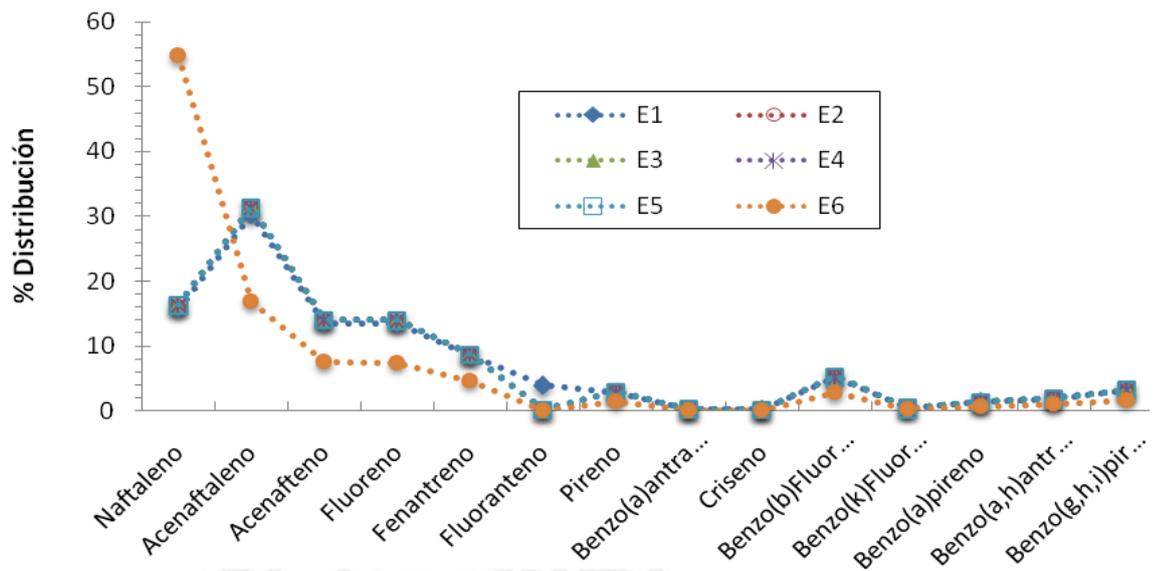


Figura 3.25 Porcentaje de distribución o movilidad de PAHs. Muestras de agua- marzo 2007.

En la [figura 3.25](#) se discute sólo E6 por ser la única estación de muestreo donde se encontró naftaleno y para las demás estaciones se representó el LDD, por lo que se puede observar las líneas superpuestas. Esto se relaciona quizás con la temporada de lluvia en la cual se llevó a cabo el muestreo, lo que pudo ocasionar que no se detecte ningún hidrocarburo excepto para esta estación que es la más lejana a la zona de estudio, y se caracteriza por la poca altitud (900 m.s.n.m.) y la diferencia climática que presenta.

Estas [figuras 3.23](#), [3.24](#) y [3.25](#) se ven reforzadas con la [figura 3.26](#), que muestra en una sola figura la movilidad o variabilidad de los distintos analitos por temporadas de muestreo en las distintas estaciones de muestreo. Para esta [figura 3.26](#) se graficaron las concentraciones de los distintos hidrocarburos versus las estaciones de muestreo en las tres temporadas de muestreo.

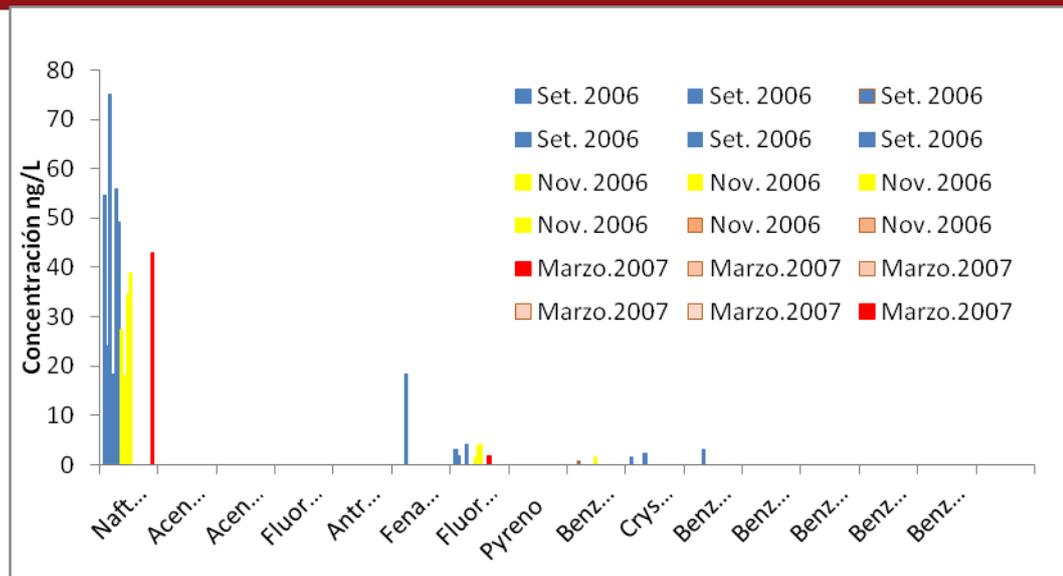
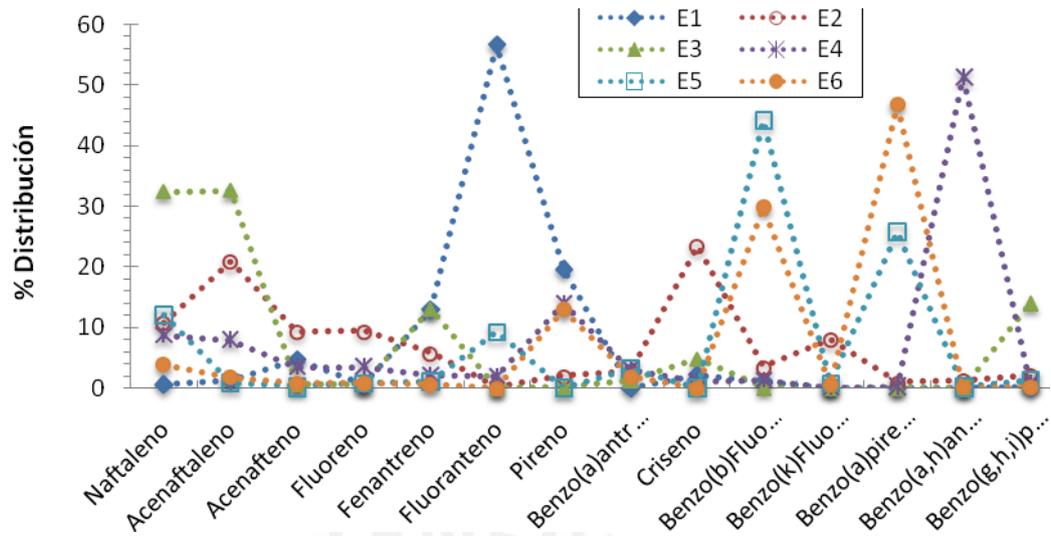


Figura 3.26 Concentraciones de PAHs. Muestras de agua-set. 2006/nov. 2006/ marzo2007.

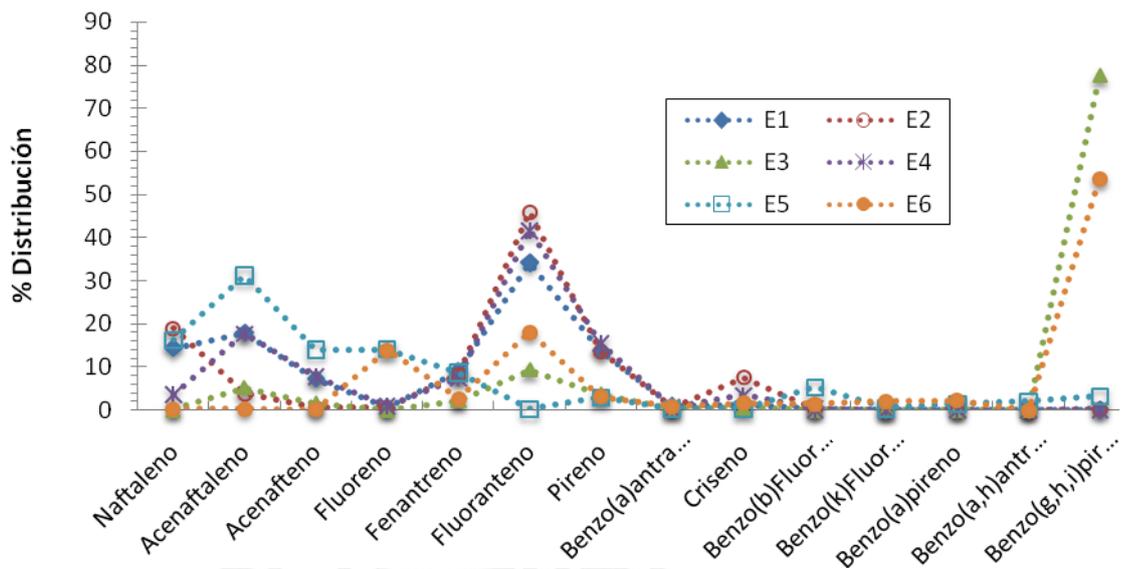
A partir de la [figura 3.26](#) se puede decir que el más ligero de los PAHs, el naftaleno, es el único que presenta cierta movilidad o variabilidad en todas las estaciones de muestreo para la primera y segunda temporada de muestreo. Mientras para otros PAHs de mediano peso molecular se observa cierta movilidad en la segunda temporada, los más pesados son los de mayor carácter lipofílico por lo que no se detectaron en las distintas estaciones de muestreo y en ninguna temporada de muestreo. Esto también se puede relacionar, como se mencionó anteriormente, con las épocas de primavera (septiembre - noviembre), donde se observaron mayor cantidad de analitos, y lluvia (marzo), donde casi no se observaron PAHs en las muestras de aguas. El dato considerado anómalo, para el fenantreno, también se puede observar en esta figura, relacionado también con una posible contaminación petrogénica.

Las [figuras 3.27, 3.28 y 3.29](#) muestran la movilidad de los PAHs en las distintas muestras de suelo. Para obtener estas gráficas se tomó en cuenta los porcentajes de distribución versus concentración de analitos en las distintas estaciones de muestreo para las muestras de suelo.



**Figura 3.27** Porcentaje de distribución o movilidad de PAHs. Muestras de suelos- Set.2006.

Para la [figura 3.27](#) se puede observar cierta movilidad para los PAHs más ligeros en las estaciones E2, E3, E4; de igual forma se podría relacionar esta variabilidad con la cercanía a la carretera de las estaciones de muestreo pero no con la altitud de las mismas. Para PAHs de mediano peso molecular no se observa una distribución significativa, excepto el fluoranteno que muestra un valor muy alto en la estación E5. Este valor también denominado anómalo se puede relacionar con cierta acontecimiento inusual ya que según otros autores relacionan valores altos de fluoranteno con la contaminación pirolítica. Tanto las estaciones de muestreo E2, E4, E6 como E5 muestran un aumento en la distribución de los PAHs más pesados. Esto se podría relacionar con el aumento de las características lipofílicas de estos compuestos. De igual forma no se encuentra una relación con las altitudes de las estaciones de muestreo para este tipo de compuestos más pesados en esta temporada de primavera.



**Figura 3.28** Porcentaje de distribución o movilidad de PAHs. Muestras de suelos- noviembre del 2006.

De igual forma, de la [figura 3.28](#) se puede deducir cierta distribución de los PAHs más ligeros en las estaciones de muestreo E5, E1 y E4, mientras que para los PAHs medianamente pesados y más pesados no se observa esa movilidad en las distintas estaciones de muestreo. Excepto el fluoranteno que presenta cierta movilidad en las estaciones de muestreo, esto relacionado con la contaminación pirolítica en la temporada de muestreo. Para el caso de benzo[g,h,i]perileno también se observa un aumento en su concentración especialmente en las estaciones E3 y E6. Esto es preocupante debido a la alta carcinogenicidad de este compuesto.

En la temporada de muestreo de marzo del 2007 ([figura 3.29](#)), caracterizada por abundantes lluvias, se muestra la alta movilidad de los PAHs más ligeros con respecto a los medianamente pesados y más pesados; con excepción del fluoranteno y benzo[b]fluoranteno que muestran movilidad en las estaciones de muestreo relacionado quizás con la contaminación pirolítica que influye también en esta temporada de muestreo.

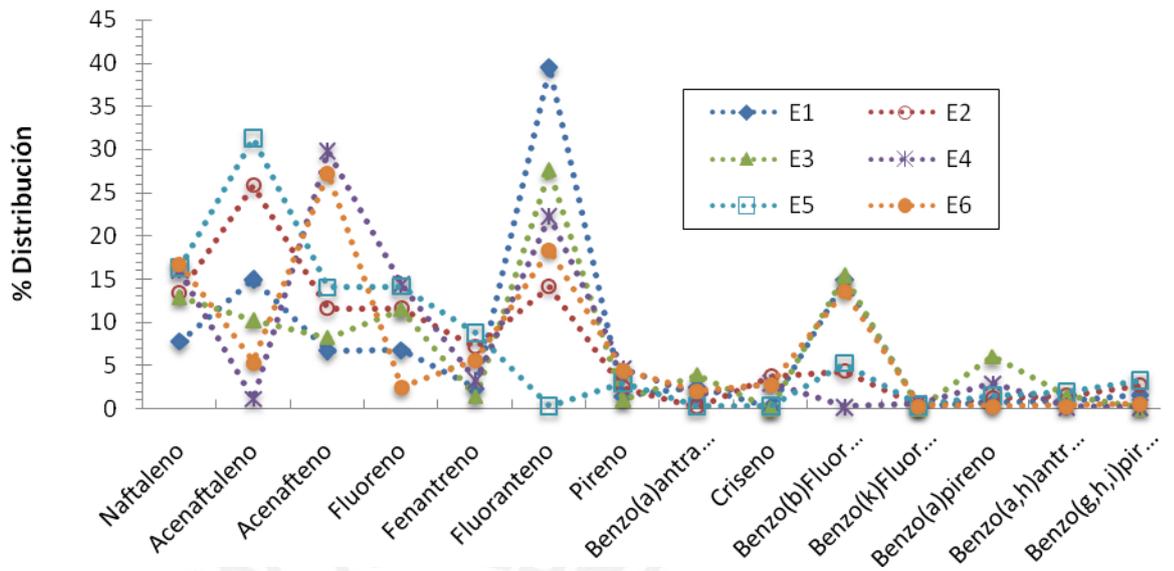


Figura 3.29 Porcentaje de distribución o movilidad de PAHs. Muestras de suelos- marzo del 2007.

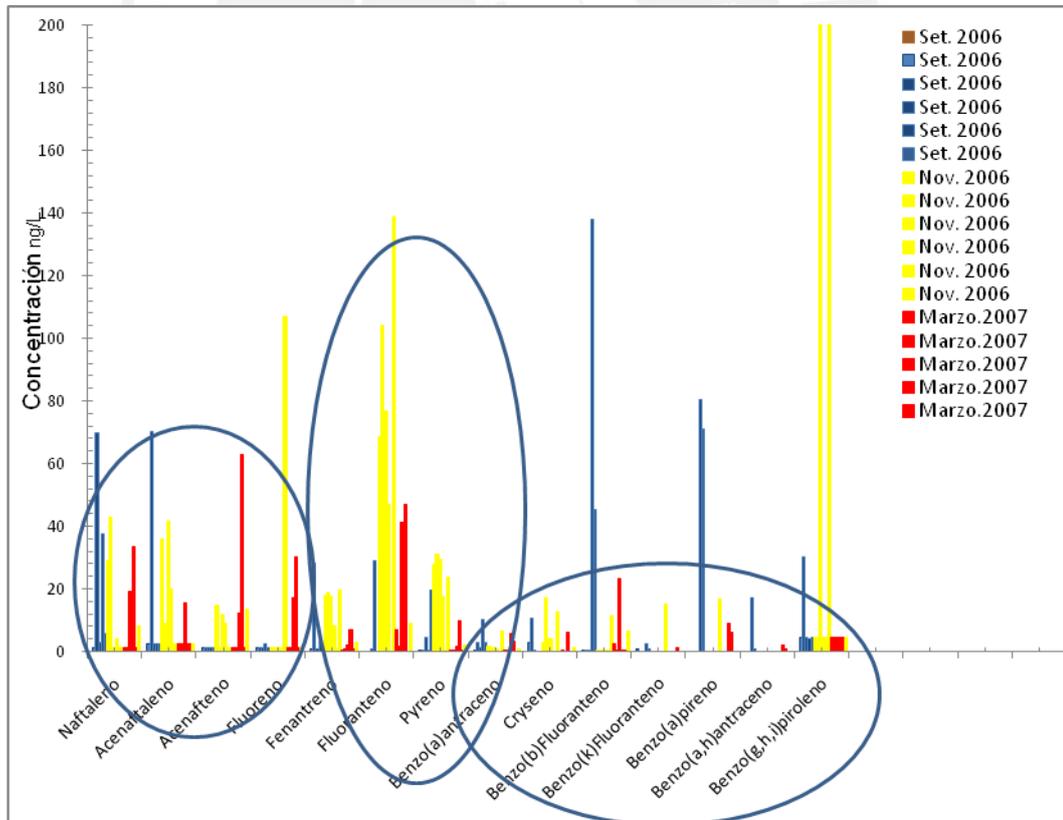


Figura 3.30 Concentraciones de PAHs. Muestras de suelo-set. 2006/nov. 2006/ marzo2007.

En la *figura 3.30* se pueden observar las altas concentraciones de los PAHs ligeros en la primera y tercera temporadas de muestreo. Los PAHs de mediano peso molecular muestran cierta concentración para las tres temporadas de muestreo mientras que el fluoranteno alcanza altas concentraciones en las tres temporadas de muestreo; los PAHs más pesados muestran pequeñas concentraciones en común para todas las temporadas de muestreo, excepto para el benzo[b]fluoranteno, benzo[a]pireno en el primer muestreo y benzo(g,h,i)pireno para el segundo muestreo. Estos valores se asocian a la contaminación por fluoranteno que es de tipo pirolítica. Estos compuestos de alto peso molecular se arrastran como productos secundarios. Todo esto es preocupante debido a la alta carcinogenicidad de estos compuestos.

### 3.3.2 Análisis y pretratamiento de datos

Todos los cálculos realizados, los resultados obtenidos y cada análisis estadístico se realizaron con el programa estadístico Minitab 15.0. Sólo algunas gráficas se realizaron en SPSS 15.0.

En la *Tabla 3.12 y 3.13* se reportó todos los resultados de las concentraciones de las muestras durante el periodo de septiembre del 2006 y marzo 2007, teniendo en cuenta los valores del LDD para aquellos analitos que no se lograron cuantificar.

El análisis inicial en Excel de las concentraciones de los PAHs con respecto a su distribución en las diferentes estaciones y períodos de muestreo permitió visualizar la variabilidad de los PAHs con respecto a las muestras y la movilidad de los mismos separándolos como ligeros o de menor peso molecular, de mediano peso molecular y los compuestos de mayor peso molecular.

**Tabla 3.14** parámetros estadísticos para concentraciones de agua y suelo

| Variable              | Media | Desv. Est. | Varianza | Suma   | Mínimo | Q <sub>1</sub> | Mediana | Q <sub>3</sub> | Máximo | Rango  | IQR   | Moda | Sesgo | Curtosis |
|-----------------------|-------|------------|----------|--------|--------|----------------|---------|----------------|--------|--------|-------|------|-------|----------|
| naftaleno             | 20,88 | 21,36      | 456,41   | 751,83 | 1,38   | 3,21           | 7,57    | 36,77          | 75,00  | 73,62  | 33,56 | 1,38 | 1,01  | 0,03     |
| acenaftaleno          | 12,86 | 13,12      | 172,11   | 462,94 | 2,10   | 2,66           | 3,30    | 13,30          | 70,32  | 68,22  | 10,64 | 13,3 | 2,86  | 10,50    |
| acenafteno            | 7,07  | 10,29      | 105,72   | 254,59 | 1,19   | 1,19           | 5,95    | 5,95           | 63,07  | 61,88  | 4,76  | 5,95 | 4,85  | 26,63    |
| fluoreno              | 7,77  | 17,81      | 317,12   | 279,78 | 1,20   | 1,20           | 5,90    | 5,90           | 106,80 | 105,60 | 4,70  | 5,9  | 5,25  | 29,26    |
| antraceno             | 2,190 | 1,481      | 2,193    | 78,840 | 0,730  | 0,73           | 2,19    | 3,650          | 3,650  | 3,65   | 2,92  | 2,92 | 0,00  | 2,12     |
| fenantreno            | 6,67  | 7,70       | 59,26    | 240,00 | 0,41   | 2,9            | 3,70    | 6,12           | 28,26  | 27,85  | 3,22  | 3,7  | 1,73  | 1,93     |
| fluoranteno           | 19,90 | 37,43      | 1400,75  | 716,38 | 0,02   | 0,08           | 1,46    | 23,94          | 138,87 | 138,85 | 23,86 | 0,08 | 2,07  | 3,45     |
| pireno                | 6,50  | 11,12      | 123,66   | 233,93 | 0,25   | 1,23           | 1,23    | 4,07           | 42,96  | 42,71  | 2,84  | 1,23 | 1,96  | 2,86     |
| benzo[a]antraceno     | 1,209 | 2,187      | 4,781    | 43,530 | 0,02   | 0,1            | 0,10    | 1,315          | 10,060 | 10,040 | 1,215 | 0,1  | 2,73  | 7,91     |
| criseno               | 2,014 | 3,911      | 15,295   | 72,510 | 0,02   | 0,08           | 0,08    | 2,613          | 17,120 | 17,100 | 2,533 | 0,08 | 2,61  | 6,89     |
| benzo[b]fluoranteno   | 7,65  | 23,80      | 566,32   | 275,57 | 0,44   | 0,44           | 2,22    | 2,22           | 138,04 | 137,60 | 1,78  | 2,22 | 5,09  | 27,51    |
| benzo[k]fluoranteno   | 0,684 | 2,504      | 6,270    | 24,615 | 0,038  | 0,038          | 0,190   | 0,190          | 15,050 | 15,012 | 0,152 | 0,19 | 5,71  | 33,49    |
| benzo [a]pireno       | 5,43  | 17,61      | 310,17   | 195,50 | 0,12   | 0,12           | 0,58    | 0,58           | 80,45  | 80,33  | 0,46  | 0,58 | 3,88  | 14,40    |
| dibenzo[a,h]antraceno | 1,051 | 2,801      | 7,847    | 37,840 | 0,16   | 0,16           | 0,810   | 0,810          | 17,210 | 17,05  | 0,65  | 0,81 | 5,79  | 34,28    |
| benzo[g,h,i]piroleno  | 30,9  | 124,5      | 1550,9   | 1111,9 | 0,3    | 0,3            | 1,4     | 1,4            | 637,7  | 637,4  | 1,1   | 1,36 | 4,35  | 18,82    |

**Desv. Est.:** desviación estándar

**Cuartiles:** dividen a la muestra en cuatro grupos con frecuencias similares

**Q1:** primer cuartil (cuartil 25: valor de posición 25% de los datos)

**Q3:** tercer cuartil (cuartil 75: valor de posición 75% de los datos)

**IQR:** rango intercuartilico, es la distancia entre el primer y tercer cuartil

**Moda:** valor donde la distribución de frecuencia alcanza un máximo

**Curtosis:** indica el grado de apuntamiento de una distribución con respecto a la distribución normal

**Mediana:** valor que divide a las observaciones en dos grupos con el mismo número de individuos

En la *Tabla 3.14* se reportaron los parámetros estadísticos descriptivos iniciales (media, mínimo, máximo, desviación estándar, sesgo y curtosis), los cuales permitieron examinar el comportamiento que tienen la distribución de los datos de concentración hacia una distribución normal, lo cual es fundamental para los posteriores análisis ya que puede existir la necesidad de transformar los datos para poder realizar mejores evaluaciones en el programa. Para los estudios aquí realizados no se requiere de este tipo de transformaciones y sólo se limita a normalizar los datos para uniformizar las variables que poseen diferentes unidades. Por lo cual el paso determinante en el tratamiento de datos consistió en la normalización de los datos usando el autoescalado o transformación Z (variable normalizada), para evitar la pérdida de clasificación debido a la magnitud y rango de variación de las concentraciones ambientales.

Si se tiene en cuenta que las técnicas estadísticas más habituales se basan en el modelo de Gauss, para facilitar las operaciones de comparación y también para elaborar tablas que tengan validez universal, es necesario disponer de una variable tipificada o estandarizada o también denominada normalizada que pueda servir de referencia. Por tal motivo se construyó una tabla con datos normalizados a partir de las *tablas 3.12 y 3.13*. Por definición se tiene en cuenta la medida de la normalización a partir de la siguiente fórmula:

$$Z \approx \frac{X_i - \mu}{\sigma} \quad \dots\dots\dots \text{Ec 3.8}$$

Donde:

$X_i$ : variable

$\mu$ : valor medio esperado

$\sigma$ : desviación estándar

Z: variable normalizada

Las *tablas 3.15 y 3.16* muestran las concentraciones de PAHs normalizadas para las muestras de agua y suelo respectivamente.

*Tabla 3.15 Normalización de datos en muestras de aguas (valores de Z).*

| Tipo de Muestra | Unidades | Periodo    | estación | naftaleno | acenaf Taleno | acenaf Teno | fluoreno | antraceno | fenan treno | fluoran teno | pyreno | benzo[a] antraceno | criseno | benzo[b] fluoranteno | benzo[k] fluoranteno | benzo[a] pireno | dibenzo[a,h] antraceno | benzo[g,h,i] piroleno |
|-----------------|----------|------------|----------|-----------|---------------|-------------|----------|-----------|-------------|--------------|--------|--------------------|---------|----------------------|----------------------|-----------------|------------------------|-----------------------|
| Agua            | ng/L     | Set. 2006  | Ticlio1  | 1,574     | 0,034         | -0,109      | -0,105   | 0,986     | -0,385      | -0,447       | -0,474 | -0,507             | -0,116  | -0,228               | -0,197               | -0,275          | -0,086                 | -0,237                |
| Agua            | ng/L     | Set. 2006  | Ticlio2  | 0,146     | 0,034         | -0,109      | -0,105   | 0,986     | -0,385      | -0,485       | -0,474 | -0,507             | -0,495  | -0,228               | -0,197               | -0,275          | -0,086                 | -0,237                |
| Agua            | ng/L     | Set. 2006  | Ticlio3  | 2,533     | 0,034         | -0,109      | -0,105   | 0,986     | -0,385      | -0,530       | -0,474 | -0,251             | -0,495  | -0,228               | -0,197               | -0,275          | -0,086                 | -0,237                |
| Agua            | ng/L     | Set. 2006  | Ticlio4  | -0,114    | 0,034         | -0,109      | -0,105   | 0,986     | 1,511       | -0,530       | -0,474 | -0,507             | -0,495  | -0,228               | -0,197               | -0,275          | -0,086                 | -0,237                |
| Agua            | ng/L     | Set. 2006  | Ticlio5  | 1,644     | 0,034         | -0,109      | -0,105   | 0,986     | -0,385      | -0,418       | -0,474 | -0,507             | -0,495  | -0,228               | -0,197               | -0,275          | -0,086                 | -0,237                |
| Agua            | ng/L     | Set. 2006  | Ticlio6  | 1,330     | 0,034         | -0,109      | -0,105   | 0,986     | -0,385      | -0,530       | -0,474 | -0,507             | 0,101   | -0,186               | -0,197               | -0,275          | -0,086                 | -0,237                |
| Agua            | ng/L     | Nov. 2006  | Ticlio1  | 0,310     | 0,034         | -0,109      | -0,105   | 0,986     | -0,385      | -0,530       | -0,474 | -0,507             | -0,495  | -0,228               | -0,197               | -0,275          | -0,086                 | -0,237                |
| Agua            | ng/L     | Nov. 2006  | Ticlio2  | -0,133    | 0,034         | -0,109      | -0,105   | 0,986     | -0,385      | -0,493       | -0,474 | -0,507             | -0,495  | -0,228               | -0,197               | -0,275          | -0,086                 | -0,237                |
| Agua            | ng/L     | Nov. 2006  | Ticlio3  | 0,630     | 0,034         | -0,109      | -0,105   | 0,986     | -0,385      | -0,426       | -0,474 | 0,156              | -0,495  | -0,228               | -0,197               | -0,275          | -0,086                 | -0,237                |
| Agua            | ng/L     | Nov. 2006  | Ticlio4  | 0,841     | 0,034         | -0,109      | -0,105   | 0,986     | -0,385      | -0,419       | -0,474 | -0,507             | -0,495  | -0,228               | -0,197               | -0,275          | -0,086                 | -0,237                |
| Agua            | ng/L     | Nov. 2006  | Ticlio5  | -0,655    | 0,034         | -0,109      | -0,105   | 0,986     | -0,385      | -0,530       | -0,474 | -0,507             | -0,495  | -0,228               | -0,197               | -0,275          | -0,086                 | -0,237                |
| Agua            | ng/L     | Nov. 2006  | Ticlio6  | -0,655    | 0,034         | -0,109      | -0,105   | 0,986     | -0,385      | -0,530       | -0,474 | -0,507             | -0,495  | -0,228               | -0,197               | -0,275          | -0,086                 | -0,237                |
| Agua            | ng/L     | Marzo.2007 | Ticlio1  | -0,655    | 0,034         | -0,109      | -0,105   | 0,986     | -0,385      | -0,486       | -0,474 | -0,507             | -0,495  | -0,228               | -0,197               | -0,275          | -0,086                 | -0,237                |
| Agua            | ng/L     | Marzo.2007 | Ticlio2  | -0,655    | 0,034         | -0,109      | -0,105   | 0,986     | -0,385      | -0,530       | -0,474 | -0,507             | -0,495  | -0,228               | -0,197               | -0,275          | -0,086                 | -0,237                |
| Agua            | ng/L     | Marzo.2007 | Ticlio3  | -0,655    | 0,034         | -0,109      | -0,105   | 0,986     | -0,385      | -0,530       | -0,474 | -0,507             | -0,495  | -0,228               | -0,197               | -0,275          | -0,086                 | -0,237                |
| Agua            | ng/L     | Marzo.2007 | Ticlio4  | -0,655    | 0,034         | -0,109      | -0,105   | 0,986     | -0,385      | -0,530       | -0,474 | -0,507             | -0,495  | -0,228               | -0,197               | -0,275          | -0,086                 | -0,237                |
| Agua            | ng/L     | Marzo.2007 | Ticlio5  | -0,655    | 0,034         | -0,109      | -0,105   | 0,986     | -0,385      | -0,530       | -0,474 | -0,507             | -0,495  | -0,228               | -0,197               | -0,275          | -0,086                 | -0,237                |
| Agua            | ng/L     | Marzo.2007 | Ticlio6  | 1,040     | 0,034         | -0,109      | -0,105   | 0,986     | -0,385      | -0,530       | -0,474 | -0,507             | -0,495  | -0,228               | -0,197               | -0,275          | -0,086                 | -0,237                |

*Tabla 3.16 Normalización de datos obtenidos en muestras de suelos (valores de Z)*

| Tipo de Muestra | Unidades | Periodo    | estación | naftale no | acena f Taleno | acena f teno | fluoreno | antraceno | fenan treno | fluoran Teno | pireno | benzo[a] antraceno | criseno | benzo[b] fluoranteno | benzo[k] fluoranteno | benzo[a] pireno | dibenzo[a,h] antraceno | benzo[g,h,i] piroleno |
|-----------------|----------|------------|----------|------------|----------------|--------------|----------|-----------|-------------|--------------|--------|--------------------|---------|----------------------|----------------------|-----------------|------------------------|-----------------------|
| Suelo           | ng/g     | Set. 2006  | Ticlio1  | -0,913     | -0,820         | 0,314        | -0,369   | -0,986    | 2,805       | 2,781        | 3,279  | -0,544             | 0,710   | -0,219               | -0,258               | -0,302          | -0,318                 | -0,246                |
| Suelo           | ng/g     | Set. 2006  | Ticlio2  | -0,913     | -0,777         | -0,572       | -0,369   | -0,986    | -0,770      | -0,531       | -0,562 | -0,397             | 0,250   | -0,303               | 0,134                | -0,302          | -0,318                 | -0,246                |
| Suelo           | ng/g     | Set. 2006  | Ticlio3  | 2,300      | 4,380          | -0,572       | -0,369   | -0,986    | 2,784       | -0,531       | -0,562 | 0,728              | 2,160   | -0,303               | -0,258               | -0,302          | -0,318                 | -0,006                |
| Suelo           | ng/g     | Set. 2006  | Ticlio4  | -0,841     | -0,777         | -0,572       | -0,369   | -0,986    | -0,770      | -0,515       | -0,162 | -0,073             | -0,420  | -0,303               | -0,258               | -0,302          | 5,768                  | -0,246                |
| Suelo           | ng/g     | Set. 2006  | Ticlio5  | 0,781      | -0,777         | -0,572       | -0,297   | -0,986    | -0,436      | 0,240        | -0,562 | 4,048              | -0,510  | 5,479                | 0,669                | 4,260           | -0,022                 | -0,216                |
| Suelo           | ng/g     | Set. 2006  | Ticlio6  | -0,705     | -0,777         | -0,572       | -0,369   | -0,986    | -0,752      | -0,531       | 1,187  | 0,732              | -0,510  | 1,583                | 0,042                | 3,720           | -0,318                 | -0,246                |
| Suelo           | ng/g     | Nov. 2006  | Ticlio1  | 0,376      | 1,763          | 0,737        | -0,369   | -0,986    | 1,477       | 1,303        | 1,913  | 0,261              | 0,170   | -0,303               | -0,258               | -0,302          | -0,318                 | -0,246                |
| Suelo           | ng/g     | Nov. 2006  | Ticlio2  | 1,027      | -0,303         | -0,572       | -0,369   | -0,986    | 1,563       | 2,253        | 2,196  | 0,051              | 3,862   | -0,303               | -0,258               | -0,302          | -0,318                 | -0,246                |
| Suelo           | ng/g     | Nov. 2006  | Ticlio3  | -0,913     | 2,211          | 0,456        | -0,369   | -0,986    | 1,412       | 1,516        | 2,068  | 0,042              | 0,569   | -0,303               | -0,258               | -0,302          | -0,318                 | 4,873                 |
| Suelo           | ng/g     | Nov. 2006  | Ticlio4  | -0,788     | 0,551          | 0,174        | -0,369   | -0,986    | 0,208       | 0,724        | 0,988  | -0,215             | 0,510   | -0,303               | -0,258               | -0,302          | -0,318                 | -0,246                |
| Suelo           | ng/g     | Nov. 2006  | Ticlio5  | -0,913     | -0,777         | -0,572       | -0,369   | -0,986    | -0,770      | -0,531       | -0,562 | -0,544             | -0,510  | -0,303               | -0,258               | -0,302          | -0,318                 | -0,246                |
| Suelo           | ng/g     | Nov. 2006  | Ticlio6  | -0,913     | -0,777         | -0,572       | 5,561    | -0,986    | 1,707       | 3,179        | 1,547  | 2,470              | 2,689   | 0,160                | 5,737                | 0,651           | -0,318                 | 3,058                 |
| Suelo           | ng/g     | Marzo.2007 | Ticlio1  | -0,913     | -0,777         | -0,572       | -0,369   | -0,986    | -0,813      | -0,344       | -0,562 | -0,352             | -0,510  | -0,210               | -0,258               | -0,302          | -0,318                 | -0,246                |
| Suelo           | ng/g     | Marzo.2007 | Ticlio2  | -0,913     | -0,777         | -0,572       | -0,369   | -0,986    | -0,770      | -0,493       | -0,562 | -0,544             | -0,418  | -0,303               | -0,258               | -0,302          | -0,318                 | -0,246                |
| Suelo           | ng/g     | Marzo.2007 | Ticlio3  | -0,071     | 0,193          | 0,509        | 0,528    | -0,986    | -0,595      | 0,574        | -0,451 | 2,136              | -0,510  | 0,650                | -0,258               | 0,206           | 0,396                  | -0,246                |
| Suelo           | ng/g     | Marzo.2007 | Ticlio4  | 0,598      | -0,805         | 5,446        | 1,266    | -0,986    | 0,034       | 0,724        | 0,284  | 1,043              | 1,065   | -0,303               | 0,270                | 0,040           | -0,140                 | -0,246                |
| Suelo           | ng/g     | Marzo.2007 | Ticlio5  | -0,913     | -0,777         | -0,572       | -0,369   | -0,986    | -0,770      | -0,531       | -0,562 | -0,544             | -0,510  | -0,303               | -0,258               | -0,302          | -0,318                 | -0,246                |
| Suelo           | ng/g     | Marzo.2007 | Ticlio6  | -0,592     | -0,777         | 0,620        | -0,369   | -0,986    | -0,507      | -0,289       | -0,389 | -0,087             | -0,160  | -0,040               | -0,209               | -0,302          | -0,318                 | -0,246                |

### 3.3.3 Análisis de componentes principales

El análisis preliminar ayudó a establecer ciertas características de la movilidad y a establecer posibles concentraciones altas para algunos PAHs. Con el objetivo de investigar y visualizar los agrupamientos y las interrelaciones de las concentraciones de los PAHs y las posibles influencias del tipo de muestra, la estación de muestreo, el período de muestreo y, al mismo tiempo, simplificar la estructura original de la base de datos (reducción de las múltiples dimensiones), se aplicó el análisis de componentes principales (PCA), usando la matriz de datos autoescalados.

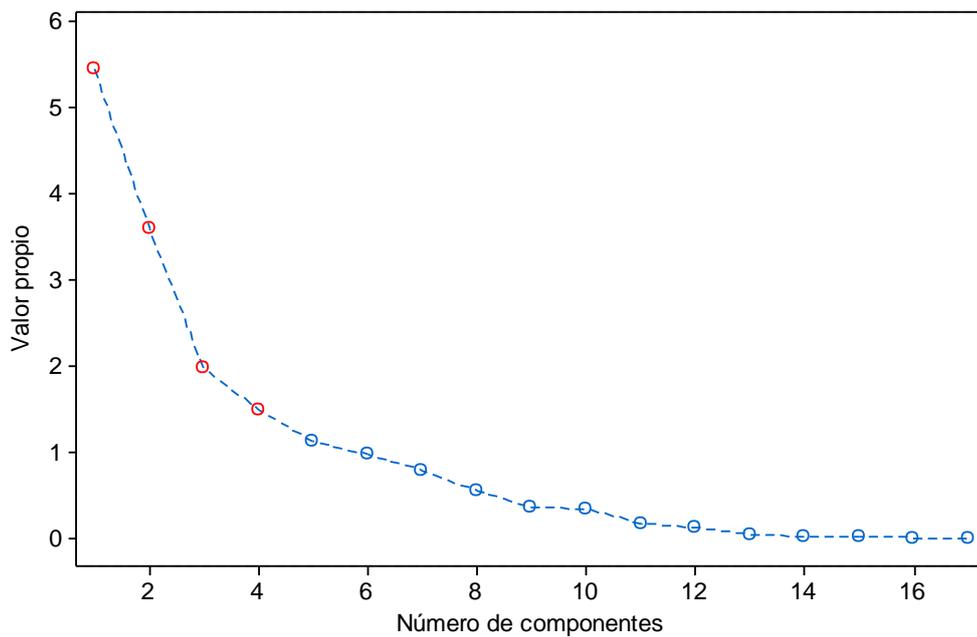
Así, se procedió a realizar un PCA, es decir, un análisis de los valores y vectores propios de la matriz de correlación de datos, y luego calcular el porcentaje de la varianza explicada a partir de la relación entre los autovalores de cada componente principal y la suma de todos los autovalores. Finalmente, se determinó las matrices de puntuaciones y cargas de los componentes principales.

Como resultado se obtuvo la [tabla 3.17](#) y la gráfica de sedimentación ([figura 3.31](#)) de donde se extrajo diecisiete autovalores y sus respectivos componentes principales, además del porcentaje de la varianza explicada y acumulada ([tabla 3.17](#)).

De la [tabla 3.21](#) el primer componente principal, con autovalor de 5,438, explica el 31,986% de la varianza o información de las relaciones que existen entre las concentraciones de los distintos PAHs y las estaciones de muestreo, las temporadas de muestreo y el tipo de muestra. El segundo componente, con autovalor de 3,601, explica el 21,180% de la información restante no explicada por el primer componente. El tercer componente, con autovalor de 1,974, explica el 11,611% de la información restante no explicada por el primer y segundo componentes, y así sucesivamente, en orden decreciente, hasta explicar toda la información inicial.

**Tabla 3.17 Componentes principales de datos transformados y autoescalados**

| Componente | Autovalores iniciales |                      |                       |
|------------|-----------------------|----------------------|-----------------------|
|            | Autovalor             | % Varianza Explicada | % Autovalor acumulado |
| 1          | 5,438                 | 31,986               | 31,986                |
| 2          | 3,601                 | 21,180               | 53,166                |
| 3          | 1,974                 | 11,611               | 64,777                |
| 4          | 1,492                 | 8,775                | 73,551                |
| 5          | 1,123                 | 6,607                | 80,158                |
| 6          | 0,972                 | 5,720                | 85,878                |
| 7          | 0,786                 | 4,626                | 90,504                |
| 8          | 0,552                 | 3,249                | 93,753                |
| 9          | 0,358                 | 2,104                | 95,857                |
| 10         | 0,340                 | 1,999                | 97,856                |
| 11         | 0,171                 | 1,007                | 98,863                |
| 12         | 0,120                 | 0,704                | 99,567                |
| 13         | 4,135E-02             | 0,243                | 99,810                |
| 14         | 1,690E-02             | 9,941E-02            | 99,910                |
| 15         | 1,107E-02             | 6,511E-02            | 99,975                |
| 16         | 3,946E-03             | 2,321E-02            | 99,998                |
| 17         | 3,327E-04             | 1,957E-03            | 100,000               |



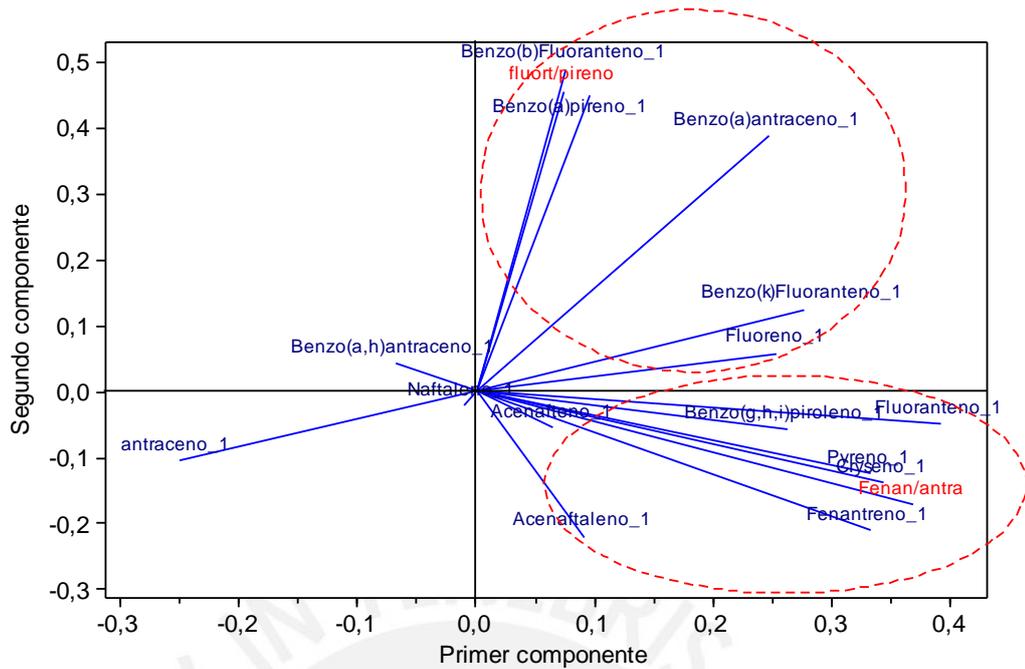
**Figura 3.31 Gráfica de sedimentación de los autovalores para los 17 componentes principales**

Como siempre, existe información redundante e innecesaria entre los datos de la matriz y se debe considerar criterios, que existen en el PCA, para tomar en cuenta los componentes principales óptimos que ayuden a explicar las relaciones importantes y sin perder información necesaria.

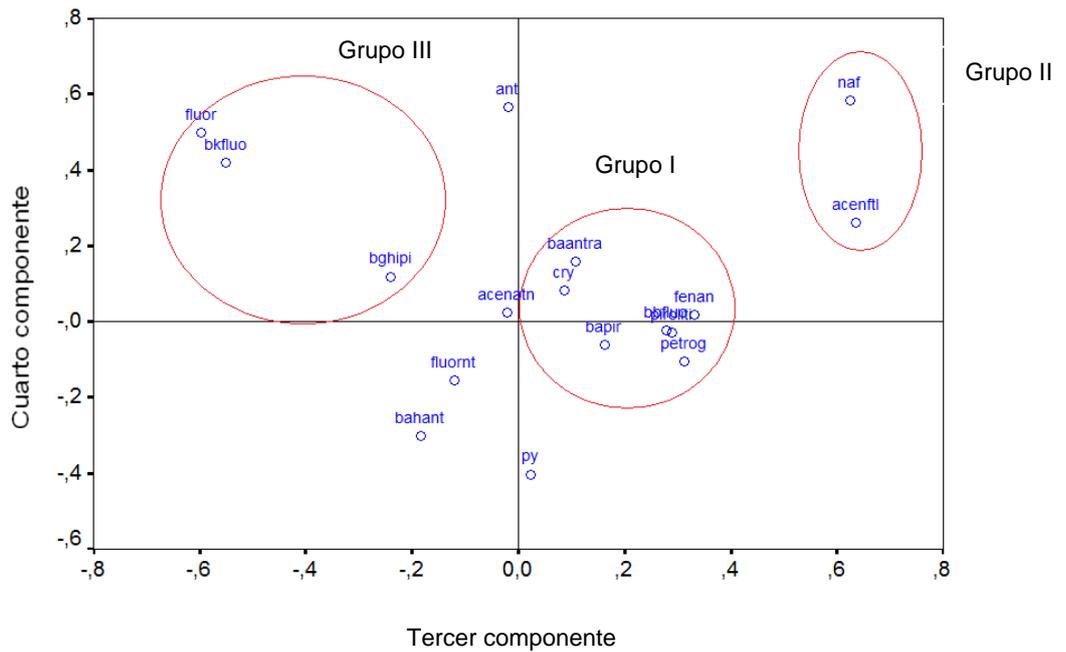
Un criterio muy aceptado está basado en el criterio de Kaiser<sup>46</sup> o del autovalor  $> 1$ , el cual considera que cada CP debe explicar al menos una variable. Siguiendo este criterio, se podría considerar (*tabla 3.17*) que los cinco primeros componentes principales son los óptimos, teniendo en cuenta que después del quinto componente principal los demás componentes principales tienen autovalores  $< 1$ .

Otro criterio, según Ramis<sup>46</sup>, es considerar el porcentaje satisfactorio de varianza explicada acumulada, tal como 60% ó 70% ó considerar el estudio gráfico de los autovalores o de las varianzas explicada acumulativa y residual, con frecuencia denominado gráfico de sedimentación, observando entonces como valor óptimo del número de componentes principales (CP) el punto donde se produce el cambio de caída brusca a gradual en la gráfica. Con ambos criterios, según la *tabla 3.17* se podría considerar cuatro componentes principales (porcentaje acumulado 73,551%). La gráfica de sedimentación *figura 3.27*, muestra los tres primeros componentes como los principales (cambio de caída brusca a gradual), pero con el objetivo de observar algún tipo de relación adicional y de explicar el 73,55% de la información adicional, se tomaron en cuenta los cuatro primeros CPs.

Las figuras 3.32 (a) y (b) muestran las coordinaciones de los cuatro CPs considerados. Para la figura (a) se muestra el agrupamiento de fenantreno, fluoranteno, pireno, criseno y benzo(g,h,i)piroleno muy relacionado con la primera componente y otro agrupamiento de fluoreno, benzo[a]antraceno, benzo[b]fluoranteno, benzo[k]fluoranteno y benzo[a]pireno estrechamente relacionado con la segunda componente.



(a)

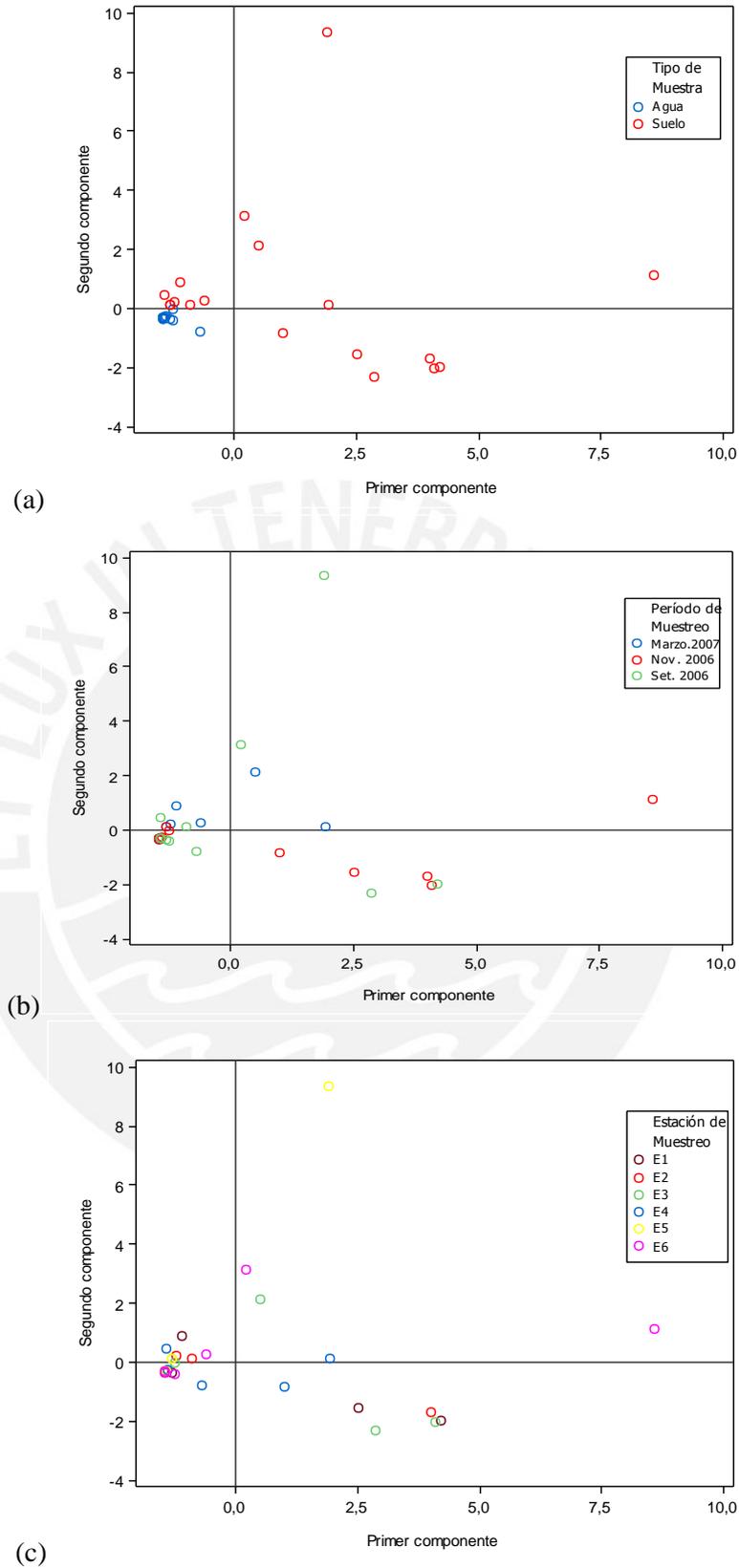


(b)

**Figura 3.32 (a) Gráfico de dispersión de las medias de las coordinaciones de las puntuaciones de los CP1 y CP2 (b) Gráfico de dispersión de las medias de las coordinaciones de las puntuaciones de los CP3 y CP4 correspondientes a las concentraciones de PAHs en distintas muestras.**

Según Montory<sup>80</sup>, Pérez<sup>81</sup> y Budzinski<sup>82</sup>, para evaluar el origen de los PAHs se pueden considerar dos relaciones muy importantes, tales como fenantreno/antraceno y fluoranteno/ pireno. Esto debido a la alta estabilidad termodinámica del fenantreno frente al antraceno. Es por ello que la entrada de PAHs petrogénicos se caracteriza generalmente por altos valores de fenantreno/antraceno. Por otro lado, las altas temperaturas de combustión caracterizan la dominancia del fluoranteno sobre el pireno. Por tal motivo, relaciones mayores que 1 se relacionan frecuentemente con fuentes pirogénicas (Budzinski<sup>82</sup> y Baumard). Entonces, en la planilla de datos de las concentraciones de los PAHs se adicionan los datos de las dos relaciones mencionadas anteriormente (como valores de relación de concentraciones) y se realiza el PCA, así en la *figura 3.32(a)* se puede ver como correlacionan las dos agrupaciones con estas dos relaciones respectivamente. Por lo tanto, se podría inferir que la primera componente principal estaría relacionada con el origen de los PAHs del tipo fuente petrogénica, mientras que, para la segunda componente principal se podría inferir que estaría relacionada con el tipo de fuente pirolítica.

En la *figura 3.32 (b)* se identificó el tercer y cuarto componente. Se observa las tres agrupaciones formadas donde el grupo I estaría relacionado con el tipo de muestra de suelo, en el cual se observaron mayor cantidad de PAHs. Esto se relaciona con la lipofilicidad de los PAHs. Por tanto, para el tercer y cuarto componente se podría inferir que podría tratarse del tipo de muestra, suelos y aguas respectivamente. Para el grupo II, habría que tener en cuenta que estos analitos muestran correlación tanto para el tercer como cuarto componente principal, ya que estos analitos fueron reconocidos en ambos tipos de muestras. Mientras que para el grupo III, a pesar de que estos analitos no se detectaron en las muestras de aguas, los valores altos de LDD representados en la planilla de datos muestran una correlación para el cuarto componente el cual estaría considerado como las muestras de aguas. Para evitar esta confusión en posteriores estudios, se podría considerar el valor de la mitad del LDD en lugar de los espacios en blanco.



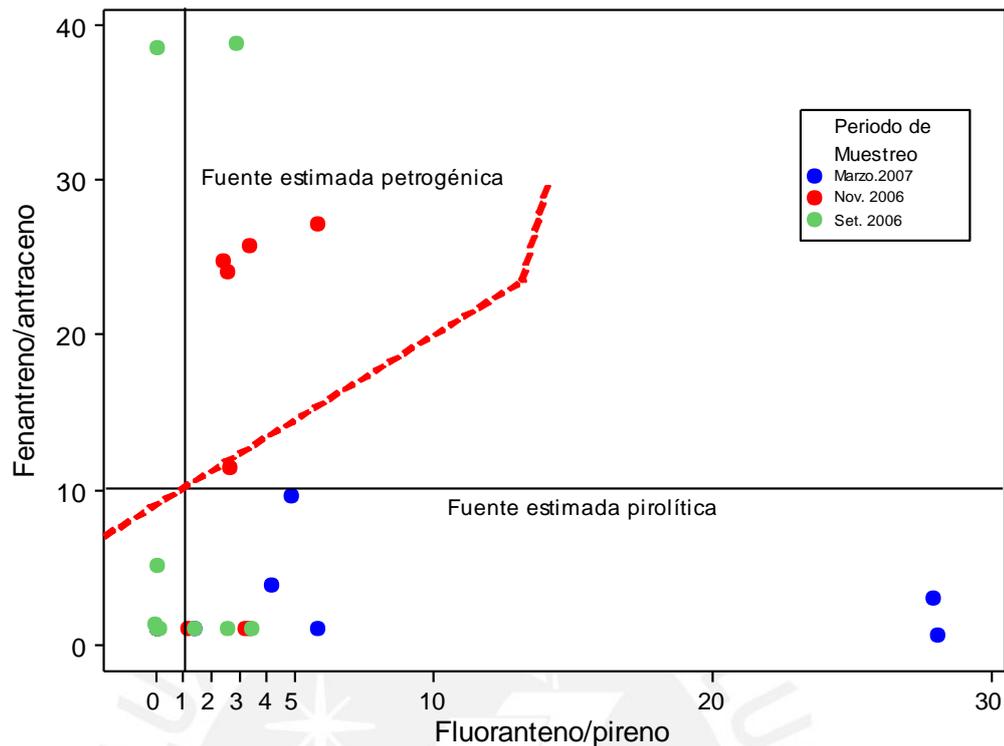
**Figura 3.33** Gráfico de dispersión de las coordinaciones de las cargas de los CP1 y CP2 correspondientes a las concentraciones de PAHs. (a) Diferenciada para el tipo de muestra; (b) diferenciada para el período de muestreo; (c) diferenciada para las distintas estaciones de muestreo.

Una vez definidas las CPs y sus atributos, se realizaron las gráficas de cargas para los primeros componentes, ya que vendrían a ser los más resaltantes en la investigación al inferir el tipo de fuente de contaminación relacionado con otras variables como tipo de muestra, temporada de muestreo y estación de muestreo. En la *figura 3.33 (a)* se observa que las muestras de suelos fueron influenciadas por los tipos de fuentes de contaminación, tanto petrogénica como pirolítica.

La *figura 3.33 (b)* muestra la gráfica de cargas para los dos primeros componentes relacionándolos con la temporada de muestreo. A partir de esto se puede decir que para la temporada de septiembre del 2006 se observa la influencia de ambas fuentes de contaminación; para la temporada de noviembre del 2006 se observa la influencia de la fuente petrogénica; mientras que para la temporada de marzo 2007 se observa muy poca influencia de ambas fuentes de contaminación. Esto podría estar más relacionado con la época de lluvia en la zona.

Al observar la *figura 3.33 (c)*, donde se muestra la gráfica de cargas para los dos primeros componentes principales relacionados con las estaciones de muestreo, se puede inferir que las estaciones están relacionadas con ambas fuentes de contaminación.

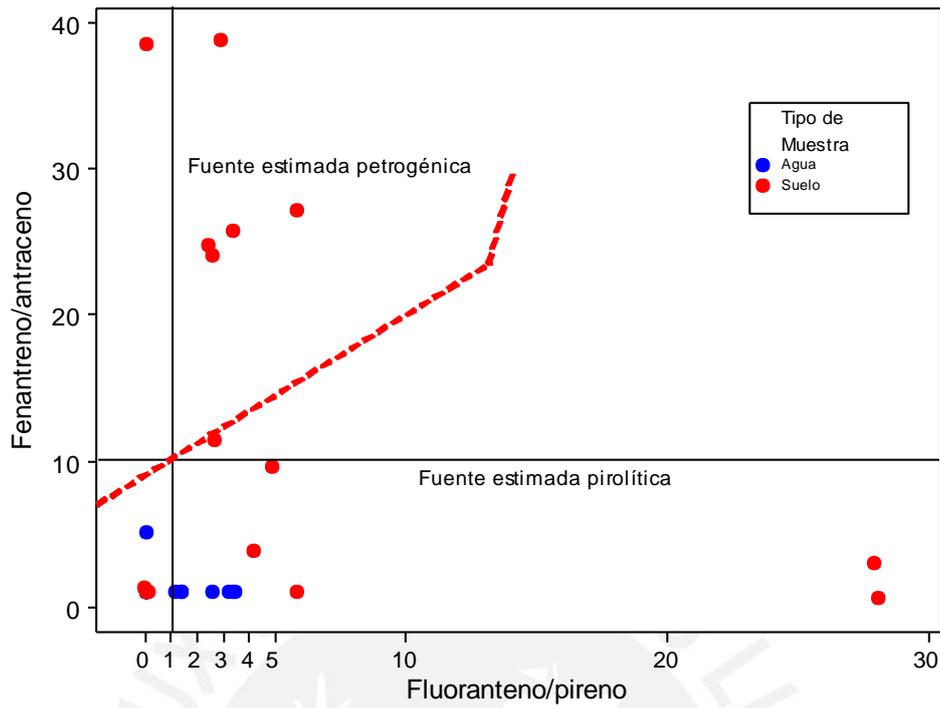
El trabajo realizado con el PCA se corroboró con las observaciones de Montory<sup>80</sup>, Pérez<sup>81</sup> y Budzinski<sup>82</sup> que coinciden en evaluar el origen de los PAHs, considerando relaciones de fenantreno/antraceno y fluoranteno/pireno. Estos autores mencionan que una alta relación fenantreno/antraceno,  $>10$ , se plantea para una fuente estimada petrogénica; relaciones de fenantreno/antraceno  $< 10$  se plantean para una fuente estimada como pirolítica y para una relación fluoreno/pireno  $> 1$ , la contaminación de PAHs es debida a procesos pirolíticos. Teniendo en cuenta estos criterios se realizan las siguientes figuras.



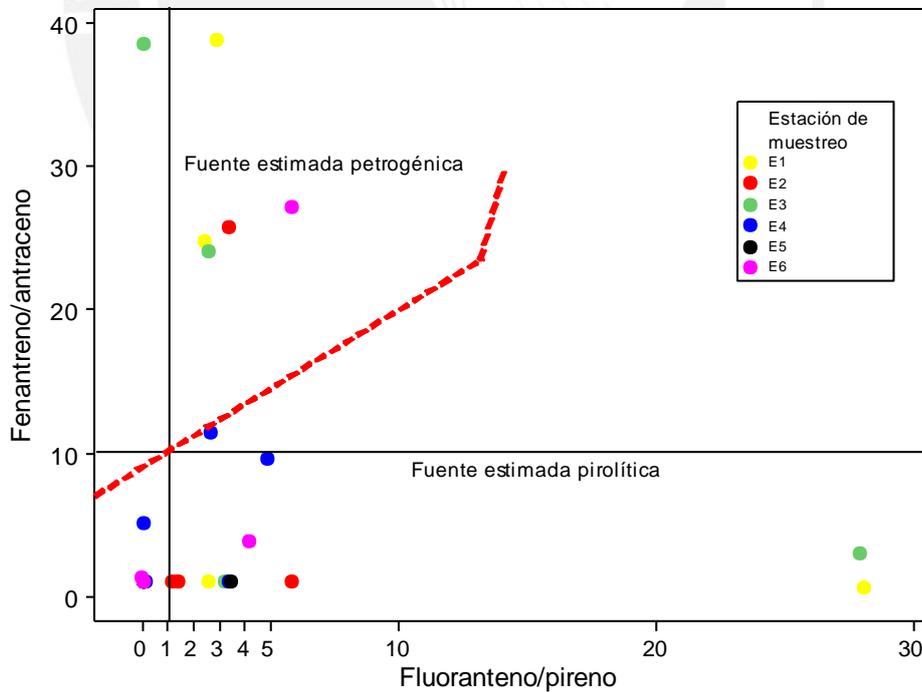
**Figura 3.34 Representación de la influencia tipo del origen de PAHs por períodos de muestreo.**

En la [figura 3.34](#) se puede apreciar, de forma muy similar al análisis de PCA, que la temporada de septiembre del 2006 está influenciada por ambas fuentes de contaminación. La temporada de noviembre del 2006 se ve mayormente influenciada por la fuente petrogénica y la temporada de marzo del 2007 influenciada por la fuente pirolítica.

En la [figura 3.35](#), algunas muestras de suelo presentan influencia por ambas fuentes de contaminación, mientras que para las muestras de aguas sólo puede estimarse la fuente de contaminación del tipo pirolítica. En la [figura 3.36](#), las estaciones de muestreo presentan influencia por ambas fuentes de contaminación.



**Figura 3.35** Representación de la influencia tipo del origen de PAHs por tipo de muestra.

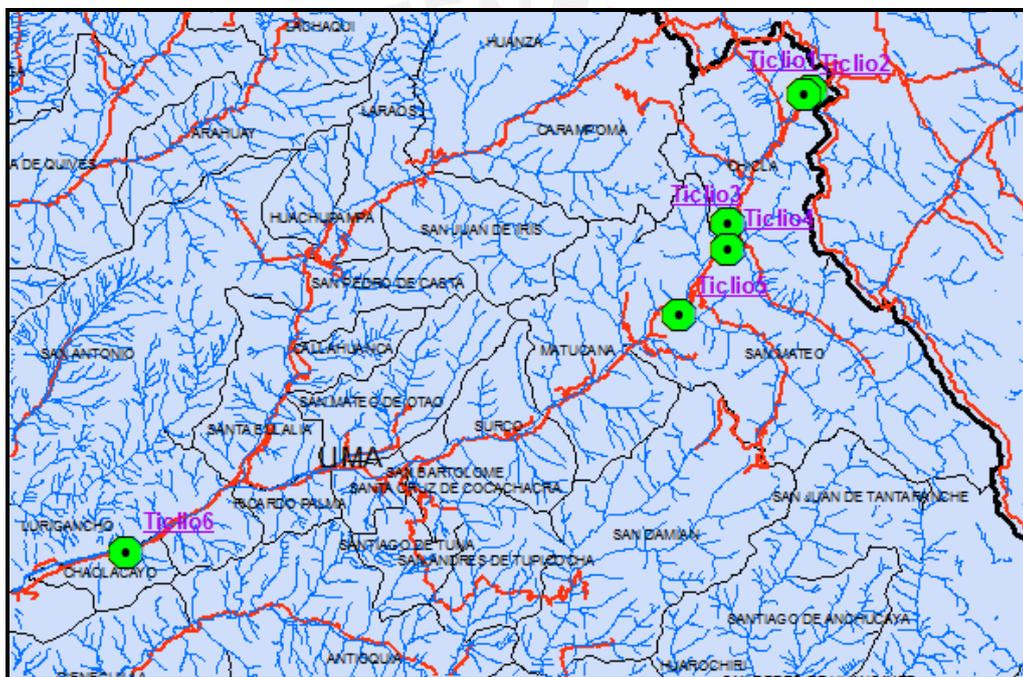


**Figura 3.36** Representación de la influencia tipo del origen de PAHs por estaciones de muestreo.

Como era de esperar, las muestras tienen mayoritariamente un origen pirolítico, de manera que los contaminantes provienen de la combustión incompleta del material orgánico. En este tipo de fuente se encuentra la quema de petróleo y compuestos relacionados en los motores de combustión interna y generación termoeléctrica, los incendios forestales, la incineración de residuos urbanos<sup>83</sup>.

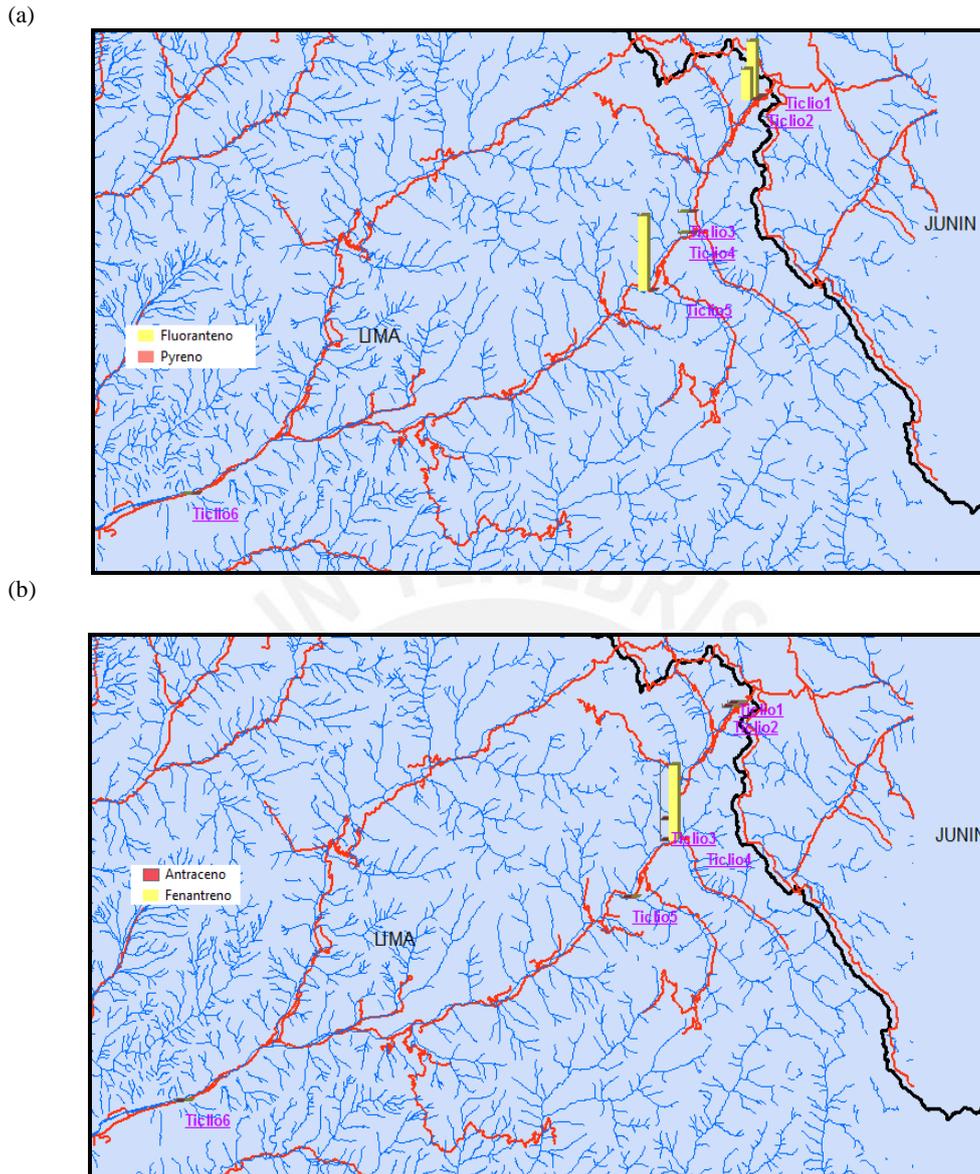
### 3.3.4 Evaluación con sistemas de información geográfica.

Las siguientes gráficas se obtuvieron con el software Arc Giss versión 9.3:



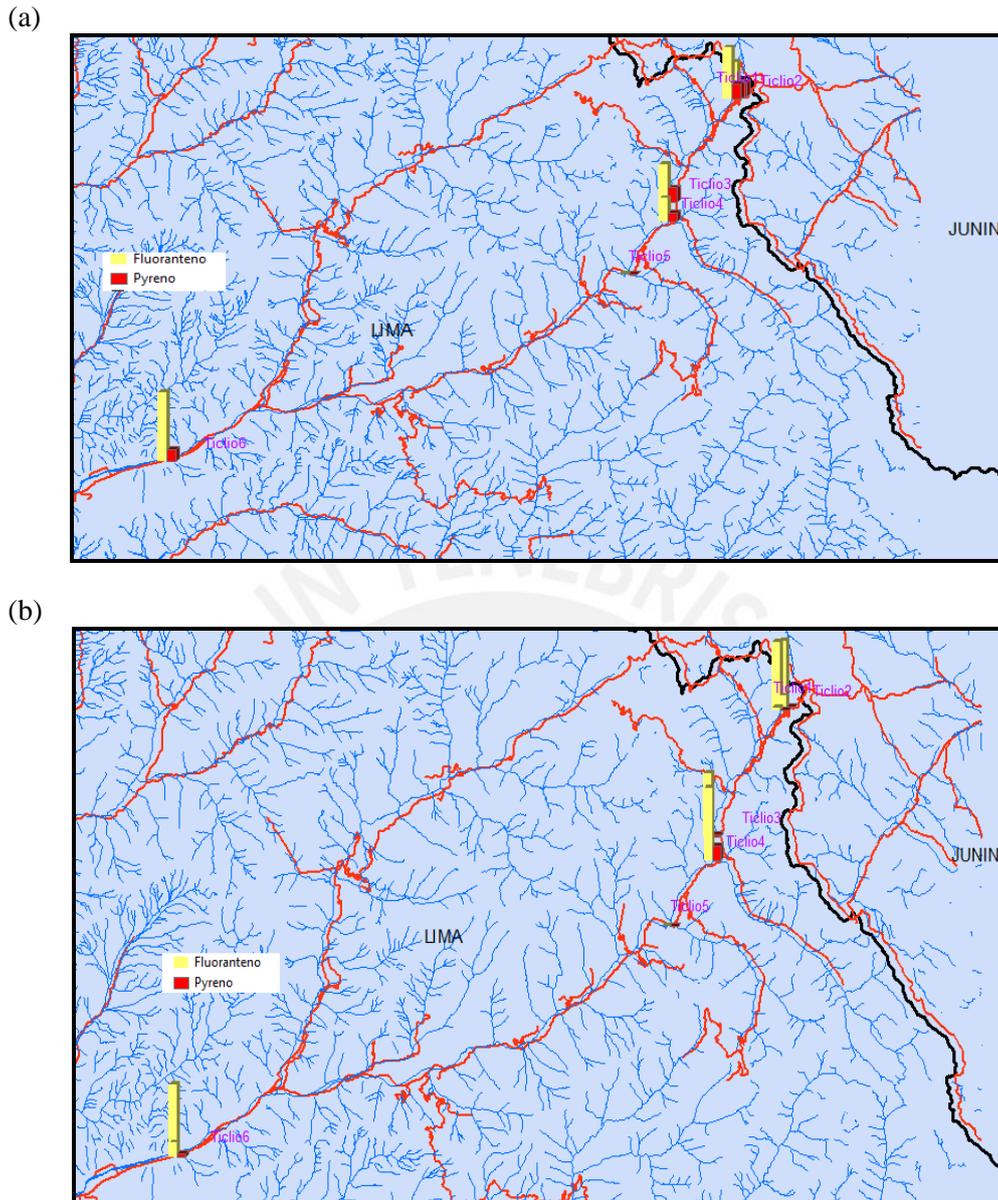
*Figura 3.37 Estaciones de muestreo*

En la *figura 3.37* (arriba) se ubican las estaciones de muestreo geo-referenciadas, donde se grafica sólo las concentraciones del fenantreno, antraceno, fluoreno y pireno con la finalidad de observar el tipo de influencia del origen de los PAHs en cada estación; esto es debido a la estabilidad termodinámica de estos compuestos y la representatividad demostrada anteriormente con los orígenes o posibles tipos de fuentes de PAHs.



**Figura 3.38 (a) Concentraciones de fluoranteno y pireno. (b) Concentraciones de fenantreno y antraceno, ambas gráficas en muestras de agua - primer muestreo (Set-2006)**

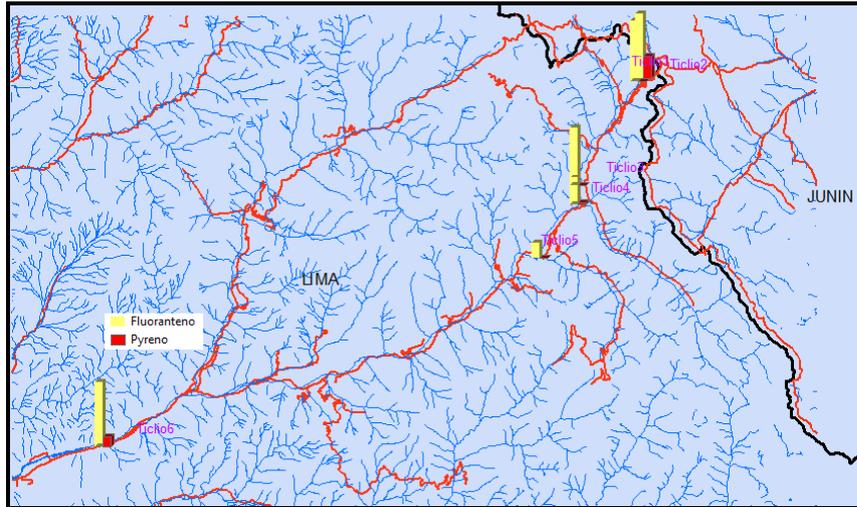
En la *gráfica 3.38 (a)* se puede observar la influencia de la concentración de fluoranteno en las estaciones 1, 2 y 5, las cuales se relacionan con un tipo de fuente pirolítica. Esta gráfica representa la concentración del fluoranteno con respecto al pireno en muestras de aguas en el primer muestreo realizado. De igual forma, al observar la *gráfica 3.38 (b)*, ella muestra la relación del fenantreno con antraceno, donde sólo se presenta influencia petrogénica en la estación 3, para el muestreo realizado en Septiembre 2006.



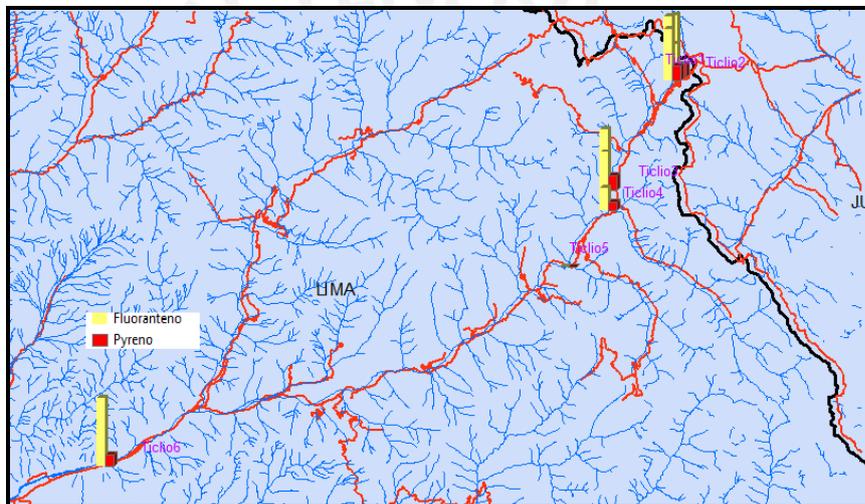
**Figura 3.39 (a) Concentraciones de fluoranteno y pireno en muestras de agua-  
 Noviembre 2006 (b ) Concentraciones de fluoranteno y pireno en muestras de agua  
 Marzo 2007.**

En las *figuras 3.39 a y b* se muestra la presencia de fluoranteno, donde, de igual forma, se podría relacionar la influencia del tipo de contaminación pirolítica en las estaciones de muestreo 1, 2, 3, 4 y 6 para muestras de aguas recolectadas en noviembre del 2006 y marzo del 2007.

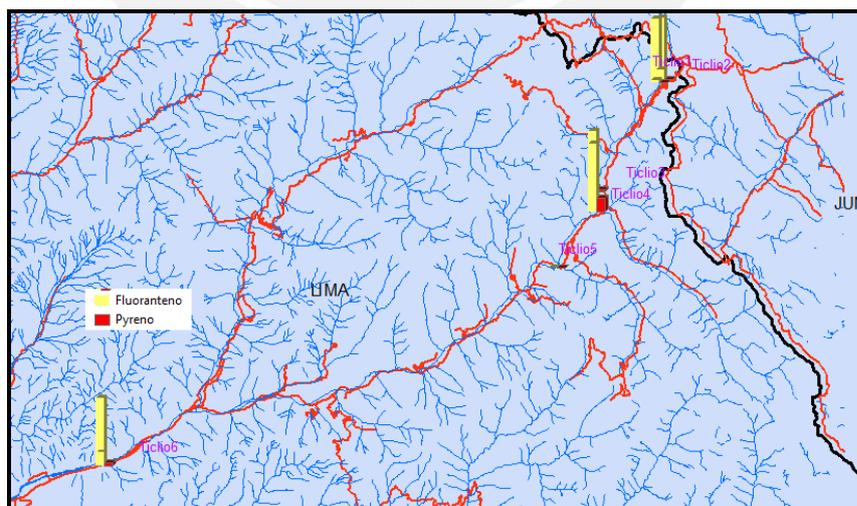
(a)



(b)



(c)



**Figura 3.40** (a) Concentraciones de fluoranteno y pireno en muestras de suelo del primer muestreo Septiembre 2006 (b) Noviembre 2006 y (c) Marzo 2007.

En las *figuras 3.36 a, b, c* se observa la influencia del tipo pirolítica reflejada en el alto valor del fluoranteno en cada una de las estaciones de muestreo E1, E2, E3, E4 y E6 durante los tres muestreos realizados. La excepción es la estación E5, que, sólo presenta una pequeña influencia de este tipo de fuente pirolítica en muestras de suelos y sólo para el primer muestreo en septiembre del 2006.

Las diferentes figuras representadas con el Minitab anteriormente (*figuras 3.33 a,b,c*) muestran influencias mixtas, es decir pirolíticas y petrogénicas con mayor influencia de la pirolítica. De igual forma, se observa en las *figuras 3.38; 3.39; 3.40* que el mayor número de estaciones presenta influencias del tipo de fuentes pirolítica. La zona de estudio se caracteriza por ser comúnmente empleada por los pobladores dedicados a la agricultura y centros mineros en la zona. Esto sumado a las costumbres ancestrales de realizar continuamente incineraciones de residuos urbanos y forestales. Además, cabe recalcar también las cercanías de algunas estaciones de muestreo a la carretera Central a lo cual se puede atribuir a la influencia de la quema de petróleo, y mas aun, durante el recorrido de la zona se identificó centros mineros cercanos a la zona y centros mineros de carbón muy relacionados con este tipo de fuente pirolítica.

## 4. CONCLUSIONES

- La evaluación del método analítico propuesto permitió obtener resultados satisfactorios para la determinación de Hidrocarburos Policíclicos Aromáticos en un rango dado de trabajo, determinando buena linealidad, límites de detección y cuantificación, precisión y exactitud.

- Del proceso de estandarización del método para la determinación de Hidrocarburos Policíclicos Aromáticos por HPLC, se obtienen parámetros que representan la calidad de la calibración del método analítico y son válidos como criterio de comparación con otras técnicas para estos mismos analitos.

- La metodología de extracción de Hidrocarburos Policíclicos Aromáticos en muestras de aguas es un procedimiento rápido, seguro, versátil y de resultados confiables. Para las muestras de aguas, la metodología de extracción fue buena en muestras que no presentan un alto contenido de sustancias aceitosas.

- El análisis de las muestras de aguas y suelos en la zona de Ticlio, por cromatografía de HPLC, demostró que se encontró la presencia de Hidrocarburos Policíclicos Aromáticos en dicha zona de estudio (Cordillera Central de Lima, ubicado en el distrito de Chicla, provincia de Huarochiri).

- Se comprobó mediante un tratamiento simple de resultados analíticos la presencia de PAHs en mayor concentración y diversidad en las muestras de suelos que en las muestras de aguas. Con esto se comprueba la lipofilidad de estos Hidrocarburos Policíclicos Aromáticos.

- Mediante un estudio de componentes principales PCA, se comprobó que la altura geofísica de las estaciones de muestreo no tiene mayor influencia en el tipo y concentración de Hidrocarburos Policíclicos Aromáticos presentes. Por lo contrario, estas concentraciones están influenciadas por la cercanía con la carretera. Esto sugiere la marcada presencia de Hidrocarburos Policíclicos Aromáticos por origen pirolítico, esto es atribuible a la quema de petróleo, quema de diesel y quema de residuos urbanos.

- Los niveles de algunos Hidrocarburos Policíclicos Aromáticos encontrados en suelos son bastante elevados. Esto indica que la zona de estudios se encuentra bajo una alta presión antrópica ya que son zonas pobladas, cercanas a carreteras y centros mineros, de allí que se puede corroborar la fuerte influencia de la fuente pirolítica.

- Los compuestos cancerígenos benzo(b)fluoranteno y benzo(k)fluoranteno presentan concentraciones elevadas en las estaciones E5 (Puente Tamboraque 1) y E6 (Puente Los Ángeles) generalmente para la mayoría de las estaciones de muestreo, presentando hasta un máximo de 138,0 ng/g y 45 ng/g respectivamente. Estas dos estaciones aportan más del 50% del total de estos compuestos. Estas concentraciones altas podrían producir potenciales efectos tóxicos en los organismos si estos ingresan a la cadena trófica alimentaria.

- Por medio de un PCA se pudo distinguir los dos tipos de fuentes contaminantes de mayor influencia en la zona y se corroboró este análisis con el propuesto por Budzinski, 1997.

- Del estudio de PCA también se puede concluir que son cuatro los factores que describen en casi un 70% todos los resultados de Hidrocarburos Policíclicos Aromáticos en muestras de aguas y suelos. Estos cuatro componentes descritos podrían ser atribuidos al origen pirolítico y petrogénico de los Hidrocarburos Policíclicos Aromáticos en la zona de estudio y al tipo de muestra de agua o suelo.

- Las Hidrocarburos Policíclicos Aromáticos relacionados con el tipo de fuente petrogénica, según el PCA serán el benzo(g,h,i)pireno, fluoranteno, pireno, criseno, fenantreno, acenaftaleno. Las Hidrocarburos Policíclicos Aromáticos relacionados con el tipo de fuente pirolítica serán benzo(b)fluoranteno, benzo(a)pireno, benzo(a)antraceno, benzo(k)fluoranteno, fluoreno.

- De igual forma, del PCA se puede deducir que el naftaleno como el acenafteno suelen encontrarse en muestras de suelo y agua mientras que el resto de analitos sólo se pudo encontrar en muestras de suelo.

## 5. RECOMENDACIONES

- Analizar y cuantificar Hidrocarburos Policíclicos Aromáticos y PCB (bifenilos policlorados) en distintas muestras de sedimentos en agua de río y agua de mar.
- Desarrollar técnicas analíticas para cuantificar Hidrocarburos Policíclicos Aromáticos y bifenilos policlorados en aire en distintas zonas urbanas y rurales.
- Estudiar y proponer muestreadores o sensores para este tipo de contaminantes persistentes, tanto muestreadores pasivos como activos y también biológicos.
- Estudiar y proponer indicadores biológicos para la determinación de la presencia de compuestos orgánicos persistentes.
- Validar metodologías de extracción que involucren menor cantidad de muestra y menor cantidad de reactivos, es decir, que tengan menor incidencia ambiental. Una técnica de extracción con ultrasonido sería lo más recomendable por que involucra menor gasto de solventes orgánicos.
- Utilizar otra instrumentación como la cromatografía de gases (con detector EDL) y una cromatografía HPLC acoplada a masas en la detrmínación de diversos compuetos orgánicos persistentes.

## 6. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. WANIA, Frank and Donald MACKAY.  
1996 "Tracking the Distribution of Persistent Organic Pollutants". *Environmental Science Technology*. Volumen 30, número 9, pp. 390-396.
2. FONDOS PARA EL MEDIO AMBIENTE MUNDIAL - NACIONES UNIDAS.  
2002 *Evaluación Regional sobre Sustancias Tóxicas Persistentes. Argentina, Bolivia, Brasil, Chile, Ecuador, Paraguay, Perú, Uruguay. Informe Regional de Sudamérica Oriental y Occidental*. Châtelaine Ge. Suiza
3. DAVIDSON, Deborah, Andrew WILKINSON, J. BLAIS, L. KIMPE and K. Mc DONALD.  
2003 "Orographic Cold-Trapping of Persistent Organic Pollutants by Vegetation in mountains of Western Canada". *Environmental Science Technology*. Volumen 37, número 2, pp.209-215.
4. BARRA, Ricardo, Karla POZO, Roberto URRUTIA, Marco CISNEROS, Patricia PACHECO, Silvano FOCARDI.  
2001 "Plaguicidas Organoclorados Persistentes en Sedimentos de Tres Lagos Costeros y un Lago Andino de Chile Central". *Boletín Soc. Chil. Quím.* Volumen 46, número 2.
5. NEVSKAIA, Daniela, Eva CASTILLEJOS LOPEZ, Vicenta MUÑOZ, Antonio GUERRERO RUIZ.  
2004 "Adsorption of Aromatic Compounds From Water By Treated Carbon Materials". *Environmental Science Technology*. Volumen 38, número 23, pp. 5786-5796.
6. WANIA Frank .  
2003 "Assessing The Potencial of Persistent Organic Chemicals for Long-Range Transport and Accumulation in Polar Regions". *Environmental Science Technology*. Volumen 37, número 7, pp. 1344-1351.

7. GRIMALT Joan O.  
2004 “Temperature Dependence of the Distribution of Organochlorine Compounds in the Mousses of the Andean Mountains”. *Environmental Science Technology*. Volumen 38, número 23, pp. 5386-5392.
8. MACLEOD, Matthew and MACKAY D.  
2004 “Applications of Contaminant Fate and Biocumulation Model in Assessing Ecological Risks of Chemicals: A Case Study for Gasoline Hydrocarbons”. *Environmental Science Technology*. Volumen 38, número 23, pp. 6225-6233.
9. PAPIERNIK, Sharon K.  
2004 “Effect of Application Variables on Emissions and Distribution of Fumigants Applied Via Subsurface Drip Irrigation”. *Environmental Science Technology*. Volumen 38, número 21, pp. 5489-5496.
10. JURADO, Elena and Foday M. JARWARD  
2004 “Atmospheric Dry Deposition of Persistent Organic Pollutants to the Atlantic and Inferences for the global Oceans”. *Environmental Science Technology*. Volumen 38, número 21, pp.5505-5513.
11. HELM, Paula and Terry F. BID LEMAN.  
2004 “Seasonal and Spatial Variation of Polychlorinate Naphthalenes and Non-/Mono – Ortho-Substituted Polychlorinated Biphenyls in Arctic Air”. *Environmental Science Technology*. Volumen 38, número 21, pp. 5514-5521.
12. CALAMARI, Davide and Paolo TREMOLADA.  
1995 “Relationships between chlorinated Hydrocarbons in Vegetation and Socioeconomic Indices on Global Scale”. *Environmental Science Technology*. Volumen 29, número 9, pp. 2267-2272

13. SUZUKI, Noriyuki, Kauri MURASAVA.  
2004 “Geo-Referenced Multimedia Environmental Fate Model (G-Ciems): Model Formulation and Comparison to the Generic Model and Monitoring Approaches”. *Environmental Science Technology*. Volumen 38, número 21, pp. 5682-5693.
14. EPA: Environmental Protection Agency. Consulta 2005-2009  
< <http://www.caslab.com/EPA-Methods/>>
15. BLAIS, Jules M., David W. SCHINDLER, Derek C. G. MUIR, Lynda E. KIMPE, David B. DONALD y Bruno ROSENBERG.  
1998 “Accumulation of Persistent Organic Chlorine Compounds in Mountains of Western Canada”. *Nature*, Volumen 395, pp. 585-591.
16. BUTTERWORTH F., L. D. CORKUM y J. GUZMÁN RINCÓN (editores)  
1995 *Biomonitoring and Biomarkers of Environmental Change: A Handbook*. Revista Internacional de Contaminación Ambiental. Tercera edición. New York: Plenum Press
17. MANAHAN Stanley E.  
2000 *Environmental Chemistry*. Séptima edición. New York: Lewis Publishers.
18. GASCO SÁNCHEZ Luis.  
1969 *Teoría y Práctica de la Cromatografía en Fase Gaseosa*. Madrid – España: Ediciones J.E.N.
19. VALCARCEL CASES M. y A. GOMEZ HENS.  
1988 *Técnicas Analíticas de Separación*. Barcelona – España: Editorial Reverté, S.A.
20. RAMPAZZO Paolo  
1990 “Standardisation and Validation of Analytical Methods in The Pharmaceutical Industry. *Il Farmaco*. Volumen 45, número 6, pp. 807 – 815

21. BAEZZ, María E., Jorge ZINCKER  
1999 “Parámetros de Calidad Analítica de un Método de Determinación Multiresiduos de Plaguicidas por HPLC-DAD”. *Boletín . Soc. Chil. Quím.* Volumen 44, número 3, pp. 357-366.
22. SWARTZ, Michael E., Ira S. KRULL.  
1997 *Analytical Method Development and Validation*. New York: Editorial Marcel Dekker.
23. CONKLIN Alfred R y JR. FIELD SAMPLING.  
2004 *Principles and Practices in Environmental Analysis*. New York: Editorial Marcel Dekker, Inc. 2004.
24. CHUNG, Betty.  
2008 “Control de los Contaminantes Químicos en el Perú”. *Revista Perú Med. Exp. Salud Pública*. Volumen 25, número 4, pp. 413-418
25. TREMOLADA, Paolo, Sara VILLA, Paolo BAZZARIN, Elisa BIZZOTTO, Roberto COMOLLI and Marco VIGHI.  
2008 “POPs in Mountain Soils from the Alps and Andes: Suggestions for a Precipitation Effect on Altitudinal Gradients”. *Water, Air and Soil Pollut.* Volumen 188, pp. 93–109
26. MUIR, Derek, Cathy FORD, Norbert GRIFT, Don A. METNER, W. Lyle LOCKHART  
1990 “Geographic Variation of Chlorinated Hydrocarbons in Burbot (*Lota lota*) from Remote Lakes and Rivers in Canada. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* Volumen 19, número 4, pp. 530-542.
27. VIVES, Ingrid, Joan O. GRIMALT, Raimond GUITAR.  
2001 “Hidrocarburos Policíclicos Aromáticos y la Salud Humana”. *Asociación para el Avance de la Ciencia y la Tecnología en España (AACTE)*. Número 3.

28. ALBERS P.H.  
1995 *Handbook of Ecotoxicology*. Segunda edición. Boca Raton: Lewis Publishers.
29. ZAMORA Nancy Carolina y Whendy TARQUINO.  
2008 *Determinación de Hidrocarburos Policíclicos Aromáticos en las Localidades de Puente Aranda y Fotibón y su Relación con las Fuentes de Emisión*. Tesis de Ingeniería Ambiental y Sanitaria. Bogotá: Universidad de la Salle.
30. CABALLERO N. S. y Dayana ALVARADO DÍAZ.  
2006 *Análisis y Determinación de la Concentración de Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos (HAPs) Contenidos en el Material Particulado Respirable (PM10) en la localidad de Puente Aranda de Bogotá en la Zona de Alta Actividad Industrial y Alto Flujo Vehicular*. Tesis de Ingeniería Ambiental y Sanitaria. Bogotá: Universidad de la Salle.
31. NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES.  
1975 *Petroleum in the Marine Environment*. Washington D. C.: National Academy Press. Consulta 3 Mayo 2007.  
<<http://books.google.com.pe/books?id=FEMrAAAAYAAJ>>
32. RIYAHY BAKHTIARI, A. , M. PAUZI ZAKARIA, M. I. YAZIZ, M. NORDIN HJ LAJIS, Xinhui BI, M. CHE ABD RAHIM.  
2009 “Vertical Distribution and Source Identification of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Anoxic Sediment Cores of Chini Lake, Malaysia: Perylene as Indicator of Land Plant-derived Hydrocarbons”. *Applied Geochemistry*. Volumen 24, pp. 1777–1787
33. DAVESTANI, Reza and Ilia IVANOV.  
1999 “InvA Copilation of Physical, Spectroscopic and Photophysical Properties of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons”. *Photochemistry and Photobiology*. Volumen 70, número 1, pp. 10-34.

34. GRIMMER, Gernot.  
1985 "Their Contribution to the Carcinogenicity of Various Emissions". *Toxicol. Environ. Chem.* Volumen 10, número 3, pp. 171-181.
35. ATHANASIO, K., J. ARZIMANOGLU, C. PICCOLI, and H. YAMASAKI.  
1987 "Mutagenicity, Sister Chromatid Exchange Inducibility and in Vitro Cell Transforming Ability of Particulates from Athens Air". *Cell. Biol. Toxicol.* Volumen 3, número 3, pp. 251-261.
36. JÜRGEN Jacob.  
1996 "The Significance of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons as Environmental Carcinogens". *Pure & Appl. Chem.* volume 68, número 2, pp. 301-308.
37. BARRA, Ricardo, Juan C. COLOMBO, Gabriela EGUREN, Nadia GAMBOA, Wilson JARDIM y Gonzalo MENDOZA.  
2006 "Persistent Organic Pollutants (POPs) in Eastern and Western South American Countries". *Environmental Contamination and Toxicology.* Volumen 185, pp. 1-33
38. PERKIN ELMER CORPORATION  
1993 HPLC System for PAH Analysis (PAH Analysis cookbook) Manual. United States of America.
39. GAMBOA, FUENTES Nadia; I. MAZA MEJÍA.  
2006 *Informe - Proyecto de investigación 188-2005: Estudio de Sustancias Tóxicas Persistentes en Ticlio como Contribución al Conocimiento Regional Sudamericano.* PUCP - CONCYTEC, Lima, Perú
40. RODRIGUEZ, M. A., M. J. SÁNCHEZ, V. GONZÁLES and F. GARCÍA.  
1996 "Determination of Polynuclear Aromatic Hydrocarbons in Environmental Samples by Micellar Liquid Chromatography". *Journal High Resolution Chromatography.* Volumen 19, número 2, pp. 111-116.

41. HADJMOHAMMADI, M. R. and M. H. FATEMI.  
1995 "Separation of PAHs with mixed micellar HPLC". *Journal Liquid Chromatography*. Volumen 9, número 3, pp. 229-233
42. KAYALI, M. N., S. RUBIO BARROSO, and L. M. POLO DIEZ.  
1996 "Separation of PAHs by HPLC Using a Micellar SDS Mobile Phase and Short Chain Columns". *Journal Liquid Chromatography*. Volumen 19, número 5, pp. 759-770.
43. CLAESSENS, H. A. and L. G. D. LAMMERTAS VAN BUEREN.  
1987 "Offline Two-dimensional Analytical Procedure for Determination of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Smoke Aerosol". *Journal High resolution Chromatography*. Volumen 10, número 6, pp. 342-347.
44. NIRMAIER, H. P, E. FISCHER, A. MEYER, and G. HENZE  
1996 "Determination of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Water Samples Using High - Performance Liquid Chromatography with Amperometric Detection". *Journal of Chromatography A*. Volumen 730, número 1-2, pp. 169-175.
45. MAZZEO, JR., I. S. KRULL and P. T. KISSINGER.  
2002 "Use of Ce (IV) Oxidizing Agent for the Derivatization of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons for Liquid-Chromatography Electrochemical Detection". *J. of Chromatography A*. Volumen 550, número 1-2, pp. 585-594.
46. RAMIS RAMOS G. y C. ÁLVAREZ-COQUE.  
2001 *Quimiometría*. Madrid: Editorial Síntesis.
47. MILLER, C., J. N. MILLER.  
2002 *Estadística y Quimiometría para Química Analítica*. Segunda edición. Madrid: Editorial Prentice Hall
48. FERRÁN ARANAZ.  
2001 *SPSS Análisis Estadístico*. Madrid: Mc Graw Hill.

49. GARCÍA MARTINEZ María Jesús.  
2005 *Hidrocarburos Policíclicos Aromáticos Asociados a Combustibles Fósiles. Caracterización, Análisis y Remediación.* Tesis de grado de Ingeniería Química y Combustibles. Madrid: Universidad Politécnica de Madrid, Escuela Técnica Superior de Ingenieros de Minas.
50. RIBES A., J. O. GRIMALT, C. J. TORRES GARCÍA, and E. CUEVAS  
2003 “Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Mountain Soil of the Subtropical Atlantic”. *Journal of Environmental Quality*. Volumen 32, número 3, pp. 977-987.
51. VONCINA, D. B., D. DOBCNIK, M. NOVIC and J. ZUPAN.  
2002 “Chemometrics Characterization of the Quality of River Water”. *Analytica Chimica Acta*. Volumen 462, número 1, pp. 87-100.
52. VÁZQUEZ BOTELLO A., V. G. PONCE y G. G. DIAZ.  
1993 “Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos en Áreas Costeras del Golfo de México”. *Hidrobiológica*. Volumen 3, número 1-2, pp. 1-14
53. RUBIO ARMENDÁRIZ C., M. R. ALVAREZ, A. HARDISSON de la TORRE.  
2006 “Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos en Productos de Pesca: Revisión. *Revista Toxicológica*. Volumen 23, número 1, pp. 1-6.
54. MIÑANA M., J. E. ORTIZ, T. TORRES, L. MORENO y A. DIAZ BAUTISTA  
2008 “Análisis y Distribución de Hidrocarburos Policíclicos Aromáticos en Suelos y Aguas de Escombreras en Puertollano (Ciudad Real)”. *Geogaceta*. Volumen 44: 143-146.

55. ESTELLANO, V., K. POZO, T. HARNER, M. FRANKEN and M. ZABALLA  
2008 “Altitudinal and Seasonal Variations of Persistent Organic Pollutants in the Bolivia Andes Mountains”. *Environmental Science Technology*. Volumen 42, número 7, pp. 2528-2534.
56. COY, Gustavo Alfonso.  
1999 *Protocolo. Estandarización de Métodos Analíticos*. Bogotá: Instituto de Hidrología, Meteorología y Estudios Ambientales.
57. SHEN L., F. WANIA, D. L. VING, C. TEIXEIRA, D. C. G. MUIR and T. F. BIDLEMAN.  
2004 “Hexachlorocyclohexanes in the North American Atmosphere”. *Environmental Science Technology*. Volumen 38, número 4, pp. 965-975.
58. OCKENDEN WA, A. SWEETMAN, HF PREST, E. STEINNES and RC JONES.  
1998 “Toward an Understanding of the Global Atmospheric Distribution of Persistent Organic Pollutants: The Use of Semipermeable Membrane Devices as Time-Integrating Passive Samplers”. *Environmental Science Technology*. Volumen 32, pp. 2795-2803.
59. BREIVIK K. and F. WANIA.  
2003 “Expanding the Applicability of Multimedia Fate Models to Polar Organic Chemicals”. *Environmental Science Technology*. Volumen 37, pp. 4934-4943.
60. J. ZIMMERMAN, U. GHOSH, R. N. MILLWARD, T. BRIDGES and R. G. LUTHY.  
2004 “Addition of Carbon Sorbents to Reduce PCB and PAH Bioavailability in Marine Sediments: Physicochemical Test”. *Environ. Sci. Technol.* Volumen 38, pp. 5458-5464.

61. AGRELL C., L. OKLA, P. LARSSON, C. BACKE and F. WANIA.  
1999 “Evidence of Latitudinal Fractionation of Polychlorinated Biphenyl Congeners Along the Baltic Sea Region”. *Environmental Science Technology*. Volumen 33, número 8, pp. 1149-1156.
62. BUTT C. M. , M. DIAMOND and J. TRUONG.  
2004 “Spatial Distribution of Polybrominated Diphenyl Ethers in Sounthern Ontario as Measured in Indoor and Outdoor Window Organic Films”. *Environmental Science Technology*. Volumen 38, número 3, pp. 724-731.
63. SCHURE T., P. LARSSON, C. AGRELL and JP BOON.  
2004 “Atmosferic Tranport of Polybrominated Diphenyl Ethers and Polychlorinated Biphenyls to the Baltic Sea. *Environmental Science Technology*. Volumen 38, número 5, pp. 1282-1287.
64. CORCIA A. and M. MARCHETTI.  
1992 “Method Development for Monitoring Pesticides in Environmental Waters: Liquid – Solid Extraction Followed By Lyquid Chromatography”. *Environmental Science Technology*. Volumen 26, número 1, pp. 66-74.
65. WARNECK P. and T. ZERBACH.  
1992 “Syntesis of Peroxyacetyl Nitrate in Air by Acetone Photolysis”. *Environmental Science Technology*. Volumen 26, número 1, pp. 74-79.
66. CONSEJERÍA DEL MEDIO AMBIENTE DE LA JUNTA DE ANDALUCÍA.  
2003 *Contaminación de Suelos por Compuestos Orgánicos. Informe Final*. España. Consulta Enero 2006  
< <http://www.ugr.es/~fjmartin/Introduccion.pdf> >

67. TORRES J. P. M., O. MALM, E. D. R.VIEIRA, J. JAPENGA and G. KOOPMANS.  
1999 "Organochlorinated Compounds and Polycyclic Aromatic Hydrocarbon Determination in Sediments from Tropical Rivers in Brazil". *Ciencia e Cultura Journal of the Brazilian Association for the Advancement of Science*. Volume 51, pp. 54-59.
68. KANNEL P. R., S. LEE, S. R. KANEL and S. P. KHAN  
2007 "Chemometric Application in Classification and Assessment of Monitoring Locations of an Urban Rivers System". *Analytica Chimica Acta*. Volumen 582, número 2, pp. 390-399.
69. HALSALL, C.J., R. BAILEY, G.A. STERN, L.A. BARRIE, P. FELLIN, D.CG. MUIR, B. ROSENBERG, F.Ya. ROVINSKY, E.Ya. KONONOV, B. PASTUKHOV.  
1998 "Multi-year Observations of Organohalogen Pesticides in the Arctic Atmosphere". *Environmental Pollution*. Volumen 102, número 1, pp. 51-62.
70. FERNANDEZ B. Adrián, M. YARTO, J. CASTRO (Compiladores)  
2004 *Las Sustancias Tóxicas Persistentes en Mexico*. Mexico: Secretaria de Medio ambiente y Recursos Naturales, Instituto Nacional de Ecología
71. KALF, D., T. CROMMENTUIJN y E. J. VAN DER PLASSCHE  
1997 "Environmental Quality Objectives for 10 Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs)". *Ecotoxicology and Environmental Safety*. Volumen 36, número 1, pp. 89-97
72. AGENCIA INTERNACIONAL DE INVESTIGACIÓN DEL CÁNCER.  
Consulta Junio 2009  
< <http://www.iarc.fr/>>
73. KEITH LH.  
1991 *Environmental Sampling and Analysis: a Practical Guide*. Boca Raton, FL: Lewis Publishers.

74. CALPENA CAMPMANY A. C., E. ESCRIBANO FERRER, C. FERNANDEZ LASTRA.  
1999 “Validación de Métodos Analíticos”. *Farmacia Clinica*.  
Volumen 7, número 9, pp. 749-758.
75. HARVEY David.  
2002 *Química analítica moderna*. Primera edición. Madrid  
España: Mc Graw Hill/Interamericana.
76. DÍAZ MOROLES N. E., J. M. ALFARO BARBOSA, H. GARZA  
ULLOA.  
2001 “Método Analítico para Detectar Hidrocarburos Aromáticos  
Policíclicos en Agua Potable. *Ciencia UANL*. Volumen IV,  
número 4, pp. 420-425.
77. JAWARD F. M., N. J. FARRAR, T. HARNER, A. SWEETMAN and K.  
C. JONES.  
2004 “Passive Air Sampling of Polycyclic Aromatic  
Hydrocarbons and Polychlorinated Naphthalenes Across  
Europe”. *Environmental Toxicology and Chemistry*.  
Volumen 23, número 6, pp. 1355-1364.
78. CHANG K., FANG G., CHEN J., WU Y.  
2006 “Atmospheric Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs)  
in Asia: a Review From 1999 to 2004”. *Environmental  
Pollution*. Volume 142, pp. 388-396.
79. RODRIGUEZ J. H., M. L. PIGNATA, A. FANGMEIER, A. KLUMPP.  
2010 “Accumulation of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons and  
Trace elements in the Bioindicator Plants *Tillandsia  
Capillaris* and *Lolium Multiflorum* Exposed at PM<sub>10</sub>  
Monitoring Stations in Stuttgart (Germany)”. *Chemosphere*  
. Volumen 80, pp. 208-215.

80. MONTORY Mónica, G. CHIANG, D. FUENTES R., H. PALMA F., R. BARRA.  
2008 “Bifenilos Policlorados (PCBs) e Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos (PAHs) en Sedimentos del Mar Interior de Chiloé, Resultados del Crucero Cimar 10\*”. *Cienc. Tecnol. Mar.* Volumen 31, número 1, pp. 67-81.
81. PEREZ A. Orayna, FERNANDO RUIZ E., Ibis TORRES R. y J. BELTRÁN G.  
2008 “Contaminación por Hidrocarburos en la Bahía de Guantánamo, Cuba”. *Rev. Invest. Mar.* Volumen 29, número 2, pp. 179-186.
82. BAUMARD, P., H. BUDZINSKI, Q. MCHIN, P. GARRIGUES, H. DIZER & P. HANSEN.  
1999 “Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Recent Sediment and Mussel (*Mtilus edulis*) from the Western Baltic Sea: Occurrence, Bioavailability and Seasonal Variations”. *Mar Environ. Res.* Volume 47, pp. 17-47.
83. DABLE, S., V. M. SAVINOV, C. G. MATISHOV y A. EVENSET.  
2003 “Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs) in Bottom Sediments of the Kara Sea Shelf, Gulf of Ob and Yenisei Bay”. *The Science of the Total Environmental.* Volumen 306, pp. 57-77.
84. BUDZINSKI, H., I. JONES, J. BELLOCQ, c. PIÉRARD, P. GARRIGUES  
1997 “Evaluation of Sediment Contamination by Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in the Gironde Estuary”. *Marine Chemistry.* Volumen 58, pp. 85-97



***ANEXO 1. Formato de control de muestreo***

## FORMATO DE CONTROL DE MUESTREO

Nombre del río:

Departamento:

País:

Nombre de la estación:

Coordenadas geográficas:

Fecha:

Hora de Llegada.

Hora de salida:

Clima:

Descripción de la estación:

| <i>Nº muestras de agua</i> | <i>Características</i> | <i>T (°C)</i> | <i>pH</i> | <i>Volumen (L)</i> | <i>Profundidad aprox.</i> | <i>Distancia de la orilla</i> | <i>Velocidad de caudal aproximada*</i> |
|----------------------------|------------------------|---------------|-----------|--------------------|---------------------------|-------------------------------|--|
|                            |                        |               |           |                    |                           |                               |  |
|                            |                        |               |           |                    |                           |                               |  |
|                            |                        |               |           |                    |                           |                               |  |

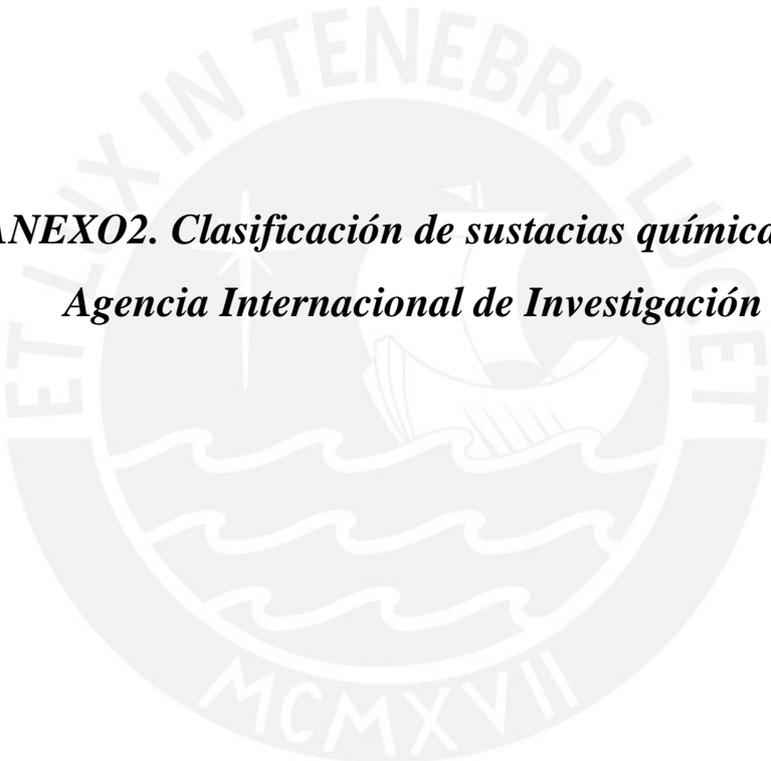
\*1:baja, 2: media, 3:alta

| <i>Nº muestras de suelo</i> | <i>Características</i> | <i>Cantidad aprox. (g)</i> | <i>Profundidad aprox.</i> | <i>Color</i> | <i>Tipo de suelo</i> | <i>Material biológico presente**</i> | <i>Materia orgánica presente **</i> |
|-----------------------------|------------------------|----------------------------|---------------------------|--------------|----------------------|--------------------------------------|-------------------------------------|
|                             |                        |                            |                           |              |                      |                                      |                                     |
|                             |                        |                            |                           |              |                      |                                      |                                     |
|                             |                        |                            |                           |              |                      |                                      |                                     |

\*\* : Considerar si ò no

Investigadores: \_\_\_\_\_  
 \_\_\_\_\_  
 \_\_\_\_\_

Comentarios: \_\_\_\_\_  
 \_\_\_\_\_  
 \_\_\_\_\_



***ANEXO2. Clasificación de sustancias químicas según la  
Agencia Internacional de Investigación del cáncer***

## Clasificación de Sustancias Químicas Según la Agencia Internacional de Investigación del Cáncer (IARC)

El agente encargado de catalogar las sustancias según su conocimiento de carcinogenicidad es la Agencia Internacional de Investigación del Cáncer (IARC), dependiente de la Organización Mundial de Salud (OMS). Son cuatro grupos en los que se puede clasificar estas sustancias químicas<sup>72</sup>.

### *Grupo 1: Compuesto cancerígeno para los seres humanos.*

Estos compuestos muestran evidencias suficientes para la denominación de cancerígeno. Excepcionalmente, puede considerarse en esta categoría un compuesto que presenta capacidad carcinógena menor que suficiente en seres humanos, pero que dicha capacidad en animales sea clara y presente evidencias de que actúa mediante mecanismos carcinógenos en los seres humanos.

### *Grupo 2:*

Estos compuestos tienen, con toda seguridad, capacidad carcinógena en seres humanos así como de aquellos compuestos de los que no se dispone datos de su actividad en humanos, pero que su capacidad carcinógena en animales está más que demostrada. Existen dos grupos en esta categoría:

### *Grupo 2A: Probablemente carcinógeno para los humanos.*

En esta categoría se agrupan los compuestos que poseen evidencias limitadas del poder carcinógeno en humanos y evidencias suficientes en animales. En este grupo se encuentran: benzo[a]antraceno, benzo[a]pireno y dibenzo[a,h]antraceno.

### *Grupo 2B: Posible cancerígeno para los seres humanos.*

Son compuestos con evidencias limitadas en cuanto a su capacidad carcinógena en humanos y evidencias menores a suficiente en animales. En este grupo se puede considerar al naftaleno, benzo[b]fluoranteno, benzo[k]fluoranteno o indeno[1,2,3-cd]pireno.

*Grupo 3: No clasificable como cancerígeno para los seres humanos.*

Son compuestos que no muestran evidencia suficiente de capacidad carcinógena en humanos, y en animales esta capacidad es suficiente o limitada. En este grupo se encuentran el fluoreno, antraceno, fluoranteno, pireno, criseno y benzo[g,h,i]perileno.

*Grupo 4: Probablemente no cancerígeno para los humanos.*

Son compuestos que no evidencian poder cancerígeno en seres humanos ni en animales.





***ANEXO 3. Certificado de soluciones patrón***

# Certificate of Analysis

## Polynuclear Aromatic Hydrocarbons Mixture #1

Product: EPA-2138N

Page: 1 of 1

Lot Number: W-0038Z

Lot Issue Date: Jan-2007

Expiration Date: Feb-2009

This Certified Reference Material (CRM) was manufactured and verified in accordance with ULTRA's ISO 9001:2000 registered quality system, and the analyte concentrations were verified by our ISO 17025 accredited laboratory. The true value and uncertainty value at the 95% confidence level for each analyte, determined gravimetrically, is listed below.

| Analyte                | CAS#        | Analyte Lot  | True Value        |
|------------------------|-------------|--------------|-------------------|
| acenaphthene           | 000083-32-9 | RAC-29697-41 | 1001 ± 5 µg/mL    |
| anthracene             | 000120-12-7 | 33383-91     | 1001 ± 5 µg/mL    |
| benzo[k]fluoranthene   | 000207-08-9 | 34750-27     | 50.0 ± 0.3 µg/mL  |
| chrysene               | 000218-01-9 | 33385-57     | 100.4 ± 0.5 µg/mL |
| fluorene               | 000086-73-7 | ECH-29240-49 | 1000 ± 5 µg/mL    |
| indeno[1,2,3-cd]pyrene | 000193-39-5 | 35081-09     | 100.2 ± 0.5 µg/mL |
| naphthalene            | 000091-20-3 | N960012      | 1002 ± 5 µg/mL    |
| pyrene                 | 000129-00-0 | AJO-22599-73 | 100.2 ± 0.5 µg/mL |

Matrix: acetonitrile

Balances used in the manufacture of this standard are calibrated with weights traceable to NIST in compliance with ANSI/NCSL Z-540-1 and ISO 9001.



ISO 9001:2000  
Registered  
ULTRA Inc.  
No. 06-1004

ISO 17025  
Accredited  
A2LA  
Cert. No. 0051.01

250 Smith Street, North Kingstown, RI 02852 USA  
401-294-9400 Fax: 401-295-2330  
www.ultrasci.com

*Edward Fitzgerald*

Dr. Edward Fitzgerald,  
Senior Scientist

## Polynuclear Aromatic Hydrocarbons Mixture #2

Product EPA-2139N  
 Lot Number: CB-1499

Expiration Date: Aug-2008

Page: 1 of 1

This Certified Reference Material (CRM) was manufactured and verified in accordance with ULTRA's ISO 9001:2000 registered quality system, and the analyte concentrations were verified by our ISO 17025 accredited laboratory. The true value and uncertainty value at the 95% confidence level for each analyte, determined gravimetrically, is listed below.

| Analyte               | CAS#        | Analyte Lot | True Value          |
|-----------------------|-------------|-------------|---------------------|
| acenaphthylene        | 000208-96-8 | 34267-35    | 1003 ± 5 µg/mL      |
| benz[a]anthracene     | 000056-55-3 | 34764-06    | 100.5 ± 0.5 µg/mL ✓ |
| benzo[b]fluoranthene  | 000205-99-2 | 33385-53    | 100.0 ± 0.5 µg/mL ✓ |
| benzo[ghi]perylene    | 000191-24-2 | 34750-40    | 100.0 ± 0.5 µg/mL ✓ |
| benzo[a]pyrene        | 000050-32-8 | 02903HB     | 100.0 ± 0.5 µg/mL ✓ |
| dibenz[a,h]anthracene | 000053-70-3 | 35091-73    | 100.5 ± 0.5 µg/mL ✓ |
| fluoranthene          | 000206-44-0 | 34260-17    | 100.0 ± 0.5 µg/mL ✓ |
| phenanthrene          | 000085-01-8 | 35034-93    | 1001 ± 5 µg/mL      |

Matrix: acetonitrile

Balances used in the manufacture of this standard are calibrated with weights traceable to NIST in compliance with ANSI/NCSL Z-540-1 and ISO 9001.



ISO 17025  
 Accredited  
 A2LA  
 Cert. No. 0851.01

250 Smith Street, North Kingstown, RI 02852 USA  
 401-294-9400 Fax: 401-295-2330  
 www.ultrasci.com

Dr. Edward Fitzgerald,  
 Senior Scientist