

Desarrollo de la Metodología
para la Determinación de los
Compuestos Orgánicos en las
Fracciones $PM_{1-2.5}$ y $PM_{2.5-10}$
del Aerosol Atmosférico

O. Pindado
R. M^a. Pérez



Desarrollo de la Metodología
para la Determinación de los
Compuestos Orgánicos en las
Fracciones $PM_{1-2.5}$ y $PM_{2.5-10}$
del Aerosol Atmosférico

O. Pindado
R. M^a. Pérez

Toda correspondencia en relación con este trabajo debe dirigirse al Servicio de Información y Documentación, Centro de Investigaciones Energéticas, Medioambientales y Tecnológicas, Ciudad Universitaria, 28040-MADRID, ESPAÑA.

Las solicitudes de ejemplares deben dirigirse a este mismo Servicio.

Los descriptores se han seleccionado del Thesaurus del DOE para describir las materias que contiene este informe con vistas a su recuperación. La catalogación se ha hecho utilizando el documento DOE/TIC-4602 (Rev. 1) Descriptive Cataloguing On-Line, y la clasificación de acuerdo con el documento DOE/TIC.4584-R7 Subject Categories and Scope publicados por el Office of Scientific and Technical Information del Departamento de Energía de los Estados Unidos.

Se autoriza la reproducción de los resúmenes analíticos que aparecen en esta publicación.

Catálogo general de publicaciones oficiales
<http://www.060.es>

Depósito Legal: M -14226-1995

ISSN: 1135 - 9420

NIPO: 471-11-023-9

Editorial CIEMAT

CLASIFICACIÓN DOE Y DESCRIPTORES

S37

ORGANIC COMPOUNDS; HYDROCARBONS; AEROSOLS; CHEMICAL ANALYSIS;
ORGANIC ACIDS; CARBOXYLIC ACIDS; EXTRACTION

**Desarrollo de la Metodología para la Determinación de los Compuestos Orgánicos
en las Fracciones PM_{1-2.5} y PM_{2.5-10} del Aerosol Atmosférico**

Pindado, O.; Pérez, R. M^a.
58 pp. 20 ref. 23 figs.

Resumen:

Se presenta el desarrollo de una metodología analítica para la determinación de compuestos orgánicos, hidrocarburos alifáticos, hidrocarburos aromáticos policíclicos, alcoholes de cadena lineal y ácidos carboxílicos en las fracciones PM_{1-2.5} y PM_{2.5-10} del aerosol atmosférico. Este desarrollo incluyó una optimización de las etapas de extracción, derivatización y análisis cromatográfico. La metodología optimizada consiste en una extracción con microondas, seguida de una etapa de fraccionamiento y un análisis mediante GC/MS.

**Procedure Development to Determine Organic Compounds
in the PM_{1-2.5} and PM_{2.5-10} Fractions of Atmospheric Aerosols**

Pindado, O.; Pérez, R. M^a.
58 pp. 20 ref. 23 figs.

Abstract:

An analytical procedure development to measure organic compounds such as aliphatic hydrocarbons, polycyclic aromatic compounds, n-alcohols and fatty acids in PM_{1-2.5} and PM_{2.5-10} of atmospheric aerosol is accomplished. The development encompasses an optimization of extraction step, derivatization step and chromatographic analysis. The method developed consists in a microwave extraction, followed by a stage of fractionation and analysis by GC/MS.

1. Introducción.....	1
1.1. Composición de la fracción orgánica.....	2
1.2. Metodología analítica para el análisis de la fracción orgánica.....	3
1.2.1. Procedimientos de extracción.....	3
1.2.1.1. Extracción Soxhlet.....	3
1.2.1.2. Extracción por ultrasonidos (US).....	3
1.2.1.3. Extracción mediante microondas (MO).....	4
1.2.2. Procedimiento de fraccionamiento.....	4
1.2.3. Procedimiento de análisis.....	4
1.2.3.1. Técnicas de derivatización.....	5
1.2.3.2. Espectrometría de masas.....	5
2. Parte experimental.....	7
2.1. Instrumentación, materiales y reactivos.....	7
2.1.1. Instrumentación.....	7
2.1.2. Materiales.....	7
2.1.3. Patrones y reactivos.....	8
2.2. Procedimientos de limpieza.....	9
2.2.1. Material de laboratorio.....	9
2.2.2. Sistemas de extracción.....	10
2.2.2.1. Soxhlet.....	10
2.2.2.2. Microondas.....	10
2.3. Preparación de patrones y reactivos.....	11
2.3.1. Patrones internos.....	11
2.3.2. Patrones primarios.....	11
2.3.3. Disoluciones de calibrado.....	12
2.3.4. Disolventes orgánicos.....	12
2.3.5. Acondicionamiento de la sílice.....	12
2.3.5.1. Limpieza de la sílice con disolventes orgánicos.....	12
2.3.5.2. Activación y desactivación de la sílice con agua.....	12
2.4. Optimización del procedimiento.....	13
2.4.1. Selección del procedimiento de extracción.....	13
2.4.1.1. Extracción Soxhlet.....	13
2.4.1.2. Extracción por Ultrasonidos.....	14
2.4.1.3. Extracción mediante Microondas.....	15
2.4.2. Procedimiento de fraccionamiento.....	15

2.4.3. Optimización de la derivatización.....	16
2.4.4. Análisis cromatográfico.....	16
2.4.4.1. Análisis de las fracciones de hidrocarburos alifáticos (AHs) e hidrocarburos aromáticos policíclicos (PAHs).....	16
2.4.4.2. Análisis de las fracciones de alcoholes y ácidos derivatizados.....	17
2.4.4.3. Cuantificación.....	18
3. Resultados y discusión.....	19
3.1. Estudio de blancos.....	19
3.2. Estudio de recuperación.....	21
3.2.1. Extracción mediante Soxhlet.....	21
3.2.2. Extracción con ultrasonidos.....	21
3.2.3. Extracción con microondas.....	22
3.3. Análisis de marcadores de incendios forestales.....	24
3.3.1. Análisis del levoglucosan.....	24
3.3.2. Análisis de reteno.....	27
3.4. Inconvenientes del análisis de compuestos polares.....	28
4. Conclusiones.....	31
5. Referencias.....	33
6. Anexos.....	37

1. Introducción.

Se entiende por aerosol atmosférico al conjunto de partículas, tanto sólidas como líquidas, que se encuentran suspendidas en la atmósfera. Un estudio completo del aerosol atmosférico incluye los gases presentes en la atmósfera, la composición de las partículas y la dispersión.

La presencia del material particulado en la atmósfera se debe tanto a emisiones biogénicas como antropogénicas [1]. Entre estas últimas se encuentra la quema de combustibles fósiles producidas por el tráfico y algunos procesos industriales. Así pues, las emisiones antropogénicas se centran en las zonas urbanas, siendo un grave problema para la salud de sus habitantes. La Unión Europea ha desarrollado una Directiva cuya finalidad es reducir la exposición al material particulado con el fin de alcanzar concentraciones de $PM_{2,5}$ inferiores a $18 \mu\text{g}\cdot\text{m}^{-3}$ [2].

De este modo, los estudios sobre la composición de la fracción particulada del aerosol atmosférico son de gran interés, ya que revelan información muy valiosa que está ayudando a disminuir las emisiones de material particulado, y por tanto aumentando la calidad del aire.

Tradicionalmente, los estudios de caracterización química se habían centrado en las partículas totales (TSP), y más recientemente en las fracciones menores de 10 y $2.5 \mu\text{m}$ [3, 4]. En los últimos años se ha puesto de manifiesto la importancia de la distribución de tamaños de las partículas sobre los distintos efectos, y se plantea la necesidad de caracterizar químicamente las diferentes fracciones granulométricas del material particulado. Se ha profundizado en la caracterización de la fracción particulada del aerosol atmosférico, coincidiendo toda la comunidad científica en que la fracción fina del material particulado es la responsable de los mayores efectos nocivos sobre la salud humana [5, 6].

El empleo de captadores de alto volumen en cascada permite obtener muestras de material particulado en sus diferentes etapas ($10-2,5$; $2,5-0,95$, $0,95-0,45$ y $<0,45 \mu\text{m}$), y la caracterización química de las mismas, permitirá evaluar de manera más detallada tanto los efectos sobre la salud y el medio ambiente como sus posibles fuentes [7, 8].

El inconveniente que plantea el uso de estos muestreadores, es la pequeña cantidad de muestra que proporcionan, y que a la hora del análisis químico requiere de metodologías de elevada sensibilidad.

El objetivo de este trabajo es desarrollar una metodología analítica que permita caracterizar la composición orgánica de las fracciones más finas del material particulado.

1.1. Composición de la fracción orgánica.

La composición del material particulado no es uniforme sino que varía en función de zona de muestreo y la época del año. La proporción de la fracción orgánica representa el 20 % de la masa total de partículas en zonas remotas y llega a alcanzar el 90 % en zonas boscosas. El número de especies que integran la fracción orgánica es muy elevado y únicamente se conoce una parte de su composición.

El presente trabajo tiene como objetivo cuantificar cuatro familias de compuestos orgánicos, como son los ácidos carboxílicos, los hidrocarburos alifáticos, los alcoholes y los hidrocarburos aromáticos policíclicos (PAHs) en las fracciones $PM_{1-2.5}$ y $PM_{2.5-10}$ de material particulado.

El interés en determinar los ácidos carboxílicos presentes en la fracción orgánica del aerosol atmosférico se debe a que son los compuestos orgánicos mayoritarios en la fracción particulada [9]. Los ácidos grasos pueden tener origen biogénico y antropogénico. Algunos compuestos ácidos como el ácido azelaico, pínico, pinónico y norpinónico son constituyentes del aerosol orgánico secundario (SOA).

Los *n*-alcanos están estrechamente ligados a la quema de combustibles fósiles y a las emisiones de la vegetación. El fitano y pristano se emplean como trazadores de la contaminación producida por los derivados del petróleo [10].

La presencia de alcoholes en el aerosol atmosférico se debe a que son constituyentes mayoritarios de la cera epicuticular de las plantas. El levoglucosan es un compuesto alcohólico presente en el material particulado

que se asocia a la quema de biomasa, ya que se genera en la pirólisis de la celulosa, y es empleado como marcador de los incendios forestales [11].

Por último, los PAHs se producen en la combustión incompleta de materia orgánica, y son cuantificados debido a sus propiedades cancerígenas y mutagénicas. El reteno es un hidrocarburo aromático policíclico cuya presencia en el aerosol está asociada a la quema de biomasa, por lo que es muy empleado como marcador de los incendios forestales [12].

1.2. Metodología analítica para el análisis de la fracción orgánica.

1.2.1. Procedimientos de extracción.

Los métodos de extracción tienen como finalidad la separación de los analitos de interés de la matriz a la que están asociados. Para el aerosol atmosférico la extracción debe ser capaz de disolver completamente los analitos de interés y eliminar los compuestos que puedan interferir en los posteriores análisis. Los métodos de extracción más empleados son el Soxhlet, los ultrasonidos y la extracción por microondas.

1.2.1.1. Extracción Soxhlet.

La extracción Soxhlet consiste en calentar el disolvente orgánico para a continuación condensar los vapores de disolvente y caer, gota a gota, sobre la muestra, extrayendo de este modo los analitos. La ventaja que presenta esta técnica es que produce extracciones muy exhaustivas ya que la muestra esta repetidas veces en contacto con disolvente fresco, mientras que los inconvenientes son el elevado gasto de disolvente empleado, el tiempo de análisis y las bajas recuperaciones obtenidas para los compuestos más polares. A pesar de ello es considerada la técnica de referencia para la extracción de la fracción orgánica del aerosol atmosférico.

1.2.1.2. Extracción por ultrasonidos (US).

Las ondas de ultrasonidos son transmitidas a la muestra a través de un medio líquido (baño de ultrasonidos). Estas ondas provocan que el disolvente orgánico en el que está sumergida la muestra pase a estado gaseoso,

generándose enormes aumentos de presión y temperatura, que favorecen la disolución de los analitos. Las ventajas de esta técnica de extracción son el menor gasto de disolventes y tiempo, pero tiene el inconveniente de ser menos exhaustiva.

1.2.1.3. Extracción mediante microondas (MO).

La radiación de microondas produce un aumento en la vibración de las moléculas del disolvente orgánico y de la muestra, provocándose una elevación en la temperatura y por consiguiente favoreciendo la disolución de la muestra. Las ventajas que presenta esta técnica es que es más rápida, requiere un menor gasto de disolventes, es muy reproducible y se producen menos pérdidas de especies volátiles. La principal desventaja es que es un procedimiento más costoso.

1.2.2. Procedimiento de fraccionamiento.

Los extractos orgánicos obtenidos en la etapa de extracción deben someterse a un proceso de purificación y fraccionamiento, con el fin de facilitar el posterior análisis mediante técnicas cromatográficas.

El método más empleado en el estudio de la fracción orgánica del aerosol atmosférico es la cromatografía en columna [13]. Este procedimiento consiste en disponer un adsorbente en una columna de vidrio en la que se depositará la muestra en cabeza de columna con el objetivo de crear un frente de muestra. A continuación se hacen pasar diferentes disolventes orgánicos que irán fraccionando la muestra. Los adsorbentes más empleados son la gel de sílice y la alúmina, mientras que los eluyentes variarán en función de los analitos de interés. Por norma general se comienza utilizando un disolvente apolar como el hexano y a continuación, se va aumentando la polaridad de los disolventes hasta obtener un número variable de fracciones.

1.2.3. Procedimiento de análisis.

La identificación y cuantificación de los compuestos que componen la fracción orgánica del aerosol atmosférico implica necesariamente el empleo de columnas cromatográficas capilares y espectrometría de masas. El análisis

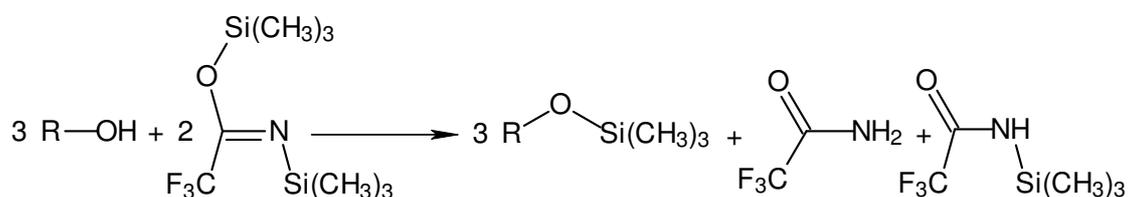
directo mediante técnicas cromatográficas es inviable, ya que la presencia de compuestos polares y apolares, hace que sea imprescindible emplear técnicas de derivatización.

1.2.3.1. Técnicas de derivatización.

La derivatización consiste en modificar mediante reacción química la estructura de un compuesto con el fin de aumentar su volatilidad. La reacción química más empleada en el análisis de la fracción orgánica del aerosol atmosférico mediante cromatografía de gases es la silanización.

La silanización consiste en sustituir el hidrógeno activo del grupo OH de alcoholes y ácidos por un grupo trimetilsilil, obteniéndose un trimetilsilil derivado, que en comparación con el compuesto de partida es menos polar, más volátil y más estable térmicamente. Entre las ventajas que presenta la reacción de silanización cabe citar la facilidad de empleo, el amplio espectro de compuestos derivatizados y el elevado número de reactivos disponibles. Como principal desventaja hay que citar la sensibilidad a la humedad y por tanto la necesidad de emplear disolventes apróticos.

Algunos de los reactivos más empleados como agentes derivatizantes son el N,O-bis (trimetilsilil) acetamida, (BSA), N,O-bis (trimetilsilil) trifluoroacetamida (BSTFA) y el trimetil clorosilano (TMCS). El esquema de la reacción de silanización con BSTFA se representa a continuación.



1.2.3.2. Espectrometría de masas.

Los espectros de masas de los hidrocarburos alifáticos se caracterizan por la pérdida secuencial de grupos alquilo. Los iones más intensos son los m/z 15 (pérdida de metilo), m/z 29 (pérdida de etilo), m/z 43 (pérdida de propilo). Para el estudio de los alcanos presentes en el la fracción particulada

(compuestos de entre 10 y 40 átomos de carbono) se caracterizan los iones m/z 57, 71 y 85 que se corresponden con las pérdidas de butilo, pentilo y hexilo.

Los iones seleccionados para la detección de PAHs en modo SIM son el pico base de cada uno de los PAHs estudiados: 128 (naftaleno), 152 (acenaftileno), 154 (acenafteno), 166 (fluoreno), 178 (antraceno y fenantreno), 202 (fluoranteno y pireno), 219 (reteno), 228 (benzo [a] antraceno y criseno), 252 (benzo [a] pireno, benzo [b] fluoranteno y benzo [k] fluoranteno), 276 (indeno [123-cd] pireno y benzo [ghi] perileno) y 278 (dibezo [ah] antraceno).

Los ácidos y alcoholes presentes en la muestra son derivatizados con BSTFA. Los derivados obtenidos han sustituido el H del grupo OH por un grupo trimetilsilil (TMS), generándose un aumento del peso molecular de 72 uma por cada H sustituido. Los iones moleculares de los TMS derivados suelen tener poca intensidad por lo que la determinación del peso molecular debe realizarse mediante el estudio de otros fragmentos [14]. Dos de los iones más intensos son las pérdidas de metilo (M-15) y de $\text{OSi}(\text{CH}_3)_3$ (M-89). Otros fragmentos característicos de los TMS derivados son los iones m/z 73 y 75 que se corresponden a los fragmentos $[\text{Si}(\text{CH}_3)_3]^+$ y $[\text{HO}=\text{Si}(\text{CH}_3)_2]^+$. Los derivados obtenidos a partir de alcoholes primarios presentan como ión característico el m/z 103 que se corresponde con el fragmento $[\text{CH}_2\text{OSi}(\text{CH}_3)_3]^+$. Por otro lado, los TMS derivados de ácidos carboxílicos presentan como ión característico el m/z 117 $[\text{COOSi}(\text{CH}_3)_3]^+$ mientras que los ácidos dicarboxílicos presenta como ión característico el fragmento m/z 147 $[(\text{CH}_3)_2\text{Si}=\text{OSi}(\text{CH}_3)_3]^+$. Otros iones característicos son m/z 157 (ácido norpinónico), m/z 171 (ácidos pínico y pinónico), m/z 204 (levoglucosan), m/z 311 (ácido palmitoleico), m/z 317 (ácido azelaico), m/z 337 (ácido linoleico) y m/z 339 (ácido oleico).

2. Parte experimental.

2.1. Instrumentación, materiales y reactivos.

2.1.1. Instrumentación.

- Cromatógrafo de gases Agilent 6890 acoplado a un detector de espectrometría de masas Agilent serie 5975B con inyector automático Agilent 7683.
- Cromatografo de gases Fisons 8000 acoplado a un detector de espectrometría de masas Fisons MD 800 con inyector automático Fisons AS 800.
- Soxhlet automático Büchi Extraction System B-811.
- Baño de Ultrasonidos Selecta Ultrasonics-H.
- Sistema de Microondas Ethos Sel.
- Rotavapor Büchi.
- Balanza analítica.
- Granatario.
- Estufa.
- Agitador vortex.
- Vitrina.
- Sistema de evaporación con corriente de nitrógeno.

2.1.2. Materiales.

- Columna cromatográfica de sílice fundida HP5-MS (30 m longitud ; 0.25 mm diámetro interno ; 0.25 μ m fase estacionaria 5% fenil 95 % dimetilpolisiloxano).
- Sistema Soxhlet; matraz redondo de 2000 mL, recipiente de sifonado y refrigerante.
- Cartuchos de extracción de celulosa 60 x 180 mm.
- Columnas cromatográficas de vidrio (10 cm x 1 cm \varnothing interno).

- › Soporte para columnas.
- › Desecadores.
- › Jeringas de 25, 50, 100, 250, 500, 1000 y 2500 μL (Hamilton y SGE).
- › Filtros PTFE de 0.2 μm .
- › Matraz aforado de 10 y 100 mL.
- › Matraces de 100 mL para concentración.
- › Probetas de 25, 50, 100 y 250 mL.
- › Vasos de precipitados.
- › Pipetas Pasteur.
- › Viales de vidrio de 1, 5 y 10 mL.
- › Insertos para viales de 100 μL .
- › Material de vidrio (embudos, pesa sustancias, vidrios de reloj, barras agitadoras de vidrio, frascos transparentes y ámbar).
- › Agitadores magnéticos.
- › Papel aluminio.
- › Teflón.
- › Lana de vidrio.

2.1.3. Patrones y reactivos.

- › 1-Clorododecano, utilizado como patrón interno (Koch Light Laboratories).
- › Fenantreno deuterado D_{10} (10 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ en ciclohexano), utilizado como patrón interno (Dr. Ehrenstorfer GmbH).
- › Ácido palmítico deuterado D_{31} , utilizado como patrón interno (Isotec).
- › Patrón de alcanos DRH-FTRPH-SET: Disolución de 500 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ en hexano (Sigma Aldrich).
- › Patrón de PAHs. PAH-Mix9: Disolución de 100 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ en ciclohexano (Dr. Ehrenstorfer GmbH).

- ▶ Alcoholes de cadena lineal C₆-C₂₂ (Accustandart, Inc).
- ▶ Ácidos grasos de cadena lineal C₆-C₂₄ (Aldrich. Referencia 28.851-4).
- ▶ Ácidos azelaico, linoleico, palmitico y oleico al 99.0 % (Fluka).
- ▶ Levoglucosan, ácidos pinico, pinónico y norpinónico (Aldrich).
- ▶ BSTFA; N,O-bis (trimetilsilil) trifluoroacetamida (Supelco).
- ▶ Diclorometano, hexano, metanol, acetonitrilo, acetato de etilo e isooctano de calidad cromatográfica (Sigma Aldrich).
- ▶ Ácido fórmico (Sigma Aldrich).
- ▶ Sílice granulometría 0.063 – 0.210 mm (Merck).

2.2. Procedimientos de limpieza.

La cantidad de material particulado disponible en las muestras es muy pequeña por lo que las concentraciones de los analitos son muy bajas. Con el objetivo de disminuir la señal de fondo y evitar contaminaciones, es imprescindible seguir un protocolo de lavado minucioso.

2.2.1. Material de laboratorio.

Todo el material de vidrio utilizado debe ser lavado y acondicionado con disolventes orgánicos antes de emplearse. Una vez utilizado se lava con agua y jabón, y se aclara con agua desionizada. El material se seca en estufa a 100 °C y se acondiciona con el disolvente orgánico que corresponda en cada caso. Entre el material de vidrio que ha de seguir este proceso de limpieza están los vasos de precipitados, pipetas, matraces, probetas, columnas y viales.

Los insertos de vidrio, una vez empleados se sumergen en diclorometano y se introducen en un baño de ultrasonidos durante 10 minutos. A continuación, se elimina el disolvente y se dejan secar en estufa a 100 °C. Posteriormente se lavarán con agua y jabón, dejándolos secar en estufa a 100 °C. Por último se lavan con diclorometano en el baño de ultrasonidos durante 10 minutos y se dejan secar en estufa a 100 °C hasta su empleo.

El sistema de evaporación con corriente de nitrógeno debe ser lavado antes y después de emplearse. Para ello, las partes metálicas se introducen en acetona y se lavan en un baño de ultrasonidos durante 15 minutos.

2.2.2. Sistemas de extracción.

2.2.2.1. Soxhlet.

La extracción Soxhlet utiliza cartuchos de celulosa, los cuales son capaces de adsorber compuestos que pueden interferir el análisis. Por esta razón estos cartuchos deben ser limpiados antes de su primer empleo. El procedimiento de limpieza consiste en una extracción con 150 mL de diclorometano durante 8 horas, seguido de una extracción con 150 mL de hexano/acetona (1:1) durante 7 horas y una última extracción con 150 mL de diclorometano de 8 horas. Los cartuchos de celulosa una vez utilizados se guardan en papel de aluminio para evitar la reabsorción hasta su empleo.

2.2.2.2. Microondas.

Los recipientes de teflón del sistema de extracción por microondas deben someterse a una etapa de lavado con acetona antes y después de cada uso.

Antes de emplearse se añaden 10 mL de acetona a cada recipiente de teflón con su agitador. Una vez cerrados se realiza el programa de limpieza: potencia microondas 650 W, temperatura 110 °C, tiempo 10 minutos. Una vez están fríos los recipientes de Teflón, se eliminan los 10 mL acetona y se aclaran con acetona limpia.

Después de realizar la extracción de la muestra, los recipientes de Teflón se dejarán sumergidos en agua con lejía durante 24 horas. A continuación se lavarán con agua y jabón.

2.3. Preparación de patrones y reactivos.

2.3.1. Patrones internos.

El patrón interno de 1-clorododecano se prepara por dilución del compuesto puro. Se pesan 0.025 g de 1-clorododecano puro y se diluyen con 100 mL de hexano. A partir de esta disolución se prepara una disolución de $10 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ en hexano, que se utilizará como patrón interno para los alcanos.

Se emplea como patrón interno la disolución de Fenantreno D_{10} de $10 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ en ciclohexano para el análisis de PAHs.

El patrón interno de ácido palmítico deuterado se prepara a partir del compuesto puro en estado sólido. Se pesan 0.0025 gramos del compuesto puro y se diluye con 25 mL de diclorometano. A partir de esta disolución se prepara una disolución de $10 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ en diclorometano, que se utilizará como patrón interno de alcoholes y ácidos.

2.3.2. Patrones primarios.

Se toman 50 μL del patrón DRH-FTRPH-SET de $500 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ y se diluye con 1 mL de hexano obteniéndose un patrón de alcanos de $25 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$.

Se cogen 100 μL del patrón PAH-Mix9 del $100 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ y se diluye con 900 μL de hexano, consiguiendo un patrón de $10 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$.

El patrón de alcoholes (C_{12} - C_{16} , C_{18} , C_{20} , C_{22}) de $100 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ en diclorometano se prepara pesando 0.0025 gramos de cada alcohol y diluyéndolo con 25 mL de diclorometano.

El patrón de ácidos carboxílicos (C_{12} - C_{24}) de $100 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ en diclorometano se elabora a partir de 0.0025 gramos de cada compuesto y dilución con 25 mL de diclorometano.

Patrón de ácidos difuncionalizados (pínico, pinónico, norpinónico, linoleico, oleico, palmitoleico, azeláico y levoglucosan) de $100 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ en diclorometano se prepara pesando 0.0025 gramos de cada compuesto y posteriormente diluyendo con 25 mL de diclorometano.

2.3.3. Disoluciones de calibrado.

Se preparan disoluciones de $10 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ de alcoholes y ácidos a partir de los patrones primarios. Además se preparan disoluciones intermedias de $1 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ y $100 \text{ }\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ de cada uno de los patrones. A partir de estos patrones se preparan por dilución las disoluciones de calibrado (Tablas 1-4).

2.3.4. Disolventes orgánicos.

Se prepara una mezcla de diclorometano/acetona (3:1) para emplearla como medio extractante. Además, son necesarios 10 mL por muestra de las siguientes mezclas: hexano/diclorometano (4:1), hexano/acetato de etilo (4:1) y ácido fórmico/metanol (5%).

2.3.5. Acondicionamiento de la sílice.

2.3.5.1. Limpieza de la sílice con disolventes orgánicos.

Se debe colocar la sílice en un cartucho de celulosa (60 x 180 mm) y se introduce en el recipiente de sifonado del sistema Soxhlet. Se añade aproximadamente 1 L de diclorometano en el matraz de fondo redondo. Se coloca el sistema Soxhlet, con el refrigerante conectado, sobre una manta calefactora a $50 \text{ }^{\circ}\text{C}$ y realiza la extracción Soxhlet durante 24 horas.

Una vez eliminado el diclorometano del cartucho de celulosa, la sílice se deposita sobre papel aluminio y se deja secar al aire dentro de una vitrina durante 1 hora removiendo cada 15 minutos para favorecer el secado.

2.3.5.2. Activación y desactivación de la sílice con agua.

Para la activación de la sílice se calienta ésta a $110 \text{ }^{\circ}\text{C}$ durante 24 horas. La sílice debe estar completamente libre de disolvente orgánico antes de introducirla en la estufa. Una vez fría se procede a la desactivación. Para ello se pesa la sílice y se añade un 5% de agua desionizada. Se debe agitar la sílice vigorosamente para homogeneizar la mezcla.

2.4. Optimización del procedimiento.

El procedimiento de análisis de compuestos orgánicos presentes en las fracciones PM_{10} y $PM_{2.5}$ ha sido publicado previamente [15]. Sin embargo, la cantidad de material particulado recogida por los dispositivos de muestreo que separan las fracciones $PM_{1-2.5}$ y $PM_{2.5-10}$ es mínima. Por ello, las concentraciones de los compuestos orgánicos de interés en los extractos de dichas fracciones, están muy por debajo del límite de detección del procedimiento anterior, por lo que se planteó la necesidad de modificarlo. El proceso de optimización incluye una nueva etapa de extracción, de derivatización y un análisis cromatográfico más selectivo.

2.4.1. Selección del procedimiento de extracción.

La extracción Soxhlet, utilizada en el procedimiento previo, tiene el inconveniente de presentar unos blancos muy elevados. De hecho, las concentraciones encontradas en los blancos eran superiores a las obtenidas al analizar muestras de $PM_{1-2.5}$ y $PM_{2.5-10}$.

Por este motivo se decidió evaluar diferentes alternativas a la extracción Soxhlet, con el objetivo primordial de disminuir la señal de los blancos. Como alternativas disponibles se estudiaron las extracciones realizadas con microondas y con ultrasonidos. Ambas técnicas son empleadas satisfactoriamente en el análisis de compuestos orgánicos.

2.4.1.1. Extracción Soxhlet.

En un estudio previo se evaluaron 5 mezclas de disolventes para la extracción de compuestos orgánicos a partir de materia particulada [15]. En dicho estudio, se constató que la mezcla diclorometano/acetona (3:1) presentaba los mejores resultados. En la tabla 5 se presentan las recuperaciones obtenidas para las distintas familias de compuestos estudiadas al utilizar la citada mezcla.

El procedimiento analítico seguido consistió en depositar los cartuchos de celulosa en el sistema automático Soxhlet. Se emplean 150 mL de una mezcla de diclorometano/acetona (3:1). La extracción se mantiene durante 8

horas, calentando a nivel 6 (nivel máximo 12) lo que produce unos 10 ciclos/hora. Los extractos obtenidos son concentrados en rotavapor (40 °C y 556 mmHg) hasta los 1-2 mL y posteriormente hasta sequedad mediante el empleo de una corriente de nitrógeno.

Se realizó un estudio de los blancos para la extracción de alcanos, PAHs, alcoholes y ácidos. Para ello se realizaron 4 réplicas de una extracción sin muestra.

2.4.1.2. Extracción por Ultrasonidos.

Para evaluar la técnica de ultrasonidos como método de extracción se realizaron dos tipos de ensayos. En primer estudiaron los blancos resultantes de la extracción mediante ultrasonidos. En segundo lugar se evaluaron las recuperaciones obtenidas al extraer muestras enriquecidas con los analitos de interés.

Para evaluar las recuperaciones se realizaron cuatro réplicas de la extracción de una mezcla de alcanos, PAHs, alcoholes y ácidos con concentraciones comprendidas entre 0.25 y 10 mg·L⁻¹.

La extracción mediante ultrasonidos consistió en añadir 20 mL de una mezcla de diclorometano/acetona (3:1) a la muestra (filtro de fibra de cuarzo enriquecido con los analitos de interés). Esta se introdujo en un baño de ultrasonidos y permaneció 15 minutos. Los extractos líquidos se recogieron y se repitió la extracción de 15 minutos con 15 mL de la mezcla diclorometano/acetona (3:1). Se juntaron los extractos con los de la primera extracción y se realizó una última extracción de 15 minutos con 10 mL de diclorometano/acetona. Todos los extractos (45 mL aproximadamente) son concentrados en un rotavapor (40 °C y 556 mmHg) hasta 1-2 mL y finalmente con nitrógeno hasta sequedad.

Para estudiar los blancos se realizaron 6 réplicas de una extracción sin muestra.

2.4.1.3. Extracción mediante Microondas.

Para evaluar la extracción mediante microondas se realizó un estudio similar. El estudio de recuperación consistió en realizar cuatro réplicas de una extracción de una mezcla similar a la anterior.

La extracción mediante microondas consistió en añadir 20 mL de una mezcla de diclorometano/acetona (3:1) a la muestra y realizar la extracción durante 25 minutos a 120 °C y con una potencia de 1000 W. Los extractos obtenidos fueron concentrados en rotavapor (40 °C y 556 mmHg) hasta los 1-2 mL y con una ligera corriente de nitrógeno hasta sequedad.

Para estudiar los blancos se realizaron 6 réplicas de una extracción sin muestra.

2.4.2. Procedimiento de fraccionamiento.

Se emplearon columnas cromatográficas de vidrio de 10 cm de longitud, 1 cm de diámetro y reservorio de 20 mL. Para preparar las columnas se añade una pequeña cantidad de lana de vidrio y se depositan 1.5 gramos de gel de sílice desactivada al 5 % con agua.

Una vez compactadas las columnas se introduce la muestra, disuelta en aproximadamente 100 µL de diclorometano, sobre cabeza de columna. A continuación se procede a añadir una serie de disolventes orgánicos de polaridad creciente.

En primer lugar se añade 3 mL de hexano. Este disolvente eluye los compuestos más apolares, principalmente hidrocarburos alifáticos. En segundo lugar se introducen 10 mL de una mezcla de hexano/diclorometano (4:1) capaz de eluir los hidrocarburos aromáticos policíclicos. A continuación se hace pasar una mezcla de hexano/acetato de etilo (4:1), apta para eluir los compuestos alcohólicos. Por último, se añade una disolución de ácido fórmico en metanol al 5 %, consiguiéndose eluir los compuestos más polares, los ácidos carboxílicos.

Las cuatro fracciones recogidas fueron concentradas hasta sequedad mediante una ligera corriente de nitrógeno.

2.4.3. Optimización de la derivatización.

La derivatización de ácidos y alcoholes se realizó con BSTFA. Partiendo del método previamente desarrollado [16], se evaluó un cambio en el disolvente aprótico empleado en la reacción con el objetivo de mejorar la señal analítica y derivatizar un mayor número de compuestos. De este modo, se ha estudiado la reacción de derivatización con BSTFA empleando isooctano, diclorometano, piridina y acetonitrilo como disolventes apróticos.

Se procedió a la adición de 10 μL de patrón interno a las muestras, ácido palmítico deuterado, y se llevó a sequedad mediante la aplicación de una corriente de nitrógeno. A los extractos completamente secos se les añadió 50 μL de BSTFA y 50 μL de disolvente aprótico, piridina, isooctano o diclorometano, con el fin de crear un medio de reacción apolar que facilitara la reacción de derivatización. La mezcla de reacción se agitó durante 1 minuto y se introdujo en un horno a 80 $^{\circ}\text{C}$ durante 1 hora. Una vez enfriada la mezcla, se eliminó el exceso de reactivo con una corriente de nitrógeno. Finalmente la mezcla de reacción se reconstituyó con 100 μL de isooctano y se procedió al análisis cromatográfico.

2.4.4. Análisis cromatográfico.

2.4.4.1. Análisis de las fracciones de hidrocarburos alifáticos (AHs) e hidrocarburos aromáticos policíclicos (PAHs).

El análisis de las fracciones de AH y PAH se efectuó en un cromatógrafo Agilent 6890 con detector de espectrometría de masas Agilent 5975B, empleando una columna HP-5 MS (30 m x 0.25 mm x 0.25 μm), trabajando a flujo constante de 1 $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$ de He como gas portador. La inyección se realizó en PTV trabajando en modo “*splitless*”, siendo el tiempo de la purga 1 minuto y el flujo de la purga 40 $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$. El detector de espectrometría de masas trabaja en modo de impacto electrónico, siendo la energía de la fuente de iones 70 eV, la temperatura de la fuente de iones 230 $^{\circ}\text{C}$ y la temperatura del cuadrupolo 150 $^{\circ}\text{C}$.

Para el análisis de los hidrocarburos alifáticos la muestra se llevó a 100 μL en hexano al que se le había añadido 10 μL de 1-clorododecano como patrón interno. La inyección se realizaba en el PTV con el siguiente programa de temperatura: temperatura inicial 60 $^{\circ}\text{C}$ durante 0.5 minutos, a continuación un calentamiento de 700 $^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ hasta los 350 $^{\circ}\text{C}$ que se mantuvieron durante 5 minutos. El volumen de muestra inyectado fue de 5 μL (5 inyecciones de 1 μL espaciadas 1 segundo). El programa de temperatura del horno: temperatura inicial 50 $^{\circ}\text{C}$, calentamiento de 100 $^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ hasta los 90 $^{\circ}\text{C}$ y mantener 5 minutos. Volver a calentar a 5 $^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ hasta los 200 $^{\circ}\text{C}$ y acto seguido calentar a 10 $^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ hasta los 300 $^{\circ}\text{C}$ y mantener durante 23 minutos. El detector de espectrometría de masas trabajando en modos SIM, monitorizando las m/z 57, 71, 85 y 95.

Para el análisis de los hidrocarburos aromáticos policíclicos la muestra se llevó a 100 μL en hexano empleándose como patrón interno 10 μL de fenantreno deuterado. La inyección se realizó en el PTV con el siguiente programa de temperatura: temperatura inicial 90 $^{\circ}\text{C}$ durante 0.5 minutos, a continuación calentar hasta los 350 $^{\circ}\text{C}$ a una velocidad de 700 $^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ y mantener por 5 minutos. El volumen de muestra inyectada fue de 10 μL (5 inyecciones de 2 μL cada segundo). El programa de temperatura del horno cromatográfico: temperatura inicial de 90 $^{\circ}\text{C}$ que se mantiene 5 minutos, para a continuación calentar a una velocidad de 5 $^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ hasta los 300 $^{\circ}\text{C}$ y mantener esta temperatura 13 minutos. El detector de espectrometría de masas trabajando en modo SIM monitorizando las relaciones masa/carga 128, 152, 154, 166, 178, 188, 202, 219, 228, 252, 276 y 278.

2.4.4.2. Análisis de las fracciones de alcoholes y ácidos derivatizados.

El análisis de alcoholes y ácidos se realizó en un GC/MS Fisons MD800, empleando una columna HP-5 MS (30 m x 0.25 mm x 0.25 μm) con flujo constante de 1 $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$ de He como gas portador. La inyección se realizó en modo “*splitless*” a una temperatura de 250 $^{\circ}\text{C}$, con un tiempo de purga de 1 minuto. El volumen de muestra inyectado fue de 1 μL . El programa de temperatura del horno cromatográfico: temperatura inicial 90 $^{\circ}\text{C}$, una rampa de 10 $^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ hasta 150 $^{\circ}\text{C}$ y a continuación calentar hasta 290 $^{\circ}\text{C}$ a una

velocidad de $5\text{ }^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ y mantener 5 minutos. El detector de espectrometría de masas trabajó en modo de impacto electrónico, siendo la energía de la fuente de iones 70 eV, la temperatura de la fuente de iones $200\text{ }^{\circ}\text{C}$. El detector trabajó en modo SIM monitorizando las relaciones masa/carga 103, 117, 157, 171, 204, 311, 317, 337, 339 y 344.

2.4.4.3. Cuantificación.

La cuantificación de los analitos se efectuó mediante el método del patrón interno. Para cada compuesto se representa la curva de respuesta del detector, relativo al patrón interno, frente a la masa de cada analito. La respuesta del detector de espectrometría de masas fue lineal en el rango de concentraciones estudiado. Los resultados de estas calibraciones y el control de calidad están reflejados en el procedimiento normalizado de trabajo [17]. A partir de la recta de calibrado fue posible deducir la concentración de un analito en una muestra al interpolar la señal analítica obtenida al inyectar una muestra de concentración desconocida.

3. Resultados y discusión.

3.1. Estudio de blancos.

El análisis de la composición orgánica de las fracciones $PM_{1-2.5}$ y $PM_{2.5-10}$ requiere trabajar en niveles muy bajos de concentración, de ahí que los blancos deban cuidarse minuciosamente con objeto de minimizarlos.

Para estudiar los blancos obtenidos en la extracción Soxhlet se realizaron cuatro réplicas con filtros de fibra de cuarzo sin muestra. Para los blancos obtenidos en las extracciones mediante la técnica de ultrasonidos y microondas se realizaron 6 réplicas con filtros limpios. En las figuras 1-4 se presentan las concentraciones obtenidas de los blancos de la extracción Soxhlet, microondas y ultrasonidos.

En relación a los hidrocarburos alifáticos, los blancos obtenidos mediante la extracción Soxhlet son muy superiores a los medidos en las extracciones mediante microondas y ultrasonidos. Para la extracción mediante Soxhlet se han cuantificado los alcanos comprendidos entre el C_{12} - C_{40} con concentraciones individuales entre $2 - 6 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$. Por otro lado, las concentraciones obtenidas en las extracciones con microondas y ultrasonidos son inferiores a $1 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$. Los blancos de ultrasonidos no han presentado señal para los alcanos de menos de 16 átomos de carbono, debido a que estos compuestos se perdían durante la extracción.

De acuerdo con los resultados obtenidos, las extracciones con microondas y ultrasonidos son más adecuadas para el análisis de los alcanos presentes en la fracción fina del aerosol, ya que los blancos obtenidos son muy inferiores a los derivados de la extracción Soxhlet. La extracción con microondas ha presentado blancos ligeramente inferiores a la extracción con ultrasonidos, además de ser más reproducible, por lo que se vislumbra como la alternativa más adecuada para la extracción de los alcanos.

Los blancos obtenidos en la extracción Soxhlet han presentado también unas concentraciones de PAHs más altas que en el resto de técnicas. La extracción Soxhlet ha mostrado al fenantreno y naftaleno como los

componentes más abundantes, con valores de $6 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ y $4 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ respectivamente. El resto de PAHs ha presentado valores inferiores a $2 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$. Para las extracciones mediante ultrasonidos y microondas, los resultados son muy similares con concentraciones muy bajas para todos los PAHs, inferiores a $0.1 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$. Al igual que sucedió con la extracción Soxhlet, los compuestos más abundantes son el fenantreno y el naftaleno. De acuerdo con estos resultados las extracciones con ultrasonidos y microondas mejoran considerablemente los blancos obtenidos mediante la extracción Soxhlet.

Las tres técnicas de extracción han presentado blancos análogos en la determinación de alcoholes. De las tres técnicas estudiadas, la extracción con microondas es la que ha presentado unos blancos más limpios, con concentraciones de alcoholes inferiores a $1 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, muy parecidos a la extracción con ultrasonidos. La extracción Soxhlet ha mostrado unas concentraciones ligeramente superiores, con concentraciones que han alcanzado los 2 y $3 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ para el docosanol y hexadecanol, respectivamente.

Los blancos obtenidos para los ácidos carboxílicos son los más altos de todos los componentes estudiados, debido a que éstos son los compuestos orgánicos más abundantes en el material particulado. Entre todos, el ácido palmítico y esteárico son los dos más abundantes con unas concentraciones en torno a los $15 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$. El resto de compuestos ácidos han presentado concentraciones inferiores a $4 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$. De las tres técnicas evaluadas, Soxhlet y ultrasonidos han presentado los blancos más elevados. Esto se debe a que estas dos técnicas realizan la extracción en abierto, produciéndose un mayor aporte de los ácidos presentes en la atmósfera que genera unos blancos más elevados. En cambio, la extracción mediante microondas realiza la extracción en vasijas cerradas, impidiéndose el aporte de ácidos durante la extracción. Esta característica hace posible que los blancos obtenidos mediante esta técnica de extracción sean un 50 % más limpios que el Soxhlet. La única especie que no ha disminuido considerablemente su concentración en los blancos es el ácido palmítico, que de hecho es el ácido carboxílico más abundante en el material particulado.

Según estos resultados, la extracción con microondas es la mejor alternativa para realizar el estudio de la fracción orgánica presente en el material particulado, ya que ha reducido considerablemente la señal de los blancos.

3.2. Estudio de recuperación.

3.2.1. Extracción mediante Soxhlet.

El estudio previo [15] constató que las recuperaciones obtenidas para la extracción de los compuestos orgánicos mediante el Soxhlet eran superiores al 80 %. En la tabla 5 se muestran algunos de los compuestos orgánicos estudiados.

3.2.2. Extracción con ultrasonidos.

En la tabla 6 se presentan las recuperaciones obtenidas tras la extracción de filtros de fibra de cuarzo enriquecidos con dos disoluciones de hidrocarburos alifáticos, de tal manera que la concentración final fuese de 0.5 y 5 mg·L⁻¹, respectivamente.

Los valores de concentración encontrados para el patrón de 0.5 mg·L⁻¹ son aceptables para los alcanos de más de 20 átomos de carbono, pero no así para los alcanos más ligeros. Las dos réplicas han presentado recuperaciones similares. Algunos compuestos han presentado recuperaciones superiores al 100 %, como es el caso de los alcanos de 31 y 33 átomos de carbono. Además, los alcanos más pesados han presentado unas recuperaciones muy elevadas, debido a que estas concentraciones están próximos a los límites de cuantificación y por lo tanto el error al cuantificar estos compuestos es mayor. Para el caso de las recuperaciones obtenidas al extraer un patrón de 5 mg·L⁻¹ se ha observado que hay diferencias significativas entre las dos réplicas, lo que sugiere que la extracción con ultrasonidos es poco reproducible para los alcanos.

Las recuperaciones obtenidas al extraer por ultrasonidos un filtro de fibra de cuarzo al que se le ha añadido un patrón de 2 mg·L⁻¹ de PAHs se presentan en la tabla 7. Para todos los compuestos, las recuperaciones son aceptables,

siendo menores para el naftaleno, debido a su mayor volatilidad. Para algunos compuestos, los PAHs de 3 y 4 anillos aromáticos, las recuperaciones son superiores al 100 %.

Los resultados obtenidos al extraer patrones de alcoholes mediante ultrasonidos están recogidos en la tabla 8. Las recuperaciones para todos los compuestos son buenas, superiores al 70 % excepto para el docosanol, que es el más volátil. Para los alcoholes más pesados las recuperaciones obtenidas en el patrón de $0.5 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ son ligeramente menores. Esto se debe a que la señal analítica es menor para estos compuestos y hay más incertidumbre en su cuantificación.

La tabla 9 recoge las recuperaciones obtenidas al extraer un patrón de ácidos de 0.5 y $5 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ mediante ultrasonidos. Las recuperaciones son muy elevadas para varios compuestos, ácido palmítico y esteárico principalmente. Estas recuperaciones son aun más elevadas para el patrón de $0.5 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$. Esto se debe a que los ácidos son muy abundantes en el medio ambiente y al realizarse la extracción en un recipiente abierto se produce una contaminación, aumentando considerablemente la concentración de estos compuestos.

3.2.3. Extracción con microondas.

Las recuperaciones alcanzadas al extraer dos patrones de alcanos de 5 y $10 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ están resumidas en la tabla 10. Se observa que las recuperaciones son buenas para todos los alcanos, a excepción de los alcanos más pesados que han presentado recuperaciones menores al extraer el patrón menos concentrado. Se observaron recuperaciones superiores al 100 % para algunos alcanos, concretamente los alcanos comprendidos entre 15 y 20 átomos de carbono.

Comparando con la extracción con ultrasonidos, se puede afirmar que la extracción con microondas es más efectiva. Principalmente se debe a que se producen menos pérdidas de los alcanos de menor peso molecular, gracias a que la extracción con microondas se realiza en un reactor cerrado, minimizándose de ese modo las pérdidas de los analitos más volátiles. Además, las recuperaciones de los alcanos más pesados son superiores a las

obtenidas por ultrasonidos, siendo para el resto de alcanos similares. Por otro lado, la extracción de los alcanos mediante microondas ha sido más reproducible que empleando ultrasonidos.

Se ha realizado una extracción por microondas de dos patrones de PAHs de 0.25 y 1 mg·L⁻¹. Las recuperaciones obtenidas están recogidas en la tabla 11. Se observa que las recuperaciones obtenidas para los dos patrones son aceptables, normalmente superiores al 100%. Se ha comprobado que existen menos pérdidas de naftaleno que en la extracción mediante ultrasonidos, gracias al empleo de reactores cerrados. Además, se ha observado una menor contaminación en la extracción con microondas en relación con los ultrasonidos.

Los resultados al extraer los patrones de alcoholes de 1 y 5 mg·L⁻¹ mediante microondas están resumidos en la tabla 12. Las recuperaciones son ligeramente inferiores a las obtenidas mediante los ultrasonidos, a excepción del docosanol. Estas mayores recuperaciones de los ultrasonidos pueden ser debidas a que se produce una mayor contaminación al trabajar en abierto. En cambio al realizar la extracción en cerrado, no se produce este aporte exterior y las recuperaciones medidas son ligeramente inferiores, aunque superiores al 80 %.

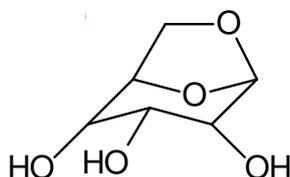
Los resultados obtenidos al extraer unos patrones de ácidos carboxílicos de 1 y 3 mg·L⁻¹ están recogidos en la tabla 13. Las recuperaciones obtenidas son buenas para todos los compuestos, siendo superiores al 100 % para algunos compuestos. El ácido palmítico y esteárico, son los ácidos que presentan mayores recuperaciones debido a que éstos son muy abundantes y se ha producido un aporte extra durante la extracción. Sin embargo, la contaminación percibida es mucho menor que las observadas en la extracción con ultrasonidos, gracias en gran medida al realizar la extracción en reactores cerrados que aíslan más la muestra.

3.3. Análisis de marcadores de incendios forestales.

3.3.1. Análisis del levoglucosan.

El levoglucosan es un compuesto alcohólico presente en el material particulado que se emplea como marcador de la quema de biomasa, ya que se genera en la pirólisis de la celulosa. En el procedimiento previo de análisis de la fracción orgánica [15], no se contemplaba el análisis de este compuesto.

El levoglucosan es un derivado de la glucopiranososa con la siguiente estructura.



El análisis del levoglucosan mediante GC/MS y columnas apolares es viable de acuerdo a la bibliografía [18]. El levoglucosan presenta un espectro de masas donde el pico base es m/z 60, y como iones principales están las relaciones masa/carga 57, 73, 98 y 144. Lamentablemente la señal analítica de este compuesto es muy baja por lo que es necesario recurrir a métodos de derivatización.

El levoglucosan tiene tres grupos alcohólicos susceptibles a ser derivatizados por el BSTFA. El espectro de masas del trimetilsilil derivado del levoglucosan se muestra en la figura 5. Este espectro se caracteriza por tener como pico base m/z 204 y el ión molecular pequeño m/z 378. Además el espectro de masas presenta los fragmentos m/z 363 (pérdida de CH_3), m/z 333 (pérdida de CH_5Si), m/z 217 (pérdida de $\text{C}_6\text{H}_{17}\text{OSi}_2$) y m/z 204 (pérdida de $\text{C}_7\text{H}_{18}\text{OSi}_2$).

En la práctica, la derivatización de este compuesto no es sencilla ya que en función de las condiciones de reacción pueden generarse el mono-derivado, el di-derivado y el tri-derivado.

Con objeto de obtener el trimetilsilil derivado del levoglucosan, se procedió a la optimización de la reacción de derivatización. Para ello se preparó un patrón de levoglucosan de $50 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ en diclorometano y otro en metanol. Estos dos patrones se derivatizaron con BSTFA siguiendo el siguiente procedimiento:

- (a) Llevar a sequedad la muestra con nitrógeno.
- (b) Añadir $50 \mu\text{L}$ de BSTFA y $50 \mu\text{L}$ de isooctano.
- (c) Mantener 1 hora a $80 \text{ }^\circ\text{C}$.
- (d) Eliminar el exceso de reactivo con nitrógeno.
- (e) Inyectar en el cromatógrafo.

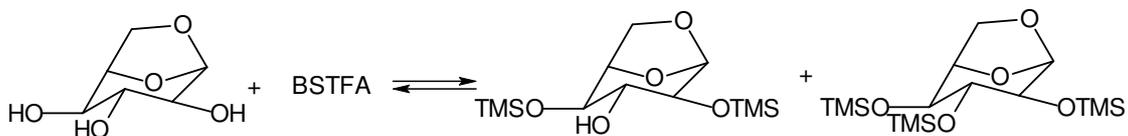
Al inyectar estos dos patrones se observó que la señal analítica obtenida es muy pequeña. En un principio se atribuyó a un problema en la inyección por lo que se modificaron las condiciones de inyección, pero los resultados no mejoraron. Según Fabbri y col. [11], la reacción de derivatización del levoglucosan con BSTFA es problemática debido al impedimento estérico.

Se realizó la derivatización del levoglucosan empleando acetonitrilo como medio apolar, ya que este disolvente mejora las condiciones de reacción. El procedimiento seguido fue:

- (a) $200 \mu\text{L}$ de levoglucosan $25 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ en acetonitrilo.
- (b) Añadir $50 \mu\text{L}$ de BSTFA.
- (c) Mantener 2 horas a $60 \text{ }^\circ\text{C}$.
- (d) Eliminar el exceso de reactivo con nitrógeno.
- (e) Inyectar en el cromatógrafo.

El resultado de esta derivatización fue la identificación del tri-TMS derivado del levoglucosan, que presentó una señal analítica 50 veces más elevada que en los ensayos anteriores. También se formó el compuesto di-

TMS derivado del levoglucosan, con una señal analítica superior al tri-TMS derivado. La reacción química que se produce es la siguiente:



Con objeto de obtener únicamente el compuesto trimetilsilil derivado, se variaron las condiciones de reacción: temperatura, tiempo y volumen de BSTFA. En la tabla 14 se resumen los resultados obtenidos.

Al añadir más volumen de BSTFA se evitó la formación del di-TMS derivado y únicamente se formó el tri-TMS derivado. El aumento de la temperatura de reacción de 60 °C a 80 °C aumentó ligeramente el área del pico cromatográfico. El incremento en el tiempo de reacción generó un aumento considerable de la señal analítica, pero tuvo el inconveniente de formar picos dobles, lo que dificulta la cuantificación. De acuerdo con estos resultados, se seleccionaron como condiciones óptimas para derivatizar el levoglucosan el empleo de 100 μL de BSTFA, manteniendo la reacción durante 1 hora a 80 °C.

El procedimiento analítico para analizar la fracción orgánica del aerosol atmosférico implica una etapa de fraccionamiento. El levoglucosan es un compuesto polar por lo que se esperaba recogerlo en la tercera o cuarta fracción. Se preparó una columna de gel de sílice y se depositaron 100 μL de levoglucosan de 50 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ en cabeza de columna y se hicieron pasar los 4 eluyentes. El levoglucosan fue recogido íntegramente en la cuarta fracción, con una recuperación del 87 %.

Se observó que la reacción de derivatización a partir de la cuarta fracción, mezcla de ácido fórmico en metanol, presentaba varias dificultades.

Por un lado, se formaban el di-TMS levoglucosan y el tri-TMS levoglucosan, además de originarse picos dobles.

También se constató que la reacción era poco reproducible y requería eliminar completamente el ácido fórmico y el metanol para evitar interferencias

con el BSTFA y el acetonitrilo. Los resultados de las cuatro réplicas realizadas están recogidos en la tabla 15.

Con el objetivo de mejorar la reproducibilidad de la derivatización a partir de la cuarta fracción, se añadió piridina a la mezcla de reacción, ya que es un disolvente polar que acelera la reacción y además puede actuar como aceptor de protones. La mezcla de BSTFA con acetonitrilo y piridina ha sido empleada por otros autores [11, 19].

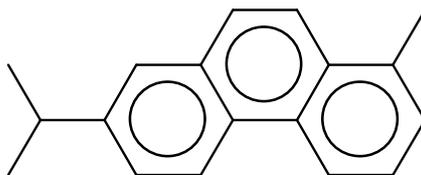
Se realizaron cuatro réplicas de la derivatización en presencia de piridina. Las condiciones de reacción y los resultados obtenidos están resumidos en la tabla 16. Se observó que al emplear piridina, no se formaban los di-TMS derivados, y además la señal analítica era mayor.

El volumen de piridina empleado influye considerablemente en la señal analítica. Así, el empleo de 50 μL de piridina en lugar de los 20 μL aumenta el área del pico cromatográfico casi un 30 %. Sin embargo, el empleo de acetonitrilo no influye en la señal analítica, pero si mejora la reproducibilidad de la reacción. De acuerdo con estos resultados, se fijaron las condiciones óptimas para derivatizar el levoglucosan presente en el aerosol atmosférico:

- (a) Añadir 100 μL de BSTFA + 50 μL piridina + 100 μL acetonitrilo.
- (b) Mantener a 80 °C durante 1 hora.
- (c) Eliminar exceso de reactivo con nitrógeno.
- (d) Disolver en isooctano.

3.3.2. Análisis de reteno.

El reteno es un hidrocarburo aromático policíclico presente en la fracción orgánica del aerosol atmosférico. Su presencia está asociada a la quema de biomasa, por lo que es muy empleado como marcador de los incendios forestales. La estructura química de este compuesto es:



Este compuesto ha sido cuantificado con facilidad mediante GC/MS empleando columnas apolares [20]. Su espectro de masas se caracteriza por un pico base m/z 219, que se corresponde a la pérdida de metilo, y un ión molecular m/z 234 de gran intensidad.

El reteno es un hidrocarburo poliaromático, por lo que se debe recoger en la segunda fracción de la etapa de fraccionamiento empleada.

Con objeto de confirmar su elución y evaluar su recuperación, se prepararon 4 columnas de gel de sílice a las que se les añadieron 100 μL de reteno de $50 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ en cabeza de columna y se hicieron pasar los 4 eluyentes. El reteno fue recogido íntegramente en la segunda fracción, con recuperaciones próximas al 90 %. Los resultados obtenidos están recogidos en la tabla 17.

3.4. Inconvenientes del análisis de compuestos polares.

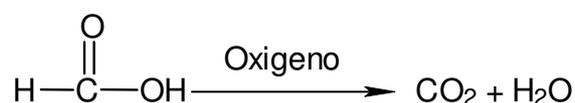
El análisis de ácidos carboxílicos ha revelado un problema que no se había detectado anteriormente. Se ha observado que la inyección consecutiva de ácidos carboxílicos disminuye el número de especies identificadas. Con una columna apolar nueva es posible cuantificar ácidos carboxílicos de 30 átomos de carbono. Sin embargo, después de algunas inyecciones no es posible identificar ácidos carboxílicos de más de 18 átomos de carbono.

La figura 6 presenta dos cromatogramas empleando las mismas condiciones cromatográficas. El cromatograma superior se corresponde con la inyección de un patrón de ácidos carboxílicos en una columna nueva, mientras que el inferior representa el mismo patrón de ácidos carboxílicos después de haber realizado 15 inyecciones.

Se ha producido una pérdida sustancial de la capacidad analítica para identificar ácidos carboxílicos. Este problema también se ha manifestado en otras especies polares como los alcoholes, mientras que no se ha observado para especies alifáticas como alcanos y PAHs. La pérdida de eficacia se debe a que se ha producido una degradación en la columna cromatográfica. La creación de puntos activos a lo largo de la columna impide progresar los compuestos polares más pesados a través del sistema cromatográfico, y por consiguiente no llegan al detector.

La fase estacionaria empleada, (5%-fenil)-dimetilpolisiloxano, puede ser dañada por la inyección de ácidos inorgánicos y bases. Se sospecha que la degradación de la fase estacionaria pueda ser debida a la presencia de un compuesto ácido en la mezcla de reacción. En la metodología analítica se emplea un 5 % de ácido fórmico diluido en metanol para eluir los ácidos carboxílicos. De este modo, si la eliminación de este compuesto mediante corriente de nitrógeno no ha sido completa, pueden quedar restos de ácido fórmico en la mezcla de reacción y ser el causante de la degradación de la fase estacionaria.

De este modo parece necesario eliminar el ácido fórmico de la mezcla de reacción antes de realizar la derivatización. El ácido fórmico es el ácido carboxílico de más bajo peso molecular y presenta la particularidad de ser el único con poder reductor, gracias al doble enlace carbono oxígeno que presenta, por lo que puede ser oxidado fácilmente a CO₂ y H₂O. Una alternativa para eliminar el exceso de ácido fórmico es realizar la concentración de la cuarta fracción con una corriente de aire, para favorecer la siguiente reacción:



Según esta reacción se produciría la completa eliminación del ácido fórmico, quedando únicamente los compuestos ácidos. A partir de entonces se podría derivatizar la mezcla de reacción sin la presencia del ácido fórmico. Este proceso de eliminación de la mezcla de reacción está actualmente en estudio.

4. Conclusiones.

Se ha procedido a desarrollar una metodología analítica para el análisis de los compuestos orgánicos presentes en las fracciones $PM_{1-2.5}$ y $PM_{2.5-10}$ del aerosol atmosférico. El desarrollo analítico ha incluido una optimización de la etapa de extracción, en la cual se han evaluado 3 métodos diferentes: Soxhlet, ultrasonidos y microondas.

La elección del procedimiento de extracción se ha basado en dos parámetros: la recuperación obtenida para los analitos de interés y la limpieza de los blancos. Las extracciones mediante ultrasonidos y microondas presentaron recuperaciones similares al Soxhlet, siendo los blancos de la extracción con microondas mucho más bajos que los obtenidos mediante la extracción Soxhlet y con ultrasonidos. Así pues, de acuerdo con las dos premisas establecidas, la extracción mediante el empleo de radiación de microondas se postula como la alternativa más eficaz para el análisis de la composición orgánica en la fracción fina del aerosol atmosférico.

Con el empleo de la radiación de microondas se consiguió disminuir la señal de los blancos considerablemente. Únicamente la presencia de ácido palmítico es reseñable y debe ser tomada en cuenta en la cuantificación.

Se ha puesto de manifiesto la necesidad de utilizar procedimientos de limpieza muy exhaustivos que eviten la contaminación, ya que el rango de concentraciones en el que se trabaja es muy bajo.

Por otro lado se ha procedido a optimizar la etapa de derivatización con el objetivo de aumentar el número de especies analizadas. Esta nueva etapa de derivatización emplea una mezcla de acetonitrilo y piridina como medio apolar, ya que favorece la reacción de derivatización con BSTFA, lo que permite identificar compuestos que antes no eran derivatizados, como es el caso del levoglucosan.

Así pues, el análisis de levoglucosan y retno, dos marcadores típicos de la quema de biomasa, proporciona información extra sobre el origen del material particulado.

Se ha comprobado que el análisis de la fracción orgánica del aerosol atmosférico, concretamente el análisis de los ácidos carboxílicos, produce una degradación de la columna cromatográfica, que impide la cuantificación de los ácidos de mayor peso molecular. Esta degradación en la columna se ha relacionado con la presencia de puntos activos en la fase estacionaria, posiblemente creados por el ácido fórmico, que retienen permanentemente los ácidos más pesados impidiendo que alcancen el detector. Se ha establecido que la degradación de la columna empieza a producirse después de haber inyectado 10-20 muestras de ácidos carboxílicos.

Actualmente se están realizando estudios para evitar la degradación de la columna cromatográfica y se alargue la vida útil de ésta.

5. Referencias.

- [1] E. Gerasopoulos, G. Kouvarakis, P. Babasakalis, M. Vrekoussis, J.P. Putaud, N. Mihalopoulos. (2006). Origin and variability of particulate matter (PM10) mass concentrations over the eastern Mediterranean. *Atmospheric Environment* 40, 4679-4690.
- [2] Directiva 2008/50/CE del Parlamento Europeo y del Consejo, 21 de mayo de 2008.
- [3] O. Pindado, R.M^a. Pérez, S. García, M. Sánchez, P. Galán, M. Fernández. (2009). Characterization and sources assignation of PM2.5 organic aerosol in a rural area of Spain. *Atmospheric Environment* 43, 2796-2803.
- [4] X. Querol, A. Alastuey, M.M. Viana, S. Rodríguez, B. Artiñano, P. Salvador, S. Garcia do Santos, R. Fernández, C.R. Ruiz, J. de la Rosa, A. Sánchez, M. Menéndez, J.I. Gil. (2004). Speciation and origin of PM10 and PM2.5 in Sapin. *Aerosol Science* 35, 1151-1172.
- [5] S.J. Dutton, S. Vedal, R. Piedrahita, J.B. Milford, S.L. Miller, M.P. Hannigan. (2010). Source apportionment using positive matrix factorization on daily measurements of inorganic and organic speciated PM2.5. *Atmospheric Environment* 44, 2731-2741.
- [6] S. Lee, W. Liu, Y. Wang, A.G. Russell, E.S. Edgerton. (2008). Source apportionment of PM2.5: comparing PMF and CMB results for four ambient monitoring sites in the southeastern United States. *Atmospheric Environment* 42, 4126-4137.
- [7] R. Hitzenberger, A. Berner, Z. Galambos, W. Maenhaut, J. Cafmeyer, J. Schwarz, K. Müller, G. Spindler, W. Wieprecht, K. Acker, R. Hillamo, T. Mäkelä. (2004). Intercomparison of methods to measure the mass concentration of the atmospheric aerosol during INTERCOMP2000 – influence of instrumentation and size cuts. *Atmospheric Environment* 38, 6476-6476.
- [8] B.T. Mader, J.J. Schauer, J.H. Seinfeld, R.C. Flagan, J.Z. Yu, H. Yang, H.J. Lim, B.J. Turpin, J.T. Deminter, G. Heidemann, M.S. Bae, P. Quinn, T.

- Bates, D.J. Eatough, B.J. Huebert, T. Bertram, S. Howell. (2003). Sampling methods used for the collection of particle-phase organic and elemental carbon during ACE-Asia. *Atmospheric Environment* 37, 1435-1449.
- [9] Y. Cheng, S.M. Li, A. Leithhead, P.C. Brickell, W.R. Leitch. (2004). Characterizations of cis-pinonic acid and n-fatty acids on fine aerosols in the Lower Fraser Valley during Pacific 2001 Air Quality Study. *Atmospheric Environment* 38, 5789-5800.
- [10] Bi, X., G. Sheng, P. an Peng, Z. Zhang, J. Fu. (2002). Extractable organic matter in PM₁₀ from LiWan district of Guangzhou City, PR China. *The Science of The Total Environment* 300, 213-228.
- [11] D. Fabbri, S. Modelli, C. Torri, A. Cemin, M. Ragazzi, P. Scaramuzza. (2008). GC-MS determination of levoglucosan in atmospheric particulate matter collected over different filter materials. *Journal Environment and Monitoring* 10, 1519-1523.
- [12] D. de Almeida, C. Yara, F. Radler. (2002). Identification and seasonal variation of atmospheric organic pollutants in Campos dos Goytacazes, Brazil. *Atmospheric Environment* 36, 2383-2395.
- [13] C. Pio, C. Alves, A. Duarte (2001). Organic components of aerosols in a forested area of central Greece. *Atmospheric Environment* 35, 389-401.
- [14] J. Yu, R.C. Flagan, J.H. Seinfeld. (1998). Identification of Products Containing -COOH, -OH, and -C=O in Atmospheric Oxidation of Hydrocarbons. *Environment Science & Technology*. 32, 2357-2370
- [15] O. Pindado, R. Pérez, S. García, A.I. Barrado, M.L. Sevillano, D. González. Desarrollo de metodologías para la determinación de componentes orgánicos del aerosol atmosférico. Informes técnicos CIEMAT, 1090 Septiembre 2006.
- [16] O. Pindado. Caracterización de la fracción orgánica del aerosol atmosférico en una zona rural de Madrid mediante el empleo de técnicas cromatográficas. Tesis doctoral. Universidad Complutense de Madrid. 2009.

- [17] Determinación de compuestos orgánicos en las fracciones PM1-PM2.5 y PM2.5-PM10. Departamento de Tecnología, División de Química. Código del procedimiento QM-PT-TC06.
- [18] B. R. T. Simoneit, J. J. Schauer, C. G. Nolte, D. R. Oros, V. O. Elias, M. P. Fraser, W. F. Rogge, G. R. Cass. (1999). Levoglucosan, a tracer for cellulose in biomass burning and atmospheric particles. *Atmospheric Environment* 33, 173-182.
- [19] Z. Zdrahal, J. Oliveira, R. Vermeyler, M. Claeys, W. Maenhaut. (2001). Improved Method for Quantifying Levoglucosan and Related Monosaccharide Anhydrides in Atmospheric Aerosols and Application to Samples from Urban and Tropical Locations. *Environmental Science & Technology* 36, 747-753.
- [20] G.C.M. Zamperlini, M.R.S. Silva and W. Vilegas. (1997). Identification of polycyclic aromatic hydrocarbons in sugar cane soot by gas chromatography-mass spectrometry. *Chromatographia* 46, 655-663.

6. Anexos.

Tabla 1: Disoluciones de calibración de alcanos.

Concentración (mg·L ⁻¹)	Volumen			
	Patrón alcanos	1- clorododecano	Hexano	Total
5	20 µL patrón 25 mg·L ⁻¹	10 µL	70 µL	100 µL
2.5	10 µL patrón 25 mg·L ⁻¹	10 µL	80 µL	100 µL
1	4 µL patrón 25 mg·L ⁻¹	10 µL	86 µL	100 µL
0.5	50 µL patrón 1 mg·L ⁻¹	10 µL	40 µL	100 µL
0.25	25 µL patrón 1 mg·L ⁻¹	10 µL	65 µL	100 µL
0.1	10 µL patrón 1 mg·L ⁻¹	10 µL	80 µL	100 µL
0.05	50 µL patrón 100 µg·L ⁻¹	10 µL	40 µL	100 µL
0.025	25 µL patrón 100 µg·L ⁻¹	10 µL	65 µL	100 µL

Tabla 2: Disoluciones de calibración de PAHs.

Concentración (µg ·L ⁻¹)	Volumen			
	Patrón PAHss	Fenantreno D10 (10 mg·L ⁻¹)	Hexano	Total
2000	20 µL patrón 10 mg·L ⁻¹	10 µL	70 µL	100 µL
1000	10 µL patrón 10 mg·L ⁻¹	10 µL	80 µL	100 µL
500	50 µL patrón 1 mg·L ⁻¹	10 µL	40 µL	100 µL
250	25 µL patrón 1 mg·L ⁻¹	10 µL	65 µL	100 µL
100	10 µL patrón 1 mg·L ⁻¹	10 µL	80 µL	100 µL
50	50 µL patrón 100 µg·L ⁻¹	10 µL	40 µL	100 µL
25	25 µL patrón 100 µg·L ⁻¹	10 µL	65 µL	100 µL
10	10 µL patrón 100 µg·L ⁻¹	10 µL	80 µL	100 µL

Tabla 3: Disoluciones de calibración de alcoholes.

Concentración (mg·L ⁻¹)	Volumen	
	Patrón alcoholes	Palmítico D ₃₁ (10 mg·L ⁻¹)
25	250 µL patrón 100 mg·L ⁻¹	10 µL
15	150 µL patrón 100 mg·L ⁻¹	10 µL
10	100 µL patrón 10 mg·L ⁻¹	10 µL
7.5	75 µL patrón 10 mg·L ⁻¹	10 µL
5	50 µL patrón 10 mg·L ⁻¹	10 µL
2.5	25 µL patrón 10 mg·L ⁻¹	10 µL
1	100 µL patrón 1 mg·L ⁻¹	10 µL
0.5	50 µL patrón 1 mg·L ⁻¹	10 µL

Tabla 4: Disoluciones de calibración de ácidos.

Concentración (mg·L ⁻¹)	Volumen	
	Patrón ácidos	Palmítico D ₃₁ (100 mg·L ⁻¹)
25	250 µL patrón 100 mg·L ⁻¹	50 µL
15	150 µL patrón 100 mg·L ⁻¹	50 µL
10	100 µL patrón 10 mg·L ⁻¹	50 µL
7.5	75 µL patrón 10 mg·L ⁻¹	50 µL
5	50 µL patrón 10 mg·L ⁻¹	50 µL
2.5	25 µL patrón 10 mg·L ⁻¹	50 µL
1	100 µL patrón 1 mg·L ⁻¹	50 µL
0.5	50 µL patrón 1 mg·L ⁻¹	50 µL

Tabla 5: Recuperaciones de la extracción Soxhlet con la mezcla diclorometano/acetona (3:1).

Compuesto	% Recuperación	Compuesto	% Recuperación
Alcano C ₁₈	121	Alcohol C ₁₅	93
Alcano C ₁₉	137	Alcohol C ₁₆	90
Alcano C ₂₀	108	Alcohol C ₁₈	88
Alcano C ₂₁	108	Alcohol C ₂₀	86
Alcano C ₂₂	96	Alcohol C ₂₂	84
Alcano C ₂₃	89	Ácido C ₁₂	96
Alcano C ₂₄	98	Ácido C ₁₃	91
Alcano C ₂₅	92	Ácido C ₁₄	97
Alcano C ₂₆	89	Ácido C ₁₅	92
Alcano C ₂₇	88	Ácido C ₁₆	117
Alcano C ₂₈	86	Ácido C ₁₇	91
Alcano C ₂₉	77	Ácido C ₁₈	101
Alcano C ₃₀	69	Ácido C ₁₉	88
Alcohol C ₁₂	89	Ácido C ₂₀	85
Alcohol C ₁₃	86	Ácido C ₂₁	86
Alcohol C ₁₄	90	Ácido C ₂₂	75

Tabla 6: Recuperación de alcanos extraídos por ultrasonidos.

Alcano	0,5 mg·L ⁻¹			5 mg·L ⁻¹		
	(A)	(B)	% Recuperado	(C)	(D)	% Recuperado
C ₁₅	0,0	0,0	2	1,9	1,0	30
C ₁₆	0,4	0,4	84	1,7	1,5	32
C ₁₇	0,3	0,3	54	1,6	2,8	44
C ₁₈	0,3	0,2	53	2,0	4,3	63
C ₁₉	0,4	0,2	60	2,4	6,1	85
C ₂₀	0,4	0,3	71	2,4	7,5	99
C ₂₁	0,5	0,4	94	2,7	8,6	113
C ₂₂	0,5	0,3	84	2,9	9,7	126
C ₂₃	0,5	0,3	78	2,8	9,9	127
C ₂₄	0,6	0,4	97	2,9	10,4	133
C ₂₅	0,6	0,4	95	3,1	10,6	137
C ₂₆	0,5	0,3	80	3,0	10,6	136
C ₂₇	0,5	0,3	82	3,3	10,9	141
C ₂₈	0,5	0,3	78	3,3	10,5	137
C ₂₉	0,5	0,3	79	2,9	8,8	116
C ₃₀	0,4	0,3	68	3,4	9,8	132
C ₃₁	0,7	0,3	102	2,6	6,4	90
C ₃₂	0,5	0,3	84	2,2	5,0	73
C ₃₃	0,7	0,3	102	1,6	3,2	47
C ₃₄	0,5	0,3	85	1,5	2,5	40
C ₃₅	0,6	0,3	85	1,2	1,5	27
C ₃₆	0,4	0,3	73	1,3	0,0	13
C ₃₇	0,4	0,3	79	1,0	0,8	18
C ₃₈	0,6	0,5	113	1,3	0,0	13
C ₃₉	0,7	0,7	135	1,2	0,6	18
C ₄₀	0,9	0,9	175	1,6	0,7	23

Tabla 7: Recuperación de PAHs extraídos por ultrasonidos.

PAHs	2 mg·L ⁻¹		
	(A)	(B)	% Recuperado
Np	0,9	0,5	34
Acy	1,8	1,7	89
Ace	1,7	1,6	82
F	2,8	3,0	144
Ph	2,8	3,1	149
An	2,1	2,3	112
Fl	2,8	3,5	156
Py	2,6	3,3	148
BaA	3,3	4,4	191
Cri	2,4	3,2	139
BbF	2,2	3,3	137
BkF	1,7	2,5	104
BaP	1,4	2,0	85
InPy	1,0	1,4	60
DBA	1,5	1,8	83
BghiPe	1,1	1,3	60

Tabla 8: Recuperación de alcoholes extraídos por ultrasonidos.

Alcohol	0,5 mg·L ⁻¹			5 mg·L ⁻¹		
	(A)	(B)	% Recuperado	(C)	(D)	% Recuperado
C ₁₂	0,2	0,4	61	3,3	1,9	52
C ₁₃	0,5	0,6	116	3,9	2,8	67
C ₁₄	0,5	0,6	115	4,6	4,0	86
C ₁₅	0,3	0,5	79	5,0	4,6	96
C ₁₆	0,4	0,7	118	5,4	5,0	104
C ₁₈	0,4	0,7	111	5,6	5,9	115
C ₂₀	-	0,3	61	5,4	5,8	111
C ₂₂	0,3	0,5	81	5,0	5,4	104

Tabla 9: Recuperación de ácidos extraídos por ultrasonidos.

Ácido	0,5 mg·L ⁻¹			5 mg·L ⁻¹		
	(A)	(B)	% Recuperado	(C)	(D)	% Recuperado
C ₁₀		2,6	529	10,0	4,4	144
C ₁₁		1,6	321	7,2	5,5	127
C ₁₂	2,4	3,1	550	7,1	8,2	152
C ₁₃	0,5	0,8	127	4,5	5,4	99
C ₁₄	2,8	4,2	703	9,0	10,0	190
C ₁₅	1,8	2,2	400	5,6	6,7	123
C ₁₆	14,0	19,2	3318	31,5	21,5	531
C ₁₇	0,5	1,2	171	4,0	4,9	89
C ₁₈	6,2	19,6	2584	24,8	14,7	395
C ₁₉		0,5	95	2,8	3,6	63
C ₂₀		1,0	201	3,1	4,0	71
C ₂₁		0,4	71	2,7	3,4	60
C ₂₂		0,9	184	4,2	5,5	97
C ₂₃		0,0	10	5,5	6,6	121
C ₂₄		2,1	419	16,1	20,9	370

Tabla 10: Recuperación de alcanos extraídos por microondas.

Alcano	10 mg·L ⁻¹			5 mg·L ⁻¹		
	(A)	(B)	% Recuperado	(C)	(D)	% Recuperado
C ₁₁	5,8	0,1	29	0,0	0,0	0
C ₁₂	9,4	2,2	58	4,2	5,7	99
C ₁₃	11,1	2,8	69	4,8	5,2	100
C ₁₄	13,9	7,0	105	4,6	5,7	103
C ₁₅	15,5	12,2	138	8,1	10,7	188
C ₁₆	16,6	16,0	163	5,8	6,4	121
C ₁₇	16,9	17,2	170	4,1	5,1	92
C ₁₈	17,2	18,0	176	4,4	5,5	99
C ₁₉	15,9	16,5	162	4,3	5,4	96
C ₂₀	13,4	13,6	135	4,2	4,9	92
C ₂₁	7,4	7,9	77	4,9	6,0	109
C ₂₂	8,1	8,4	83	4,3	4,9	92
C ₂₃	8,5	8,9	87	5,6	7,7	133
C ₂₄	8,7	9,2	89	4,3	5,1	95
C ₂₅	8,2	8,8	85	4,8	5,5	103
C ₂₆	7,8	8,4	81	4,0	4,3	83
C ₂₇	7,7	8,4	81	3,7	6,4	101
C ₂₈	7,8	8,6	82	3,9	4,0	79
C ₂₉	8,5	9,3	89	3,8	4,9	87
C ₃₀	9,1	9,9	95	3,9	4,4	83
C ₃₁	9,6	10,4	100	3,9	5,7	96
C ₃₂	10,0	10,6	103	3,7	4,2	78
C ₃₃	10,5	11,0	107	3,4	3,9	73
C ₃₄	11,1	11,2	112	3,3	3,7	70
C ₃₅	10,9	10,8	108	2,7	3,0	57
C ₃₆	12,5	12,6	125	2,1	2,4	45
C ₃₇	11,1	11,0	110	1,6	1,8	34
C ₃₈	11,7	11,7	117	1,8	1,7	35
C ₃₉	11,0	10,8	109	1,6	1,8	34
C ₄₀	11,0	11,1	111	1,8	2,0	38

Tabla 11: Recuperación de PAHs extraídos por microondas.

PAHs	0,25 mg·L ⁻¹			1 mg·L ⁻¹		
	(A)	(B)	% Recuperado	(C)	(D)	% Recuperado
Np	0,2	0,1	63	0,8	1,0	92
Acy	0,3	0,3	122	1,0	0,9	97
Ace	0,2	0,2	92	1,1	0,7	86
F	0,4	0,4	160	1,6	0,8	121
Ph	0,4	0,4	155	1,4	1,3	135
An	0,2	0,1	58	0,6	0,8	67
Fl	0,3	0,3	113	1,2	1,4	130
Py	0,2	0,2	67	0,9	1,4	116
BaA	0,5	0,4	169	1,0	0,9	98
Cri	0,2	0,2	82	1,1	1,6	137
BbF	0,2	0,2	84	1,0	1,2	110
BkF	0,2	0,2	75	0,9	1,6	125
BaP	0,3	0,2	94	0,5	0,7	63
InPy	0,3	0,3	124	0,8	1,0	92
DBA	0,3	0,3	135	0,9	0,9	90
BghiPe	0,1	0,1	48	0,6	0,9	75

Tabla 12: Recuperación de alcoholes extraídos por microondas.

Alcohol	1 mg·L ⁻¹			5 mg·L ⁻¹		
	Conc. 1	Conc. 2	% Recuperado	Conc. 3	Conc. 4	% Recuperado
C ₁₂	0,9	2,0	142	9,0	5,5	144
C ₁₃	0,7	1,1	91	6,7	4,2	109
C ₁₄	0,7	1,1	90	6,4	3,7	101
C ₁₅	0,3	0,7	50	5,0	3,2	82
C ₁₆	0,8	1,3	104	6,0	3,3	93
C ₁₈	0,7	0,8	73	5,1	3,1	82
C ₂₀	0,1	0,4	22	4,8	3,0	78
C ₂₂	0,5	0,7	57	4,9	2,9	78

Tabla 13: Recuperación de ácidos extraídos por microondas.

Ácido	1 mg·L ⁻¹			3 mg·L ⁻¹		
	(A)	(B)	% Recuperado	(C)	(D)	% Recuperado
C ₁₀	0,6	0,4	51	3,3	6,9	170
C ₁₁	0,6	0,4	52	2,5	3,2	95
C ₁₂	1,6	0,7	117	2,3	3,2	91
C ₁₃	1,3	0,7	99	2,1	3,4	92
C ₁₄	3,2	1,5	232	2,8	4,0	114
C ₁₅	2,3	1,1	170	2,3	3,5	97
C ₁₆	11,7	4,1	790	10,1	3,7	231
C ₁₇	2,1	1,1	163	2,3	3,2	91
C ₁₈	6,6	2,6	460	5,5	2,0	125
C ₁₉	1,2	0,7	99	3,3	3,5	113
C ₂₀	1,3	0,6	94	3,7	3,5	120
C ₂₁	0,9	0,5	70	2,7	5,0	128
C ₂₂	1,3	0,5	90	3,2	4,4	127
C ₂₃	1,1	0,5	78	2,6	4,1	112
C ₂₄	1,6	0,6	109	3,0	6,4	156

Tabla 14: Resultados de los ensayos de derivatización del levoglucosan.

Condiciones de reacción	Tri-TMS levoglucosan		Di-TMS levoglucosan	
	tr (min)	Área	tr (min)	Área
100 µL BSTFA, 80 °C, 1 hora	13.306	91.86	-	-
100 µL BSTFA, 80 °C, 2 hora	13.311	148.78	-	-
50 µL BSTFA, 80 °C, 1 hora	13.310	161.95	11.773	21.94
50 µL BSTFA, 80 °C, 2 hora	13.311	169.84	11.771	2.316

Tabla 15: Ensayo de derivatización de cuatro patrones de levoglucosan pasado por columna.

Patrón		tri-TMS			di-TMS	
Tr (min)	Área	tr (min)	Área	Rec (%)	tr (min)	Área
13.301	63.01	13.302	52.15	70	11.771	14.83
		13.302	63.84	83	11.769	4.63
		13.300	49.98	62	-	-
		13.301	63.01	133	-	-

Tabla 16: Ensayos de derivatización del levoglucosan empleando piridina.

Condiciones de reacción	Tri-TMS		Di-TMS	
	tr (min)	Área	tr (min)	Área
100 µL Lev (AcN) + 20 µL Piridina	13.312	93.26	-	-
100 µL Lev (AcN) + 50 µL Piridina	13.312	111.41	-	-
100 µL Lev (seco) + 20 µL Piridina	13.309	78.55	-	-
100 µL Lev (seco) + 50 µL Piridina	13.312	108.25	-	-

Tabla 17: Recuperación del reteno pasado por columna.

Patrón		1 ^a Fracción		2 ^a Fracción		
Tr (min)	Área	tr (min)	Área	tr (min)	Área	Rec (%)
32.842	4.05	-	-	32.843	3.68	91
		-	-	32.844	3.18	78
		-	-	32.838	3.91	96
		-	-	32.842	3.47	86

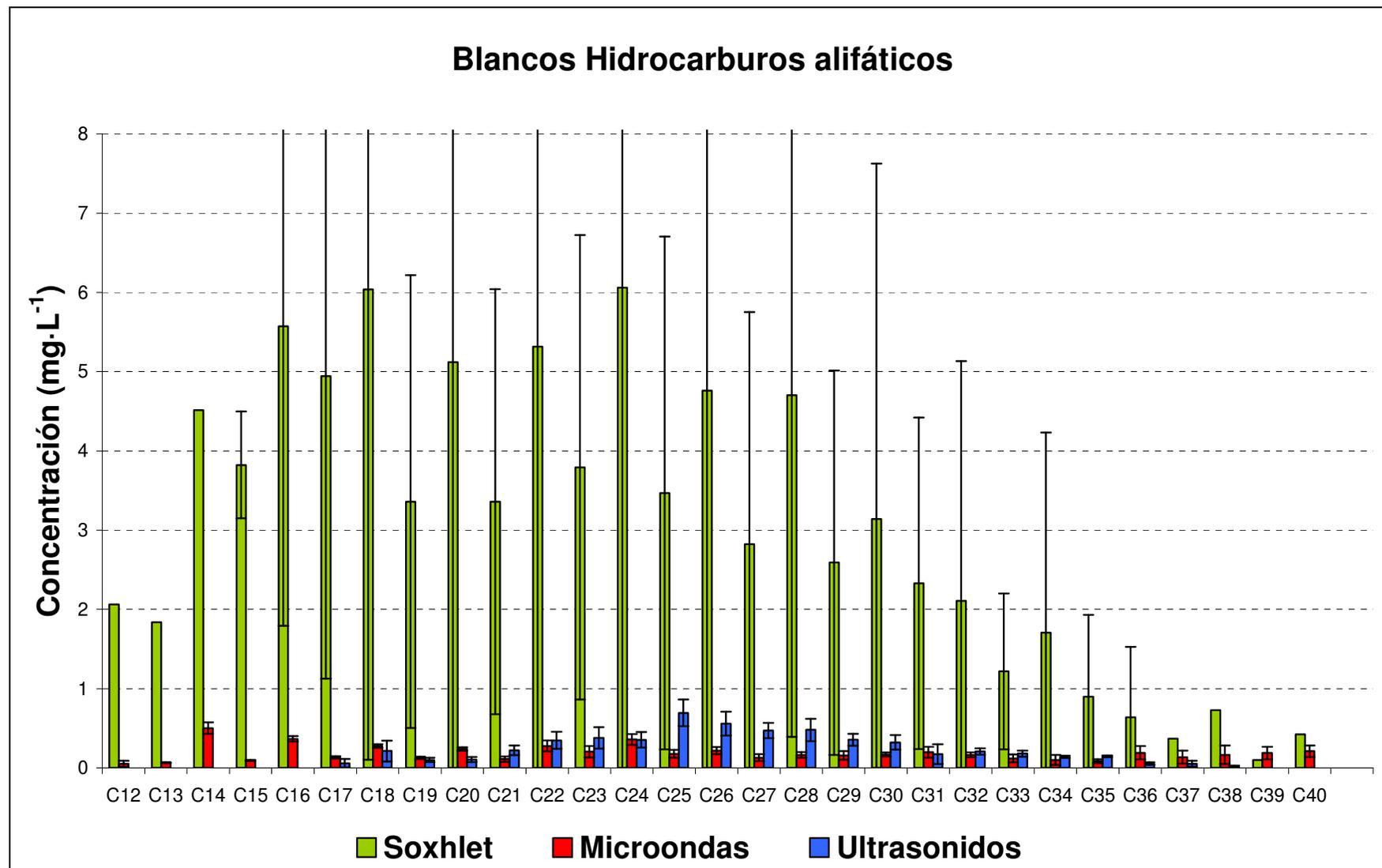


Figura 1: Blancos de la extracción de hidrocarburos alifáticos.

Blancos Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos

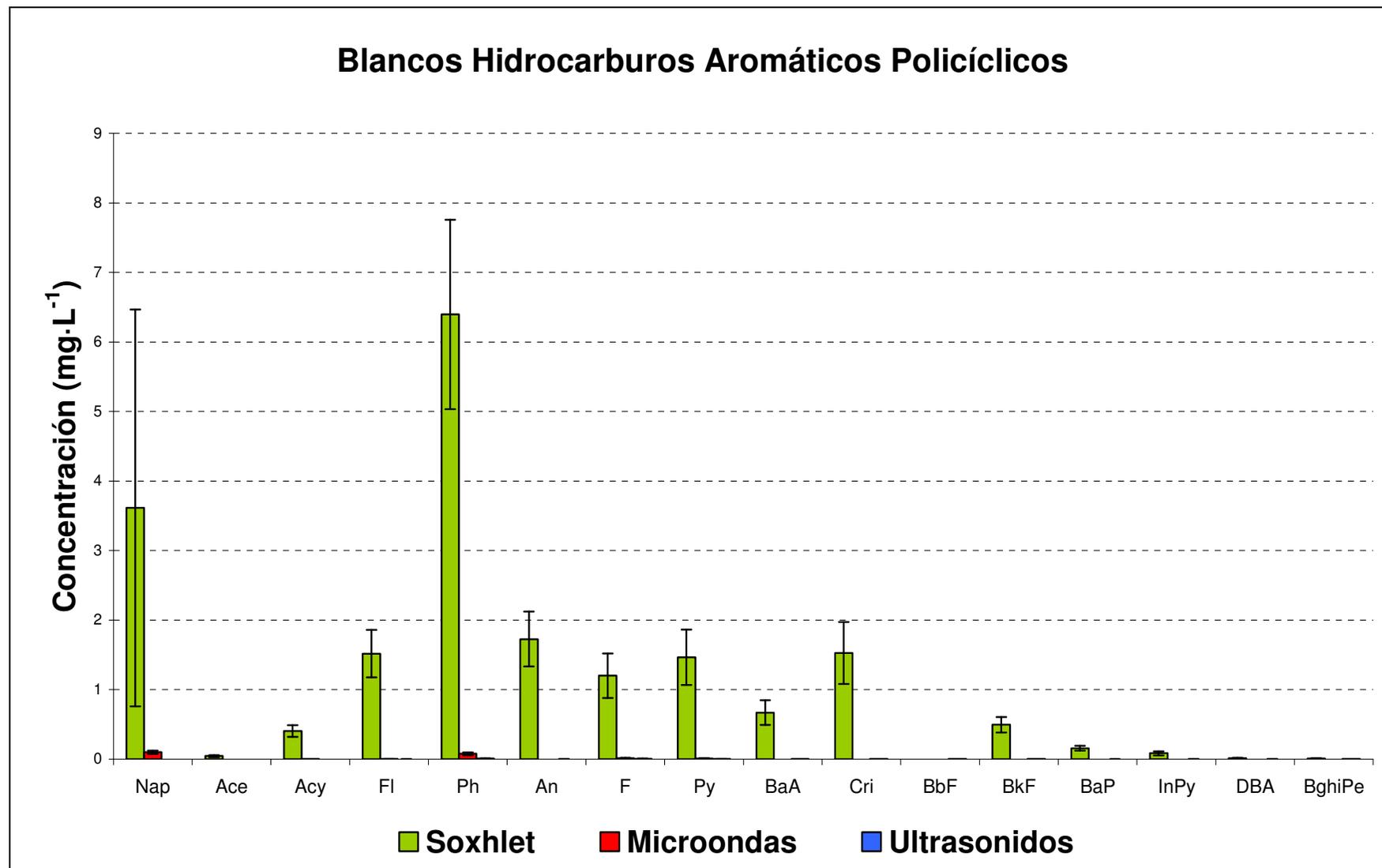


Figura 2: Blancos de la extracción de hidrocarburos aromáticos policíclicos.

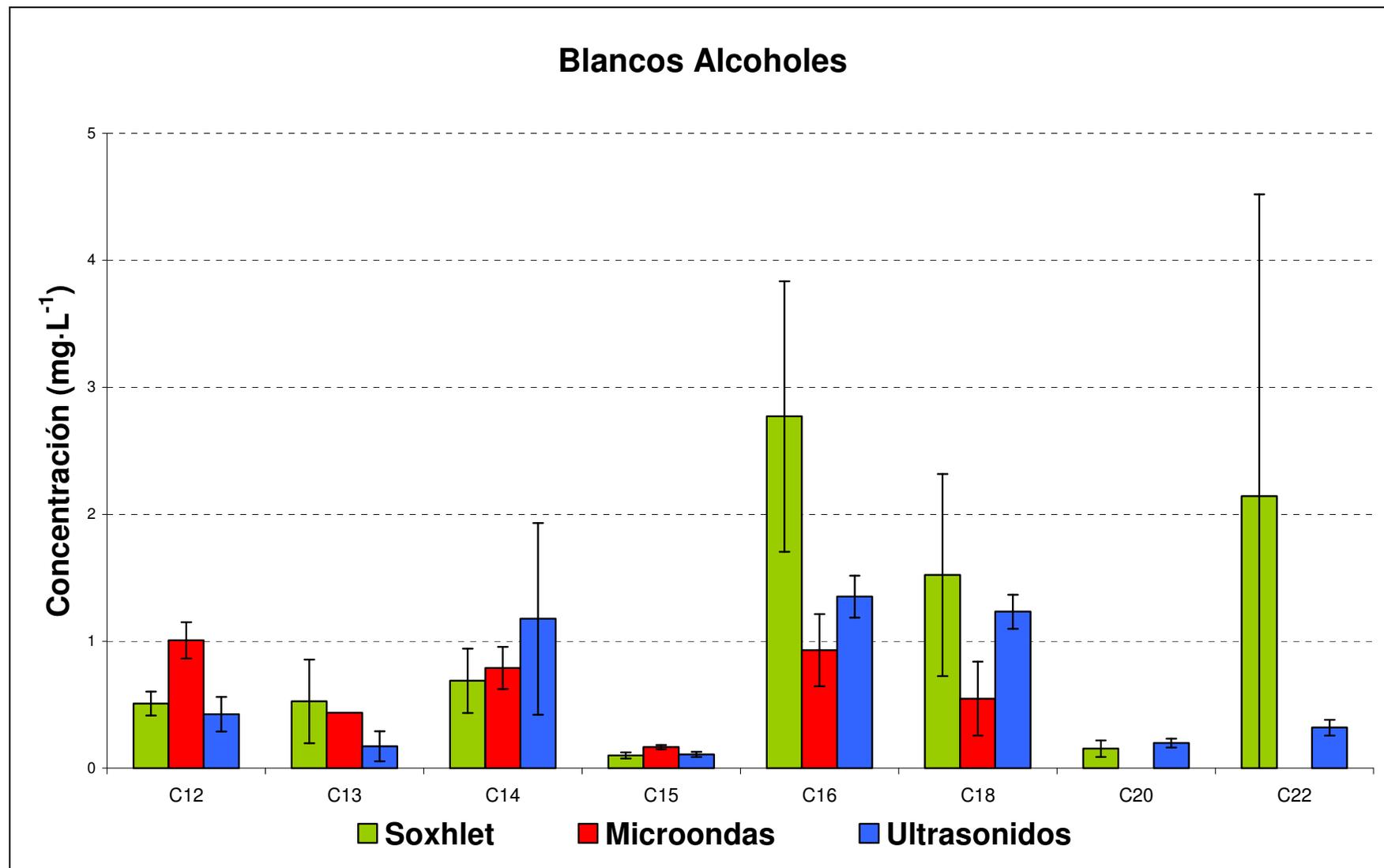


Figura 3: Blancos de la extracción de alcoholes.

Blancos Ácidos carboxílicos

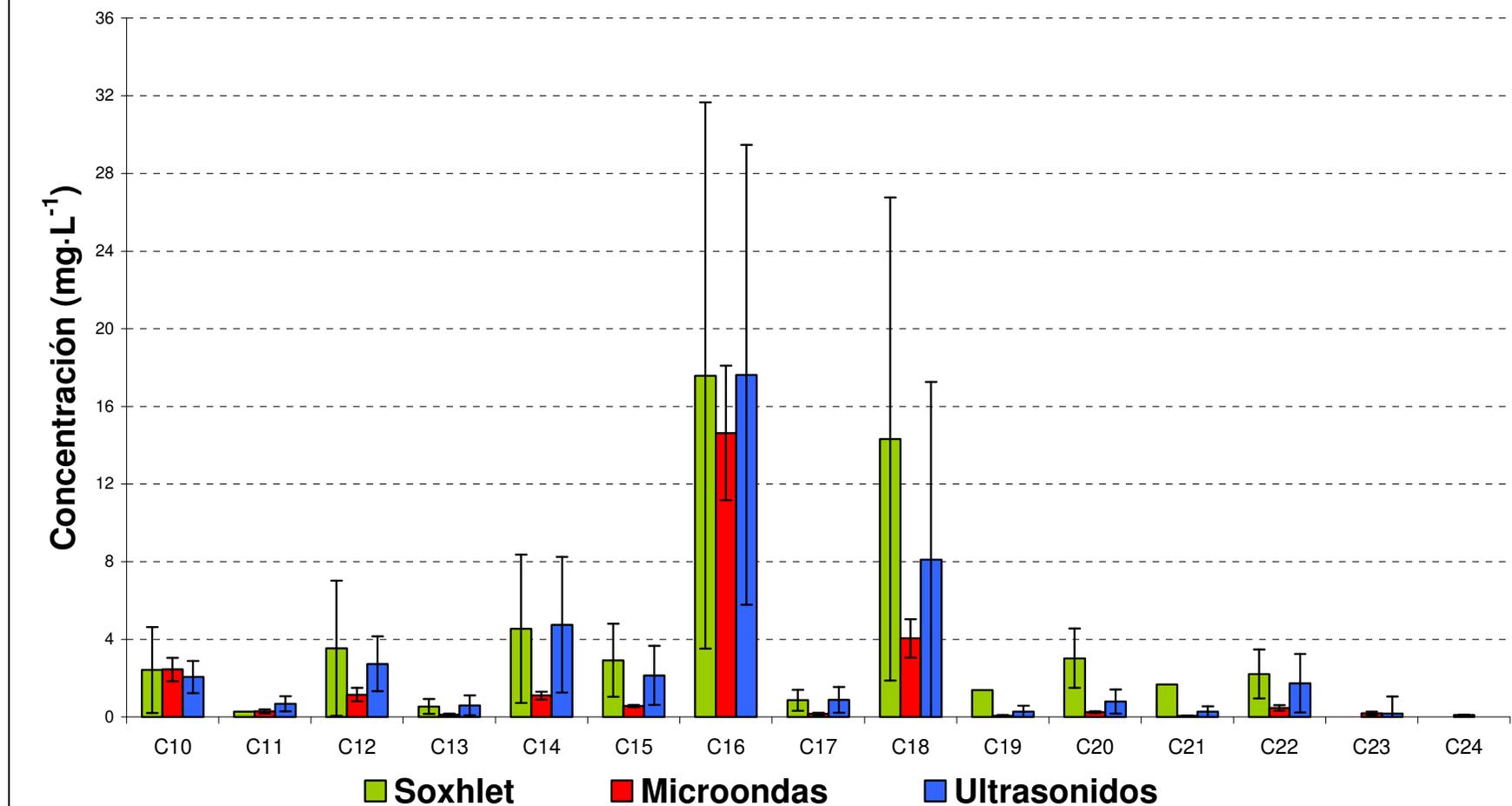


Figura 4: Blancos de la extracción de ácidos carboxílicos.

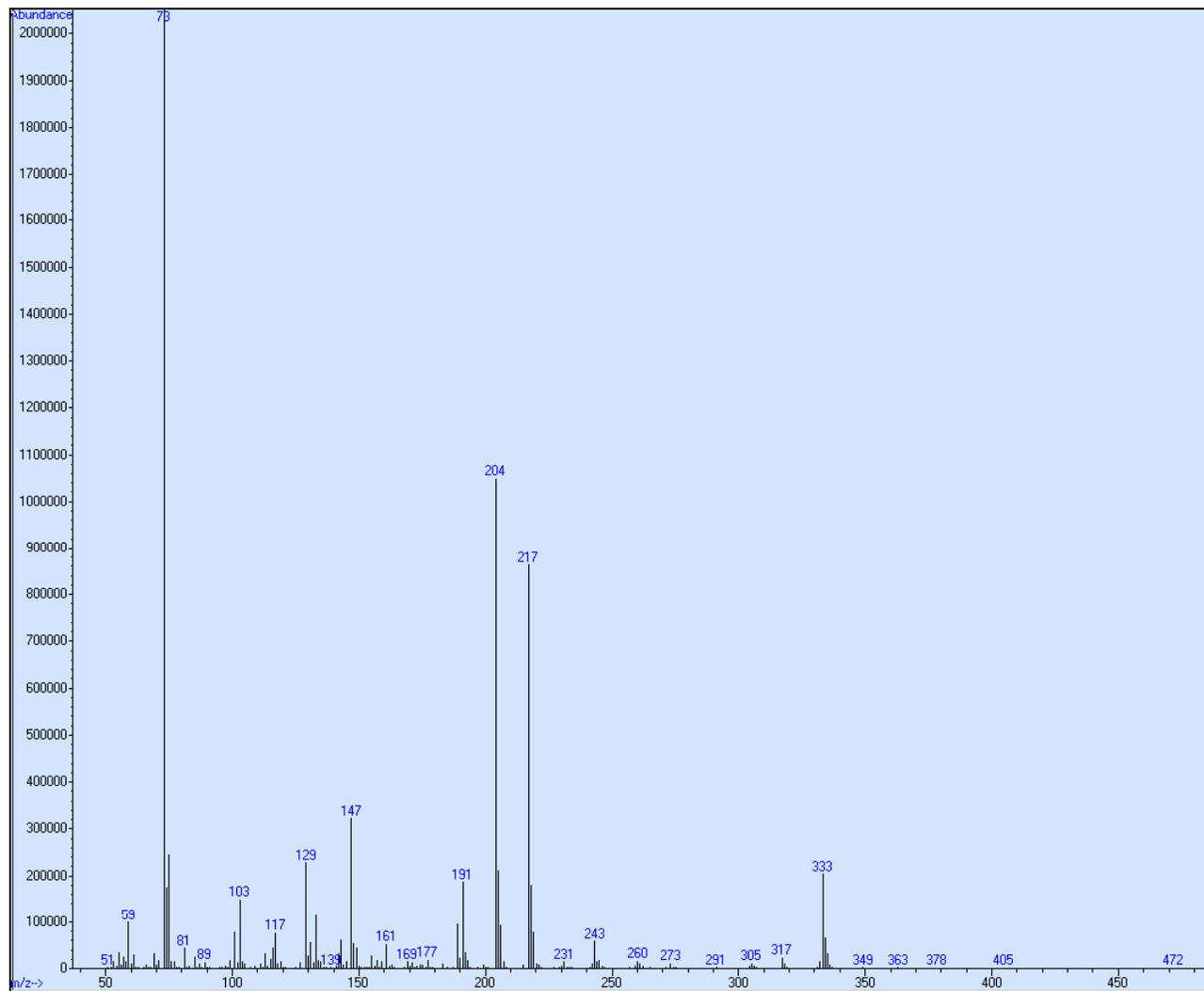


Figura 5: Espectro de masas del trimetilsilil derivado del levoglucosan.

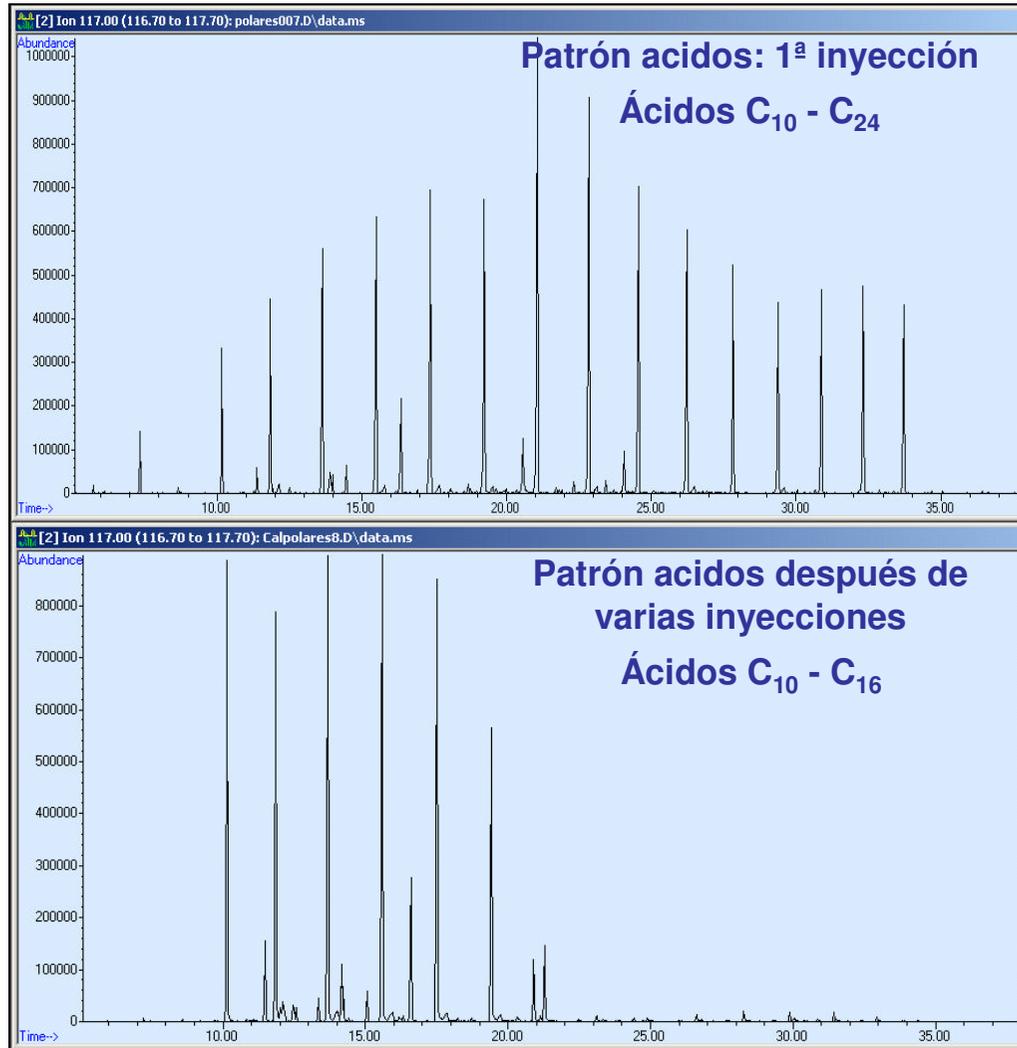


Figura 6: Cromatogramas de un patrón de ácidos inyectado en una columna antes y después de degradarse.

