

DESARROLLO DE METODOLOGÍAS ANALÍTICAS PARA LA DETERMINACIÓN DE COMPONENTES ORGÁNICOS DEL AEROSOL ATMOSFÉRICO

Memoria presentada por OSCAR PINDADO JIMÉNEZ para
obtener el CERTIFICADO-DIPLOMA DE ESTUDIOS AVANZADOS

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID

FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS

Departamento de Química Analítica

Directora: Dra. Rosa M^a Pérez Pastor (CIEMAT)

Tutelado por: Dra. M^a Eugenia de León González (UCM)

Madrid, 2006

Dra. Rosa M^a Pérez Pastor, Investigadora Titular de OPIs y Jefa de la Unidad de Cromatografía, de la División de Química, Departamento de Tecnología, del Centro de Investigaciones Energéticas, Medioambientales y Tecnológicas (CIEMAT).

Dra. M^a Eugenia de León González, Profesora Titular del Departamento de Química Analítica de la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad Complutense de Madrid (UCM)

HACEN CONSTAR: que el presente trabajo titulado “**DESARROLLO DE METODOLOGÍAS ANALÍTICAS PARA LA DETERMINACIÓN DE COMPONENTES ORGÁNICOS DEL AEROSOL ATMOSFÉRICO**” ha sido realizado por el Ldo. **Oscar Pindado Jiménez** bajo nuestra dirección en la Unidad de Cromatografía del CIEMAT, para garantizar la suficiencia investigadora del doctorando y obtener el Certificado-Diploma de Estudios Avanzados.

Madrid, 12 de Mayo de 2006

Fdo: Dra. Rosa M^a Pérez Pastor

Fdo: Dra. M^a Eugenia de León
González

El autor desea expresar su agradecimiento a todas aquellas personas y organismos que han contribuido a la realización con éxito de esta memoria.

En primer lugar quiero expresar mi agradecimiento al Ministerio de Educación y Ciencia, por subvencionar el proyecto "Caracterización del aerosol atmosférico en una zona rural del centro peninsular", así como al personal de la Comunidad de Madrid que realizó los muestreos de forma tan profesional durante un largo periodo de tiempo.

El siguiente trabajo ha sido realizado en la División de Química del CIEMAT, concretamente en la Unidad de Cromatografía. Por ello, deseo expresar mi agradecimiento al director de la División de Química, el Dr. José Pedro Díaz-Guerra, tanto por la confianza depositada en mí, como por las facilidades que he disfrutado.

A la Dra. Begoña Artiñano, jefa del grupo de Caracterización de la contaminación atmosférica del CIEMAT, por su total disposición al trabajo que he desarrollado.

A la Dra. M^a Eugenia de León González, por toda la ayuda prestada desde mi etapa de estudiante, así como por haber aceptado la tutoría del presente trabajo.

A la Dra. Susana García Alonso. Por haberme enseñado a mejorar dentro del laboratorio, ya que desde el primer día me ha dado su confianza y me ha apoyado en el trabajo, sobre todo en el análisis por cromatografía de líquidos.

A mis compañeros de trabajo; Ana, que sufrimos los mismos problemas de la investigación, a Domingo por ayudarme siempre que lo he

necesitado y a Marisa, por haberme enseñado tanto del trabajo como de la vida.

A mi familia. Nadie mejor que ellos para comprender mis problemas y mostrarse siempre comprensivos conmigo, a pesar de que en algunas ocasiones sea difícil entenderme. Gracias.

Por último quisiera dar mi agradecimiento a mi directora de tesis, la Dra. Rosa M^a Pérez Pastor, siempre preocupada por mi situación y dirigiéndome siempre en los momentos más difíciles. Sin su apoyo y comprensión nunca podría haber terminado este trabajo. Mi más sincero agradecimiento.

A Paloma, por su apoyo incondicional.

ABREVIATURAS Y ACRÓNIMOS	v
1. PRESENTACIÓN Y OBJETIVO	1
2. INTRODUCCIÓN	4
2.1. Generalidades de los aerosoles atmosféricos	5
2.1.1. Contaminación atmosférica.....	5
2.1.2. Definición de aerosoles atmosféricos.....	6
2.1.3. Fracción orgánica.....	9
2.1.3.1. Compuestos alifáticos.....	9
2.1.3.2. Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos.....	12
2.1.3.3. Alcoholes.....	15
2.1.3.4. Ácidos carboxílicos.....	17
2.2. Metodología analítica para el estudio de aerosoles	22
2.2.1. Toma de muestras.....	22
2.2.1.1. Captadores de alto volumen.....	23
2.2.2. Tratamiento de muestra.....	24
2.2.2.1. Procedimiento de extracción.....	24
2.2.2.1.1. Técnica de extracción líquido-líquido.....	24
2.2.2.1.2. Técnica de extracción Soxhlet.....	25
2.2.2.1.3. Técnica de extracción mediante ultrasonidos.....	25
2.2.2.1.4. Técnica de extracción mediante microondas.....	26

2.2.2.1.5 Técnica de ASE.....	27
2.2.2.2. Etapa de purificación o “Clean-up”	28
2.2.3. Análisis de la muestra	28
2.2.3.1. Etapa de derivatización.....	28
2.2.3.2. Análisis GC/MS	33
2.2.3.2.1. Cromatografía capilar	33
2.2.3.2.2. Espectrometría de masas	35
3. PARTE EXPERIMENTAL.....	37
3.1. Materiales y reactivos	38
3.1.1. Material de Muestreo	38
3.1.2. Equipos Cromatográficos.....	38
3.1.3. Equipos Auxiliares	38
3.1.4. Patrones, disolventes y reactivos	39
3.1.5. Material diverso.....	40
3.2. Procedimientos de limpieza	42
3.2.1. Limpieza del material volumétrico	42
3.2.2. Limpieza de los sistemas de extracción	42
3.2.2.1. Soxhlet.....	42
3.2.2.2. Microondas	43
3.2.3. Calcinación de filtros	43
3.3. Preparación de patrones y reactivos	44

3.4. Muestreo	47
3.4.1. Análisis gravimétrico	48
3.5. Extracción	51
3.5.1. Extracción con Soxhlet	51
3.5.2. Extracción mediante ultrasonidos	52
3.5.3. Extracción con microondas	53
3.6. Purificación o “Clean-up”	55
3.7. Derivatización	57
3.7.1. Reacción con BSTFA	57
3.7.2. Reacción con PFBHA+BSTFA	58
3.8. Análisis cromatográfico	59
3.8.1. Análisis de n-alcános	59
3.8.2. Análisis de PAHs	60
3.8.3. Análisis de alcoholes y ácidos	61
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	63
4.1. Etapa de extracción	64
4.1.1. Extracción Soxhlet	64
4.1.2. Extracción con ultrasonidos	69
4.1.3. Extracción con microondas	73
4.2. Etapa de purificación o “Clean-up”	77
4.3. Derivatización	83

4.4. Análisis cromatográfico	87
4.4.1. Alcanos.....	87
4.4.2. Alcoholes	90
4.4.3. Ácidos carboxílicos	92
4.5. Análisis de muestras de Chapinería	94
4.5.1. n-alcanos	94
4.5.2. PAHs	97
4.5.3. Alcoholes	99
4.5.4. Ácidos carboxílicos	102
5. CONCLUSIONES	106
REFERENCIAS	110
ANEXOS	115

Ace: Acenafteno.
Actlo: Acetonitrilo.
An: Antraceno.
ASE: Extracción Acelerada por Disolventes.
B[a]An: Benzo[a]Antraceno.
B[a]Py: Benzo[a]Pireno.
B[b]Fl: Benzo[b]fluoranteno.
B[k]Fl: Benzo[k]fluoranteno.
B[e]Py: Benzo[e]Pireno.
B[g,h,i]Pe: Benzo[g,h,i]Perileno.
BSA: N,O-bis (trimetilsilil) Acetamida.
BSTFA: N,O-bis (Trimetilsilil) Trifluoroacetamida.
CIEMAT: Centro de Investigaciones Energéticas Medioambientales y Tecnológicas.
Chry: Criseno.
CPI: Índice de Preferencia de Carbono.
dB[a,h]An: Dibenzo[a,h]Antraceno.
DMF: dialquilacetales.
EDC: Detector de Captura Electrónica.
F: Fluoreno.
FID: Detector de ionización de llama.
Fl: Fluoranteno.
GC: Cromatografía de gases.
GC/MS: Cromatografía de Gases acoplada a la Espectrometría de Masas.
HFBA: Anhídrido heptafluorobutírico.
HFBI: Heptafluorobutil imidazol.
HMDS: Hexametildisilazano
HPLC: Cromatografía de Líquidos de Alta Eficacia.
I[1,2,3-cd]Py: Indeno[1,2,3-cd]Pireno.
IUPAC: Unión Internacional de Química Aplicada y Pura
MeOH: Metanol.
MBTFA: N-metil-bis(trifluoroacetamida).
MS: Espectrometría de masas.
MSTFA: N-Metil-N-(Trimetilsilil) Trifluoroacetamida.
Np: Naptaleno.
LD: Límite de Detección.
LQ: Límite de Cuantificación.
OPI: Organismo Público de Investigación.
PAH's: Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos.
PFBBr: Pentafluorobencil de Bromo.
PFBCl: Pentafluorobencil cloruro.

- PFBHA:** O-(2,3,4,5,6-Pentafluorobencil)hidroxilamina.
- PFPA:** Anhídrido pentafluoropropionico.
- PFPI:** Pentafluoroacetil imidazol.
- PFPOH:** Pentafluoropropanol.
- Ph:** Fenantreno.
- PTFE:** Politetrafluoroetileno.
- Py:** Pireno.
- PM₁₀:** Partículas con diámetro aerodinámico inferior a 10 μm .
- PM_{2.5}:** Partículas con diámetro aerodinámico inferior a 2.5 μm .
- r:** Coeficiente de correlación
- RDS:** Desviación estándar relativa
- SOA:** Aerosol Orgánico Secundario.
- t-BDMS:** t-butildimetilsilil.
- TBH:** Hidróxido de tetrabutilamonio.
- TFAA:** Anhídrido trifluoroacético.
- TFAI:** Trifluoroacetil imidazol.
- TMCS:** Trimetilclorosilano.
- TMS:** Trimetilsilil.
- TMSDEA:** N-(Trimetilsilil) Dietilamina.
- TSIM:** N-(Trimetilsilil) Imidazol.
- UCM:** Mezcla de Componentes sin Resolver
- VOC:** Compuestos Orgánicos Volátiles.
- WNA:** n-alcanos proveniente de la cera de las hojas.

1. PRESENTACIÓN Y OBJETIVOS

El interés que en los últimos años ha alcanzado el estudio de la fracción orgánica del aerosol atmosférico se debe a los efectos que tiene sobre la salud humana, algunos de sus componentes son cancerígenos y mutagénicos, y al papel que desempeña en el cambio climático. El estudio de sus fuentes y composición química es fundamental para desarrollar los trabajos sobre la formación del aerosol orgánico secundario, uno de los temas prioritarios de investigación en química atmosférica propuestos por la Unión Europea.

Esta investigación tiene como objetivo desarrollar un procedimiento analítico para la determinación y cuantificación de diferentes compuestos orgánicos presentes en el material particulado del aerosol atmosférico. Este procedimiento abarcará todas las etapas del proceso analítico. Para ello se han desarrollado las siguientes etapas:

- Procedimiento de extracción.
- Etapa de fraccionamiento.
- Estudio de reactivos de derivatización.
- Optimización del análisis mediante técnicas cromatográficas.

Como aplicación del procedimiento analítico se han estudiado varias muestras de material particulado, en dos fracciones granulométricas diferentes, $PM_{2.5}$ y PM_{10} .

Este trabajo se incluye en las líneas de investigación que el Centro de Investigaciones Energéticas, Medioambientales y Tecnológicas (CIEMAT) está desarrollando en los últimos años, concretamente dentro de la Unidad de Cromatografía de la División de Química. El estudio forma parte de un proyecto de investigación del Ministerio de Educación

y Ciencia perteneciente al Plan Nacional de I+D de 2003 (REN2003-08604-C04) cuyo objetivo es la caracterización del aerosol atmosférico en una zona rural del centro peninsular. Asimismo, éste es parte de un proyecto coordinado en el ámbito nacional con otros organismos de La Coruña, País Vasco y Navarra, que tienen como objetivo la caracterización química y el origen de la materia particulada atmosférica en entornos rurales, urbanos e industriales en diferentes áreas geográficas de España.

2. INTRODUCCIÓN

2.1. GENERALIDADES DE LOS AEROSOLES ATMOSFÉRICOS

2.1.1. Contaminación Atmosférica

El contaminante se define como cualquier sustancia introducida directa o indirectamente por el hombre en el aire que pudiera tener efectos nocivos sobre la salud humana o el medio ambiente en su conjunto. Esta definición es la que se presenta en la Directiva 1999/30/CE del Consejo de la Unión Europea.

Las fuentes antropogénicas de contaminación atmosférica (o fuentes emisoras) son básicamente de dos tipos:

- Estáticas: éstas a su vez pueden subdividirse en fuentes zonales (producción agrícola, minas y canteras, zonas industriales), fuentes localizadas (fábricas de productos químicos, productos minerales no metálicos, industrias básicas de metales, centrales de generación de energía) y fuentes municipales (calefacción de viviendas y edificios, incineradoras de residuos municipales y fangos de cloacas, chimeneas, cocinas, servicios de lavandería y plantas de depuración),

- Móviles: como los vehículos con motor de combustión, por ejemplo vehículos ligeros con motor de gasolina, vehículos pesados y ligeros con motor diesel, motocicletas y aviones.

Existen también fuentes naturales de contaminación como son las zonas erosionadas, volcanes, ciertas plantas que liberan grandes cantidades de polen, focos bacteriológicos, esporas o virus [1].

La Directiva 1999/30/CE establece los valores límite de diferentes contaminantes atmosféricos, entre los que se encuentran las partículas, para evitar, prevenir o reducir los efectos nocivos en la salud humana y en el medio ambiente. Esta Directiva establece, a partir del 1

de Enero de 2005 el valor límite diario de $50 \mu\text{g}/\text{m}^3$ para PM_{10} que no podrá superarse en 35 ocasiones a lo largo del año. Este límite se reducirá a $40 \mu\text{g}/\text{m}^3$ el 1 de Enero de 2010, no pudiéndose superar en más de 7 ocasiones a lo largo del año. En esta directiva se establece el método de referencia para el muestreo y análisis gravimétrico de PM_{10} , y un método de referencia provisional para el muestreo y análisis gravimétrico de $\text{PM}_{2.5}$ [2].

2.1.2 Definición de aerosoles atmosféricos.

Un gran número de autores han propuesto diferentes definiciones para describir un aerosol. Todas ellas consideran el concepto de dispersión de partículas en el seno de un gas. En nuestro caso definiremos el aerosol atmosférico como un conjunto de partículas de tamaño microscópico, tanto sólidas como líquidas, que están dispersas en la atmósfera.

Dentro de las partículas que forman parte del aerosol atmosférico nos encontramos una gran diversidad en cuanto a la naturaleza (orgánica e inorgánica), origen (biogénico y antropogénico), forma y tamaño de éstas, pudiendo variar el diámetro entre los centímetros y las micras.

Debido a la gran diversidad de este material particulado, existen numerosas formas de clasificarlas. Una de las más empleadas es la que define al material particulado como primario y secundario, entendiéndose como partículas primarias, aquellas que han sido emitidas directamente por las diferentes fuentes, mientras que las partículas secundarias son aquellas que se han formado a partir de una reacción química atmosférica de distintas especies presentes en la atmósfera.

Por las características de este trabajo, donde se desarrolla una metodología analítica para determinar compuestos orgánicos en el material particulado del aerosol atmosférico, únicamente se citarán las fuentes que generan compuestos orgánicos. No obstante, se deben citar las erupciones volcánicas, o los aerosoles marinos, que a pesar de no contribuir a la fracción orgánica del aerosol, si son unas fuentes importantes de material particulado a la atmósfera. A continuación se enumeran las principales fuentes antropogénicas de material particulado.

- a) Quema de combustibles fósiles, fundamentalmente el empleo de diesel por parte de numerosos vehículos.
- b) Empleo de biomasa, que a pesar no afectar al cambio climático del planeta, si que produce una gran cantidad de partículas en la atmósfera.
- c) Incendios forestales.

Dentro de las fuentes biogénicas, las principales fuentes de emisión de compuestos orgánicos del material particulado en la atmósfera son [3,4,5]:

- a) Erosión producida por el viento.
- b) Caída de hojas.
- c) Degradación producida por microorganismos.
- d) Emisión de ceras por la vegetación.

Una de las mayores dificultades que plantea la caracterización de la fracción orgánica del aerosol atmosférico, se debe al elevado número de compuestos que la constituye. Además, la atmósfera es una gran reactor químico donde coexisten numerosas especies, tanto en forma gas, líquida o sólida, que junto a la presencia de oxidantes, la temperatura, la

luz solar, o los movimientos de masas de aire que se producen, facilitan la reactividad, pudiendo ocurrir prácticamente cualquier tipo de reacción química. Entre ellas están las que producen el Aerosol Orgánico Secundario (SOA). Este tipo de aerosol se genera cuando algunas especies presentes en la atmósfera, como son los compuestos orgánicos volátiles, cuyo acrónimo en inglés es VOC's, condensan sobre partículas pre-existentes en la atmósfera o bien mediante nucleación.

Numerosos trabajos han estudiado la formación de SOA, por ejemplo Ilias G. Kavouras [6] estudia la foto-oxidación de α y β pineno en un bosque de eucaliptos de Portugal, también el trabajo de Hideto Takekawa [7], donde se estudia la dependencia de la temperatura en la formación de SOA por foto-oxidación de hidrocarburos, el trabajo de Magda Claeys [8] donde se estudia la formación de SOA a partir de isopreno, o los trabajos publicados por Thorsten Hoffmann [9,10].

Como se mencionó anteriormente, el interés que presenta la caracterización de la materia particulada del aerosol atmosférico se debe a los efectos que tiene sobre el medio ambiente, el clima del planeta, sobre los ecosistemas, en la degradación de materiales y principalmente en la salud humana.

El tamaño de la materia particulada será fundamental a la hora de conocer sus efectos, así por ejemplo las partículas finas serán las que presentan mayores problemas para la salud humana, ya que pueden ser inhaladas por el ser humano provocando problemas en el aparato respiratorio. Son conocidas las propiedades mutagénicas y cancerígenas que presentan algunas especies que forman parte del aerosol atmosférico. Son varios los trabajos que relacionan la concentración de material particulado con la salud humana, como por ejemplo el trabajo de

Dockery en el que se relaciona la contaminación por material particulado fino y la mezcla de otros contaminantes con este mismo, con el aumento de mortalidad en ciertas ciudades estadounidenses [11].

2.1.3. Fracción orgánica

Numerosas familias de compuestos orgánicos forman parte del aerosol atmosférico. Se han llegado a detectar compuestos alifáticos, como alcanos y alquenos, PAH, aldehídos, cetonas, quinonas, alcoholes, fenoles, ftalatos, ésteres, ácidos y dioxinas, llegándose a identificar en algunas de las familias series homólogas completas.

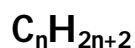
2.1.3.1 Compuestos alifáticos

El interés que presenta el análisis de n-alcanos en la fracción orgánica del aerosol atmosférico se debe a que se emplean como trazadores de la contaminación producida por los derivados del petróleo.

Los n-alcanos son productos naturales y están diseminados sobre la tierra. Su presencia en la atmósfera está estrechamente relacionada con la quema de combustibles derivados del petróleo (origen antropogénico), caracterizada por emitir n-alcanos con número par e impar de carbono en la misma proporción y por las emisiones producidas por la vegetación (origen biogénico) que se caracterizan por emitir n-alcanos con número impar de carbono.

Los alcanos son hidrocarburos alifáticos lineales que se caracterizan por tener una cadena abierta de átomos de carbono unidos por enlace C-C sencillo. Los alcanos son uno de los tres subgrupos que forman los hidrocarburos alifáticos: Alcanos (serie de parafinas) caracterizados por la existencia de enlaces sencillos entre los carbonos; Alquenos (Olefinas) las cuales tienen al menos un doble enlace; Alquinos

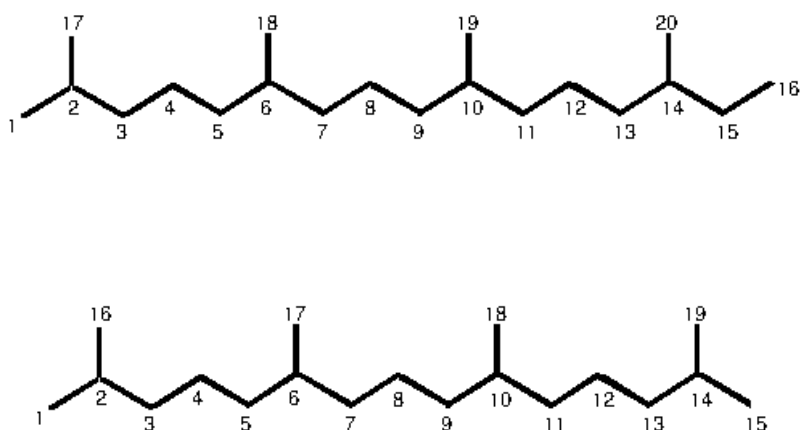
(Acetileno) que poseen uno o más triples enlaces. Los alcanos de mayor peso molecular son sólidos y a menudo se les denomina hidrocarburos parafínicos. La fórmula química de los n-alcanos es la que se presenta a continuación:



Siendo n el número de átomos de carbono, variando entre 1 y decenas de átomos de carbono.

Otros compuestos alifáticos que se emplean como indicadores de la contaminación producida por los combustibles derivados del petróleo son el Pristano y Fitano. Diversos autores han establecido que las relaciones (Pristano / Heptadecano) y (Fitano / Octadecano), incrementan durante la degradación biológica de los hidrocarburos, pudiéndose emplear para una estimación aproximada de la edad de la contaminación medioambiental. La Figura 1 presenta la estructura química de estos compuestos.

Figura 1: Estructura del Fitano y del Pristano respectivamente



Se han realizado numerosos estudios para identificar n-alcanos, así como también Fitano y Pristano en diferentes muestras de material particulado, con el fin de caracterizar las emisiones biogénicas y antropogénicas [5,12].

La presencia n-alcanos en el medio ambiente, se caracteriza por la baja persistencia en la biota [13] y su baja toxicidad, a diferencia de otros hidrocarburos como los clorados o las PAHs. Por norma general los cicloalcanos son más reactivos que los alcanos lineales. En relación con la salud humana no se han encontrado propiedades mutagénicas o cancerígenas en los alcanos, los de mayor peso molecular no se consideran tóxicos, y únicamente la inhalación de elevadas concentraciones de alcanos puede producir efectos anestésicos.

Anteriores estudios de n-alcanos en aerosoles atmosféricos, han establecido que las emisiones biogénicas se caracterizan por emitir, predominantemente compuestos con número impar de átomos de carbono, fundamentalmente los de 29 y 31 átomos, llegándose a detectar compuestos con 40 átomos de carbono. Sin embargo para las emisiones antropogénicas como pueden ser las emisiones producidas por la quema de combustibles fósiles, se emiten de forma equivalente tanto compuestos pares como impares. Por ello se definió el Índice de Preferencia de Carbonos (CPI) para evaluar el origen de n-alcanos. Este parámetro se define como la relación de concentración total de n-alcanos con n° impar de carbonos y n-alcanos con n° par de carbonos [4, 14, 15, 16].

$$CPI = \left(\frac{\sum_{25 \leq i \leq 31} \text{Alcanos 'impares'}}{\sum_{24 \leq i \leq 30} \text{Alcanos 'pares'}} \right)$$

Valores superiores a 3 son representativos de emisiones biogénicas de n-alcanos, mientras que los valores cercanos a la unidad son característicos de emisiones antropogénicas, así los valores intermedios indican una mezcla de fuentes de emisión. Algunos autores señalan que un aumento de la velocidad del viento produce una mayor abrasión en las plantas, lo que produce un aumento de n-alcanos de origen biogénico [17, 18]. Otros autores han relacionado los episodios de lluvia con la baja concentración de partículas, debido al proceso de limpieza que sufre la atmósfera [5, 19].

Otro parámetro que ayuda a identificar las fuentes de n-alcanos es el tanto por ciento de n-alcanos provenientes de la cera de las hojas [16]. Este parámetro se define como:

$$\%WNA = \left(\frac{\sum WNA C_n}{\sum NA} \right) \cdot 100$$

Siendo NA la concentración total de alifáticos medidos y WNA C_n:

$$WNA C_n = C_n - \frac{1}{2}(C_{n-1} + C_{n+1})$$

Una característica de los n-alcanos de origen antropogénico radica en el hecho de aparecer una mezcla de compuestos sin resolver (UCM) en el cromatograma de esta fracción.

2.1.3.2. Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos (PAHs)

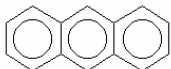

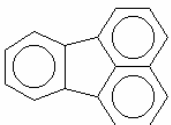
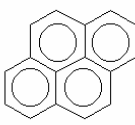
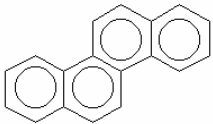
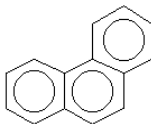
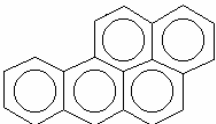
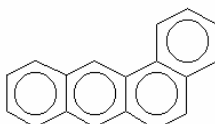
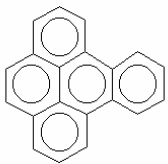
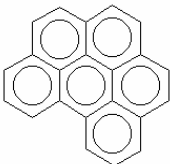
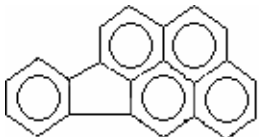
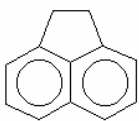
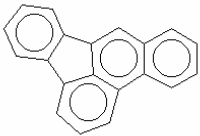
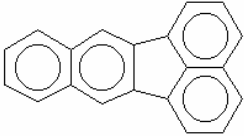
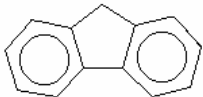
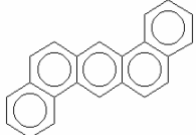
Se entiende por Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos (PAHs) a la familia de compuestos formados por la condensación de dos o más anillos aromáticos de seis átomos de carbono con la generación de estructuras muy diversas. Los PAHs se forman principalmente en la combustión incompleta de materia orgánica, bien de forma natural (erupciones de volcanes, incendios forestales) o de forma antropogénica (principalmente

la quema de combustibles fósiles). En la Tabla 1 se presentan las estructuras de los 16 PAHs que la agencia de protección del medioambiente de Estados Unidos, US - EPA, incluye en su lista de contaminantes prioritarios.

En relación con las propiedades químicas de estos compuestos, los PAHs son sustancias bastante estables, aumentándose con el número de anillos y de instauraciones. Estos compuestos son fotosensibles y se degradan rápidamente en presencia de luz y ozono, produciéndose la foto-oxidación y/o la ozonólisis de estas moléculas.

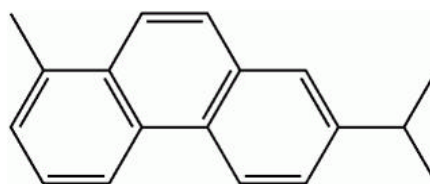
Se han demostrado las propiedades cancerígenas y mutagénicas de estos compuestos en diferentes animales. Para el ser humano, los isómeros con posible poder cancerígeno son el benzo(a)antraceno, benzo(a)pireno y dibenzo(a,h)antraceno. Estas características pueden verse incrementadas debido a que los PAHs pueden incorporarse al organismo por ingestión, inhalación o absorción dérmica. Además debido a sus propiedades físicas se acumulan, entre otros, en la materia orgánica, pudiendo permanecer así largos periodos de tiempo garantizando su biodisponibilidad. Debido a estas propiedades son numerosos los trabajos en los que se han identificado los PAHs en diferentes muestras de aerosol atmosférico [20].

Tabla 1: Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos

<i>Antraceno (An)</i>	<i>Naftaleno (Np)</i>
	
<i>Fluoranteno (Fl)</i>	<i>Pireno (Py)</i>
	
<i>Criseno (Chry)</i>	<i>Fenantreno (Ph)</i>
	
<i>Benzo[a]pireno (B[a]Py)</i>	<i>Benzo[a]antraceno (B[a]An)</i>
	
<i>Benzo[e]pireno (B[e]Py)</i>	<i>Benzo[g,h,i]perileno (B[g,h,i]Pe)</i>
	
<i>Indeno[1,2,3-c,d]pireno (I [1,2,3-c,d]Py)</i>	<i>Acenafteno (Ace)</i>
	
<i>Benzo[b]fluoranteno (B[b]Fl)</i>	<i>Benzo[k]fluoranteno (B[k]Fl)</i>
	
<i>Fluoreno (F)</i>	<i>Dibenz[a,h]antraceno (dB[a,h]An)</i>
	

Otro hidrocarburo aromático policíclico que está presente en el aerosol atmosférico es el reteno. La importancia de su identificación se debe a que presencia de trazas de reteno en el aire es un indicativo de los fuegos forestales, siendo el producto principal de la pirólisis de las coníferas. El reteno, por tanto, se emplea como marcador de la madera quemada. Su estructura química es:

Figura 2: Estructura del Reteno



Este compuesto es producido por la alteración térmica de las resinas con estructuras diterpenoídes, como puede ser el caso de ácido abiótico [21] y también está presente en el alquitrán del carbón, obteniéndose en la destilación de madera resinosa. Es un compuesto estable, combustible e incompatible con agentes oxidantes fuertes.

Debido a su empleo como marcador de los incendios forestales son varios los trabajos en los que se ha identificado [5, 21, 22].

2.1.3.3. Alcoholes

Los alcoholes son los derivados hidroxilados de los hidrocarburos, al sustituir los átomos de hidrógeno por un grupo -OH. De este modo se tiene un enlace polar C-O y un enlace muy polar O-H, que marcará las propiedades físicas y químicas de estos compuestos.

La identificación de estos compuestos en muestras de aerosol atmosférico ha sido poco estudiada, solamente en los últimos años algunos investigadores han realizado estudios de caracterización de esta fracción del aerosol [23,24]. El interés por identificar estos compuestos

se debe a que, junto con alcanos y ácidos grasos, son los constituyentes mayoritarios de la cera epicuticular de las plantas terrestre, una de las principales fuentes de material particulado en la atmósfera. Estas emisiones biogénicas se caracterizan por emitir especies de elevado peso molecular, hasta el alcohol de 34 átomos de carbono, con predominio de las especies pares. Algunos autores han relacionado los alcoholes menores al C₂₀ con fuentes microbiológicas, mientras que los mayores al C₂₀ son característicos de la cera de las plantas [14, 17, 25].

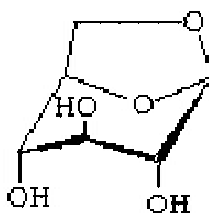
Para caracterizar el origen de los alcoholes se emplea el parámetro CPI, al contrario que con los alcanos, se define como la relación de concentración total de alcoholes con n° par de carbonos y los alcoholes con n° impar de carbonos [4, 14, 16].

$$CPI = \left(\frac{\sum_{12 \leq i \leq 30} \text{Alcoholes}' \text{ pares}'}{\sum_{11 \leq i \leq 29} \text{Alcoholes}' \text{ impares}' } \right)$$

Las características químicas de estos compuestos están marcadas por el grupo -OH, así debido al enlace C-O los alcoholes son más reactivos que los alcanos y PAH's. Entre las reacciones más importantes están la reacción con ácidos para obtener ésteres, la reacción con los metales y las oxidaciones.

Otro compuesto con grupos alcohol y de interés en la fracción orgánica del aerosol atmosférico es el levoglucosan. Este compuesto es un derivado de lo glucopiranososa. Su estructura química es:

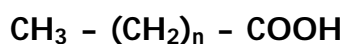
Figura 3: Estructura del Levoglucosan



El levoglucosan se produce principalmente con la quema de vegetación, y ha sido identificado en varios trabajos como marcador de los incendios forestales [21, 26, 27, 28]. Edney y colaboradores identificaron el levoglucosan en la fracción de PM_{2.5} como un producto de la pirólisis de la celulosa [29]. Brown identificó el levoglucosan y otros marcadores de los incendios forestales, con la particularidad de encontrar el levoglucosan a concentraciones más bajas que el resto de marcadores. Una explicación que se propuso a este efecto se debe a una reacción de hidrólisis catalizada por ácidos, producida en las nubes, capaz de eliminar el levoglucosan específicamente sin afectar a los otros marcadores como el reteno, vanillina o 4-etilenglicol [22].

2.1.3.4 Ácidos carboxílicos

Los ácidos carboxílicos son los hidrocarburos que tienen sustituido un H por un grupo carboxilo. La estructura general de estos compuestos es;



Los ácidos carboxílicos abundan en la naturaleza, encontrándose tanto en el reino animal como en el vegetal. Todas las moléculas de las proteínas están formadas por aminoácidos, una clase particular de ácidos carboxílicos que contienen un grupo amino y un grupo carboxilo.

El interés en determinar estos compuestos en el aerosol atmosférico se debe, al igual que con alcoholes y alcanos, a que son componentes mayoritarios de la cera epicuticular de las plantas terrestres. De la misma forma que los alcoholes, las emisiones biogénicas de estas especies se caracterizan por el predominio de los compuestos con número par de carbono. Así, para determinar el origen de estos

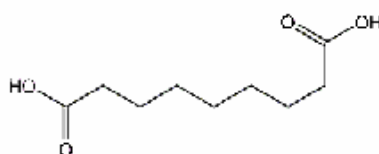
compuestos, se emplea el mismo parámetro CPI que se ha definido para los alcoholes.

Debido al interés en el estudio de estos compuestos son varios los autores que los han determinado en diferentes muestras de material particulado [24, 30, 31, 32].

En relación con la toxicidad de estos compuestos, ácidos como el oleico y palmítico pueden causar pequeñas irritaciones en la piel y en los ojos. La inhalación del polvo del ácido esteárico puede originar neumonitis química.

Otro compuesto ácido de importancia en la fracción orgánica del aerosol es el ácido azelaico. Se trata de un producto natural que se encuentra en los alimentos (tanto vegetales como animales) y que también se forma endógenamente. En la atmósfera se forma por degradación de ácidos carboxílicos insaturados de cadena larga, principalmente la reacción de ácido oleico y linoleico con ozono [16, 26, 33]. La estructura química es:

Figura 4: Estructura del Ácido azelaico



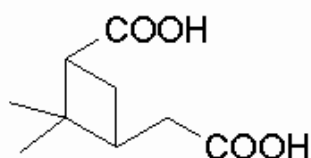
Diversos autores han identificado este compuesto en muestras atmosféricas [16, 26, 33]. El trabajo de Fraser, además de identificar el ácido azelaico, identificó otros ácidos dicarboxílicos, estableciendo que las concentraciones elevadas de ácidos dicarboxílicos en relación con otras especies, nos indican la gran extensión que tienen las reacciones fotoquímicas en el área de muestreo.

Para el ácido azelaico no se han descrito efectos nocivos para el medio ambiente, y el ser humano, de ahí que se emplee como un producto anti-acné tópico.

Otros compuestos que presentan interés en la fracción orgánica del aerosol atmosférico son los productos de degradación de terpenos, especialmente de los isoprenos α y β -pineno, entre los que destacan el ácido pínico, el ácido pinónico, el ácido norpinónico y la nopinona, por su participación en el aerosol orgánico secundario.

La estructura química del ácido pínico, un ácido dicarboxílico, es:

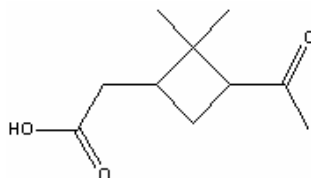
Figura 5: Ácido pínico



Se ha demostrado que este compuesto es un producto de la oxidación de α -pineno, uno de los terpenos más abundantemente emitidos por la vegetación [6, 34]. Jerker Fick estudió los productos formados, en un sistema de ventilación, por la ozonólisis de α -pineno, encontrándose entre ellos el ácido pínico, ácido pinónico, ácido norpinónico, aldehído pinónico y el aldehído pínico [35]. Otro trabajo de gran interés es el realizado por Roger Atkinson, en el cual se presentan las cinéticas y los mecanismos de las reacciones que sufre el α -pineno, entre otros compuestos orgánicos, en la troposfera [36]. El trabajo de Casimiro Pío detectó el ácido pínico en muestras reales y lo identificó como el producto de la reacción de α -pineno con ozono y del β -pineno con O_3/NO_x . También establece que es un compuesto semi-volátil por lo que puede evaporarse durante el análisis [25].

El ácido pinónico es un cetoácido, y se presenta en la fracción orgánica del aerosol atmosférico. Este compuesto puede presentar dos isómeros diferentes, el ácido cis-pinónico y el ácido trans-pinónico, siendo la estructura química general:

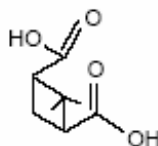
Figura 6: Estructura del Ácido pinónico



Al igual que el ácido pínico, este compuesto ha sido identificado como producto de degradación de α -pineno al reaccionar con O_3 y radicales OH [25, 35, 36, 37]. En trabajos se ha podido identificar este compuesto en muestras de aerosol atmosférico [6, 25, 38]. Es destacable el trabajo de Kavouras al establecer una interconversión entre los dos isómeros del ácido pinónico.

El ácido norpinónico es un ácido dicarboxílico, pudiéndose presentar dos isómeros distintos, el ácido cis-norpinónico y el ácido trans-norpinónico. La estructura general de estos compuestos es:

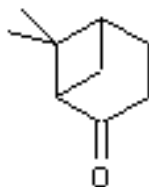
Figura 7: Estructura del ácido norpinónico



Al igual que el ácido pínico y el ácido pinónico, el ácido norpinónico es un producto de degradación del α -pineno [35, 36, 39]. El trabajo de Kavouras estableció que el ácido norpinónico poseía mayores concentraciones durante el día [6].

La nopinona se ha identificado como un producto de degradación del β -pineno con O_3 , radical OH, NO_x o NO_x/SO_2 [25]. La estructura química es:

Figura 8: Estructura de la Nopinona



Algunos trabajos han sido capaces de identificar algunos productos de la degradación del β -pineno, entre ellos la nopinona, en muestras de aerosoles atmosféricos [14, 25].

2.2 Metodología analítica para el estudio de aerosoles

2.2.1 Toma de muestras.

La toma de muestras de partículas presentes en el seno de un gas se ha desarrollado para industrias, en las chimeneas etc. y se ha aplicado en el análisis medioambiental. Siguiendo un control estricto en el muestreo, las partículas suelen mantener la integridad durante largos periodos de tiempo [40].

Hay varios métodos diseñados para la medición y/o la identificación química del material particulado del aerosol atmosférico. El trabajo de Willeke y Barpn [41] presenta una revisión de todos estos métodos.

A continuación se enumeran los sistemas de muestreo más empleados para la materia particulada del aerosol atmosférico [42].

Los sistemas de muestreo de partículas atmosféricas son:

1. Sedimentación; se recogen partículas por acción de la gravedad. Suelen ser partículas de gran tamaño, con un origen natural, formar parte del aerosol marino o bien ser resuspendidas del suelo.
2. Precipitación; implica el empleo de un gradiente térmico o electrostático. No es adecuado para partículas de origen antropogénico.
3. Impactación; se basa en la inercia de las partículas.
4. Filtración; se hace pasar una corriente de aire a través de un filtro. Es el método más adecuado para medir el material en suspensión. Su empleo permite la realización de un análisis gravimétrico.

Dependiendo del caudal de aire que pase a través del captador, éstos se pueden clasificar en tres grupos:

- a) Captadores de bajo volumen; son aquellos con un caudal de $2 \text{ m}^3/24 \text{ horas}$.
- b) Captadores de volumen medio; aquellos con un caudal comprendido entre $0.5\text{-}2 \text{ m}^3/\text{hora}$.
- c) Captadores de alto volumen; aquellos cuyo caudal es superior a $20 \text{ m}^3/\text{h}$.

2.2.1.1. Captadores de alto volumen.

Los muestreos con captadores de alto volumen y con tiempos de muestreo de 24 horas presentan algunos problemas a la hora de muestrear compuestos semi-volátiles. Estos son principalmente:

- a) la volatilización de compuestos orgánicos de la fase particulada de la muestra (error negativo o blow off)
- b) la adsorción de compuestos orgánicos en fase gaseosa sobre los filtros (error positivo) durante y / o después del muestreo.

El fraccionamiento de estos compuestos condensables entre la fase gaseosa y el adsorbente depende de la temperatura de la atmósfera, el área superficial disponible para la adsorción, la constante de partición (la presión de vapor), y la presencia de otros adsorbentes competidores, como el vapor de agua [43]. A pesar de estos inconvenientes, el empleo de estos captadores para el posterior análisis de la fracción orgánica se hace indispensable, ya que debido a las bajas concentraciones de las especies que se quieren analizar, es necesario el muestreo de una gran cantidad de aire atmosférico.

En el caso de emplear captadores de alto volumen existen dos métodos de captación de partículas; los impactadores, que se emplean

para obtener muestras de carbón orgánico separado según tamaños (la muestra puede recogerse sobre sustratos como el papel de aluminio) y los filtros. Estos últimos son más empleados que los impactadores, debido a su coste más bajo y al elevado volumen de muestreo. Los filtros que se emplean pueden ser de fibra de vidrio, de fibra de cuarzo y los filtros de membrana de teflón estriado [43].

2.2.2. Tratamiento de muestra.

2.2.2.1. Procedimiento de extracción.

La primera etapa del tratamiento de muestra consistirá en la extracción de los compuestos orgánicos de interés del filtro en el que se ha producido el muestreo. Hay varias métodos para realizar esta extracción como son el empleo de extracciones líquido-líquido, extracción mediante la técnica Soxhlet, ultrasonidos, microondas y la extracción con disolventes acelerados (ASE). Se emplean diferentes tipos de disolventes para realizar la extracción, como pueden ser diclorometano, acetona, hexano, acetonitrilo, metanol o distintas mezclas de éstos.

2.2.2.1.1. Técnica de extracción líquido-líquido.

La extracción líquido-líquido es la menos empleada actualmente, debido al elevado gasto de disolvente orgánico y las bajas recuperaciones que se consiguen. Son pocos los autores que emplean este procedimiento para la extracción de compuestos orgánicos del aerosol atmosférico. Un ejemplo es el trabajo de Qingyong Lang y colaboradores que estudió los alcanos y los Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos presentes en el aerosol de Miami [44].

2.2.2.1.2. Técnica de extracción Soxhlet.

Este tipo de extracción fue descrito por Franz Von Soxhlet en 1879, para la extracción de lípidos de alimentos. A pesar de las desventajas de este procedimiento, como son la baja recuperación de compuestos grasos polares, la duración de la extracción, o el volumen de disolvente orgánico, la extracción en Soxhlet se considera la técnica estándar para la extracción de material particulado presente en la atmósfera, por ser la más efectiva y exhaustiva. Varios autores la han empleado con diferentes disolventes; el diclorometano ha sido el más utilizado [19, 37, 45, 46, 47], también se han empleado mezclas de disolventes como por ejemplo diclorometano/acetona 3:1 [4, 48], diclorometano/MeOH 4:1 [15, 49] y diclorometano/Acetonitrilo 1:1 [29, 50].

2.2.2.1.3. Técnica de extracción mediante ultrasonidos.

Los ultrasonidos son ondas sonoras cuya frecuencia es superior al margen de audición humano (20 KHz). Las longitudes de onda pueden ser de centímetros para los de baja frecuencia y del orden de micras para los de alta frecuencia.

Para generar los ultrasonidos, se emplea un baño de ultrasonidos. Este consta de un elemento, llamado primario, que está en contacto con el medio, en este caso un líquido, y que transformará una señal eléctrica en una onda ultrasónica. Otra manera de generar ultrasonidos y que está siendo muy utilizada en la especiación es el empleo de sondas de ultrasonidos, que son capaces de focalizar las ondas en una pequeña zona de la muestra.

El principal efecto físico que producen los ultrasonidos es la denominada cavitación. Las ondas provocan variaciones de presión, llegando a pasar parte del líquido a estado gaseoso, generándose bolsas de vapor (cavidades). Estas burbujas viajan hacia las zonas de mayor presión y chocan entre sí, generándose enormes aumentos de presión y de temperatura.

La extracción mediante ultrasonidos ha sido empleada por varios autores, por ejemplo Kubatova empleó diclorometano para extraer compuestos orgánicos del aerosol colectado en el margen del río Amazonas [51], mientras que Steven G. Brown estudió el aerosol orgánico de una región de Texas [22]. Otros autores también emplearon diclorometano para la extracción de compuestos orgánicos del aerosol atmosférico [5, 17, 18, 23, 30, 32, 34, 52, 53].

Además del diclorometano, el disolvente más empleado para la extracción de los compuestos orgánicos, se han utilizado otros como la extracción consecutiva con Tolueno y Metanol [54], la extracción con acetonitrilo [55] el empleo de una mezcla de hexano/acetona 1:1 [56], la extracción con diclorometano/metanol [21, 24], la extracción, en primer lugar con n-hexano y acto seguido con benceno/isopropanol 2:1 v/v [26] y por último la mezcla hexano/diclorometano [57].

2.2.2.1.4. Técnica de extracción mediante microondas.

El uso de la radiación de microondas es un procedimiento que se aplica habitualmente en la extracción de compuestos orgánicos de

muestras sólidas. Las ventajas que presenta la extracción asistida con microondas son:

- Disminución del tiempo de extracción, comparado con otras técnicas.
- Menor gasto de disolventes.
- Mejor eficiencia de recuperación.
- Versatilidad, es capaz de trabajar con cualquier tipo de disolventes tanto polares como apolares.
- Alta reproducibilidad.

Estas características han hecho que principalmente se haya empleado en análisis de especiación. No obstante, debido al potencial de esta técnica, su uso puede ampliarse en otros campos de la química analítica, como puede ser la caracterización del aerosol atmosférico.

2.2.2.1.5. Técnica de ASE.

La extracción acelerada con disolventes, cuyo acrónimo en inglés es ASE, es una técnica de extracción en la que un disolvente, a elevada presión y temperatura, se emplea como medio extractante. Se consiguen de este modo extracciones más rápidas y con menor gasto de disolventes que otras técnicas clásicas de extracción, como el Soxhlet, de ahí que el ASE la esté sustituyendo en algunos métodos oficiales de análisis.

La eficiencia de esta extracción dependerá de la temperatura, la presión del disolvente, así como de la matriz de la muestra. Todos estos parámetros hacen que la optimización de este procedimiento no sea trivial [58].

El empleo de ASE para la extracción de compuestos orgánicos del aerosol atmosférico está poco extendido, aunque algunos autores, como es el caso de Yu Cheng la hayan empleado con éxito en el análisis de ácido cis-pinónico y ácidos grasos en aerosoles muestreados en Canadá [38].

2.2.2.2. Etapa de Purificación o "Clean-up".

Los extractos orgánicos obtenidos en la extracción deben someterse a un proceso de purificación y fraccionamiento, para así facilitar el posterior análisis mediante técnicas cromatográficas de los compuestos de interés.

El método empleado en los trabajos sobre la fracción orgánica del aerosol atmosférico, es la cromatografía en columna. Se utilizan varios adsorbentes, como la gel de sílice o la alúmina. En cuanto a los eluyentes, cada autor emplea diferente número y tipo de disolventes, según las características del estudio, pero siempre se hace pasar los eluyentes, normalmente empezando por el hexano para eluir los compuestos alifáticos y se va aumentando gradualmente la polaridad para recoger un número variable de fracciones.

Los trabajos que han conseguido separar los extractos orgánicos del aerosol atmosférico en tres o más fracciones diferentes son escasos [6, 14, 15, 25, 38].

2.2.3. Análisis de la muestra

2.2.3.1. Etapa de derivatización.

Las características de la cromatografía de gases, con columnas apolares, hacen que únicamente las especies no polares puedan ser

analizadas por esta técnica. A pesar de este inconveniente, las columnas apolares presentan muchas más ventajas que las polares, y son más utilizadas y son seleccionadas en la mayor parte de los estudios. Por lo tanto, es necesario derivatizar algunos compuestos, principalmente los que presentan grupos funcionales polares (hidrógenos activos) con el fin de mejorar su volatilidad, su estabilidad térmica y, en ciertos casos, su sensibilidad en la detección. Para el análisis de los compuestos ácidos y alcohólicos por cromatografía de gases con columnas apolares, se hace indispensable el empleo de técnicas de derivatización previas.

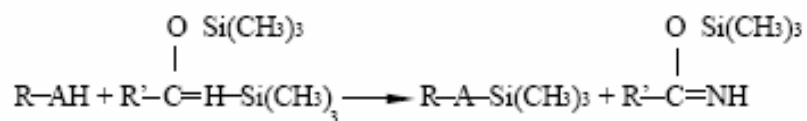
La etapa de derivatización consistirá en hacer reaccionar las especies polares con un agente químico que transforme al analito en un compuesto menos polar. Las reacciones de derivatización se han empleado durante años, aunque han ido evolucionando los reactivos derivatizantes, haciéndolos más específicos. Hay tres grupos principales de reacciones de derivatización:

a) Reacciones de Silanización.

La silanización es el procedimiento de derivatización más empleado para el análisis por GC, debido a la facilidad en su empleo y en la formación de los derivados. En la silanización, un hidrógeno activo es reemplazado por grupo alquilsilil como por ejemplo el trimetilsilil (TMS) o el t-butildimetilsilil (t-BDMS). Estos agentes derivatizantes son capaces de derivatizar grupos -OH, de ácidos y alcoholes. Comparando con el compuesto de partida, los silil derivados son mucho más volátiles, menos polares, y más estables térmicamente.

El esquema de la reacción de silanización se presenta en la Figura 9.

Figura 9 Esquema de la reacción de Silanización



Algunos de los reactivos, disponibles comercialmente, que se emplean en las reacciones de silanización son:

- ✓ *BSA* (N,O-bis (trimetilsilil) Acetamida)
- ✓ *BSTFA* (N,O-bis (Trimetilsilil) Trifluoroacetamida)
- ✓ *HMDS* (Hexametildisilazano)
- ✓ *MSTFA* (N-Metil-N-(Trimetilsilil) Trifluoroacetamida)
- ✓ *TMCS* (Clorotrimetilsilano)
- ✓ *TMSDEA* (N-(Trimetilsilil) Dietilamina)
- ✓ *TSIM* (N-(Trimetilsilil) Imidazol)

Las ventajas que presentan las reacciones de silanización son: Capacidad para silanizar un amplio número de compuestos, el gran número de reactivos disponibles y la facilidad para prepararlos. En cambio las desventajas que presentan son que los reactivos son sensibles a la humedad y que se deben emplear disolvente orgánicos apróticos.

b) Reacciones de Metilación (alquilación).

La Alquilación reduce la polaridad de la molécula al reemplazar los hidrógenos activos por grupos alquilo. Se emplea para modificar compuestos con algún hidrógeno ácido, como los ácidos carboxílicos y los fenoles. Finalmente se generan ésteres, éteres, alquil aminas y alquil amidas. Los reactivos suelen contener benzoil fluorados, que pueden ser empleados en los detectores de captura electrónica (ECD).

La reacción principal empleada para la preparación de estos derivados es el desplazamiento nucleofilo. Generalmente se emplea la alquilación para convertir ácidos orgánicos en ésteres, y como la acidez del hidrógeno activo desciende, la fuerza del reactivo derivatizante debe ser aumentada.

Los alquil ésteres poseen una excelente estabilidad y pueden ser aislados y conservados durante largos periodos de tiempo.

Algunos de los reactivos empleados en las reacciones de alquilación son:

- ✓ DMF (Dialquilacetales)
- ✓ TBH (Hidróxido de tetrabutilamonio)
- ✓ BF_3 en metanol / butanol
- ✓ PFBBr (Pentafluorobencil de Bromo)

Entre las ventajas que presentan las reacciones de alquilación está el gran número de reactivos disponibles, las condiciones de reacción son muy amplias variando entre medios muy ácidos a medios muy básicos, algunas de las reacciones de alquilación pueden realizarse en medios acuosos y por último, los derivados obtenidos son generalmente muy estables.

Entre las desventajas que presenta tenemos la limitación al trabajar con aminas e hidroxil ácidos, unas condiciones de reacción frecuentemente severas y la toxicidad de algunos reactivos.

c) Reacciones de Acilación.

Las reacciones de acilación reducen la polaridad de los grupos amino, hidroxilo, tioles y adiciona funcionalidades halogenadas, muy adecuadas al empleo de detectores de captura electrónica (ECD).

Estos reactivos se emplean para derivados de carbohidratos y aminoácidos.

La acilación transforma los compuestos con hidrógenos ácidos en ésteres, tioésteres y amidas. Además, los acilderivados se fragmentan en espectrometría de masas, dando una información muy valiosa para dilucidar la estructura de una molécula.

Algunos de los reactivos más empleados en estas reacciones son:

- ✓ Anhídridos fluorados:
 - *TFAA* (Anhídrido trifluoroacético)
 - *PFPA* (Anhídrido pentafluoropropionico)
 - *HFBA* (Anhídrido heptafluorobutírico)
- ✓ Fluoro acil imidazoles:
 - *TFAI* (Trifluoroacetil imidazol)
 - *PFPI* (Pentafluoroacetil imidazol)
 - *HFBI* (Heptafluorobutil imidazol)
- ✓ *MBTFA* (N-metil-bis(trifluoroacetamida))
- ✓ *PFBCl* (Pentafluorobencil cloruro)
- ✓ *PFPOH* (Pentafluoropropanol)

Entre las ventajas que presentan este tipo de reacciones de derivatización están la adición de halógenos a la molécula, el aumento de la señal en un detector ECD con estos derivados, la estabilidad en medio acuoso, el incremento en la sensibilidad al aumentar el peso molecular y la capacidad de ser empleados como una etapa de activación de ácidos carboxílicos antes de ser derivatizados por alquilación.

Entre sus desventajas, pueden citarse la dificultad de la preparación de los derivados, la necesidad de eliminar algunos

productos de las reacciones (ácidos) antes del análisis y por la peligrosidad y olor de los reactivos.

2.2.3.2. Análisis por GC/MS.

La totalidad de los trabajos que estudian la fracción orgánica del aerosol atmosférico emplea técnicas cromatográficas, bien en la modalidad de cromatografía de gases o cromatografía de líquidos de alta eficacia. En contra, la elección de la técnica de detección, son numerosos los trabajos que emplean la espectrometría de masas para la cuantificación e identificación [14, 45, 49], sin embargo otros trabajos, por ejemplo el desarrollado por Kubátová o el de Yu Cheng, han utilizado el detector de ionización de llama (FID) para el análisis cuantitativo, si bien hacen uso del detector de espectrometría de masas para el análisis cualitativo [38, 51].

La identificación y cuantificación de compuestos orgánicos en una matriz compleja, como es el caso del aerosol atmosférico, implica necesariamente el empleo de columnas cromatográficas capilares y espectrometría de masas.

2.2.3.2.1. Cromatografía de gases capilar.

La clasificación de las técnicas cromatográficas está en la Tabla 2.

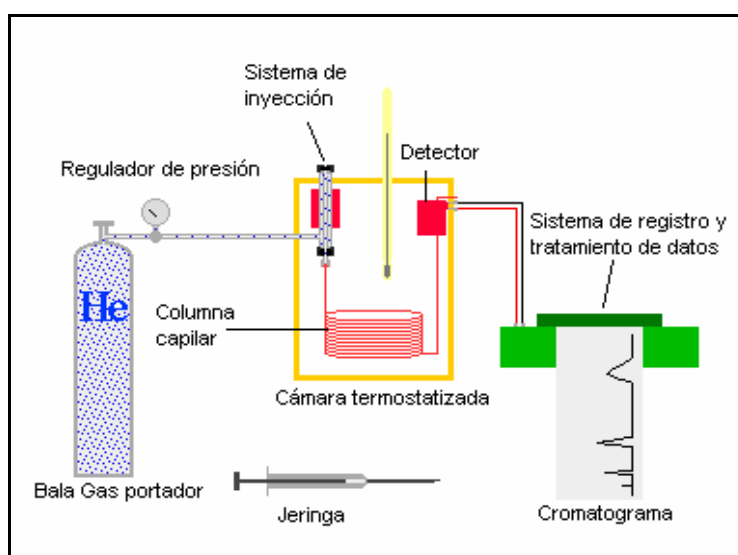
Tabla 2: Clasificación técnicas cromatográficas

FASE MÓVIL	FASE ESTACIONARIA	
Líquido	Líquido	Cromatografía de líquidos
Líquido	Sólido	
Gas	Líquido	Cromatografía de gases
Gas	Sólido	
Fluido supercrítico	Líquido	Cromatografía de fluidos supercríticos
Fluido supercrítico	Sólido	

La cromatografía en columna se basa en introducir una muestra que contiene diferentes especies y en hacer fluir una fase móvil, estableciéndose un equilibrio, de manera que los solutos que tiendan a permanecer en la fase móvil pasarán más rápidamente que los que tengan mayor afinidad por la fase estacionaria, produciéndose así la separación de los mismos. Así el cromatograma es la representación gráfica de la respuesta del detector en función del tiempo. La cromatografía es un método físico de separación, por lo que es necesario el acoplamiento de un detector para poder realizar un análisis cualitativo y cuantitativo. El estudio del factor de capacidad permite realizar un estudio cualitativo, mientras que la medida del área o la altura de los picos, permite un análisis cuantitativo.

Un esquema de los componentes que forman parte de un cromatógrafo de gases con columna capilar está en la Figura 10:

Figura 10: Esquema de un cromatógrafo de gases



El sistema de inyección más empleado para las columnas capilares es el divisor de flujo (split), donde la muestra, inyectada en una

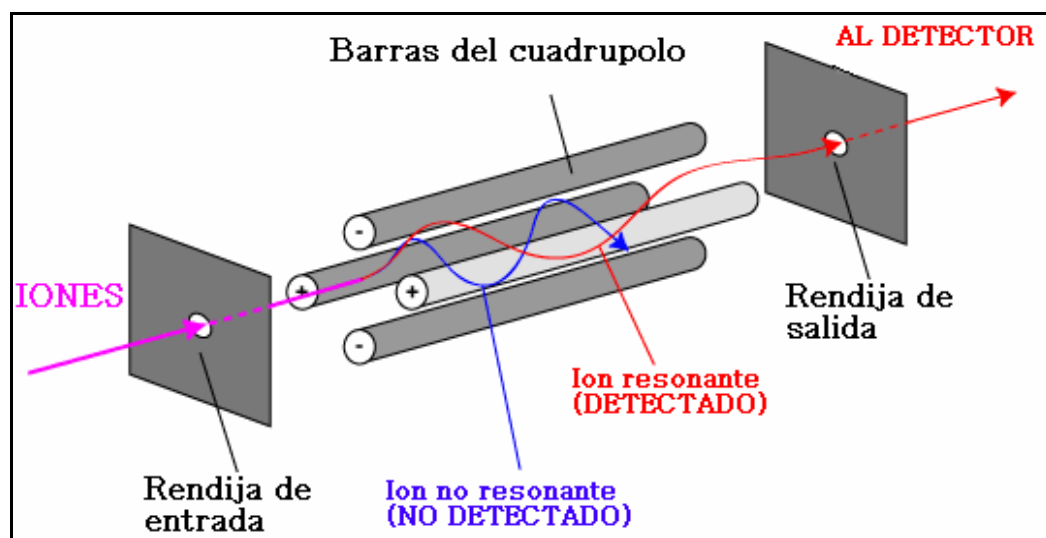
cámara calentada, se evapora consiguiéndose inyectar el 80 - 95 % de la muestra, al mantener la válvula split abierta durante un cierto periodo de tiempo, normalmente 1 minuto. La columna capilar se encuentra alojada dentro de una cámara termostaticada con el fin de poder controlar la temperatura y por lo tanto, la separación cromatográfica. Las columnas capilares son tubos capilares abiertos de 25-60 metros de longitud, de vidrio o sílice fundida, en cuyas paredes se fija una película que será la fase estacionaria. Como fase móvil suelen emplearse gases inertes, principalmente He y N₂, que recorren la columna a una presión constante.

2.2.3.2.2. Espectrometría de masas

El principal problema que resulta del acoplamiento de la cromatografía de gases y la espectrometría de masas reside en la diferencia de presión a la que trabajan los dos dispositivos, por lo que se han tenido que desarrollar interfases.

El espectrómetro de masas está compuesto por una fuente de iones (impacto electrónico la más empleada), un analizador y un detector. El analizador de cuadrupolo, constituido por cuatro imanes conectadas 2 a 2, genera el campo de cuadrupolo, capaz de separar los iones en función de su relación masa/carga (Figura 11). El detector (multiplicador de electrones) transforma los iones separados en señales eléctricas, capaces de ser medidas e interpretadas por un software informático.

Figura 11: Esquema de un analizador de cuadrupolo



Los detectores de espectrometría de masas proporcionan una gran selectividad, entendiéndola como la capacidad de discernir un compuesto entre el resto. Este poder de identificación de la espectrometría de masas se debe a que cada molécula se fragmenta de una forma particular, generándose iones característicos que ayudarán a clasificarlos en familias de compuestos. Además la espectrometría de masas es capaz de elucidar el peso molecular de cada especie, por lo que se facilitará la identificación de cada compuesto.

3. PARTE EXPERIMENTAL

3.1. MATERIALES Y REACTIVOS

3.1.1. *Material de muestreo.*

- ✓ Captador de alto volumen GMW Model 1200 (Graseby & Andersen, USA) para la Fracción PM₁₀.
- ✓ Captador de alto volumen CAV-A/HF (MCV, España) para la Fracción PM_{2.5}.
- ✓ Filtros de fibra de cuarzo de 203 x 254 mm (Schleicher & Schuell). Fracción PM₁₀.
- ✓ Filtros de fibra de cuarzo de 150 mm Ø (Schleicher & Schuell). Fracción de PM_{2.5}.

3.1.2. *Equipos Cromatográficos.*

- ✓ Cromatógrafo de gases Fisons GC 8000 series acoplado a un detector de espectrometría de masas Fisons MD 800.
- ✓ Inyector automático Fisons AS 800, acoplado al cromatógrafo de gases.
- ✓ Cromatógrafo de gases Hewlett Packard 5890 series II acoplado a un detector de espectrometría de masas Hewlett Packard 5971A.
- ✓ Columna cromatográfica de sílice fundida DB5-MS (30 m x 0.25 mm diámetro interno x 0.25 µm fase estacionaria).
- ✓ Cromatógrafo de líquidos de alta eficacia Hewlett Packard series 1050 con detector de fluorescencia.
- ✓ Inyector automático Agilent 1100 series, acoplado al cromatógrafo de líquidos.
- ✓ Controlador de la temperatura de la columna cromatográfica Jones Chromatography model 7971.
- ✓ Columna cromatográfica Supelcosil LC-PAH de 5 µm de espesor (25 cm x 4.6 mm)

3.1.3. *Equipos auxiliares.*

- ✓ Dispositivo para la extracción automática Soxhlet. Büchi Extraction System B-811.
- ✓ Refrigerante. Büchi Recirculating Chiller B-740.

- ✓ Horno microondas ETHOS SEL (Milestone) con pantalla táctil labTERMINAL 1024
- ✓ Baño de ultrasonidos Branson serie 5200.
- ✓ Rotavapor Büchi R-200.
- ✓ Baño de calor Büchi Heating Bath B-490.
- ✓ Centrifuga ORTO ALRESA Modelo Tormax.
- ✓ Balanza analítica. Sartorius BP 211D.
- ✓ Granatario.
- ✓ Agitador Heidolph Reax tip.
- ✓ Bomba de vacío Millipore Waters.
- ✓ Mufla.
- ✓ Estufa Selecta.
- ✓ Manta calefactora Isopad.
- ✓ Sistema de evaporación con corriente de nitrógeno.

3.1.4. Patrones, disolventes y reactivos.

- ✓ DRH-FTRPH-SET: disolución patrón de 500 µg/mL en Hexano de n-alcenos comprendidos entre el alcano con 8 átomos de carbono y el de 40 átomos de carbono, más Pristano y Fitano. (Sigma-Aldrich).
- ✓ Kit de ácidos grasos de cadena lineal C₆-C₂₄. (Aldrich Chemical Company. N° de referencia 29,851-4).
- ✓ Kit 121 CX de alcoholes de cadena lineal C₆-C₂₂. (Accustandard, Inc).
- ✓ PAH-Mix9 de 100 µg/mL en ciclohexano. (Dr. Ehrenstorfer GmbH).
- ✓ PAH-Mix9 de 10 µg/mL en diclorometano. (Dr. Ehrenstorfer GmbH).
- ✓ Ácido palmitoleico para GC con pureza =99.0 %. (Fluka).
- ✓ Ácido linoleico para GC con pureza =99.0 %. (Fluka).
- ✓ Ácido esteárico para GC. (Fluka).
- ✓ Ácido oleico para GC con pureza =99.9 %. (Fluka).
- ✓ Reteno. (Sigma-Aldrich).
- ✓ 1,6-Anhidro-Beta-D-Glucosa 99%. (Sigma-Aldrich).

- ✓ Ácido azelaíco =99.0 %. (Fluka).
- ✓ Ácido pínico. (Aldrich)
- ✓ Ácido cis-pinónico con pureza =98 %. (Aldrich).
- ✓ Ácido trans-norpinónico. (Aldrich).
- ✓ Nopinona.
- ✓ Ácido palmítico deuterado D₃₁. (Aldrich).
- ✓ 1-clorododecano. (Aldrich).
- ✓ BSTFA, N,O-bis(trimetilsilil)trifluoroacetamida. (Supelco).
- ✓ BSTFA (N,O-bis(trimetilsilil)trifluoroacetamida) 99.3% + TMCS (trimetilclorosilosano) 99.6%. (Supelco).
- ✓ Reactivo derivatizante O-(2,3,4,5,6-Pentafluorobencil)hidroxilamina, PFBHA 98 %. (Aldrich).
- ✓ Hexano, diclorometano, acetonitrilo, acetona, de calidad para cromatografía (SDS).
- ✓ Isooctano de calidad para cromatografía (Merck).
- ✓ Metanol para HPLC. (Scharlau).
- ✓ Ácido fórmico 98-100 % (Riedel-de Haën).
- ✓ Etilenglicol como líquido refrigerante (Fluka).
- ✓ Gel de sílice 60 (70-230 mesh ASTM). (Merck).
- ✓ Agua desionizada (Milli Q, Millipore).

3.1.5. **Material diverso.**

- ✓ Gas helio, nitrógeno y aire de pureza del 99.9990 % como gas portador, para la concentración de extractos mediante corriente de nitrógeno y gas auxiliar, respectivamente.
- ✓ Cartuchos de extracción de celulosa 35x80 mm (ALBET) y 60x180 (WHATMAN).
- ✓ Sistema Soxhlet compuesto por matraz redondo de 500 mL, recipiente de sifonado y refrigerante para la preparación de gel de sílice.
- ✓ Columnas cromatográficas de vidrio (10 cm x 1 cm Ø interno)
- ✓ Viales de vidrio de 1, 5 y 10 mL (transparentes y color ambar).

- ✓ Jeringas de 1, 5, 10, 25, 50, 100, 250, 500 y 1000 μL para la inyección de la muestra y la preparación de patrones..
- ✓ Matraces aforados de 5, 10, 25, 50, 100, 250 mL.
- ✓ Matraces redondos de 100 y 250 mL para la concentración de muestras en el rotavapor.
- ✓ Pipetas de 1, 2, 5, 10, 25, 50, 100, 250 mL.
- ✓ Probetas de 10, 25 y 250 mL.
- ✓ Vasos de precipitados de 5, 10, 50, 100, 250, 500, 800 mL.
- ✓ Pipetas pasteur.
- ✓ Material de vidrio sin especificar (tubos de centrifuga, vidrios de reloj, barras, embudos, pesa sustancias, frascos transparentes y ambar).
- ✓ Filtros redondos de papel. 11 cm diámetro 42 de poro. (WHATMAN)
- ✓ Filtros para jeringas de PTFE 0,22 μm de poro y 25 mm \varnothing (TEKNOKROMA)
- ✓ Agitadores magnéticos.
- ✓ Papel de aluminio.
- ✓ Teflón.
- ✓ Desecador.
- ✓ Soportes para columnas.
- ✓ Lana de vidrio.

3.2. PROCEDIMIENTOS DE LIMPIEZA

3.2.1. *Limpieza del material volumétrico.*

Todo el material volumétrico que se ha empleado en este trabajo ha seguido un procedimiento de limpieza. En primer lugar se lava con el último disolvente empleado y a continuación se lava con agua y jabón, y se aclara con agua destilada. Una vez que el material está totalmente seco, se acondiciona con el disolvente orgánico que corresponda en cada caso; hexano, diclorometano, acetonitrilo o metanol.

Entre el material de vidrio que ha seguido este procedimiento de limpieza están vasos de precipitados, pipetas, matraces, viales y probetas.

3.2.2. *Limpieza de los sistemas de extracción.*

3.2.2.1. Soxhlet

El sistema automático de extracción Soxhlet utiliza cartuchos de celulosa para colocar la muestra. Estos cartuchos de celulosa son muy adsorbentes y al estar en contacto con el aire son capaces de adsorber una gran multitud de compuestos, que pueden interferir en el posterior análisis.

Por ello se ha desarrollado un procedimiento de limpieza de los cartuchos. Los cartuchos nuevos se introducen en el Soxhlet y sufren tres etapas de extracción.

1. Extraer los cartuchos con 150 mL de diclorometano durante 8 horas.
2. Extraer los cartuchos con 150 mL de hexano/acetona (1:1) durante 7 horas.
3. Extraer los cartuchos con 150 mL de diclorometano durante 8 horas.

Una vez finalizadas las extracciones, los cartuchos están completamente limpios y pueden emplearse para el estudio de los compuestos orgánicos del aerosol atmosférico. Los cartuchos se almacenan en papel de aluminio hasta su empleo, evitándose así la readsorción de compuestos.

3.2.2.2. Microondas

Después de cada programa de extracción se procede a seguir el siguiente procedimiento de limpieza. Las vasijas donde se producen las extracciones son de teflón, y por tanto deben ser lavadas con lejía, agua y jabón, para finalmente aclararlas con agua destilada. Antes de utilizarlas se debe proceder al secado completo de todas las piezas, ya que pequeñas cantidades de agua pueden producir daños en el sistema de extracción.

Además de este procedimiento de limpieza, se realizan extracciones periódicas con acetona para realizar una limpieza más profunda de todo el sistema de microondas.

2.2.3. Calcinación de filtros

Todos los filtros de fibra de cuarzo empleados en este estudio han sido calcinados previamente. Esta etapa de limpieza es imprescindible para poder eliminar cualquier resto de materia orgánica en los filtros.

Para ello, tanto los filtros empleados para muestrear PM_{10} como los de $PM_{2.5}$, permanecerán en una mufla a 400 °C durante 24 horas. Una vez enfriados, los filtros están libres de materia orgánica y en condiciones de ser empleados en el muestreo de partículas atmosféricas.

3.3. PREPARACIÓN DE PATRONES Y REACTIVOS

La preparación de las diferentes disoluciones de trabajo se realizó a partir de disoluciones madre, que se preparan a partir de disoluciones concentradas o de los compuestos puros, según la disponibilidad comercial. Para ello se ha empleado una balanza analítica, jeringas y diferente material volumétrico como matraces aforados, vasos de precipitados y viales de 1 mL. Todo el material de vidrio fue limpiado según el procedimiento citado anteriormente.

- Disolución madre de ácidos carboxílicos lineales: Pesar alrededor de 0.0025 gramos de cada compuesto puro (ácido C₁₀-C₂₃, oleíco, linoleíco y palmítico) y diluir en 25 mL de diclorometano, obteniéndose una disolución de 100 mg/L. Fue necesario el empleo de ultrasonidos para la completa disolución de los compuestos.
- Disolución madre de alcoholes lineales: Pesar alrededor de 0.0025 gramos de cada compuesto puro (alcoholes lineales C₁₀-C₁₆, C₁₈, C₂₀ y C₂₂) y diluir en 25 mL de diclorometano, obteniéndose una disolución de 100 mg/L. También fue necesario el empleo de ultrasonidos para la completa disolución de los compuestos.
- Disolución madre de n-alcános: Se parte de una disolución concentrada (500 mg/L) en hexano de los congéneres comprendido entre el octano y el tetracontano, pristano y fitano. Se diluye con hexano hasta obtener una disolución de 50 mg/L.

- Disolución madre de PAHs (HPLC): Se parte de una disolución concentrada (10 mg/L) en acetonitrilo de 16 especies. Se diluye con diclorometano hasta una concentración final de 500 µg/L.
- Disolución madre de PAHs (GC/MS): Se parte de una disolución concentrada (100 mg/L) en ciclohexano. Se diluye con hexano hasta obtener una disolución de 5 mg/L.
- Disolución madre de ácido pínico, ácido cis-pinónico, ácido trans-norpinónico y nopinona: Se pesan 0.0025 de cada compuesto puro y se diluyen con 25 mL de acetonitrilo, consiguiendo una disolución de 100 mg/L.
- Disolución madre de ácido azelaico: Se pesan 0.0025 gramos del compuesto puro y se disuelve en 10 mL de acetonitrilo, obteniéndose una disolución de 250 mg/L.
- Disolución madre de levoglucosan: Se pesan 0.0025 gramos del compuesto puro y se disuelve en 10 mL de acetonitrilo, obteniéndose una disolución de 250 mg/L.
- Disolución madre de reteno: Se pesan 0.0025 gramos del compuesto puro y se disuelve en 10 mL de acetonitrilo, obteniéndose una disolución de 250 mg/L.

A partir de todas estas disoluciones madre iniciales se preparan por dilución, las diferentes disoluciones de trabajo. Todos estos patrones se mantienen a -4 °C durante un tiempo máximo de 2 meses, cuando se sustituirán. Las disoluciones de trabajo también permanecerán en el congelador por un tiempo máximo de 10 días.

Además de las disoluciones madre citadas anteriormente es necesaria la preparación del reactivo PFBHA y de los patrones internos.

- Reactivo PFBHA: Se pesan 0.0500 gramos que se disuelven en 10 mL de acetonitrilo y unas pocas gotas de agua para facilitar la disolución, obteniéndose una disolución de PFBHA 19 mM.
- Patrón interno de ácido palmítico deuterado D₃₁: Se pesan 0.0060 gramos del compuesto puro y se diluye en 25 mL de diclorometano, obteniendo un patrón de 240 mg/L.
- Patrón interno de 1-clorododecano: Se pesa el compuesto puro y se diluye con hexano hasta obtener una disolución patrón de 10 mg/L.

3.4. MUESTREO

Como aplicación del procedimiento analítico desarrollado para la identificación y cuantificación de la fracción orgánica del aerosol atmosférico, se procedió a realizar un muestreo en una zona rural de Madrid. La zona de muestreo se localizó en el término municipal de Chapinería, una pequeña localidad rural situada al sur-oeste de Madrid, a unos cincuenta kilómetros. La zona esta rodeada de bosques y encontrándose a las faldas del sistema central.

El muestreo se ha realizado en una estación de vigilancia de la contaminación atmosférica de la Comunidad de Madrid, con el empleo de dos captadores de alto volumen con filtros de fibra de cuarzo. Se ha empleado un captador GMW Model 1200 para recoger la fracción PM_{10} (Figura 12) empleándose filtros de fibra de cuarzo de 203 x 254 mm (Schleicher & Schuell) según la normativa europea EN-12341. Para recoger la fracción de $PM_{2.5}$ se utilizó el captador CAV-A/HF (Figura 12), empleándose filtros de fibra de cuarzo de 150 mm de diámetro (Schleicher & Schuell) según la Directiva 99/30/CE.

Figura 12: Captador GMW Model 1200 de Graseby & Andersen (izquierda) y CAV-A/HF de MCV (derecha).



El calendario de muestreo se decidió conjuntamente con los diferentes grupos que participan en el proyecto a nivel nacional. Se tomaron 2 muestras simultáneas cada 6 días. El muestreo comenzaba a primera hora de la mañana. El calendario del muestreo es el que se presenta en la Tabla 3. Se tomaron muestras durante la primavera y el verano de 2004. Los días muestreados están en amarillo, mientras que los días en rojo han sido los analizados.

Tabla 3: Calendario de muestreo

Abril							Junio						
L	M	X	J	V	S	D	L	M	X	J	V	S	D
			1	2	3	4		1	2	3	4	5	6
5	6	7	8	9	10	11	7	8	9	10	11	12	13
12	13	14	15	16	17	18	14	15	16	17	18	19	20
19	20	21	22	23	24	25	21	22	23	24	25	26	27
26	27	28	29	30			28	29	30				

Mayo							Julio						
L	M	X	J	V	S	D	L	M	X	J	V	S	D
					1	2				1	2	3	4
3	4	5	6	7	8	9	5	6	7	8	9	10	11
10	11	12	13	14	15	16	12	13	14	15	16	17	18
17	18	19	20	21	22	23	19	20	21	22	23	24	25
24	25	26	27	28	29	30	26	27	28	29	30	31	
31													

El muestreo se realizó en periodos de 24 horas, con caudales de 30 m³/h para la fracción de PM_{2.5} y de 67.8 m³/h para la fracción de PM₁₀. Para cada muestreo se anotaron las horas de inicio y finalización del ciclo, las pesadas de los filtros, y los caudales de aire.

3.4.1. Análisis gravimétrico

Para realizar el análisis gravimétrico se debe proceder a la pesada de los filtros, en condiciones controladas, antes y después de recoger una muestra. El siguiente procedimiento es el que siguen los filtros de fibra

de cuarzo desde su adquisición, pasando por su almacenamiento y conservación, hasta su posterior análisis.

- a) Los filtros limpios se introducen en una mufla a 400 °C durante 24 horas, para eliminar restos de carbono orgánico que hubiese presente.
- b) Los filtros serán referenciados en un borde, atendiéndose a código RA seguido de un numero, empezando por el 1, para los PM₁₀ y RM seguido de un número, también empezando por el 1, para los PM_{2,5}.
- c) Una vez enfriados, se introducen en una cámara a temperatura y humedad controlada, 20 °C y 50% humedad relativa durante al menos 48 horas, para proceder a la pesada de los filtros mediante una balanza analítica. Los filtros se pesarán cada 24 horas, hasta obtener pesadas que difieran en ± 0.00030 gramos. Una vez pesados los filtros limpios se envuelven en papel de aluminio y se etiquetan con la misma referencia.
- d) Los filtros cargados de muestra se sacan del envoltorio de papel de aluminio y se introducen en la cámara de temperatura y humedad controlada. Una vez en ella, permanecerán como mínimo 48 horas, antes de comenzar la pesada. Los filtros se pesarán cada 24 horas, hasta obtener pesadas que difieran en ± 0.00030 gramos.
- e) Una vez terminado el análisis gravimétrico, los filtros se conservaran envueltos en papel de aluminio a una temperatura de 4 °C, hasta su análisis en el laboratorio.

En las Tablas 4 y 5 se presentan los datos del análisis gravimétrico, para las fracciones de PM₁₀ y PM_{2.5} respectivamente, realizado con las muestras recogidas entre los meses de Abril y Julio (Tabla 3).

Tabla 4: Datos para la fracción de PM₁₀

Caudal nominal (m³/h) 67.8

Inicio muestreo		Peso filtro		Tiempo de muestreo (h)	Volumen (m ³)	Concentración (µg/m ³)
Día	Hora	Blanco (g)	Muestra (g)			
28/03/2004	10:27	4,53255	4,54580	23,80	1613,6	8,2
29/03/2004	10:40	4,50640	4,52120	24,00	1627,2	9,1
05/04/2004	9:50	4,70760	4,73805	24,00	1627,2	18,7
06/04/2004	10:00	4,73085	4,76845	23,90	1620,4	23,2
13/04/2004	9:24	4,64815	4,68830	24,00	1627,2	24,7
14/04/2004	10:33	4,68470	4,74035	24,00	1627,2	34,2
07/05/2004	9:46	4,44095	4,47365	24,10	1634,0	20,0
15/05/2004	9:19	4,43925	4,47795	24,00	1627,2	23,8
24/05/2004	10:37	4,49085	4,51690	24,00	1627,2	16,0
01/06/2004	10:52	4,48720	4,54230	24,00	1627,2	33,9
09/06/2004	10:04	4,47680	4,56995	24,00	1627,2	57,2
17/06/2004	9:58	4,52205	4,59900	24,00	1627,2	47,3
25/06/2004	10:26	4,47140	4,52635	24,00	1627,2	33,8
03/07/2004	0:00	4,50190	4,61050	24,00	1627,2	66,7
11/07/2004	0:00	4,52935	4,56425	24,00	1627,2	21,4
19/07/2004	9:54	4,51015	4,55145	24,00	1627,2	25,4
27/07/2004	15:02	4,47960	4,55545	24,00	1627,2	46,6
04/08/2004	10:50	4,52505	4,56405	24,00	1627,2	24,0

Tabla 5: Datos para la fracción de PM_{2.5}

Caudal nominal (m³/h) 30.0

Inicio muestreo		Peso filtro		Tiempo de muestreo (h)	Volumen (m ³)	Concentración (µg/m ³)
Día	Hora	Blanco (g)	Muestra (g)			
28/03/2004	10:35	1,49509	1,50236	23,80	730	10,0
29/03/2004	16:04	1,47584	1,48037	24,00	730	6,2
05/04/2004	9:47	1,49683	1,50541	24,00	636	13,5
06/04/2004	10:06	1,49864	1,51008	23,90	743	15,4
13/04/2004	9:24	1,51726	1,53240	24,00	720	21,0
14/04/2004	10:20	1,50648	1,52094	24,00	720	20,1
07/05/2004	9:46	1,48088	1,48838	24,10	744	10,1
15/05/2004	9:39	1,46316	1,47318	24,00	730	13,7
24/05/2004	10:44	1,49436	1,50152	24,00	730	9,8
01/06/2004	10:51	1,51880	1,53068	24,00	730	16,3
09/06/2004	9:57	1,50150	1,51648	24,00	706	21,2
17/06/2004	9:58	1,51709	1,53125	24,00	706	20,1
25/06/2004	10:14	1,47962	1,49040	24,00	706	15,3
03/07/2004	0:00	1,50527	1,52287	24,00	730	24,1
11/07/2004	0:00	1,48735	1,49580	24,00	816	10,4
19/07/2004	9:54	1,54528	1,55443	24,00	730	12,5
27/07/2004	15:03	1,53672	1,55237	24,00	728	21,5
04/08/2004	10:50	1,55644	1,56695	24,00	729	14,4

3.5. EXTRACCIÓN

El primer paso en el desarrollo de una metodología analítica capaz de identificar y cuantificar las diferentes especies orgánicas que forman parte del aerosol atmosférico, será la realización de diferentes ensayos de extracción. Para ello se evaluaron las recuperaciones obtenidas al depositar, diferentes patrones analíticos sobre filtros de fibra de cuarzo, empleándose diferentes técnicas de extracción. Los patrones analíticos, que se han preparado según el punto 3.3, se depositan sobre $\frac{1}{4}$ de filtro de fibra de cuarzo para $PM_{2.5}$ calcinado.

Las técnicas de extracción que se han estudiado han sido la extracción con Soxhlet, la extracción con microondas y la extracción con ultrasonidos. En todas ellas, se ha empleado diferentes disolventes orgánicos y/o mezcla de estos, como agentes extractantes. A continuación pasaremos a describir el procedimiento analítico que se ha seguido para cada técnica de extracción.

3.5.1. *Extracción con Soxhlet*

El procedimiento analítico seguido consiste en depositar los filtros, a los cuales se les han añadido volúmenes predeterminados de los patrones con el fin de obtener concentraciones finales de 25 mg/L, dentro de los cartuchos de celulosa. Una vez colocada la muestra se procede a la extracción con el disolvente orgánico elegido. Se evalúa la recuperación de varios ácidos, alcoholes, del reteno y del alcanos de 15 átomos de carbono.

El equipo automático Soxhlet permite realizar 4 análisis simultáneos. Uno de ellos será un blanco y con el resto se harán tres

réplicas de una misma extracción. En la Tabla 6 se resumen las condiciones de funcionamiento del Soxhlet y la posterior concentración mediante rotavapor.

Tabla 6: Condiciones de trabajo del Soxhlet y rotavapor.

<i>Disolvente</i>	<i>Volumen (mL)</i>	<i>Tiempo (horas)</i>	<i>Posición calentamiento</i>	<i>Temp. Rotavapor (°C)</i>	<i>Presión Rotavapor (mmHg)</i>
CH ₂ Cl ₂	150	8	6 (12 máximo)	40	700
Hexano/Acetona (1:1)	150	7	7	40	335
CH ₂ Cl ₂ /Acetonitrilo (1:1)	150	8	6	40	200
CH ₂ Cl ₂ /Acetona (3:1)	150	8	6	40	556
CH ₂ Cl ₂ /Metanol (4:1)	150	8	6	45	337

Los extractos obtenidos serán concentrados hasta sequedad, en primer lugar mediante el empleo de un rotavapor (las condiciones experimentales están reflejadas en la Tabla 6) y finalmente bajo una corriente de nitrógeno. Una vez terminada la etapa de extracción se procederá a la etapa de derivatización y al análisis cromatográfico que serán detallados posteriormente. El volumen final del extracto será 1 mL.

3.5.2. Extracción mediante ultrasonidos

La extracción con ultrasonidos consistió en depositar ¼ de filtro de fibra de cuarzo dentro de un vaso de precipitados de 100 mL, que será el recipiente donde se realice la extracción. Sobre cada filtro se añadieron volúmenes predeterminados de cada patrón, con el fin de obtener una concentración final de 25 mg/L, excepto para el alcano de 15 átomos de carbono, que será inferior.

El baño de ultrasonidos se llena con agua ionizada, y se colocan los recipientes en los que se producirá la extracción. Para cada extracción se realizaron tres réplicas y un blanco. En la Tabla 7 se presentan las características de los diferentes ensayos que se han realizado.

Tabla 7: Características de la extracción mediante ultrasonidos

<i>Nº extracciones</i>	<i>Volumen (mL)</i>	<i>Disolvente</i>	<i>Tiempo (min)</i>
2	50	CH ₂ Cl ₂	30
2	60	Hexano/Acetona (1:1)	15
2	50	CH ₂ Cl ₂ /MeOH (4:1)	20
2	50	CH ₂ Cl ₂ /Acetona (2:1)	20
2	50	CH ₂ Cl ₂ /Acetonitrilo (1:1)	20

Los extractos obtenidos se filtran (WHATMAN de 11 cm. de diámetro), recogándose en matraces de 250 mL, para concentrarlos con un rotavapor (Tabla 6) y finalmente, con una corriente de Nitrógeno, hasta un volumen final de 1 mL. A continuación se procederá a la derivatización y análisis cromatográfico.

3.5.3. Extracción con microondas

La extracción mediante la técnica de microondas consistió en depositar ¼ de filtro de fibra de cuarzo, previamente calcinado, en cada vasija del equipo de microondas. Se realizarán 3 réplicas para cada ensayo, así como un blanco.

En todas las experiencias se añadieron cantidades conocidas de cada compuesto; alcanos, PAHs, alcoholes y ácidos, en cada filtro, con el fin de obtener unas concentraciones finales de 5 ppm (alcanos y PAHs) y de 25 (alcoholes y ácidos).

La extracción consistió en aplicar una radiación de microondas durante un periodo de tiempo, aplicándose simultáneamente un programa de temperatura; una rampa inicial hasta alcanzar la temperatura de extracción y su mantenimiento durante todo el proceso de extracción. Las condiciones de la extracción se detallan en la Tabla 8.

Tabla 8: Características de la extracción con microondas

Disolvente Volumen (mL)	Potencia Microondas (W)	Tiempo Rampa (min)	Temperatura extracción (°C)	Tiempo extracción (min)
20 mL CH ₂ Cl ₂	1000	10	120	20
20 mL Hex/Acetona 1:1	1000	10	120	20
20 mL CH ₂ Cl ₂ /Acetona 3:1	1000	10	120	20
20 mL CH ₂ Cl ₂ /MeOH 4:1	1000	10	120	20
20 mL CH ₂ Cl ₂ /Actlo 1:1	1000	10	120	20

Una vez terminada la extracción y cuando las vasijas de reacción se hayan enfriado hasta temperatura ambiente, los extractos son filtrados con un filtro de PTFE para, a continuación, proceder a la eliminación del disolvente mediante un rotavapor (condiciones en Tabla 6) y una corriente de N₂.

Una vez terminada la etapa de purificación, se realizará el análisis cromatográfico. Para el análisis de los alcanos, la muestra se lleva a 1 mL de hexano, empleándose 1-clorododecano como patrón interno. El análisis de PAHs requiere reconstituir con 200 µL de hexano empleando fenantreno deuterado como patrón interno, mientras que para el análisis de los compuestos polares es necesario proceder a la derivatización de los componentes con BSTFA, obteniéndose un volumen final de 1 mL, usando en este caso el ácido palmítico deuterado como patrón interno.

3.6. PURIFICACIÓN O "CLEAN-UP".

Los extractos orgánicos deben someterse a un proceso de purificación y fraccionamiento de los compuestos de interés que facilite el posterior análisis mediante técnicas cromatográficas. El procedimiento de clean-up más empleado en la bibliografía para este tipo de compuestos es la cromatografía en columna.

Para ello se han utilizado columnas de vidrio (10 cm x 1 cm de diámetro interno) preparadas en el laboratorio, a la cual se le añadirán 1.5 g de adsorbente. La columna debe ser rellenada cuidadosamente para así evitar que se formen vías que impidan la retención de la muestra.

Se estudiaron tres tipos de adsorbentes diferentes, gel de sílice, alúmina y una mezcla gel de sílice/alúmina (1:1).

Tanto la sílice como la alúmina, deben de someterse antes de su empleo a un tratamiento previo de activación / desactivación. Para ello, tanto alúmina como sílice, permanecerán lavándose con CH_2Cl_2 durante 24 horas en un Soxhlet. Una vez secada a 100 °C, se procede a activar la sílice y alúmina con un 5% de agua.

Para la elección de los eluyentes se partió de un método desarrollado anteriormente en el laboratorio y se optimizó para los compuestos de interés. Finalmente la elución de la mezcla de compuesto se realizará con el siguiente orden:

1^a fracción: hidrocarburos alifáticos \Rightarrow 3 mL de hexano

2^a fracción: PAHs \Rightarrow 10 mL de hexano/ CH_2Cl_2 (4:1)

3^a fracción: Alcoholes \Rightarrow 10 mL de hexano/Acetato de etilo (4:1)

4^a fracción: Ácidos carboxílicos \Rightarrow 10 mL ácido fórmico/MeOH 5%

Para realizar el fraccionamiento la muestra se deposita en cabeza de columna, se hacen pasar los eluyentes por orden de polaridad creciente, y se recogen las cuatro fracciones, la primera en un vial de 5 mL, la segunda y tercera en viales de 10 mL, mientras que la última se recoge en un matraz redondo. A continuación se elimina el disolvente hasta sequedad bajo una corriente de N_2 , y con la ayuda del rotavapor para la cuarta fracción.

Por último se reconstituye la muestra con 1 mL de disolvente; Hexano para la primera fracción (Hidrocarburos alifáticos) y CH_2Cl_2 para la tercera (Alcoholes) y cuarta fracción (Ácidos carboxílicos). La fracción que contiene los PAHs se reconstituye con 0,5 mL de Acetonitrilo, si se inyectan en el HPLC, o con 0,2 mL de Hexano si se inyecta en el GC/MS.

3.7. DERIVATIZACIÓN

Se estudiaron algunos de los reactivos que se han empleado mayoritariamente en la bibliografía para el análisis de especies polares en el aerosol atmosférico. Entre ellos está el PFBHA, el BSTFA y el BSTFA con TMCS como catalizador.

Se realizaron tres réplicas para cada ensayo, con el fin de poder evaluar la repetitividad de la reacción.

3.7.1. Reacción con BSTFA

Se derivatizan compuestos alcohólicos y ácidos carboxílicos, además de ácido pínico, norpinónico, pinónico, azelaíco y levoglucosan. Todos los compuestos se llevaron a una concentración final de 25 mg/L, empleándose como patrón interno el ácido palmítico deuterado.

Para las reacciones con BSTFA y BSTFA/TMCS, el procedimiento utilizado es similar; llevar la muestra hasta sequedad en corriente de N₂, y a continuación añadir una pequeña cantidad de agente derivatizante, BSTFA o BSTFA/TMCS, y el mismo volumen de isooctano (se realizaron tres estudios con diferentes volúmenes de derivatizante 25, 50 y 100 µL).

Por último se agita vigorosamente durante 1 minuto, para dejar la mezcla reaccionando durante 1 hora a 80 °C. Durante este periodo, se produce la reacción de silanización, donde los grupos -OH libres son sustituidos por grupos trimetilsilil.

Finalmente se elimina el reactivo con una suave corriente de N₂, y se reconstituye la muestra con 1 mL de Isooctano. Es importante el hecho de llevar la muestra completamente hasta sequedad antes de producirse

la reacción, ya que cualquier resto de humedad en la misma destruye el reactivo.

3.7.2. Reacción con PFBHA + BSTFA

Se derivatizan los compuestos polares del apartado 3.7.1, todos ellos a una concentración de 25 mg/L. Para ello se añaden 50 μ L del reactivo PFBHA 19 mM a la mezcla de compuestos polares y se deja reaccionar la mezcla durante 24 horas a temperatura ambiente y en ausencia de luz. En este caso no es necesario eliminar el agua y pueden utilizarse disolventes polares.

A continuación se procede a realizar la reacción con BSTFA, según se ha descrito en el apartado 3.7.1.

3.8. ANALISIS CROMATOGRÁFICO

Todos los extractos y fracciones han sido analizados mediante la técnica de GC/MS. Los estudios de optimización de metodologías se han llevado a cabo utilizando un cromatógrafo de gases Hewlett Packard 5890 series II acoplado a un detector de espectrometría de masas Hewlett Packard 5971A.

Para el análisis de muestras según el método optimizado se ha utilizado un cromatógrafo de gases (Fisons GC 8000 series) con inyector automático (Fisons AS 800), acoplado a un espectrómetro de masas (Fisons MD 800). En cambio, el análisis de PAHs en las muestras se realizó con un cromatógrafo de líquidos de alta eficacia, Hewlett Packard Series 1050 con detector de fluorescencia. La columna cromatográfica empleada ha sido una Supelcosil LC-PAH de 5 μm de espesor (25 cm x 4.6 mm).

Las condiciones en que operan los dos cromatógrafos de gases son similares; ambos han empleado la misma columna cromatográfica, una DB 5-MS (30 m x 0.25 mm d.i. x 0.25 μm espesor fase estacionaria), con inyección "splitless", manteniendo la válvula de split cerrada durante 1 min. El gas portador es Helio (0.8 mL/min.). El detector trabaja en modo de impacto electrónico con una energía de la fuente de iones 70 eV, temperatura de la fuente de iones 200 °C, temperatura detector 250 °C (Fisons) y de 280 °C (Hewlett Packard).

3.8.1. Análisis de *n*-alcanos

Para analizar *n*-alcanos mediante GC/MS es necesario el empleo de un gradiente de temperatura, empleándose el siguiente programa temperatura; mantener la columna a 90 °C durante 5 minutos, luego se

aumenta 5 °C/min hasta los 300 °C, para mantenerla 30 minutos más. El detector trabaja en modo SIM, monitorizando las relaciones m/z 57, 71, 85 con un "delay" de 8 min.

La muestra se llevaba a un volumen final de 1 mL, añadiéndose como patrón interno 100 µL de 1-clorododecano de 100 ppm en hexano.

3.8.2. Análisis de PAHs

El análisis de los PAHs presentes en las muestras se realizó mediante HPLC siguiendo la metodología previamente desarrollada en el laboratorio para el análisis de estos compuestos en agua y sedimentos [59,60].

En el estudio de optimización, los PAHs se analizaron mediante GC/MS, utilizando un programa de temperatura similar al de los alcanos.

La diferencia radica en el detector, en este caso el detector de espectrometría de masas trabaja en modo SIM, monitorizando los siguientes relaciones m/z 128, 152, 154, 166, 178, 188, 202, 219, 228, 252, 276, 278. Se aplicó un "delay" de 2.5 min. La elección de estas m/z se debe a que corresponden a los iones moleculares de los 16 PAHs seleccionados; véase para el naftaleno (128), acenaftileno (152), acenafteno (154), fluoreno (166), fenantreno (178), antraceno (178), fenantreno D₁₀ (188), pireno (202), fluoranteno (202), reteno (219), benzo(a)antraceno (228), criseno (228), benzo(b)fluoranteno (252), benzo(k)fluoranteno (252), benzo(a)pireno (252), indeno(1,2,3-cd)pireno (276), benzo(g,h,i)perileno (276) y dibenzo(a,h)antraceno (278).

Las muestras se llevaban a un volumen final de 200 µL de hexano, empleándose como patrón interno el fenantreno D₁₀, del cual se añadieron 40 µL de una disolución madre de 10 mg/L en ciclohexano.

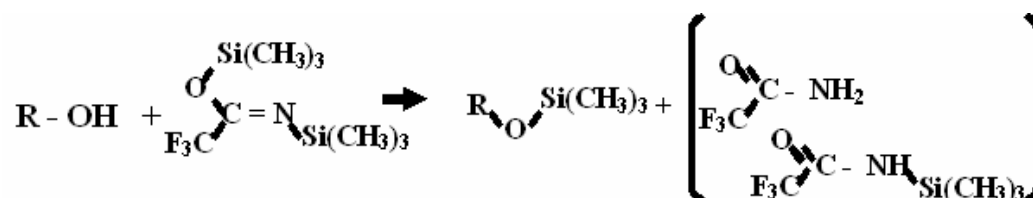
3.8.3. Análisis de alcoholes y ácidos

Para el análisis de los alcoholes y ácidos derivatizados se empleó el siguiente programa de temperatura; mantener a 70 °C durante 1 min. Para a continuación ir aumentando 10 °C/min hasta los 150 °C, luego se cambia la rampa a 5 °C/min hasta alcanzar los 290 °C y por último se mantiene esta temperatura durante 23 minutos. El detector trabaja en modo Scan (m/z 50-590), y se le aplica un "delay" de 5 min.

Los compuestos se llevan a 1 mL de isooctano, empleándose ácido palmítico deuterado como patrón interno. Se añaden 100 µL de ácido palmítico D₃₁ de 250 ppm en diclorometano.

Los espectros de masas de los trimetilsilil derivados poseen iones característicos, que facilitarán la identificación. La reacción que se produce entre el BSTFA y los grupos -OH es:

Figura 13: Reacción del BSTFA con los grupos -OH



El ion m/z 73 se corresponde con el fragmento $[\text{Si(CH}_3\text{)}_3]^+$, mientras que el ion m/z 75 se corresponde con el fragmento $[\text{HO-Si(CH}_3\text{)}_2]^+$. Ambos iones aparecen en el espectro de todos los analitos que reaccionen con BSTFA. El ion m/z 117 que corresponde con el fragmento $[\text{COOSi(CH}_3\text{)}_3]^+$, aparece cuando el analito que reacciona es un ácido mono carboxílico, mientras que el ion m/z 147, que se corresponde con el fragmento $[(\text{CH}_3)_2\text{Si=OSi(CH}_3\text{)}_3]^+$, aparece cuando el analito posee dos H susceptibles a ser atacados por el BSTFA, es decir

un compuesto difuncional. El ion m/z 103 que se corresponde con el fragmento $[\text{CH}_2\text{OSi}(\text{CH}_3)_3]^+$, aparece cuando el analito es un alcohol primario.

En la Tabla 9 se presentan los iones característicos de los trimetilsilil derivados de cada compuesto que ha reaccionado con el reactivo BSTFA, así como los tiempos de retención de los mismos en el cromatograma.

Tabla 9: tr (min) e m/z característicos de compuestos con BSTFA

Compuesto	tr (min)	m/z	Compuesto	tr (min)	m/z
Ácido C ₁₂	14,9	73-75-117-257	Ácido C ₁₉	28,2	73-75-117-355
Ácido C ₁₃	16,9	73-75-117-271	Ácido C ₂₀	29,9	73-75-117-369
Ácido C ₁₄	18,9	73-75-117-285	Ácido C ₂₁	31,6	73-75-117-383
Ácido C ₁₅	20,8	73-75-117-299	Ácido C ₂₂	34,7	73-75-117-397
Ácido C ₁₆	22,7	73-75-117-313	Alcohol C ₁₂	13,4	73-75-103-243
Ácido C ₁₇	24,6	73-75-117-327	Alcohol C ₁₃	15,2	73-75-103-257
Ácido C ₁₈	26,4	73-75-117-341	Alcohol C ₁₄	17,2	73-75-103-271
Ácido azelaico	17,9	73-75-201-317	Alcohol C ₁₅	19,1	73-75-103-285
Levoglucosan	15,9	204-219-234	Alcohol C ₁₆	21,1	73-75-103-299
Ác. Transnorpinónico	13,3	73-75-129-157	Alcohol C ₁₈	24,8	73-75-103-327
Ácido pínico	15,3	73-75-171-172	Alcohol C ₂₀	28,4	73-75-103-355
Ácido cis pinónico	12,8	73-75-83-171	Alcohol C ₂₂	31,7	73-75-103-383

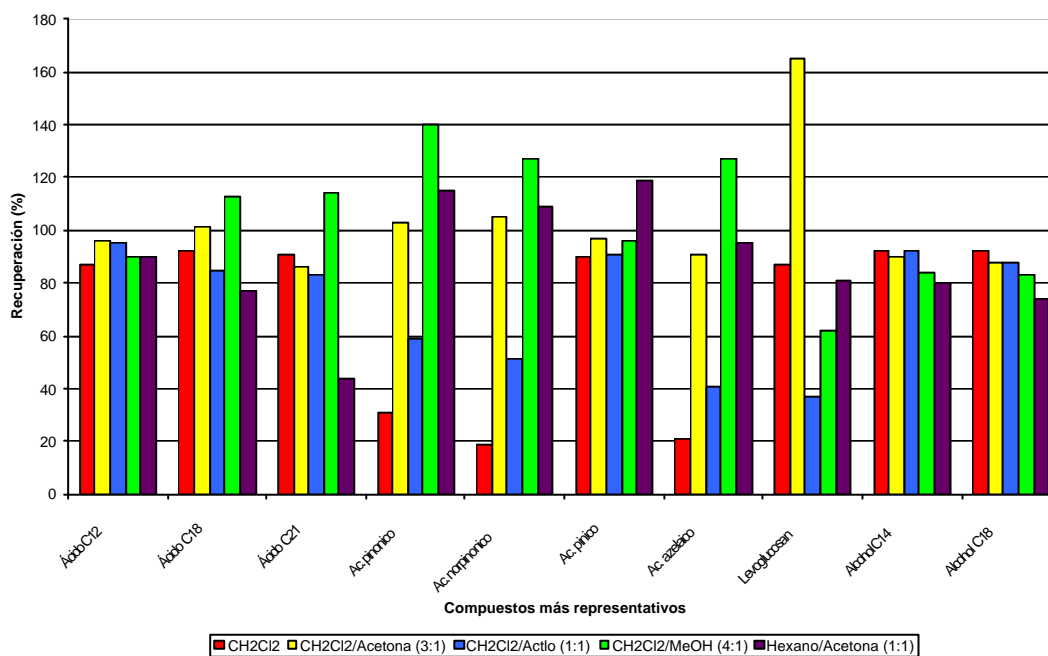
4. RESULTADOS

4.1. ETAPA DE EXTRACCIÓN

4.1.1. Extracción Soxhlet

En la Tabla 10 se indican las recuperaciones obtenidas para cada compuesto al extraer con diferentes disolventes, mientras que la Figura 14 se representan las recuperaciones obtenidas para los compuestos más significativos.

Figura 14: Recuperaciones obtenidas en Soxhlet de los compuestos más representativos



Todos los analitos estaban a una concentración de 25 mg/L, con excepción del pentadecano. Para calcular las recuperaciones se comparan los resultados de la mezcla extraída con Soxhlet, con un patrón de la misma concentración que no ha sufrido la extracción, pero que ha seguido el mismo procedimiento analítico.

La cuantificación se realizó midiendo áreas totales en todos los casos, excepto para aquellos donde existe solapamiento de picos en el cromatograma, como para del ácido undecanoico donde se midió la

relación masa/carga m/z 243, el tridecanol (m/z 257), el ácido transnorpinónico (m/z 172), el ácido pínico (m/z 157) y el reteno (m/z 219). Como patrón interno se empleó ácido palmítico deuterado (D_{31}) con concentración de 25 mg/L.

Para todos los estudios de extracción se analizaron blancos de filtros, encontrándose únicamente pequeñas cantidades de ácido palmítico y ácido esteárico, a excepción de la extracción con diclorometano/metanol que presentaba unos blancos más sucios.

Para el caso de los compuestos alifáticos y PAHs, el ensayo solo se ha realizado para el pentadecano y el reteno, respectivamente. Los estudios de recuperación de estos compuestos mediante la técnica de Soxhlet están muy documentados, y se han llevado a cabo en el laboratorio en los últimos años, por lo que los ensayos se centraron en las especies polares.

En los estudios realizados, los compuestos alcohólicos han presentado mejores recuperaciones al extraer la mezcla con diclorometano y con diclorometano/acetona, aunque esta última presenta peores recuperaciones para los compuestos de mayor peso molecular. Para ambos casos las recuperaciones están alrededor del 90%. Teniendo en cuenta la reproducibilidad de la extracción, ambas disolventes presentan valores de RDS bajos, considerando como aceptables valores inferiores al 8%. La extracción con diclorometano/acetonitrilo, ha presentado recuperaciones similares a las anteriores, pero con peor reproducibilidad para los alcoholes de mayor peso molecular. En el caso de las extracciones con hexano/acetona y diclorometano/metanol las recuperaciones de los alcoholes son inferiores y presentan peor reproducibilidad, principalmente para esta última.

Se ha podido comprobar que en los casos donde se emplea una mezcla de diclorometano con otro disolvente las recuperaciones para los alcoholes son algo peores. Los alcoholes tienen un grupo polar, pero además tienen una cadena alifática, y el carácter apolar está muy marcado por la longitud de la cadena, por lo cual los resultados obtenidos con el disolvente menos polar, el diclorometano, han sido mejores.

En el caso de los ácidos carboxílicos la extracción con diclorometano se presenta como la más efectiva para los compuestos de mayor peso molecular, pero presenta recuperaciones algo inferiores para los compuestos de menor peso molecular. La reproducibilidad, en este caso, disminuye para los compuestos más pesados. Cuando las extracciones se realizan con diclorometano/acetonitrilo y diclorometano/acetona, tenemos un medio extractante algo más polar, y las recuperaciones de los compuestos más pesados son menores que en caso de emplear diclorometano, pero se mejoran las de los compuestos de menor peso molecular. Además la ventaja que presenta la extracción con diclorometano/acetona, es que es más reproducible que el resto de ensayos realizados.

La extracción con hexano/acetona no se ha presentado como una alternativa efectiva para extraer los ácidos de mayor peso molecular, debido a la baja reproducibilidad y las bajas recuperaciones en comparación con los otros disolventes estudiados. En cuanto a la extracción con diclorometano/metanol los resultados no son representativos ya que no se obtienen blancos limpios, aparecen cantidades considerables de los compuestos pares, y la incertidumbre es elevada, existiendo poca reproducibilidad en la extracción. La medida del ácido de 23 átomos de carbono presenta una elevada incertidumbre.

En el estudio de los ácidos dicarboxílicos, donde se incluye el ácido azelaíco, el ácido pínico, el ácido pinónico y el ácido norpinónico, la extracción con diclorometano se ha presentado como la menos efectiva, debido a ser el medio más apolar y estos compuestos ser los más polares. En el caso de la mezcla hexano/acetona, un medio algo más polar, la recuperación ha sido mayor. Recuperaciones parecidas han presentado los ensayos con diclorometano/acetona y diclorometano/metanol. De todos ellos, el ensayo con diclorometano/acetona ha presentado la mayor reproducibilidad.

Tabla 10: Recuperaciones obtenidas para la extracción Soxhlet

	150 mL CH ₂ Cl ₂			150 mL CH ₂ Cl ₂ /Acetona (3:1)			150 mL CH ₂ Cl ₂ /Actlo (1:1)			150 mL CH ₂ Cl ₂ /MeOH (4:1)			150 mL Hexano/Acetona (1:1)		
	Recuperación	S	RDS	Recuperación	s	RDS	Recuperación	s	RDS	Recuperación	s	RDS	Recuperación	s	RDS
Ácido C ₁₀	83%	0,079	5%	97%	0,102	8%	91%	11,043	6%	89%	0,412	29%	101%	22,538	14%
Ácido C ₁₁	85%	0,006	4%	91%	0,008	5%	92%	0,850	4%	88%	0,040	27%	97%	2,464	12%
Ácido C ₁₂	87%	0,065	4%	96%	0,070	4%	92%	10,887	5%	90%	0,370	24%	90%	21,373	13%
Ácido C ₁₃	90%	0,066	5%	91%	0,067	5%	92%	10,565	6%	89%	0,302	24%	86%	17,251	12%
Ácido C ₁₄	94%	0,032	3%	97%	0,042	4%	92%	4,976	4%	96%	0,241	23%	91%	12,148	11%
Ácido C ₁₅	92%	0,038	3%	92%	0,054	5%	91%	7,419	5%	90%	0,240	23%	85%	12,622	11%
Ácido C ₁₆	98%	0,006	1%	117%	0,143	11%	101%	11,427	8%	134%	0,303	21%	103%	15,627	13%
Ácido C ₁₇	92%	0,033	4%	91%	0,039	5%	87%	6,640	6%	91%	0,156	20%	77%	11,888	15%
Ácido C ₁₈	92%	0,047	4%	101%	0,045	4%	85%	12,454	8%	113%	0,224	18%	77%	19,712	18%
Ácido C ₁₉	91%	0,041	5%	88%	0,043	6%	79%	10,359	12%	93%	0,102	17%	62%	13,894	23%
Ácido C ₂₀	91%	0,046	7%	85%	0,046	8%	81%	12,967	17%	100%	0,064	13%	53%	10,623	25%
Ácido C ₂₁	91%	0,022	4%	86%	0,053	11%	83%	12,361	21%	114%	0,032	9%	44%	12,770	43%
Ácido C ₂₂	92%	0,043	11%	75%	0,079	26%	82%	11,589	25%	192%	0,035	11%	41%	1,273	6%
Ácido C ₂₃	155%	0,042	27%	47%	0,082	102%	99%	9,563	40%	588%	0,034	25%	19%	0,000	0%
Ác cispinonico	31%	0,001	23%	103%	0,002	9%	59%	0,265	26%	140%	0,007	35%	115%	0,200	10%
Ác transpinonico	19%	0,112	46%	105%	0,117	9%	51%	12,804	16%	127%	0,666	42%	109%	15,067	10%
Ác pínico	90%	0,094	8%	97%	0,062	5%	91%	11,880	8%	96%	0,275	22%	119%	17,500	11%
Ác azelaico	21%	0,205	76%	91%	0,026	2%	41%	51,616	70%	127%	0,673	36%	95%	21,274	15%
Levoglucosan	87%	0,231	54%	165%	0,025	2%	37%	38,370	52%	62%	0,294	39%	81%	18,371	8%
Reteno	91%	0,005	3%	82%	0,009	8%	88%	1,868	12%	81%	0,009	9%	80%	1,587	13%
Alcohol C ₁₂	83%	0,089	6%	89%	0,066	5%	87%	14,722	7%	76%	0,373	28%	86%	24,203	15%
Alcohol C ₁₃	86%	0,020	4%	86%	0,014	3%	93%	4,594	5%	80%	0,121	26%	83%	8,690	13%
Alcohol C ₁₄	92%	0,073	5%	90%	0,048	3%	92%	12,378	7%	84%	0,332	25%	80%	20,219	14%
Alcohol C ₁₅	94%	0,083	6%	93%	0,056	4%	93%	9,292	5%	94%	0,295	23%	83%	14,266	11%
Alcohol C ₁₆	92%	0,056	5%	90%	0,040	4%	92%	9,478	6%	85%	0,236	23%	83%	14,069	12%
Alcohol C ₁₈	92%	0,037	4%	88%	0,029	3%	88%	11,895	9%	83%	0,164	20%	74%	10,678	11%
Alcohol C ₂₀	96%	0,016	2%	86%	0,023	3%	79%	16,052	15%	87%	0,098	16%	62%	9,206	13%
Alcohol C ₂₂	89%	0,044	9%	84%	0,034	7%	85%	18,690	22%	192%	0,060	8%	54%	5,244	12%
Alcano C ₁₅	83%	0,175	10%	66%	0,085	7%	54%	25,892	18%	16%	0,202	63%	-	221,807	9%

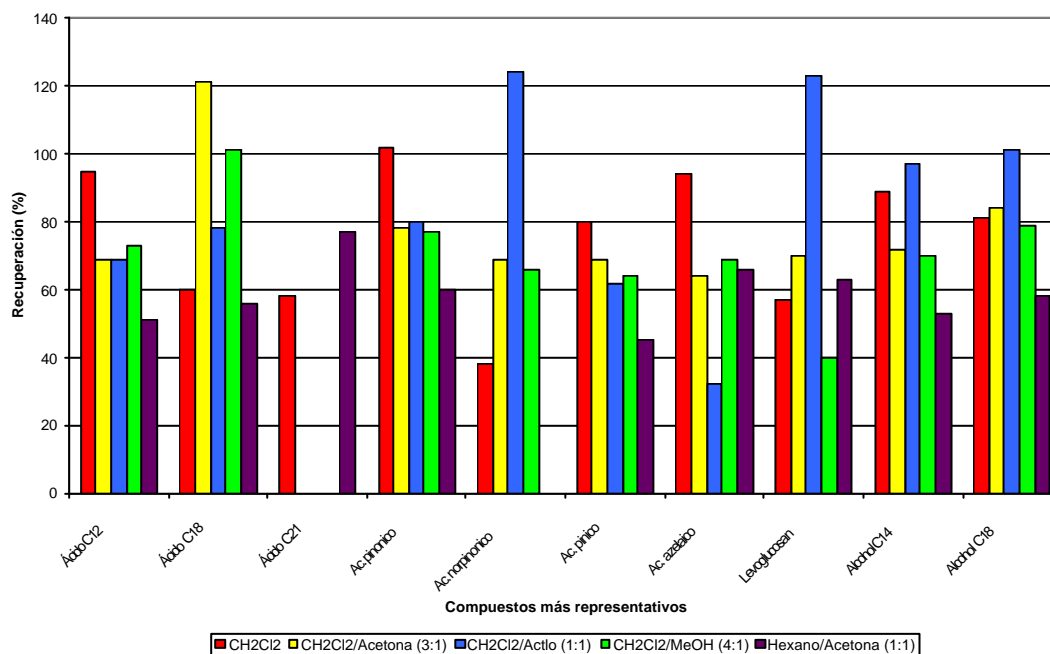
Las extracciones con diclorometano/acetona y hexano/acetona se han presentado como las más efectivas y reproducibles para la determinación de levoglucosan.

Por lo tanto se considera el CH_2Cl_2 /acetona como el disolvente más adecuado para la extracción de los compuestos polares, mientras que el CH_2Cl_2 es más adecuado para la extracción de pentadecano y reteno

4.1.2. Extracción con ultrasonidos

Los resultados obtenidos para los diferentes ensayos se presentan en la Tabla 11, mientras que la Figura 15 presenta las recuperaciones de los compuestos más significativos. Al igual que en la extracción con Soxhlet, el estudio se centró en los compuestos polares.

Figura 15: Recuperaciones obtenidas con ultrasonidos de los compuestos más representativos



La cuantificación de los analitos se ha realizado siguiendo el procedimiento detallado para la extracción con Soxhlet, excepto para el reteno, donde se mide área total en lugar del ión m/z 219, debido a que el

pico no solapaba con ningún otro, y para el alcohol C₁₅ y C₁₆ que se han cuantificado con el ión característico para alcoholes, m/z 103, al solapar éstos con una interferencia generada durante la extracción con ultrasonidos.

La ventaja que presenta la extracción con ultrasonidos radica en el menor tiempo de extracción, comparado con la extracción con Soxhlet. Sin embargo, el baño de ultrasonidos presenta algunas desventajas con respecto al Soxhlet, un dispositivo automático, donde es más difícil que se produzca variabilidad y desviaciones durante la extracción.

El estudio del pentadecano presenta recuperaciones muy bajas, únicamente la extracción con CH₂Cl₂/acetona y CH₂Cl₂/acetonitrilo presenta una recuperación elevada. Para el reteno, todos los disolventes presentan buenas recuperaciones, a excepción de la mezcla hexano/acetona.

Las recuperaciones obtenidas para los alcoholes con la extracción mediante ultrasonidos son inferiores a las obtenidas con la técnica Soxhlet. La excepción es la extracción con la mezcla de CH₂Cl₂/acetonitrilo, en la que se obtienen unas recuperaciones muy elevadas para todos los alcoholes, por encima incluso de las obtenidas en el Soxhlet.

Para los ácidos carboxílicos, las recuperaciones obtenidas mediante la extracción con ultrasonidos son, por norma general, inferiores a las obtenidas en la extracción con Soxhlet. De todos los disolventes empleados, CH₂Cl₂/MeOH y CH₂Cl₂/acetona, presentan los mejores resultados, aunque no se detectan los ácidos de mayor peso molecular, por lo que no son una alternativa adecuada para el análisis de estos compuestos. Los extractos obtenidos en la extracción con

hexano/acetona sí incluyen los compuestos de mayor peso molecular, pero con unas recuperaciones bajas. Lo mismo ocurre para la extracción con CH_2Cl_2 . Para el caso de la extracción con CH_2Cl_2 /acetonitrilo, las recuperaciones son prácticamente idénticas para todos los ácidos, en torno al 80%, pero al igual que el resto de ensayos no se extraen los compuestos de mayor peso molecular.

Para los productos de degradación del α -pineno, estas extracciones no son capaces de recuperar la totalidad de los compuestos a analizar. El ácido trans-norpinónico no se ha detectado en los extractos. Los mejores resultados se obtienen con la extracción con CH_2Cl_2 /acetona y con CH_2Cl_2 /acetonitrilo, del mismo modo que ocurre con la extracción con Soxhlet, aunque con menores recuperaciones.

Para el caso del ácido azelaico, las mejores recuperaciones se obtienen utilizando CH_2Cl_2 , mientras que para el levoglucosan resulta más adecuada la mezcla CH_2Cl_2 /acetonitrilo.

Por norma general los resultados presentan la extracción mediante ultrasonidos menos reproducible que la técnica Soxhlet. Los mejores resultados se presentan con la extracción con CH_2Cl_2 /acetona (2:1), aunque no son tan favorables para los compuestos de mayor peso molecular.

Tabla 11: Recuperaciones obtenidas para la extracción mediante ultrasonidos

	<i>2 x 30min. X 50 MI CH₂Cl₂</i>			<i>2 x 20 min. x 50 mL CH₂Cl₂/Acetona (2:1)</i>			<i>2 x20 min. x 50 mL CH₂Cl₂/Actlo (1:1)</i>			<i>2 x 20 min. x 50 mL CH₂Cl₂/MeOH (4:1)</i>			<i>2 x 20 min. x 60 mL Hexano/Acetona (1:1)</i>		
	<i>Recuperación</i>	<i>s</i>	<i>RDS</i>	<i>Recuperación</i>	<i>s</i>	<i>RDS</i>	<i>Recuperación</i>	<i>s</i>	<i>RDS</i>	<i>Recuperación*</i>	<i>s*</i>	<i>RDS*</i>	<i>Recuperación</i>	<i>s</i>	<i>RDS</i>
<i>Ácido C₁₀</i>	90%	0,14	10%	77%	0,04	3%	79%	0,35	28%	79%	0,00	0%	50%	0,21	25%
<i>Ácido C₁₁</i>	89%	0,02	14%	73%	0,00	3%	79%	0,02	20%	72%	0,21	16%	49%	0,03	26%
<i>Ácido C₁₂</i>	95%	0,21	13%	69%	0,07	5%	69%	0,26	19%	73%	0,02	12%	51%	0,16	15%
<i>Ácido C₁₃</i>	92%	0,17	13%	73%	0,05	5%	83%	0,22	20%	75%	0,14	9%	57%	0,16	19%
<i>Ácido C₁₄</i>	66%	0,09	10%	74%	0,06	6%	80%	0,16	19%	80%	0,14	12%	49%	0,13	16%
<i>Ácido C₁₅</i>	68%	0,04	5%	81%	0,06	6%	80%	0,18	20%	77%	0,08	9%	48%	0,14	17%
<i>Ácido C₁₆</i>	33%	0,12	13%	96%	0,11	7%	83%	0,19	15%	117%	0,08	8%	43%	0,13	9%
<i>Ácido C₁₇</i>	84%	0,05	8%	94%	0,05	7%	82%	0,16	30%	88%	0,07	4%	63%	0,07	14%
<i>Ácido C₁₈</i>	60%	0,15	18%	121%	0,08	7%	78%	0,22	29%	101%	0,01	1%	56%	0,07	10%
<i>Ácido C₁₉</i>	69%	0,19	41%	127%	0,05	10%	45%	0,02	84%	99%	0,04	4%	55%	0,08	21%
<i>Ácido C₂₀</i>	65%	0,19	57%	-	-	-	28%	0,14	173%	-	-	-	43%	0,02	10%
<i>Ácido C₂₁</i>	58%	0,22	128%	-	-	-	-	-	-	-	-	-	77%	0,03	15%
<i>Ác cispinonico</i>	102%	0,15	14%	78%	0,03	3%	80%	0,26	26%	77%	0,12	12%	60%	0,12	19%
<i>Ác transnorpinonico</i>	38%	0,01	59%	69%	0,00	4%	124%	0,04	74%	66%	0,01	20%	-	-	-
<i>Ác pínico</i>	80%	0,01	13%	69%	0,00	5%	62%	0,02	29%	64%	0,01	17%	45%	0,01	24%
<i>Ác azelaico</i>	94%	0,23	19%	64%	0,04	4%	32%	0,25	72%	69%	0,13	14%	66%	0,22	21%
<i>Levoglucozan</i>	57%	0,24	18%	70%	0,21	14%	123%	0,30	15%	40%	0,11	13%	63%	0,24	16%
<i>Reteno</i>	99%	0,05	8%	116%	0,08	12%	122%	0,08	16%	103%	0,06	11%	59%	0,06	9%
<i>Alcohol C₁₂</i>	88%	0,25	15%	71%	0,04	3%	89%	0,19	11%	68%	0,15	11%	48%	0,17	19%
<i>Alcohol C₁₃</i>	89%	0,09	15%	72%	0,03	6%	93%	0,05	10%	67%	0,06	11%	48%	0,07	22%
<i>Alcohol C₁₄</i>	89%	0,21	15%	72%	0,07	5%	97%	0,12	8%	70%	0,14	11%	53%	0,17	18%
<i>Alcohol C₁₅</i>	158%	0,42	19%	73%	0,00	6%	103%	0,01	10%	75%	0,01	12%	44%	0,01	18%
<i>Alcohol C₁₆</i>	31%	0,17	19%	80%	0,00	8%	106%	0,01	12%	80%	0,00	8%	47%	0,01	18%
<i>Alcohol C₁₈</i>	81%	0,02	2%	84%	0,06	7%	101%	0,10	11%	79%	0,04	6%	58%	0,07	11%
<i>Alcohol C₂₀</i>	68%	0,12	21%	109%	0,05	7%	109%	0,08	10%	94%	0,05	8%	54%	0,10	22%
<i>Alcohol C₂₂</i>	65%	0,15	43%	138%	0,07	12%	124%	0,12	30%	131%	0,04	8%	53%	0,07	22%
<i>Alcano C₁₅</i>	43%	0,05	3%	93%	0,15	13%	89%	0,79	56%	20%	0,18	70%	18%	0,33	38%

* Valores para n=2

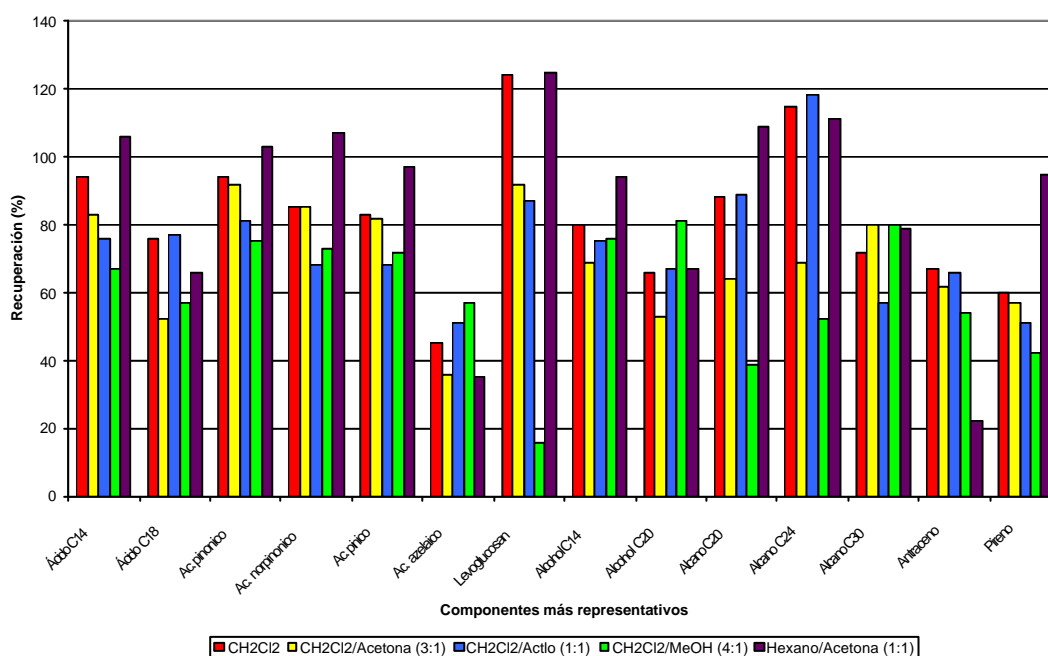
- No detectado

4.1.3. Extracción con microondas.

Para estos ensayos se ha ampliado el número de alcanos y PAHs analizados, en concreto a la familia de n-alcenos comprendidos entre el C_{12} y el C_{40} y a varios PAHs. Fue necesario ampliar el estudio, ya que la técnica de extracción microondas es nueva en el laboratorio, y se tiene mucho interés en desarrollar una metodología adecuada para la extracción de compuestos orgánicos presentes en el aerosol atmosférico.

En la Tabla 12 se presentan los resultados preliminares, obtenidos al extraer la mezcla de compuestos con diferentes disolventes, mientras que la Figura 16 presenta los componentes más representativos. La metodología empleada ha sido similar a la detallada en la técnica Soxhlet y ultrasonidos.

Figura 16: Recuperaciones obtenidas con microondas de los compuestos más representativos



Los alcanos han presentado unas recuperaciones muy dispares, dependiendo del disolvente empleado. Las extracciones con CH_2Cl_2 ,

CH_2Cl_2 /acetonitrilo y Hexano/acetona han presentado recuperaciones superiores al 100% para los alcanos comprendidos entre el C_{21} y el C_{27} , estos compuestos se corresponden con la fracción mayoritariamente emitida por la quema de combustibles fósiles. Esta circunstancia puede ser debida a una contaminación puntual en los blancos.

El Naftaleno, ha presentado una gran variabilidad en la recuperación, debido a que este compuesto es muy susceptible a evaporarse durante el proceso de evaporación de disolvente, por lo que los resultados obtenidos no son representativos. Para el resto de compuestos, todas las extracciones han presentado recuperaciones similares. En el caso de la extracción con hexano/acetona las recuperaciones han presentado una gran variabilidad, encontrándose comprendidas entre el 20% y el 140%, debido a algún tipo de interferencia durante el análisis.

Las recuperaciones obtenidas para las familias de ácidos y alcoholes mediante la extracción con microondas, son ligeramente inferiores a las que se han obtenido con la técnica Soxhlet. A pesar de ello, las recuperaciones han sido aceptables, únicamente los compuestos de mayor peso molecular son los que presentan menores recuperaciones. Concretamente para los ácidos carboxílicos, la extracción con CH_2Cl_2 se ha presentado como la más favorable de todas, mientras que para los productos de degradación del α -pineno, levoglucosan y ácido azelaico la extracción con Hexano/acetona presenta mejores resultados, aunque sin una gran mejora respecto a las extracciones con CH_2Cl_2 y CH_2Cl_2 /acetona. Por último, los alcoholes presentan mejores recuperaciones en las extracciones con CH_2Cl_2 y hexano/acetona.

Tabla 12: Recuperaciones de la extracción microondas de alcanos, PAHs, alcoholes y ácidos

Compuestos	20 mL CH ₂ Cl ₂	20 mL Hex/Acetona (1:1)	20 mL CH ₂ Cl ₂ /Acetona (3:1)	20 mL CH ₂ Cl ₂ /MeOH (4:1)	20 mL CH ₂ Cl ₂ /Actlo (1:1)
<i>Alcano C₁₂</i>	17%	40%	-	-	-
<i>Alcano C₁₃</i>	25%	55%	6%	-	-
<i>Alcano C₁₄</i>	35%	81%	16%	-	6%
<i>Alcano C₁₅</i>	42%	82%	24%	-	20%
<i>Alcano C₁₆</i>	53%	89%	40%	22%	40%
<i>Alcano C₁₇</i>	*	*	*	*	*
<i>Alcano C₁₈</i>	*	*	*	*	*
<i>Alcano C₁₉</i>	74%	108%	63%	48%	77%
<i>Alcano C₂₀</i>	88%	109%	64%	39%	89%
<i>Alcano C₂₁</i>	111%	117%	62%	38%	102%
<i>Alcano C₂₂</i>	103%	123%	58%	35%	110%
<i>Alcano C₂₃</i>	120%	117%	65%	39%	118%
<i>Alcano C₂₄</i>	115%	111%	69%	52%	118%
<i>Alcano C₂₅</i>	135%	98%	65%	58%	123%
<i>Alcano C₂₆</i>	129%	75%	73%	77%	116%
<i>Alcano C₂₇</i>	140%	65%	76%	84%	104%
<i>Alcano C₂₈</i>	81%	50%	82%	91%	91%
<i>Alcano C₂₉</i>	75%	51%	86%	79%	76%
<i>Alcano C₃₀</i>	72%	79%	80%	80%	57%
<i>Alcano C₃₁</i>	65%	112%	73%	77%	52%
<i>Alcano C₃₂</i>	76%	100%	-	41%	60%
<i>Alcano C₃₃</i>	51%	-	-	-	81%
<i>Alcano C₃₄</i>	25%	-	-	-	-
<i>Naftaleno</i>	28%	57%	19%	157%	339%
<i>Acenaftileno</i>	61%	81%	73%	83%	98%
<i>Acenafteno</i>	43%	116%	57%	73%	85%
<i>Fenantreno</i>	88%	146%	93%	82%	100%
<i>Antraceno</i>	67%	22%	62%	54%	66%
<i>Fluoranteno</i>	83%	49%	65%	55%	69%
<i>Pireno</i>	60%	95%	57%	42%	51%
<i>Reteno</i>	46%	49%	52%	48%	55%
<i>Alcohol C₁₂</i>	74%	115%	75%	73%	75%
<i>Alcohol C₁₃</i>	79%	95%	66%	71%	76%
<i>Alcohol C₁₄</i>	80%	94%	69%	76%	75%
<i>Alcohol C₁₅</i>	80%	88%	67%	70%	73%
<i>Alcohol C₁₆</i>	82%	83%	67%	83%	77%
<i>Alcohol C₁₈</i>	75%	84%	65%	78%	79%
<i>Alcohol C₂₀</i>	66%	67%	53%	81%	67%
<i>Alcohol C₂₂</i>	44%	46%	38%	124%	56%

Compuestos	20 mL CH ₂ Cl ₂	20 mL Hex/Acetona (1:1)	20 mL CH ₂ Cl ₂ /Acetona (3:1)	20 mL CH ₂ Cl ₂ /MeOH (4:1)	20 mL CH ₂ Cl ₂ /Actlo (1:1)
<i>Ác. pinónico</i>	94%	103%	92%	75%	81%
<i>Ac. norpinónico</i>	85%	107%	85%	73%	68%
<i>Acido C₁₂</i>	92%	112%	88%	68%	75%
<i>Ácido pinico</i>	83%	97%	82%	72%	68%
<i>Levoglucozan</i>	124%	125%	92%	16%	87%
<i>Acido C₁₃</i>	93%	98%	82%	65%	72%
<i>Ácido azelaico</i>	45%	35%	36%	57%	51%
<i>Acido C₁₄</i>	94%	106%	83%	67%	76%
<i>Acido C₁₅</i>	86%	92%	73%	60%	70%
<i>Acido C₁₆</i>	100%	120%	84%	76%	88%
<i>Acido C₁₇</i>	75%	77%	58%	53%	66%
<i>Acido C₁₈</i>	76%	66%	52%	57%	77%
<i>Acido C₁₉</i>	52%	28%	28%	36%	53%
<i>Acido C₂₀</i>	42%	5%	8%	25%	47%
<i>Acido C₂₁</i>	18%	-	-	28%	23%

- No Detectado

* No Cuantificado

Los resultados de este primer estudio han presentado al CH₂Cl₂ como disolvente más adecuado para la extracción con microondas. Las recuperaciones obtenidas incitan a variar el programa de extracción, aumentando tanto el tiempo de extracción como la temperatura, con el fin de mejorar los resultados y equipararlos a los obtenidos con el Soxhlet, la técnica de referencia en el análisis del material particulado del aerosol atmosférico. Así pues, estos ensayos de extracción mediante microondas serán ampliados en el futuro, intentando optimizar el programa de extracción así como el volumen del disolvente empleado.

4.2. ETAPA DE PURIFICACIÓN O "CLEAN-UP"

Para optimizar la etapa de purificación, se estudiaron las proporciones de eluyentes más adecuadas para obtener la separación de la mezcla del aerosol en cuatro fracciones, correspondientes a n-alcános, PAHs, alcoholes y ácidos en una columna de 1.5 g de sílice. Se partió de un método desarrollado en el laboratorio, para columnas de 10 gramos de adsorbente. Los cuatro eluyentes son:

1. 15 mL de hexano.
2. 15 mL de hexano/CH₂Cl₂ 4:1
3. 20 mL de hexano/Acetato de etilo 6:4
4. 20 mL ácido fórmico/MeOH 4%

Primer ensayo:

Se procede a disminuir el volumen de la primera fracción para evitar la coelución de los alcanos y PAHs.

1. 5 mL de hexano
2. 15 mL de hexano/CH₂Cl₂ 4:1
3. 20 mL de hexano/Acetato de etilo 6:4
4. 20 mL ácido fórmico/MeOH 4%

Las recuperaciones de n-alcános son superiores al 85%, al igual que para PAHs, excepto para el fluoreno, antraceno, pireno y fenantreno.

La tercera fracción contiene alcoholes y ácidos carboxílicos, con recuperaciones inferiores al 50%.

Segundo ensayo:

Se disminuye el volumen del resto de fracciones.

1. 5 mL de hexano
2. 10 mL de hexano/CH₂Cl₂ 4:1

3. 10 mL de hexano/Acetato de etilo 6:4
4. 10 mL ácido fórmico/MeOH 4%

La primera fracción contiene alcanos, mientras que la segunda eluye PAHs. Las recuperaciones obtenidas son similares al segundo ensayo.

En la tercera fracción eluye conjuntamente las familias de alcoholes y ácidos, deduciéndose que se debe disminuir la polaridad del tercer eluyente para conseguir la correcta separación de estos compuestos.

Tercer ensayo:

Se disminuye la polaridad del tercer eluyente para evitar que la tercera fracción contenga compuestos ácidos.

1. 5 mL de hexano
2. 10 mL de hexano/CH₂Cl₂ 4:1
3. 10 mL de hexano/Acetato de etilo 4:1
4. 10 mL ácido fórmico/MeOH 4%

La primera y segunda fracción presentan resultados similares a los anteriores ensayos. En cambio, la tercera fracción contiene únicamente los compuestos alcohólicos, presentando recuperaciones superiores al 90%. A pesar de ello las recuperaciones obtenidas de ácidos en la cuarta fracción son inferiores al 50%.

Cuarto ensayo:

Se disminuye el volumen del primer eluyente, ya que se comprobó que los alcanos eluyen rápidamente con la primera fracción, asegurando además, la elución de los PAHs en la segunda fracción.

Se aumenta la polaridad del cuarto eluyente, para mejorar la recuperación de los compuestos ácidos en la cuarta fracción.

1. 3 mL de hexano
2. 10 mL de hexano/CH₂Cl₂ 4:1
3. 10 mL de hexano/Acetato de etilo 4:1
4. 10 mL ácido fórmico/MeOH 5%

La primera fracción ha sido capaz de eluir exclusivamente los alcanos, obteniéndose recuperaciones superiores al 90%, empleando únicamente 3 ml de hexano. La segunda fracción contiene los PAHs, con recuperaciones superiores al 80%.

La tercera fracción eluye alcoholes con recuperaciones en torno al 90%, mientras que la cuarta fracción ha sido capaz de separar los ácidos con recuperaciones en torno al 90%.

Finalmente, se aplicaron los eluyentes seleccionados a otros adsorbentes empleados en el fraccionamiento de gel aerosol atmosférico, como son, además de la gel de sílice, la alúmina y una mezcla de sílice alúmina al 50%. En la Tabla 13 se presentan las recuperaciones obtenidas con los tres adsorbentes, mientras que la Figura 17 presenta algunos de los componentes más significativos.

Tabla 13: Recuperaciones obtenidas en la etapa de clean-up con tres adsorbentes diferentes

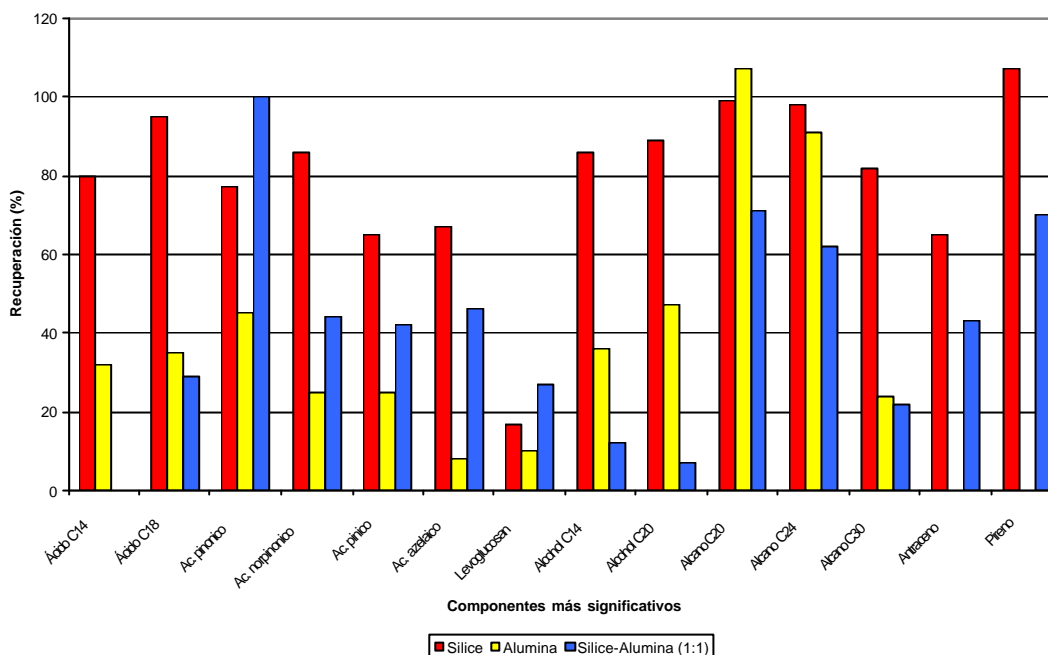
Compuestos	Sílice (1.5 g)	Alúmina (1.5 g)	Sílice/Alúmina 1:1 (1.5 g)
<i>Alcano C12</i>	40%	17%	38%
<i>Alcano C13</i>	49%	30%	48%
<i>Alcano C14</i>	57%	47%	62%
<i>Alcano C15</i>	66%	67%	74%
<i>Alcano C16</i>	76%	87%	90%
<i>Fitano</i>	*	*	*
<i>Alcano C17</i>	*	103%	49%
<i>Pristano</i>	*	104%	*
<i>Alcano C18</i>	110%	121%	*
<i>Alcano C19</i>	107%	111%	47%
<i>Alcano C20</i>	99%	107%	71%
<i>Alcano C21</i>	104%	78%	50%
<i>Alcano C22</i>	99%	99%	56%
<i>Alcano C23</i>	95%	95%	52%
<i>Alcano C24</i>	98%	91%	62%
<i>Alcano C25</i>	93%	87%	56%
<i>Alcano C26</i>	101%	79%	51%
<i>Alcano C27</i>	100%	77%	59%
<i>Alcano C28</i>	105%	62%	47%
<i>Alcano C29</i>	89%	35%	31%
<i>Alcano C30</i>	82%	24%	22%
<i>Alcano C31</i>	87%	51%	41%
<i>Alcano C32</i>	-	62%	63%
<i>Naftaleno</i>	11%	-	8%
<i>Antraceno</i>	65%	-	43%
<i>Fenantreno</i>	83%	-	48%
<i>Fluoranteno</i>	83%	-	59%

- No detectado

*No cuantificado

Compuestos	Sílice (1.5 g)	Alúmina (1.5 g)	Sílice/Alúmina 1:1 (1.5 g)
<i>Pireno</i>	107%	-	70%
<i>Criseno</i>	83%	-	36%
<i>B(a)An</i>	81%	-	27%
<i>B(b)Fl</i>	91%	-	43%
<i>Reteno</i>	52%	-	43%
<i>Alcohol C12</i>	102%	29%	6%
<i>Alcohol C13</i>	86%	33%	10%
<i>Alcohol C14</i>	86%	36%	12%
<i>Alcohol C15</i>	89%	41%	24%
<i>Alcohol C16</i>	93%	37%	13%
<i>Alcohol C18</i>	93%	49%	13%
<i>Alcohol C20</i>	89%	47%	7%
<i>Alcohol C22</i>	89%	67%	-
<i>Ácido pinónico</i>	77%	45%	100%
<i>Ácido norpinónico</i>	86%	25%	44%
<i>Ácido C12</i>	71%	33%	30%
<i>Ácido pinico</i>	65%	25%	42%
<i>Levoglucosan</i>	17%	10%	27%
<i>Ácido C13</i>	76%	34%	0%
<i>Ácido azelaico</i>	67%	8%	46%
<i>Ácido C14</i>	80%	32%	0%
<i>Ácido C15</i>	86%	31%	41%
<i>Ácido C16</i>	90%	39%	36%
<i>Ácido C17</i>	93%	37%	47%
<i>Ácido C18</i>	95%	35%	29%
<i>Ácido C19</i>	106%	28%	14%
<i>Ácido C20</i>	104%	35%	-

Figura 17: Recuperaciones de los componentes más significativos fraccionados con tres adsorbentes distintos



Los resultados obtenidos en el fraccionamiento con los tres adsorbentes estudiados, presentan siempre los n-alcános en la primera fracción. La mezcla de sílice/alúmina se presenta como la alternativa menos adecuada, debido a las bajas recuperaciones que se han obtenido. Para los casos de emplear los adsorbentes por separado, tanto la alúmina como la sílice, han presentado, en general mejores recuperaciones. De forma general, se ha observado que la sílice presenta mejores recuperaciones que la alúmina, debido a que el eluyente se desarrolló para el fraccionamiento con gel de sílice.

El estudio de la segunda fracción no presentó trazas de n-alcános, confirmando que estos han sido totalmente eluidos en la primera fracción. Por lo tanto, en la segunda fracción se eluyen exclusivamente los PAHs, ya que tampoco se han encontrado restos en la tercera y la primera fracción. Se ha observado que al emplearse alúmina como adsorbente los PAHs no se recuperan en la segunda fracción, y que al

emplearse la mezcla alúmina/sílice las recuperaciones son inferiores a las obtenidas con la sílice. Podemos concluir eluyente empleado es adecuado para eluir los PAHs empleando, únicamente gel de sílice. Los PAHs de menor peso molecular presentan menor recuperación debido a que, al ser los más volátiles se producen pérdidas durante la concentración con N₂.

En la tercera fracción eluyen compuestos polares, como es el caso de los alcoholes que lo hacen exclusivamente en esta fracción. Los resultados presentan la sílice como la mejor alternativa para el fraccionamiento de estos compuestos. Prácticamente se eluyen la totalidad de los compuestos en esta fracción sin producirse pérdidas en el proceso. El fraccionamiento con alúmina o con alúmina/sílice presenta recuperaciones muy inferiores.

El estudio de la cuarta fracción, eluida con 10 mL de ácido fórmico en MeOH 5%, presenta los compuestos más polares, los ácidos. De los tres adsorbentes evaluados la sílice presenta las mejores recuperaciones, generalmente del 90%. Para el caso de la alúmina o de la mezcla alúmina/sílice, las recuperaciones no son superiores al 40%.

Hay algunos compuestos que presentan recuperaciones muy bajas, como es el caso del levoglucosan.

4.3. DERIVATIZACIÓN

Para todos los ensayos de derivatización se analizaron aquellas especies polares, como alcoholes, ácidos carboxílicos lineales de cadena larga, y productos de degradación del α -pineno, potenciales constituyentes del aerosol atmosférico. Todos los compuestos presentaban concentraciones de 25 mg/L y se empleó como patrón interno ácido palmítico deuterado de 10 mg/L.

Se evaluaron diferentes reactivos, tales como BSTFA, BSTFA-TMCS y PFBHA. Además, para el caso del BSTFA y del BSTFA-TMCS se evaluó como afecta el volumen de reactivo empleado.

En la Tabla 14 se presentas los resultados obtenidos.

Tabla 14: Áreas de los picos cromatográficos obtenidas con diferentes condiciones de derivación

<i>Compuesto</i>	<i>25 µL BSTFA</i>	<i>50 µL BSTFA</i>	<i>100 µL BSTFA</i>	<i>25 µL BSTFA/TMCS</i>	<i>50 µL BSTFA/TMCS</i>	<i>100 µL BSTFA/TMCS</i>	<i>50 µL PFBHA + 50 µL BSTFA</i>
<i>Ácido C₁₀</i>	-	-	-	-	-	-	-
<i>Ácido C₁₁</i>	-	-	-	-	-	-	-
<i>Ácido C₁₂</i>	3,90	2,24	2,29	1,85	2,26	1,83	1,55
<i>Ácido C₁₃</i>	3,80	2,28	2,18	1,77	2,12	1,79	1,60
<i>Ácido C₁₄</i>	3,37	2,13	1,97	1,64	1,81	1,59	1,44
<i>Ácido C₁₅</i>	2,60	2,07	1,79	1,56	1,67	1,56	1,36
<i>Ácido C₁₆</i>	2,61	2,15	1,75	0,85	1,41	1,40	1,17
<i>Ácido C₁₇</i>	0,85	1,15	0,74	0,85	0,78	0,81	0,60
<i>Ácido C₁₈</i>	0,57	1,02	0,59	0,71	0,64	0,66	0,43
<i>Ácido C₁₉</i>	0,12	0,91	0,20	0,44	0,39	0,40	0,20
<i>Ácido C₂₀</i>	-	0,32	0,02	0,22	0,20	0,25	0,02
<i>Ácido C₂₁</i>	-	0,07	-	0,04	0,04	0,08	-
<i>Ácido C₂₂</i>	-	-	-	-	-	-	-
<i>Alcohol C₁₂</i>	2,60	1,34	1,26	0,97	1,26	0,98	0,74
<i>Alcohol C₁₃</i>	3,10	1,62	1,49	1,17	1,52	1,19	1,01
<i>Alcohol C₁₄</i>	1,87	0,98	0,94	0,74	0,91	0,73	0,68
<i>Alcohol C₁₅</i>	1,52	0,85	0,76	0,62	0,75	0,62	0,57
<i>Alcohol C₁₆</i>	1,37	0,82	0,75	0,58	0,68	0,59	0,55
<i>Alcohol C₁₈</i>	0,77	0,64	0,54	0,44	0,46	0,44	0,38
<i>Alcohol C₂₀</i>	0,28	0,36	0,25	0,23	0,23	0,24	0,19
<i>Alcohol C₂₂</i>	0,05	0,12	0,05	0,07	0,07	0,07	0,04
<i>Ác cispinónico (m/z 171)</i>	1,21	1,25	1,11	1,30	1,46	1,36	1,10
<i>Ác transnorpinónico (m/z 157)</i>	1,16	1,29	1,22	1,37	1,50	1,46	0,48
<i>Ác pínico (m/z 171)</i>	0,72	0,83	0,82	0,87	0,94	0,93	0,56
<i>Levoglucosan</i>	7,29	19,63	30,07	2,47	2,48	2,02	20,29
<i>Ác azelaico</i>	3,39	4,69	5,73	5,80	7,45	7,12	1,55

- No detectado

Para el caso del BSTFA, el empleo de más o menos volumen no implica diferencias significativas. Cabe destacar que al emplear 25 μL las áreas son mayores para los ácidos y alcoholes de menor peso molecular, pero que no es capaz de derivatizar los compuestos más pesados. Al emplear 100 μL se mejora la señal en el levoglucosan, pero para el resto de compuestos no hay cambios significativos con respecto al empleo de 50 μL . Este volumen de BSTFA se presenta como la alternativa más eficaz, ya que presenta una sensibilidad elevada para todos los compuestos estudiados.

Para la reacción con BSTFA-TMCS se ha observado que el volumen de reactivo empleado no es un factor que afecte en gran medida a la señal analítica. De forma general, en todos los compuestos las señales analíticas presentan valores similares, siendo puntualmente mejores con el empleo de 50 μL .

Si se comparan las señales analíticas obtenidas en el caso de emplear 50 μL de BSTFA-TMCS, es decir el reactivo con catalizador, y BSTFA sin catalizador, se observa que no aparecen diferencias significativas entre los dos, únicamente se observa una mayor señal analítica para el caso del Levoglucosan que ha reaccionado con BSTFA sin catalizador.

En la reacción con PFBHA, éste compuesto es capaz de derivatizar los grupos $\text{C}=\text{O}$ de aldehídos y cetonas. Ha sido comprobado que no es capaz de reaccionar con los grupos $\text{C}=\text{O}$ presentes en los ácidos carboxílicos, ya que no se ha obtenido ningún tipo de señal analítica. Por lo tanto el PFBHA únicamente reaccionará con los grupos cetona o aldehído libres.

En el caso de realizar una doble derivatización, en primer lugar con PFBHA y a continuación con BSTFA, se observa que las señales analíticas son ligeramente inferiores a las obtenidas con la derivatización simple con BSTFA. Por lo tanto se puede deducir que el empleo de esta doble derivatización, posibilitará la identificación de un mayor número de compuestos, como es el caso de los oxi-ácidos, pero con el inconveniente de reducir la señal analítica de los compuestos ácidos y alcohólicos.

Las condiciones óptimas para la derivatización de ácidos y alcoholes se han conseguido con el empleo de 50 μ L de BSTFA sin catalizador, empleándose éstas, para el análisis de las muestras.

El inconveniente de estos reactivos es la generación de nuevos picos cromatográficos, aparte de los compuestos derivatizados, obteniéndose blancos muy elevados. Estudios futuros evaluarán otros derivatizantes, como el BF_3/MeOH y BF_3/BuOH , para su empleo en lugar del BSTFA, con el objeto de obtener cromatogramas más limpios.

4.4. ANÁLISIS CROMATOGRÁFICO

El estudio de los parámetros analíticos del método desarrollado para alcanos, alcoholes y ácidos se ha realizado en el GC/MS Fisons, ajustando por mínimos cuadrados la señal que producen diferentes concentraciones de cada analito. Se emplean los programas de tratamiento de datos estadísticos, Origin y Statgraphics. En cada recta de calibrado se han medido 9 concentraciones por triplicado.

4.4.1. Alcanos

Para el calibrado de n-alcanos se han medido las siguientes concentraciones; 0.1, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1, 1.5, 2.5 y 5 mg/L. Se empleó como patrón interno el 1-clorododecano de 5 mg/L. La Tabla 15 presenta los calibrados de n-alcanos.

Tabla 15: Calibrado para los alcanos

COMPUESTO	ORDENADA ORIGEN	PENDIENTE	r	n	r ²
C ₁₁	-0,107	0,361	0,997	7	0,994
C ₁₂	-0,020	0,331	0,998	7	0,996
C ₁₃	0,015	0,407	0,9995	9	0,999
C ₁₄	0,043	0,387	0,999	9	0,998
C ₁₅	0,039	0,517	0,9991	9	0,998
C ₁₆	0,017	0,555	0,9993	9	0,999
Fitano	-0,519	0,905	0,9992	3	0,998
C ₁₇	0,629	0,535	0,998	3	0,996
Pristano	-0,234	0,810	0,993	4	0,986
C ₁₈	0,583	0,424	0,997	3	0,994
C ₁₉	0,058	1,066	0,999	9	0,998
C ₂₀	0,107	0,841	0,997	9	0,994
C ₂₁	0,200	0,908	0,993	9	0,986
C ₂₂	0,088	0,831	0,998	6	0,996
C ₂₃	0,109	0,864	0,998	6	0,996
C ₂₄	0,094	0,672	0,997	6	0,994
C ₂₅	0,169	0,683	0,997	7	0,994
C ₂₆	0,137	0,582	0,988	7	0,976
C ₂₇	0,125	0,628	0,998	7	0,996
C ₂₈	0,045	0,566	0,9992	7	0,998
C ₂₉	0,066	0,586	0,9991	7	0,998
C ₃₀	0,055	0,454	0,999	7	0,998
C ₃₁	0,027	0,469	0,997	7	0,994
C ₃₂	0,057	0,359	0,999	5	0,998
C ₃₃	0,046	0,399	0,9995	5	0,999
C ₃₄	0,043	0,294	0,998	5	0,996
C ₃₅	0,030	0,300	0,998	7	0,996
C ₃₆	0,029	0,234	0,998	6	0,996
C ₃₇	0,027	0,254	0,998	6	0,996
C ₃₈	0,018	0,204	0,998	6	0,996
C ₃₉	0,017	0,210	0,998	6	0,996
C ₄₀	0,009	0,173	0,998	6	0,996

Todos los calibrados presentan coeficientes de correlación superiores a 0.993, lo cual es un valor bastante aceptable para los métodos cromatográficos. Otro parámetro, es el estadístico coeficiente de correlación cuadrado (r^2), que expresa el tanto por uno de la variación total (en torno al valor medio) explicada por la regresión. De este modo, r^2 cuantifica la mejora obtenida con la regresión para estimar los datos respecto a estimarlos con su valor medio. Un método adecuado para evaluar la linealidad de una recta de calibrado es el análisis de la varianza.

En todos los casos se ha verificado que existe una relación lineal entre la concentración y el área con un nivel de confianza superior al 99 %.

Los parámetros analíticos obtenidos del calibrado de n-alcános están reflejados en la Tabla 16.

Tabla 16: Parámetros analíticos de alcános

COMPUESTO	INTERVALO LINEALIDAD (mg/L)	Sensibilidad (L/mg)	Precisión (RSD)	LQ (mg/L)
C ₁₁	0.4 – 5	0,361	4.5 %	>0.4
C ₁₂	0.4 – 5	0,331	3.7 %	>0.4
C ₁₃	0.1 – 5	0,407	2.2 %	>0.1
C ₁₄	0.1 – 5	0,387	2.8 %	>0.1
C ₁₅	0.1 – 5	0,517	3.6 %	>0.1
C ₁₆	0.1 – 5	0,555	3.3 %	>0.1
Fitano	1.5 – 5	0,905	9.2 %	>1.5
C ₁₇	1.5 – 5	0,535	7.4 %	>1.5
Pristano	1 – 5	0,810	20.4 %	>1
C ₁₈	1 – 5	0,424	9.6 %	>1
C ₁₉	0.1 – 5	1,066	7.9 %	>0.1
C ₂₀	0.1 – 5	0,841	11.6 %	>0.1
C ₂₁	0.1 – 5	0,908	17.9 %	>0.1
C ₂₂	0.2 – 2.5	0,831	3.9 %	>0.2
C ₂₃	0.2 – 2.5	0,864	5.0 %	>0.2
C ₂₄	0.2 – 2.5	0,672	4.6 %	>0.2
C ₂₅	0.2 – 5	0,683	9.1 %	>0.2
C ₂₆	0.2 – 5	0,582	6.9 %	>0.2
C ₂₇	0.2 – 5	0,628	6.3 %	>0.2
C ₂₈	0.2 – 5	0,566	4.3 %	>0.2
C ₂₉	0.2 – 5	0,586	4.7 %	>0.2
C ₃₀	0.2 – 5	0,454	4.3 %	>0.2
C ₃₁	0.2 – 5	0,469	6.3 %	>0.2
C ₃₂	0.2 – 5	0,359	3.7 %	>0.2
C ₃₃	0.2 – 5	0,399	2.8 %	>0.2
C ₃₄	0.2 – 5	0,294	3.4 %	>0.2
C ₃₅	0.1 – 5	0,300	3.9 %	>0.2
C ₃₆	0.1 – 5	0,234	2.5 %	>0.2
C ₃₇	0.1 – 5	0,254	2.8 %	>0.2
C ₃₈	0.1 – 5	0,204	2.1 %	>0.2
C ₃₉	0.1 – 5	0,210	2.5 %	>0.2
C ₄₀	0.1 – 5	0,173	1.7 %	>0.2

La sensibilidad de un método analítico se define como la pendiente de la recta de calibrado, así pendientes mayores (pequeños cambios de concentración producen grandes cambios en la señal analítica) implican métodos más sensibles. Según esta definición los alcános de 19, 20, 21, 22

y 23 átomos son los más sensibles, mientras que los alcanos de mayor peso molecular presentan una menor sensibilidad.

La precisión del calibrado se ha evaluado con la desviación estándar relativa del ajuste por mínimos cuadrados. La mayoría de calibrados presentan valores de RDS inferiores al 6%. Los calibrados que han presentado mayor desviación estándar han sido el pristano y el alcano de 21 átomos de carbono.

El límite de detección, se define en cromatografía como $3s_b$, siendo s_b la desviación típica del blanco, mientras que los límites de cuantificación como $10s_b$. El LQ se entiende como la concentración mínima que se puede cuantificar, y ha sido para todos los compuestos superiores a 0.1 - 0.2 mg/L, a excepción del los pares fitano/alcano C_{17} y pristano/alcano C_{18} . Estos compuestos poseen tiempos de retención muy similares y es imposible separarlos a concentraciones bajas, ya que se eluyen de forma conjunta. Por otro lado la pérdida de linealidad en el intervalo estudiado únicamente se ha alcanzado para los alcanos de 22, 23 y 24 átomos de carbono.

4.4.2. Alcoholes

Para realizar el calibrado de alcoholes se han medido las siguientes concentraciones; 1, 2.5, 5, 10, 15, 20, 25, 50, 75 mg/L. Como patrón interno se ha empleado ácido palmítico deuterado de 25 mg/L. En la Tabla 17 se presentan los calibrados para todos los alcoholes.

Tabla 17: Calibrado para los alcoholes

COMPUESTO	ORDENADA ORIGEN	PENDIENTE	r	n	r ²
Alcohol C ₁₀	-0.00975	0.01075	0.9910	6	0,982
Alcohol C ₁₁	-0.057	0.024	0.9920	9	0,984
Alcohol C ₁₂	-0.022	0.033	0.9980	9	0,996
Alcohol C ₁₃	0.052	0.036	0.9994	9	0,999
Alcohol C ₁₄	0.043	0.041	0.9995	9	0,999
Alcohol C ₁₅	0.109	0.044	0.9970	9	0,994
Alcohol C ₁₆	0.062	0.041	0.9990	9	0,998
Alcohol C ₁₈	0.014	0.048	0.9991	7	0,998
Alcohol C ₂₀	0.017	0.040	0.9960	7	0,992
Alcohol C ₂₂	0.017	0.032	0.9940	7	0,988

Los calibrados han presentado coeficientes de correlación superiores a 0.991. Los valores de r² y el análisis de la varianza han confirmado la relación lineal entre la concentración y el área del pico cromatográfico.

Los parámetros analíticos obtenidos del calibrado de alcoholes se indican en al Tabla 18.

Tabla 18: Parámetros analíticos de alcoholes

COMPUESTO	INTERVALO LINEALIDAD (mg/L)	Sensibilidad (L/mg)	Precisión (RDS)	LQ (mg/L)
Alcohol C ₁₀	1.0 – 50	0.01075	2.9 %	>1.0
Alcohol C ₁₁	1.0 – 75	0.024	8.0 %	>1.0
Alcohol C ₁₂	1.0 – 75	0.033	4.6 %	>1.0
Alcohol C ₁₃	1.0 – 75	0.036	3.2 %	>1.0
Alcohol C ₁₄	1.0 – 75	0.041	3.1 %	>1.0
Alcohol C ₁₅	1.0 – 75	0.044	8.0 %	>1.0
Alcohol C ₁₆	1.0 – 75	0.041	4.7 %	>1.0
Alcohol C ₁₈	1.0 – 25	0.048	1.9 %	>1.0
Alcohol C ₂₀	1.0 – 25	0.040	3.1 %	>1.0
Alcohol C ₂₂	1.0 – 25	0.032	3.4 %	>1.0

El alcohol de 18 átomos de carbono ha presentado la mayor sensibilidad. En todos los casos se ha podido cuantificar concentración de 1 mg/L, mientras que para los alcoholes más pesados y el de 10 átomos de carbono se ha producido la pérdida de linealidad a 25 y 50 mg/L,

respectivamente. Todos los calibrados, presentan valores de RDS inferiores 5%, excepto los alcoholes de 11 y 15 átomos de carbono.

4.4.3. Ácidos carboxílicos

El calibrado para los compuestos ácidos se ha realizado con las siguientes concentraciones; 0.1, 0.5, 1, 2.5, 5, 10, 10, 15, 30 mg/L, empleando el ácido palmítico deuterado como patrón interno.

En la Tabla 19 se recogen los calibrados para los ácidos estudiados.

Tabla 19: Calibrado para los ácidos

COMPUESTO	ORDENADA ORIGEN	PENDIENTE	r	n	r ²
Ácido C ₁₂	-0.0055	0.0415	0.9997	9	0,999
Ácido C ₁₃	0.0081	0.0405	0.9999	9	1,000
Ácido C ₁₄	0.0151	0.0419	0.9998	9	1,000
Ácido C ₁₅	0.0289	0.0410	0.9992	9	0,998
Ácido C ₁₆	0.0359	0.0382	0.998	9	0,996
Ácido C ₁₇	0.0084	0.0408	0.9997	8	0,999
Ácido C ₁₈	0.0105	0.0372	0.9994	8	0,999
Ácido C ₁₉	0.0119	0.0327	0.999	7	0,998
Ácido C ₂₀	0.0088	0.0248	0.998	7	0,996
Ácido C ₂₁	0.0154	0.0220	0.997	6	0,994
Ácido C ₂₂	-0.0092	0.0193	0.996	5	0,992
Ácido C ₂₃	-0.0112	0.0064	0.97	4	0,941

Los coeficientes de correlación son superiores al 0.996, a excepción del ácido C₂₃, que su calibrado presenta la peor sensibilidad. Los valores de r² y del análisis de la varianza han confirmado la relación lineal entre la concentración y el área del pico cromatográfico.

Los parámetros analíticos se recogen en la Tabla 20.

Tabla 20: Parámetros analíticos de ácidos carboxílicos

COMPUESTO	INTERVALO LINEALIDAD (mg/L)	Sensibilidad (L/mg)	Precisión (RDS)	LQ (mg/L)
Ácido C ₁₂	0.1 – 50	0.0415	1.7 %	>0.1
Ácido C ₁₃	0.1 – 50	0.0405	1.1 %	>0.1
Ácido C ₁₄	0.1 – 50	0.0419	1.3 %	>0.1
Ácido C ₁₅	0.1 – 50	0.0410	3.4 %	>0.1
Ácido C ₁₆	0.1 – 50	0.0382	4.1 %	>0.1
Ácido C ₁₇	0.1 – 30	0.0408	1.1 %	>0.1
Ácido C ₁₈	0.1 – 30	0.0372	1.3 %	>0.1
Ácido C ₁₉	0.5 – 30	0.0327	1.9 %	>0.5
Ácido C ₂₀	0.5 – 30	0.0248	1.7 %	>0.5
Ácido C ₂₁	1.0 – 30	0.0220	1.9 %	>1.0
Ácido C ₂₂	2.3 – 30	0.0193	1.9 %	>2.3
Ácido C ₂₃	9.2 – 46	0.0064	2.9 %	>9.2

La mayor sensibilidad se obtiene en el calibrado del ácido C₁₄. Los límites de cuantificación son superiores a 0.1 mg/L para los ácidos C₁₂-C₁₈, disminuyendo para los ácidos más pesados. Para los ácidos de mayor peso molecular también se produce una saturación del detector, no pudiéndose detectar concentraciones superiores a 30 mg/L.

4.5. ANÁLISIS DE MUESTRAS DE CHAPINERÍA.

Como aplicación del estudio que se ha realizado, se ha analizado un total de 12 muestras de PM₁₀ y PM_{2.5} recogidas de manera simultánea, los días señalados en la Tabla 3, y en una zona rural del término municipal de Chapinería (Latitud 40° 22´ 45´´ Norte; Longitud 4° 12´ 15´´ Oeste). Las familias de compuestos que se han analizado en muestras son n-alcános, PAH´s, n-alcóholes y ácidos carboxílicos.

4.5.1. n-alcános.

Se ha detectado, en ambos tipos de muestras, PM₁₀ y PM_{2.5}, la serie homóloga de n-alcános comprendidos entre C₁₉<C_n<C₃₇, siendo n el nº de átomos de carbono. Las concentraciones obtenidas para los compuestos menores a C₁₉ no son representativas, ya que dada su volatilidad, tienden a permanecer en la fase gaseosa.

El intervalo de concentraciones obtenido para PM_{2.5} está comprendido entre 0.05-10.4 ng/m³ y para PM₁₀ entre 0.03-16.2 ng/m³, siendo la concentración más alta la medida el día 6-4-2004 en el filtro PM₁₀, con un valor de 2.5 ng/m³, correspondiente al n-alcáno de 29 átomos de carbono. Este n-alcáno siempre ha mostrado elevadas concentraciones en todas las muestras analizadas. También se puede observar un ligero predominio de los compuestos con nº impar de carbono frente a los pares, siendo más acusado en el PM₁₀. Este perfil de distribución con el C_{max} en C₂₉, es típico de emisiones biogénicas [14, 25].

En la Tabla 21 se presentan las concentraciones de n-alcános para todas las muestras de PM₁₀ y PM_{2.5}, así como diferentes parámetros que nos ayudarán a comprender las fuentes de emisión de los compuestos.

Tabla 21: Concentraciones para n-alcenos (ng/m³)

Compuesto	Mayo						Junio						Julio						Agosto					
	PM10	PM2,5	PM10	PM2,5	PM10	PM2,5	PM10	PM2,5	PM10	PM2,5	PM10	PM2,5	PM10	PM2,5	PM10	PM2,5	PM10	PM2,5	PM10	PM2,5	PM10	PM2,5		
	7/5/04	15/5/04	24/5/04				1/6/04	9/6/04	17/6/04	25/6/04					3/7/04	11/7/04	19/7/04	27/7/04					4/8/04	
Alcano C ₁₇	-	-	12,77	-	0,47	-	1,07	0,38	0,37	0,22	0,42	0,20	0,18	*	0,10	0,24	0,13	0,15	0,05	0,05	0,39	0,12	0,12	0,12
Pristano	3,23	0,07	3,89	0,07	0,34	0,28	0,55	0,21	0,27	0,14	0,28	0,15	0,13	0,09	0,08	0,06	0,08	0,06	0,03	-	0,45	0,12	0,12	0,10
Alcano C ₁₈	1,98	0,04	2,55	0,06	-	-	0,23	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Alcano C ₁₉	1,48	0,05	1,85	0,04	0,13	0,09	0,23	0,07	0,08	0,06	0,09	0,04	0,04	0,03	0,02	0,04	0,02	0,04	0,02	0,01	0,25	0,06	0,06	0,12
Alcano C ₂₀	2,49	0,10	2,28	0,06	0,06	0,02	0,21	0,04	0,05	0,04	0,10	0,05	0,03	0,01	0,03	0,06	0,01	0,07	0,03	0,01	0,24	0,17	0,05	0,37
Alcano C ₂₁	4,62	0,18	4,04	0,10	0,04	-	0,50	0,16	0,15	0,25	0,33	0,13	0,05	0,05	0,08	0,17	0,02	0,28	0,02	0,04	0,16	0,38	0,08	0,51
Alcano C ₂₂	4,11	0,30	4,27	0,18	-	0,04	0,33	0,22	0,03	0,42	0,32	0,26	0,03	0,18	0,09	0,22	0,01	0,44	0,03	0,29	0,16	0,63	0,14	0,75
Alcano C ₂₃	4,03	0,38	5,99	0,38	0,04	0,04	1,15	0,30	0,57	0,58	1,52	0,42	0,52	0,24	0,77	0,25	0,11	0,50	0,20	0,29	0,50	0,65	0,31	0,71
Alcano C ₂₄	0,05	0,49	4,57	0,77	0,15	0,29	0,46	0,47	0,24	1,13	0,55	0,83	0,26	0,55	0,48	0,61	0,05	0,85	0,09	0,56	0,43	1,09	0,25	1,27
Alcano C ₂₅	3,14	0,43	5,77	0,86	0,18	0,35	0,77	0,42	0,57	1,25	1,26	0,97	0,74	0,76	1,34	0,71	0,14	0,76	0,27	0,49	0,75	1,09	0,35	1,05
Alcano C ₂₆	2,73	0,46	4,56	1,10	0,08	0,37	0,29	0,39	0,15	1,57	0,46	0,92	0,13	0,56	0,25	0,70	0,01	0,74	0,05	0,36	0,23	1,08	0,17	1,56
Alcano C ₂₇	2,89	0,39	6,74	1,07	0,21	0,39	0,85	0,37	0,72	1,59	1,37	1,17	0,55	0,82	1,25	0,85	0,18	0,75	0,24	0,45	0,73	1,08	0,33	1,25
Alcano C ₂₈	1,72	0,51	3,00	0,81	0,24	0,51	0,28	0,32	0,30	1,04	0,74	0,79	0,13	0,46	0,19	0,44	0,02	0,49	0,06	0,23	0,15	0,51	0,11	0,81
Alcano C ₂₉	5,32	0,48	7,41	1,26	0,48	0,74	2,32	0,49	2,09	1,84	2,68	1,18	1,15	0,79	2,49	0,92	0,44	0,70	0,51	0,47	1,26	1,00	0,52	1,01
Alcano C ₃₀	1,30	0,45	2,77	0,77	0,02	0,45	0,13	0,09	0,23	0,65	0,41	0,51	0,08	0,28	0,20	0,26	-	0,31	0,00	0,07	0,08	0,28	0,08	0,58
Alcano C ₃₁	3,63	0,36	9,13	1,11	0,37	0,81	1,56	0,31	2,90	1,30	2,28	1,11	0,83	0,33	2,05	0,37	0,35	0,36	0,21	0,20	0,75	0,51	0,34	0,50
Alcano C ₃₂	0,77	0,34	1,69	0,73	0,14	0,43	0,17	0,18	0,22	0,45	0,33	0,36	0,06	0,11	0,03	0,08	-	0,13	0,00	0,04	0,03	0,10	0,06	0,21
Alcano C ₃₃	1,23	0,43	3,58	0,76	0,23	0,53	0,32	0,23	0,55	0,46	0,51	0,31	0,12	0,10	0,23	0,05	0,02	0,10	0,03	0,04	0,11	0,12	0,08	0,13
Alcano C ₃₄	-	-	-	-	0,12	0,28	0,14	0,16	0,21	0,28	0,28	0,23	0,03	0,06	0,01	0,03	-	0,06	0,00	0,02	0,01	0,03	0,04	0,08
Alcano C ₃₅	-	-	-	-	-	0,08	-	-	0,04	0,06	0,01	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Alcano C ₃₆	-	-	-	-	-	0,42	-	-	-	0,03	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Alcano C ₃₇	-	-	-	-	-	0,01	-	-	-	0,03	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Alcano C ₃₈	-	-	-	-	-	0,01	-	-	-	0,02	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,01
Alcano C ₃₉	-	-	-	-	-	-	-	0,01	-	0,02	0,01	-	-	0,02	-	-	-	0,01	-	-	-	-	-	0,01
Alcano C ₄₀	-	-	-	-	-	0,02	-	0,03	0,01	0,04	0,03	0,01	0,01	0,02	-	-	-	0,03	0,01	-	-	-	-	0,02
C _{max}	C ₂₉	C ₂₈	C ₃₁	C ₂₉	C ₂₉	C ₃₁	C ₂₉	C ₂₉	C ₃₁	C ₂₉	C ₂₉	C ₂₉	C ₂₉	C ₂₉	C ₂₉	C ₂₉	C ₂₉	C ₂₄	C ₂₉	C ₂₄	C ₂₉	C ₂₅	C ₂₉	C ₂₆
CPI	2,58	0,87	1,95	1,25	2,58	1,42	4,72	1,26	6,81	1,47	3,53	1,45	5,08	1,36	6,38	1,36	13,4	1,08	6,23	1,33	3,91	1,24	2,55	0,9
%WNA	33	5	31	16	42	30	45	22	67	22	54	23	68	21	77	32	87	16	72	28	57	19	44	15

Se observa que en algunas muestras, las concentraciones para $PM_{2.5}$ son superiores a las obtenidas en la fracción PM_{10} . Esta situación anormal, se produce en algunas ocasiones en este tipo de análisis, debido a la elevada incertidumbre generada en el muestreo. Además, en las fechas del muestreo se produjo un incendio forestal, que pudo haber influido en cierto modo en las concentraciones de n-alcenos en $PM_{2.5}$.

En las Figuras 18 y 19 se presentan los cromatogramas típicos que se han obtenido para n-alcenos en las dos fracciones analizadas.

Figura 18: Cromatograma de n-alcenos obtenidos en PM_{10}

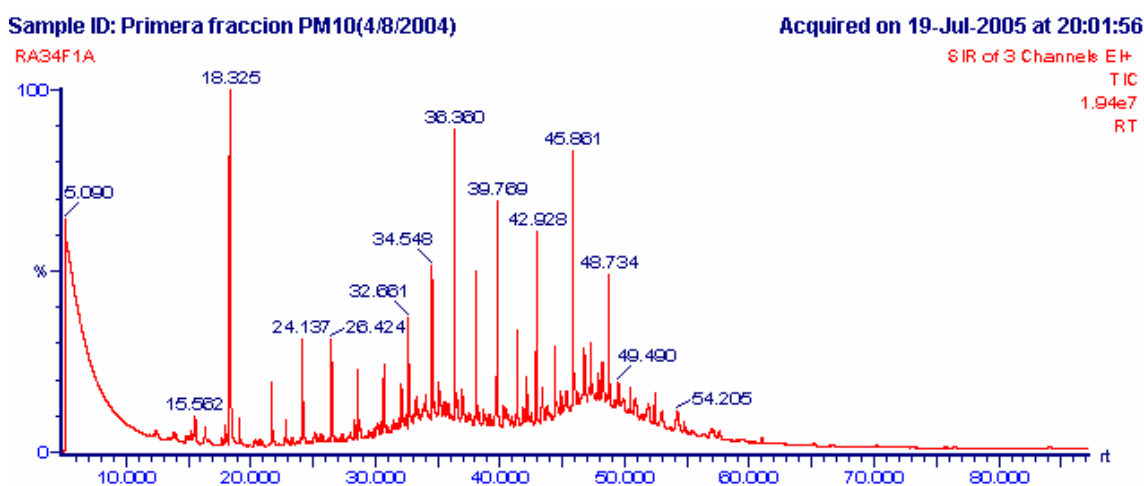
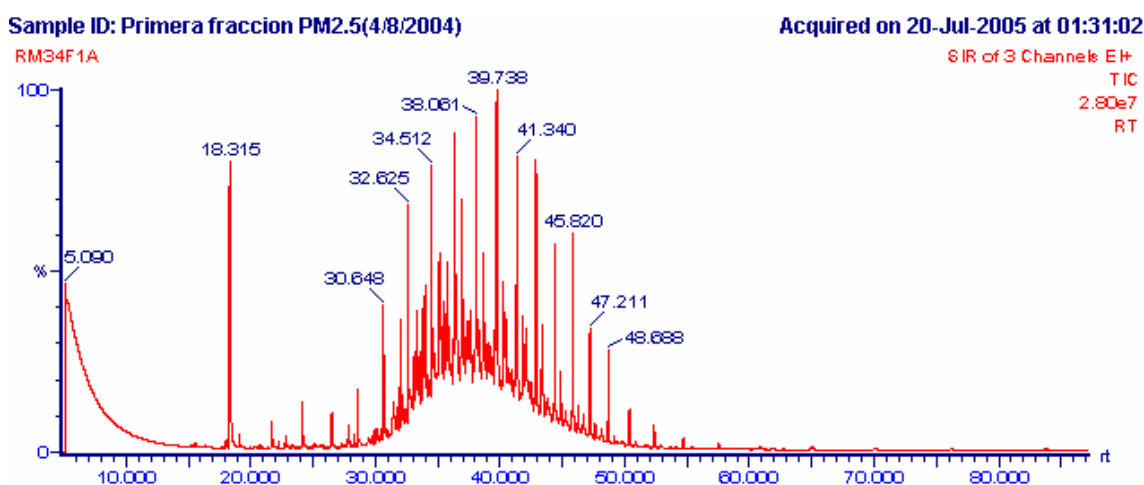


Figura 19: Cromatograma de n-alcenos obtenidos en $PM_{2.5}$



Como se puede observar la fracción de PM_{10} presenta un predominio de compuestos impares. Además este hecho se confirma con los valores de CPI obtenidos en estas fracciones, normalmente con valores superiores a 3 (Tabla 21). Además de ello, los altos valores de %WNA obtenidos en esta fracción, son indicios claros para suponer el origen biogénico de los alcanos en la fracción de PM_{10} . Son varios los autores que han establecido que las fuentes biogénicas se caracterizan por emitir, predominantemente, n-alcanos con número impar de átomos de carbono. Fundamentalmente se emiten n-alcanos de 29 y 31 átomos de carbono. Por esta razón se definió, el parámetro CPI, para poder evaluar el origen de n-alcanos. Los autores han reconocido como emisiones predominantemente biogénicas las que presentan valores de CPI superiores a 3.

Para la fracción de $PM_{2.5}$, no se observa un predominio claro de algún compuesto impar. Es destacable la ligera elevación que aparece en el fondo del cromatograma, debajo de los picos cromatográficos, que se corresponde con una mezcla de compuestos sin resolver (UCM), entre los que se encuentran compuestos cíclicos y ramificados. Diversos autores han relacionado este hecho con la emisión de n-alcanos provenientes de la quema de combustibles fósiles. La presencia de Pristano y Fitano es otro indicativo del origen antropogénico de esta fracción. Este hecho se confirma con los valores de CPI y %WNA obtenidos (Tabla 21). Las emisiones antropogénicas se caracterizan por emitir fundamentalmente compuestos de menor peso molecular que las emisiones biogénicas.

4.5.2. PAHs.

El análisis de los PAHs se ha realizado mediante la técnica de cromatografía líquida de alta eficacia, siguiendo la metodología

instrumental desarrollada con anterioridad en nuestro laboratorio para muestras de agua y suelo [59, 60]. Este trabajo ha ampliado el campo de aplicación, al análisis de PAHs en muestras de aire. Los resultados obtenidos para los PAHs se presentan en las Tablas 22 y 23.

Tabla 22: Concentraciones (pg/m³) de PAHs en PM₁₀

Compuesto	Mayo			Junio				Julio				Agosto
	7/5/04	15/5/04	24/5/04	1/6/04	9/6/04	17/6/04	25/6/04	3/7/04	11/7/04	19/7/04	27/7/04	4/8/04
Ace	-	-	13	29	7	8	-	-	-	1	*	*
F	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	*	*
Ph	57	57	191	203	79	84	47	-	13	13	*	*
An	6	5	5	2	3	1	20	-	1	-	*	*
Fl	264	56	149	180	85	68	33	-	16	10	*	*
Pyr	2438	37	330	48	31	26	39	-	6	3	*	*
BaA	217	9	48	53	24	12	10	-	-	1	*	*
Cry	459	54	18	29	10	11	21	-	12	9	*	*
Tiof	1668	306	615	682	146	81	136	-	41	40	*	*
BeP	268	79	134	159	130	93	57	-	24	15	*	*
BbF	453	121	163	167	57	38	32	-	18	9	*	*
BkF	257	-	6	1	-	-	-	-	-	-	*	*
BaPyr	405	12	66	72	31	16	7	-	3	4	*	*
DBA	40	6	2	3	2	1	1	-	-	-	*	*
BghiPe	394	85	205	160	81	50	82	-	32	14	*	*
IndPyr	297	70	75	70	24	163	9	-	3	2	*	*
TOTAL	7223	897	2020	1858	682	652	494	-	169	121	*	*

Tabla 23: Concentraciones (pg/m³) de PAHs en PM_{2.5}

Compuesto	Mayo			Junio				Julio				Agosto
	7/5/04	15/5/04	24/5/04	1/6/04	9/6/04	17/6/04	25/6/04	3/7/04	11/7/04	19/7/04	27/7/04	4/8/04
Ace	-	-	-	-	-	-	-	-	22	-	*	*
F	-	-	-	-	1603	-	-	-	-	-	*	*
Ph	193	123	534	-	25	300	118	83	92	96	*	*
An	23	312	26	-	811	51	44	44	10	5	*	*
Fl	308	28	231	-	-	271	22	127	58	57	*	*
Py	764	23	148	-	-	335	28	26	25	21	*	*
BaA	450	53	93	-	-	371	132	142	93	29	*	*
Chry	623	93	224	-	-	521	196	218	145	90	*	*
Tiof	2733	623	887	-	-	2608	1186	622	430	168	*	*
BeP	432	190	342	-	-	1825	686	226	-	69	*	*
BbF	635	171	217	-	4	435	132	146	90	52	*	*
BkF	209	-	-	-	-	-	-	-	-	-	*	*
BaPyr	615	43	31	-	-	191	70	46	14	3	*	*
DBA	56	57	0	-	-	7	-	-	-	-	*	*
BghiPe	651	227	156	-	8	235	66	28	66	38	*	*
IndPy	437	47	131	-	-	104	-	30	14	8	*	*
TOTAL	8129	1990	3020	-	2451	7254	2680	1738	1059	636	*	*

- Concentración <1 pg/m³

* No analizado

4.5.3. Alcoholes.

Los alcoholes se han detectado en las dos fracciones estudiadas, principalmente formando parte de la fracción de PM₁₀. Se ha podido detectar la serie homóloga de alcoholes lineales, comprendidos entre el compuesto de 10 átomos de carbono y el de 28 átomos de carbono, con un claro predominio de los compuestos pares. El intervalo de concentración obtenido para PM_{2.5} es 0.2-2.8 ng/m³ y para PM₁₀ 1.3-18.9 ng/m³, estableciéndose el máximo en 8 ng/m³, para el C₁₂ recogido en PM₁₀ el día 13 de abril.

En las Tablas 24 y 25 se presentan las concentraciones en aire de los alcoholes identificados en las fracciones PM₁₀ y PM_{2.5}.

Tabla 24: Concentraciones en aire (ng/m³) de alcoholes en PM_{2.5}

Compuesto	Mayo 2004			Junio 2004				Julio 2004				Agosto
	7	15	24	1	9	17	25	3	11	19	27	4
Alcohol C ₁₀	7,2	2,1	2,9	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Alcohol C ₁₁	-	*	2,1	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Alcohol C ₁₂	6,0	5,3	4,1	6,1	-	2,9	2,9	4,4	16,1	9,3	11,5	8,8
Alcohol C ₁₃	-	-	*	*	-	*	*	*	0,2	*	0,1	*
Alcohol C ₁₄	-	-	11,5	6,8	-	7,4	7,4	5,4	9,3	11,5	11,6	6,6
Alcohol C ₁₅	*	-	*	*	-	*	*	*	*	*	*	*
Alcohol C ₁₆	*	*	0,1	0,1	-	*	*	*	*	*	0,1	*
Alcohol C ₁₇	-	-	0,5	0,1	-	0,2	0,2	0,2	*	0,1	0,1	0,1
Alcohol C ₁₈	0,4	0,5	0,6	1,0	-	1,2	1,2	1,4	0,5	0,5	0,9	0,6
Alcohol C ₁₉	-	-	-	-	-	-	-	0,2	*	*	*	*
Alcohol C ₂₀	-	-	-	-	-	-	-	-	-	*	0,7	*
Alcohol C ₂₁	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Alcohol C ₂₂	-	-	-	0,6	-	0,1	0,4	-	-	-	-	-
Alcohol C ₂₃	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,4	0,2
Alcohol C ₂₄	-	-	-	0,6	-	0,4	0,4	0,4	0,3	0,4	0,5	0,3
Alcohol C ₂₅	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Alcohol C ₂₆	-	-	-	0,9	-	0,5	0,5	0,6	0,4	0,4	0,5	0,3
Alcohol C ₂₇	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Alcohol C ₂₈	-	-	-	2,6	-	-	-	0,4	-	-	0,7	0,6
Alcohol C ₂₉	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Alcohol C ₃₀	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,5	0,4
TOTAL	13,6	7,9	21,7	18,9	0,0	12,6	13,0	13,1	26,8	22,1	27,5	17,8
CPI	<100	<100	4	<100	-	63	64	31,5	<100	<100	45	59

* No cuantificado

- No detectado

Tabla 25: Concentraciones en aire (ng/m³) de alcoholes en PM₁₀

Compuesto	Mayo 2004			Junio 2004				Julio 2004				Agosto
	7	15	24	1	9	17	25	3	11	19	27	4
Alcohol C ₁₀	-	-	1,7	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Alcohol C ₁₁	-	-	1,2	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Alcohol C ₁₂	36,9	36,8	28,0	34,5	3,1	31,4	3,4	-	38,8	23,1	19,8	27,4
Alcohol C ₁₃	0,8	0,7	0,1	0,5	*	0,4	*	-	1,0	0,1	0,3	0,6
Alcohol C ₁₄	17,9	12,2	16,5	21,9	1,4	14,6	1,9	-	18,0	12,0	9,5	12,3
Alcohol C ₁₅	-	0,05	0,01	0,6	*	0,5	*	-	0,3	*	0,1	0,5
Alcohol C ₁₆	0,8	1,0	1,5	3,6	*	3,2	0,7	-	2,4	0,9	3,7	2,2
Alcohol C ₁₇	-	-	0,1	0,05	0,06	-	0,1	-	-	0,3	*	0,2
Alcohol C ₁₈	0,6	0,4	0,9	0,8	0,1	1,1	0,2	-	0,7	0,5	2,2	0,5
Alcohol C ₁₉	-	-	-	-	-	-	0,06	-	-	-	0,2	*
Alcohol C ₂₀	-	-	-	-	-	-	-	-	-	*	*	*
Alcohol C ₂₁	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Alcohol C ₂₂	-	0,4	0,5	0,4	0,2	0,3	0,2	-	-	-	-	-
Alcohol C ₂₃	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,2
Alcohol C ₂₄	-	-	0,7	1,4	0,2	0,5	-	-	1,5	0,6	*	*
Alcohol C ₂₅	-	-	-	-	-	-	-	-	0,2	*	0,3	-
Alcohol C ₂₆	-	-	1,0	1,9	0,3	1,9	0,3	-	4,0	1,0	1,2	0,4
Alcohol C ₂₇	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,2	-
Alcohol C ₂₈	-	-	-	0,6	0,2	0,5	0,2	-	1,1	0,5	1,0	0,5
Alcohol C ₂₉	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	*	-
Alcohol C ₃₀	-	-	-	-	0,2	0,3	0,2	-	0,2	-	0,7	0,3
TOTAL	57,0	51,55	52,21	66,25	5,76	54,7	7,26	-	68,2	39,0	39,2	45,1
CPI	69	72	34	57	96	55	55	-	43	<100	32	29

* No cuantificado

- No detectado

A continuación se presentan dos cromatogramas de la 3^a fracción recogida, correspondiente a los alcoholes, para una muestra tipo de PM₁₀ (Figura 20) y de PM_{2.5} (Figura 21). Se presentan los cromatogramas de iones totales (rojo) y el del ion m/z 103, característico de alcoholes lineales (verde).

Figura 20: Cromatograma (m/z 103/iones totales) de alcoholes en PM₁₀

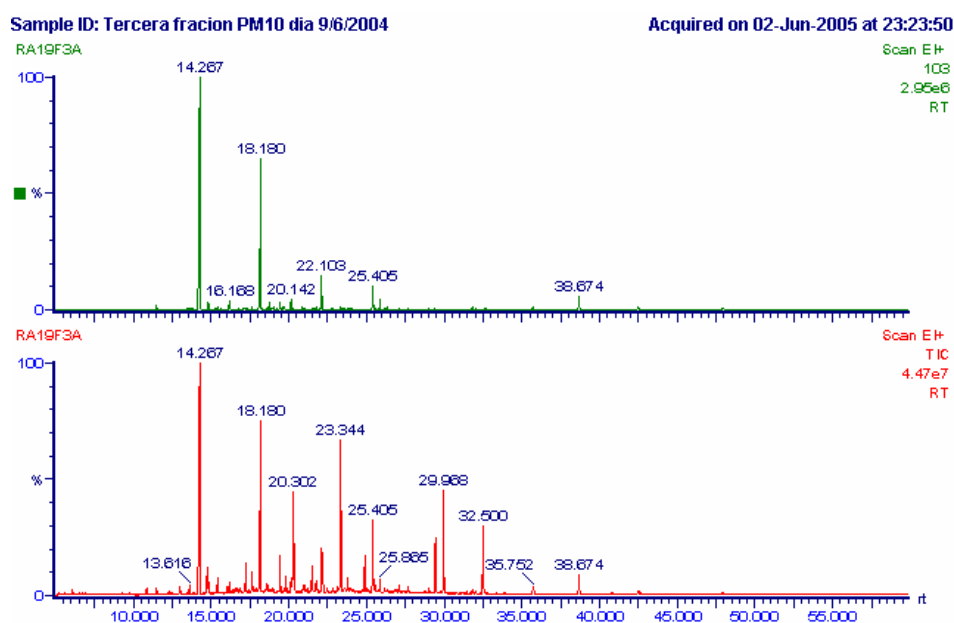
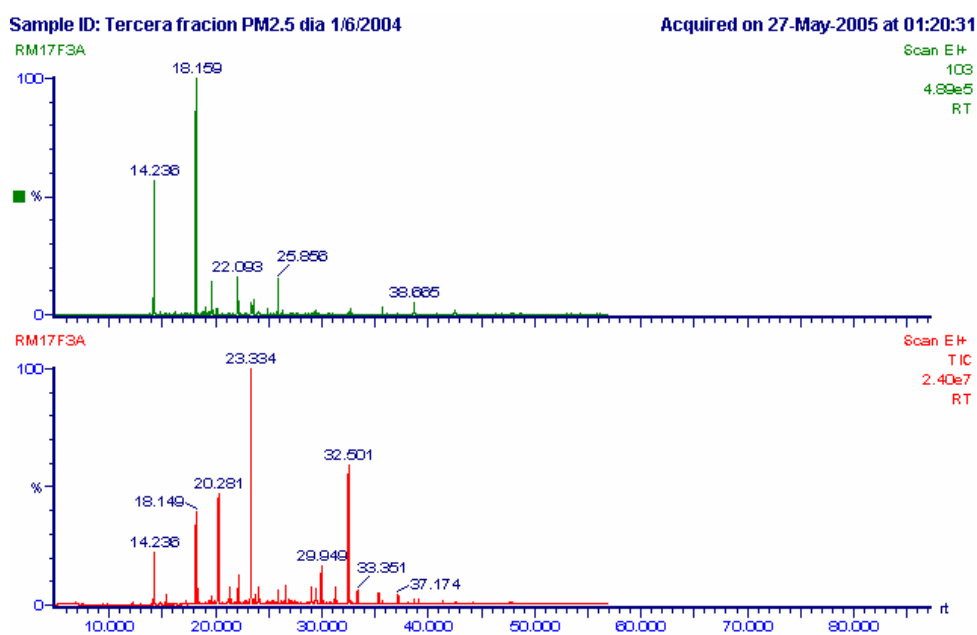


Figura 21: Cromatograma (m/z 103/iones totales) de alcoholes en PM_{2.5}



Las dos fracciones, PM_{10} y $PM_{2.5}$, presentan un predominio de compuestos pares, siendo una característica de las emisiones biogénicas. Por esa razón se definió el parámetro CPI para alcoholes, con el que podemos hacer una estimación del origen de estos compuestos. Los valores obtenidos para este parámetro son muy elevados, siempre por encima de 3, lo que indica, que el origen de estos compuestos es claramente biogénico.

4.5.4. Ácidos carboxílicos

Los ácidos carboxílicos presentes en todas las muestras analizadas, en concentraciones similares a los alcoholes. Se han detectado los ácidos carboxílicos, encontrándose en el intervalo C_9-C_{28} , con un ligero predominio de los compuestos pares en los homólogos $<C_{20}$. Las concentraciones medidas para $PM_{2.5}$ están en el intervalo $0.2-4.8 \text{ ng/m}^3$ y para PM_{10} $0.6-9.5 \text{ ng/m}^3$, mientras que la máxima concentración correspondió a 1.7 ng/m^3 en las muestras de PM_{10} , que se corresponde al ácido palmítico recogido el día 6/04/2004. Para todas las muestras, tanto en $PM_{2.5}$ como en PM_{10} , el ácido palmítico y el ácido esteárico se presentan como los más abundantes. A pesar de que se han podido identificar compuestos de menor peso molecular, la cuantificación de ácidos carboxílicos de $<C_{12}$ no es representativa al ser compuestos muy susceptibles a la volatilización durante el muestreo.

En las Tablas 26 y 27 se presentan las concentraciones totales en aire de cada compuesto en las dos fracciones analizadas.

Tabla 26: Concentraciones en aire (ng/m³) de ácidos (PM₁₀)

Compuesto	Mayo 2004			Junio 2004				Julio 2004				Agosto
	7	15	24	1	9	17	25	3	11	19	27	4
Ácido C ₈	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,94	1,00
Ácido C ₉	-	0,87	0,41	0,42	0,60	0,67	2,55	0,66	0,92	0,55	2,01	1,89
Ácido C ₁₀	0,61	0,71	-	0,52	0,52	0,77	0,76	1,02	0,78	0,62	1,19	0,98
Norpinónico	-	-	1,11	-	-	4,50	2,10	-	-	-	-	-
Ácido C ₁₁	3,56	0,87	0,37	-	-	-	1,68	-	*	*	-	-
Ácido C ₁₂	2,39	2,91	1,33	1,80	2,11	2,86	1,37	2,02	2,59	1,11	2,166	2,53
Pinico	0,00	1,79	1,49	2,95	3,23	13,02	5,99	5,99	12,2	3,90	7,66	4,10
Ácido C ₁₃	0,36	0,82	0,28	0,34	0,59	0,81	0,48	0,67	0,46	0,20	0,80	0,61
Azelaico	0,00	3,72	1,80	1,96	2,88	2,29	2,94	3,52	-	-	4,81	2,65
Ácido C ₁₄	2,95	5,41	2,35	4,04	7,91	7,28	5,06	10,3	6,92	3,38	8,87	6,66
Ácido C ₁₅	0,61	1,38	0,69	1,28	1,34	1,80	*	3,02	0,60	0,42	3,10	1,73
Ácido C ₁₆	1,42	19,03	7,68	9,95	14,68	17,17	10,34	19,6	0,37	3,74	18,89	12,64
Pinonico	*	-	0,90	-	0,89	0,67	0,68	0,89	1,24	2,06	0,56	0,82
Ácido C ₁₇	-	*	*	*	*	*	*	0,31	-	-	0,53	*
Linoleico	-	-	0,22	0,64	-	0,89	0,36	0,58	-	-	0,26	0,24
Oleico	-	*	*	0,62	0,23	0,63	0,16	0,67	-	-	0,74	*
Ácido C ₁₈	*	0,71	1,94	1,79	0,60	2,06	2,03	3,95	*	*	10,45	4,28
Ácido C ₁₉	-	-	0,22	0,29	-	0,23	0,13	0,54	*	-	0,35	*
Ácido C ₂₀	-	-	*	*	*	*	*	0,09	-	-	0,46	*
Ácido C ₂₁	-	-	-	-	-	-	-	0,00	-	-	-	*
Ácido C ₂₂	*	-	*	*	*	*	*	*	-	-	0,44	*
Ácido C ₂₃	-	-	0,98	1,00	-	-	-	1,16	-	-	1,23	*
Ácido C ₂₄	*	-	1,03	1,17	1,06	0,97	0,97	1,53	-	-	1,39	1,06
Ácido C ₂₅	-	-	0,95	0,96	-	-	-	1,15	-	-	1,07	-
Ácido C ₂₆	-	-	0,99	1,03	-	-	-	1,20	-	-	1,14	-
Ácido C ₂₈	-	-	-	0,98	-	-	-	-	-	-	-	-
TOTAL	11,3	36,6	23,2	30,8	35,5	50,7	32,2	57,2	24,4	14,8	64,9	37,31
CPI	2	17	2	4	14	22	32	6	9	14	6	12

* No cuantificado

- No detectado

Tabla 27: Concentraciones en aire (ng/m³) de ácidos en PM_{2.5}

Compuesto	Mayo 2004			Junio 2004				Julio 2004				Agosto
	7	15	24	1	9	17	25	3	11	19	27	4
Ácido C ₈	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,9	0,7
Ácido C ₉	-	0,7	-	0,9	0,6	0,6	-	0,7	0,7	0,8	1,6	1,1
Ácido C ₁₀	-	-	-	0,8	-	-	-	0,8	0,7	0,8	1,1	1,0
Norpinónico	-	2,3	-	2,0	-	-	2,3	-	-	-	-	*
Ácido C ₁₁	-	1,1	-	-	-	-	-	-	-	-	*	*
Ácido C ₁₂	1,2	1,0	0,9	1,6	1,0	1,7	1,5	0,9	0,8	1,2	1,2	0,9
Pinico	-	-	1,5	2,2	2,4	6,1	3,4	3,2	1,0	1,7	3,6	1,4
Ácido C ₁₃	0,2	0,4	0,2	0,3	0,2	0,2	0,2	0,2	0,1	0,2	0,1	0,1
Azelaico	-	-	2,0	3,4	1,6	2,1	2,6	3,3	-	-	2,7	2,9
Ácido C ₁₄	0,8	2,2	1,3	4,1	1,5	1,9	1,8	3,2	3,0	2,8	2,4	2,6
Ácido C ₁₅	*	0,2	0,2	0,8	*	0,0	0,2	1,0	0,4	0,6	0,3	0,7
Ácido C ₁₆	*	11,1	8,0	24,0	1,3	6,5	7,2	13,4	7,3	11,0	9,4	9,2
Pinonico	0,8	2,0	1,3	3,8	3,1	3,0	1,5	1,0	1,9	-	0,9	2,2
Ácido C ₁₇	-	*	*	0,1	*	*	*	*	*	*	*	*
Linoleico	-	-	0,2	0,5	-	0,1	0,8	0,6	-	-	-	0,3
Oleico	-	-	*	2,8	-	*	*	1,5	*	0,1	-	*
Ácido C ₁₈	*	*	4,3	11,9	*	*	1,8	4,2	7,1	9,1	0,3	8,1
Ácido C ₁₉	-	-	0,3	0,5	0,3	0,4	0,5	0,8	0,0	-	-	0,1
Ácido C ₂₀	-	-	*	4,3	-	-	*	*	*	-	*	*
Ácido C ₂₁	-	-	-	*	-	-	*	-	-	-	-	-
Ácido C ₂₂	-	-	*	*	-	-	*	*	-	-	*	*
Ácido C ₂₃	-	-	1,7	1,8	-	-	-	1,7	-	-	-	*
Ácido C ₂₄	-	-	1,8	2,0	-	-	-	1,8	-	-	-	1,7
Ácido C ₂₅	-	-	1,6	1,6	-	-	-	-	-	-	-	-
Ácido C ₂₆	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Ácido C ₂₈	-	-	1,6	1,8	-	-	-	-	-	-	-	-
TOTAL	3,1	20,9	26,9	71,3	12,1	22,8	23,9	38,2	23,1	28,3	24,4	32,9
CPI	9	9	4	10	17	16	12	5	31	30	35	24

* No cuantificado

- No detectado

Se presentan dos cromatogramas tipo, obtenidos del análisis de las fracciones PM₁₀ y PM_{2.5} (figuras 22 y 23).

Figura 22: Cromatograma (m/z 117 e iones totales) de ácidos en PM₁₀

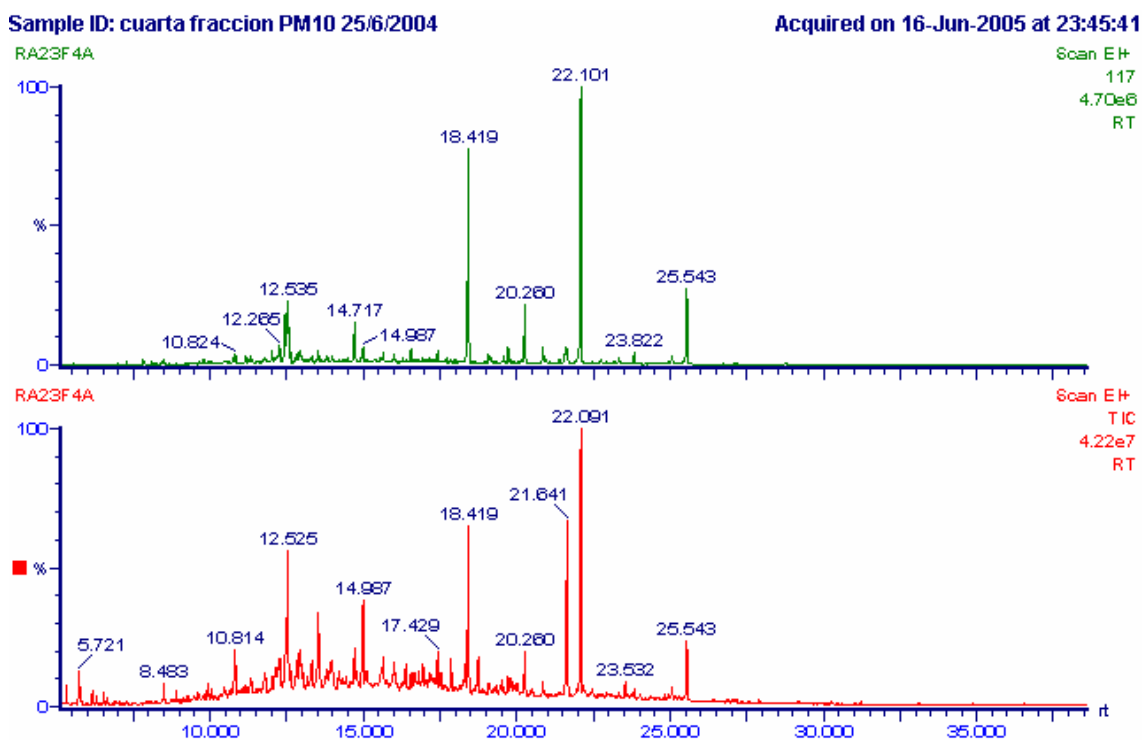
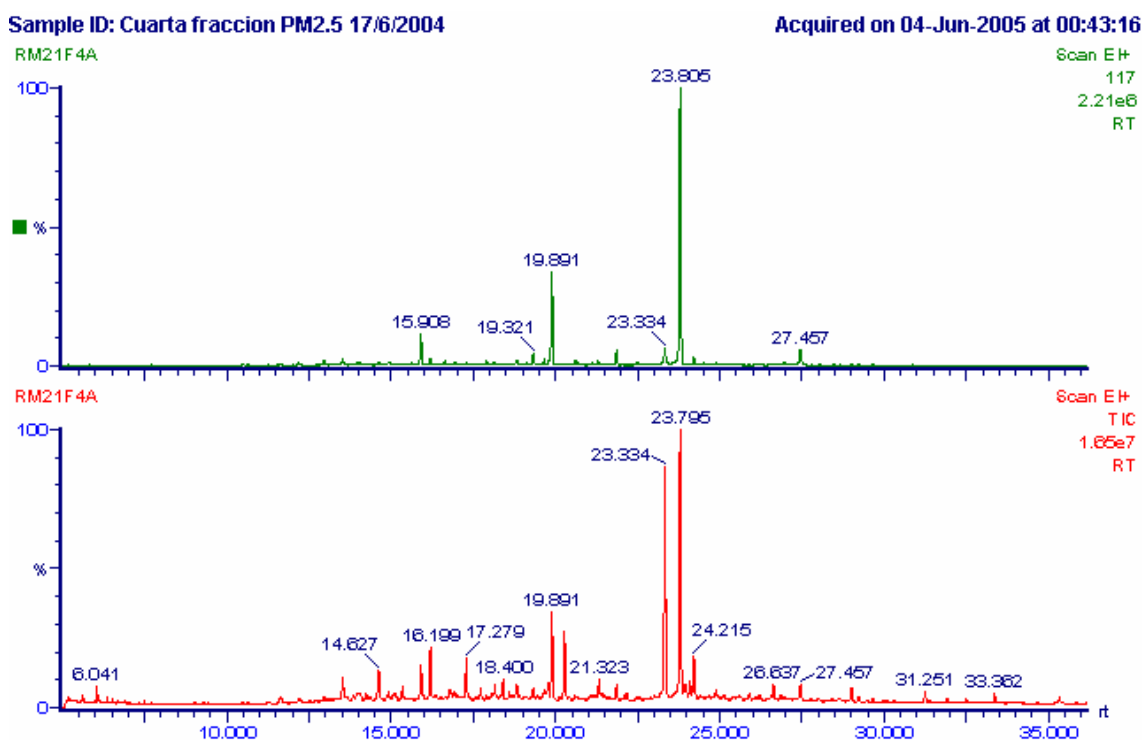


Figura 23: Cromatograma (m/z 117 e iones totales) de ácidos en PM_{2.5}



Se presenta el cromatograma del ion m/z 117, característico de los ácidos carboxílicos lineales. Las dos fracciones presentan cromatogramas similares, siendo numerosas las especies presentes, además de los ácidos analizados. Al igual que ocurre con los alcoholes, en los cromatogramas se presentaba como impureza, la presencia de ftalatos.

Para caracterizar el origen de los ácidos carboxílicos se emplea el parámetro CPI, que se ha definido anteriormente. En las Tablas 26 y 27 se presentan los resultados obtenidos para los ácidos carboxílicos. Tanto la fracción $PM_{2.5}$ como la fracción PM_{10} presentan valores altos de CPI sugiriendo un origen biogénico, principalmente la emisión de ceras por parte de plantas.

Además de los ácidos carboxílicos lineales, se han identificado algunos ácidos insaturados, como $C_{16:1}$ y el $C_{18:1}$. Estos compuestos son muy reactivos, ya que debido al doble enlace que poseen son susceptibles a ser atacados por oxidantes atmosféricos. Por ello su presencia en el aerosol indica que la "edad" del aerosol es pequeña, es decir, se ha generado hace poco tiempo en el lugar de muestreo y no ha sufrido fenómenos de transporte. Algunos autores han empleado la relación $C_{18:1}/C_{18:0}$ para determinar la "edad" del aerosol [17, 53].

También se detectaron productos de la degradación del α -pineno, como son el ácido pínico, ácido cis-pinónico y ácido trans-norpinónico. Se han detectado en las dos fracciones, pero con los resultados actuales no podemos determinar si están enriqueciendo alguna fracción o si existe alguna variabilidad temporal, pero ello, será parte fundamental de los trabajos que se desarrollaran en el futuro.

5. CONCLUSIONES

EXTRACCIÓN DE COMPUESTOS

- ✓ La extracción con la mezcla de CH_2Cl_2 /acetona (3:1) mediante la técnica de Soxhlet se ha presentado como la más efectiva para los compuestos estudiados, presentando recuperaciones superiores al 80% para todos los compuestos.
- ✓ La extracción Soxhlet con CH_2Cl_2 /acetona (3:1) es la más reproducible de todas las mezclas evaluadas. Presentan valores de RDS inferiores a 8%.
- ✓ La extracción de los compuestos de mayor peso molecular, presenta menores recuperaciones, y son menos repetitivas.
- ✓ La extracción con ultrasonidos ha presentado menor reproducibilidad que la extracción mediante Soxhlet.
- ✓ La extracción con microondas presenta recuperaciones inferiores a las obtenidas mediante Soxhlet. El disolvente que ha presentado mejores resultados ha sido el CH_2Cl_2 .
- ✓ Una extracción microondas más exhaustiva será capaz de obtener unos resultados equiparables al Soxhlet.

ETAPA DE PURIFICACIÓN O "CLEAN-UP"

- ✓ El empleo de la sílice como adsorbente ha mostrado mejores resultados que los otros adsorbentes estudiados.
- ✓ El paso sucesivo de 3 mL de hexano, 10 mL de hexano/ CH_2Cl_2 (4:1), 10 mL de hexano/acetato de etilo (4:1) y 10 mL de ácido fórmico/MeOH (5%) por una columna de sílice con una mezcla compleja de componentes del aerosol atmosférico, es capaz de fraccionarla en cuatro fracciones claramente diferenciadas, n-alcanos, PAHs, alcoholes y ácidos respectivamente.

DERIVATIZACIÓN

- ✓ La silanización de los grupos -OH se ha presentado como la alternativa más eficaz para derivatizar algunos de los constituyentes polares del aerosol atmosférico, como son los ácidos carboxílicos, alcoholes y productos de degradación de terpenos.
- ✓ No se han encontrado diferencias significativas entre la reacción con BSTFA con y sin catalizador.
- ✓ Es imprescindible llevar la muestra a sequedad para realizar la reacción con BSTFA. Cualquier resto de humedad en la muestra desactiva al reactivo derivatizante.

- ✓ La señal analítica óptima se obtiene con 50 μL de BSTFA reaccionando a 80 $^{\circ}\text{C}$ durante 60 minutos.
- ✓ La reacción con PFBHA no es capaz de derivatizar los grupos C=O de los ácidos carboxílicos. Únicamente es capaz de derivatizar los grupos cetona y aldehído.
- ✓ La doble derivatización con PFBHA y BSTFA, es una alternativa eficaz para caracterizar la fracción orgánica del aerosol atmosférico, a pesar de poseer menor señal analítica que la derivatización única con BSTFA, permite detectar oxi-ácidos, intermedios en los procesos de Química Atmosférica.

ANÁLISIS CROMATOGRÁFICO

- ✓ Se ha conseguido la separación cromatográfica de las familias de alcanos, alcoholes y ácidos.
- ✓ Se han identificado y cuantificado un total de 31 compuesto alifáticos, 10 compuestos alcohólicos y 12 compuestos ácidos.
- ✓ Se han estudiado los parámetros analíticos para la detección de alcanos, alcoholes y ácidos mediante la técnica de GC/MS.
- ✓ A excepción del ácido de 23 átomos de carbono, todos los calibrados presentan un coeficiente de correlación superior a 0.991.

MUESTRAS DE CHAPINERIA

- ✓ *Se ha detectado la serie homologa de n-alcanos entre el compuesto de 17 átomos de carbono y el de 40 átomos de carbono.*
- ✓ Hay un predominio de compuestos impares, principalmente en la fracción de PM_{10} , lo que sugiere un origen biogénico para n-alcanos en la fracción de PM_{10} .
- ✓ La fracción de $\text{PM}_{2.5}$, no presenta un predominio claro de ningún compuesto. Además, la presencia de UCM, Fitano y Pristano sugiere un origen antropogénico para n-alcanos presentes en la fracción de $\text{PM}_{2.5}$.
- ✓ El compuesto más abundante es el C_{29} para la fracción de PM_{10} , mientras que para la fracción de $\text{PM}_{2.5}$ son el C_{29} y C_{24} .
- ✓ Se han detectado PAH's en las fracciones de PM_{10} y $\text{PM}_{2.5}$. Los PAH's están enriqueciendo la fracción fina del aerosol.
- ✓ Se han detectado los alcoholes lineales comprendidos entre el compuesto de 10 átomos de carbono y el de 30 átomos. Se presenta un claro predominio de los compuestos pares en las dos fracciones analizadas, sugiriendo un origen biogénico.

- ✓ Se detecta la serie homóloga de ácidos carboxílicos lineales entre el compuesto de 8 átomos de carbono y el de 28 átomos de carbono. Existe un predominio de los compuestos pares, lo que confirma el origen biogénico de estos compuestos en las dos fracciones analizadas.
- ✓ La presencia de ácidos insaturados en las muestras confirma que la edad del aerosol es baja, ya que estas especies se degradan rápidamente en la atmósfera.
- ✓ La presencia de compuestos derivados de la degradación del α -pineno, confirma el aporte biogénico al aerosol de la zona.

REFERENCIAS

1. J. Spiegel, L. Y. Maestre. "ENCICLOPEDIA DE SALUD Y SEGURIDAD EN EL TRABAJO. CAPITULO 55 CONTROL DE LA CONTAMINACIÓN ATMOSFERICA". Ministerio de Trabajo y Asuntos Sociales. Edición 2001.
2. Directiva 1999/30/CE del Consejo, Norma EN 12341
3. B.R.T. Simoneit, G. Eglinton, 1977. "Organic matter of eolian dust and its input to marine sediments". En: R. Campos, J. Goñi (Eds.), *Advances in Organic Geochemistry*. ENADIMSA, Madrid, pp. 415-430.
4. N. Yassaa, B. Youcef Meklati, A. Cecinato, F. Marino. *Atmospheric Environment* 35 (2001) 1843-1851.
5. X. Bi, G. Sheng, P. Peng, Z. Zhang, J. Fu. *The Science of the Total Environment* 300 (2002) 213-228.
6. I.G. Kavouras, N. Mihalopoulos, E. G. Stephanou. *Environment Science of Technology* 33 (1999) 1028-1037.
7. H. Takekawa, H. Minoura, S. Yamazaki. *Atmospheric Environment* 37 (2003) 3413-3424.
8. M. Claeys, W. Wang, A.C. Ion, I. Kourtchev, A. Gelencsér, W. Maenhaut. *Atmospheric Environment* 38 (2004) 4093-4098.
9. T. Hoffmann, J.R. Odum, F. Bowman, D. Collins, D. Klowckow, R.C. Flagan, J.R. Seinfeld. *Journal of Atmospheric Chemistry* 26 (1997) 189-222.
10. T. Hoffmann, R. Bandur, U. Marggraf, M. Linscheid. *Journal of Geophysical Research* 103 (1998) 25569-25578.
11. D.W. Dockery, C.A. Pope, X. Xu, J.D. Spengler, J.H. Ware, M.E. Fay, B.G. Ferris, F.E. Speizer. *New England Journal of Medicine* 329 (1999) 1753-1759.
12. X. Bi, G. Sheng, P. Peng, Y. Chen, J. Fu. *Atmospheric Environment* 39 (2005) 477-487.
13. R.J. Irwin. *Environmental Contaminants Encyclopedia*. National Park Service, Water Resources Division, Fort Collins., Colorado. 1997
14. C. Alves, C. Pio, A. Duarte. *Atmospheric Environment* 35 (2001) 5485-5496.
15. A.I. Gogou, M. Apostolaki, E.G. Stephanou. *Journal of Chromatography A*, 799 (1998) 215-231.

16. M. Tsapakis, E. Lagoudaki, E.G. Stephanou, I.G. Kavouras, P. Koutrakis, P. Oyola, D. von Baer. *Atmospheric Environment* 36 (2002) 3851-3863.
17. M. Zheng, M. Fang, F. Wang, K.L. To. *Atmospheric Environment* 34 (2000) 2691-2702.
18. Z.G. Guo, L.F. Sheng, J.L. Feng, M. Fang. *Atmospheric Environment* 37 (2003) 1825-1834.
19. M. Kalaitzoglou, E. Terzi, C. Samara. *Atmospheric Environment* 38 (2004) 2545-2560.
20. H. Yang, J.Z. Yu, S.S. Hang Ho, J. Xu, W.S. Wu, C.H. Wan, X. Wang, X. Wang, L. Wang. *Atmospheric Environment* 39 (2005) 3735-3749.
21. D.A. Azevedo, C.Y. Moreira dos Santos, F.R. Aquino Neto. *Atmospheric Environment* 36 (2002) 2383-2395.
22. S.G. Brown, P. Herckes, L. Ashbaugh, M.P. Hannigan, S.M. Kreidenweis, J.L. Collett Jr.. *Atmospheric Environment* 36 (2002) 5807-5818.
23. M.A. Sicre, E.T. Peltzer. *Atmospheric Environment* 38 (2004) 1615-1624.
24. M.R. Bin Abas, N.A. Rahman, N.Y.M.J. Omar, M.J. Maah, A.A. Samah, D.R. Oros, A. Otto, B.R.T. Simoneit. *Atmospheric Environment* 38 (2004) 4223-4241.
25. C. Pio, C. Alves, A. Duarte. *Atmospheric Environment* 35 (2001) 389-401.
26. M.P. Fraser, Z.W. Yue, R.J. Tropp, S.D. Kohl, J.C. Chow. *Atmospheric Environment* 36 (2002) 5751-5758.
27. B.R.T. Simoneit, J.J. Shauer, C.G. Nolte, D.R. Oros, V.O. Elias, M.P. Fraser, W.F. Rogge, G.R. Cass. *Atmospheric Environment* 33 (1999) 173-182.
28. Z. Yue, M.P. Fraser. *Atmospheric Environment* 38 (2004) 3253-3261.
29. E.O. Edney, T.E. Kleindienst, T.S. Conver, C.D. McIver, E.W. Corse, W.S. Weathers. *Atmospheric Environment* 37 (2003) 3947-3965.
30. J. Feng, C.K. Chan, M. Fang, M. Hu, L. He, X. Tang. *Chemosphere* 61 (2005) 623-632.

31. Y. Cheng, S.M. Li. *Environmental Science of Technology* 39 (2005) 2239-2246.
32. Z.G. Guo, J.L. Feng, M. Fang, H.Y. Chen, K.H. Lau. *Atmospheric Environment* 38 (2004) 909-919.
33. G. W., S. Niu, C. Liu, L. Wang. *Atmospheric Environment* 36 (2002) 1941-1950.
34. B.M. Didyk, B.R.T. Simoneit, L.A Pezoa, M.L. Riveros, A.A. Flores. *Atmospheric Environment* 34 (2000) 1167-1179.
35. J. Fick, C. Nilsson, B. Andersson. *Atmospheric Environment* 38 (2004) 5895-5899.
36. R. Atkinson, J. Arey. *Atmospheric Environment* 37 Supplement No. 2 (2003) S197-S219
37. S. Lee, M. Jang, R.M. Kamens. *Atmospheric Environment* 38 (2004) 2597-2605.
38. Y. Cheng, S.M. Li, A. Leithhead, P.C. Brickell, W.R. Leitch. *Atmospheric Environment* 38 (2004) 5789-5800.
39. J. Yu, R.C. Flagan, J.H. Seinfeld. *Environmental Science & Technology* Vol. 32, No. 16 (1998) 2357-2370.
40. "Calidad total y Acreditación en Química Analítica". Editorial CIEMAT 2000.
41. A. Nevalainen, J. Pastuszka, F. Liebhaber, K. Willeke. *Atmospheric Environment*, v 26A, n 4 (1992) 531-540..
42. "Estudio sobre metodologías y análisis de contaminantes orgánicos en el aerosol de la ciudad de Madrid". Francisco Javier Méndez González. Tesis Doctoral UCM (1992).
43. B.J. Turpin, P. Saxena, E. Andrews, *Atmospheric Environment* 34 (2000) 2983-3013.
44. Q. Lang, Q. Zhang, R. Jaffé. *Chemosphere* 47 (2002) 427-441.
45. S. Harrad, S. Hassoun, M.S. Callén Romero, R.M. Harrison. *Atmospheric Environment* 37 (2003) 4985-4991.
46. L.H. Young, C.S Wang. *Atmospheric Environment* 36 (2002) 477-482.
47. J.J. Lin, L.C Lee. *Atmospheric Environment* 38 (2004) 2983-2991.

48. N. Yassaa, B.Y. Meklati, A. Cecinato. *Atmospheric Environment* 35 (2001) 6003-6013.
49. K. Müller, D. van Pinxteren, A. Plewka, B. Svrčina, H. Kramberger, D. Hofmann, K. Bächmann, H. Herrmann. *Atmospheric Environment* 39 (2005) 4219-4231.
50. T.E. Kleindienst, C.D. McIver, E.W. Corse, E.O. Edney, R.E. Speer. "Organic compounds measured in PM_{2.5} during NEOPS". *Fifth Conference on Atmospheric Chemistry, 83rd Annual Conference of the American Meteorological Society, Long Beach, CA, March 9-13*
51. A. Kubátová, R. Vermeylen, M. Claeys, J. Cafmeyer, W. Maenhaut, G Roberts, P. Artaxo. *Atmospheric Environment* 34 (2000) 5037-5051.
52. N.Y.M.J. Omar, M.R. Bin Abas, K.A. Ketuly, N.M. Tahir. *Atmospheric Environment* 36 (2002) 247-254.
53. X. Bi, G. Sheng, P. Peng, Y. Chen, Z. Zhang, J. Fu. *Atmospheric Environment* 37 (2003) 289-298.
54. M. Kendall, R.S. Hamilton, J. Watt, I.D. Williams. *Atmospheric Environment* 35 (2001) 2483-2495.
55. E. Manoli, D. Voutsas, C. Samara. *Atmospheric Environment* 36 (2002) 949-961.
56. O.L. Mayol-Bracero, O. Rosario, C.E. Corrigan, R. Morales, I. Torres, V. Pérez. *Atmospheric Environment* 35 (2001) 1735-1745.
57. A. Cincinelli, S. Mandorlo, R.M. Dickhut, L. Lepri. *Atmospheric Environment* 37 (2003) 3125-3133.
58. T. Yarita. *Analytical Sciences Vol. 17 Supplement* (2001) i913.
59. S. García, R.M. Pérez, M.L. Sevillano. *Toxicol. and Environment Chemistry, Vol. 85, nos. 4-6*, (2003) 193-202.
60. S. García, R.M. Pérez, M.L. Sevillano. "Determinación de 16 PAHs en aguas continentales mediante HPLC con detector de fluorescencia y ultravioleta visible". *Procedimiento específico n^a: QM-TCm-06*.

ANEXOS

Characterisation of the organic fraction in atmospheric rural aerosol.

O. Pindado Jiménez, R. Pérez Pastor, S. García Alonso. Department of Technology, CIEMAT, Avenue Complutense 22, 28040 Madrid, Spain. Tel: 913466523 / 913466539.
Fax: 913466121. e-mail: oscar.pindado@ciemat.es rosa.perez@ciemat.es
susana.garcia@ciemat.es

Aerosols may be defined as solid and liquid particulates, hanging up on the air with diameter between 0.001-10 μm . Their origin can be either primary or secondary. Atmospheric sources of aerosols can be anthropogenic or natural, being the last less understood, so they will be a goal in this work.

A major fraction of atmospheric aerosols are constituted by organic compounds. It is important to characterise these compounds because some of them have been identified as source tracers.

This work is aimed at developing an analytical method to the identification and quantification of some of the constituents of organic aerosols, and characterising them in two size fractions, PM_{10} (particles with diameter lower than 10 μm) and $\text{PM}_{2.5}$ (particles with diameter lower than 2.5 μm), from a rural area.

Sampling was performed during the spring of 2004, at a rural area located in Chapineria, about 50 Km in the south-west of Madrid, using high-volume samplers. Samples of PM_{10} and $\text{PM}_{2.5}$ were collected over quartz filters, previously heated at 400°C during 24 hours. Samples were extracted with 150 mL of dichloromethane for 8 hours. Later, extracts were concentrated and cleaned-up by silica gel column chromatography. Four fractions were obtained by using solvents with increasing polarity. First fraction contains n-alkanes, second fraction includes PAH's, third fraction comprises alkanols and the fourth fraction recovered fatty acids. Both, third and fourth fraction, may be derivatised before chromatographic analysis. These fractions were spiked with O-(2,3,4,5,6-pentafluorobenzyl) hydroxy amine (PFBHA) for 24 hours at room temperature and darkness, and finally with N,O-bis(trimethylsilyl)-trifluoro-acetamide (BSTFA) for 1 hour at 80 °C. Aliphatic compounds were analysed by GC/MS. PAHs fraction was submitted to HPLC with fluorescence detection. Polar compounds were analysed by GC/MS after derivatisation.

For all samples studied, n-alkanes ranged from C_{15} to C_{40} . The concentration of n-alkanes in PM_{10} varied from 0.05 to 11.0 ng/m^3 , which C_{max} were C_{29} or C_{31} with odd to even predominance in all samples. This distribution is typical from biogenic sources.

The most abundant PAH's were pyrene, benzo(b)fluorantene and benzo(g,h,i)perilene for PM_{10} , while benzo(a)anthracene, crisene, benzo(k)fluoranthene and benzo(a)pyrene were the most abundant in $\text{PM}_{2.5}$.

For PM_{10} and $\text{PM}_{2.5}$ fractions, n-alkanols ranged from C_{10} to C_{30} , with even to odd predominance. The highest concentrations of n-alkanols were 46.0 ng/m^3 for PM_{10} and 20.2 ng/m^3 for $\text{PM}_{2.5}$.

Fatty acids ranged from C_9 to C_{28} , showing C_{max} for palmitic acid. Same as alkanols, fatty acids showed even to odd predominance, and this distribution is typical of biogenic sources. $\text{PM}_{2.5}$ has the same concentration than PM_{10} , so can assume fatty acids of biogenic sources are mainly emitted in $\text{PM}_{2.5}$ fraction. Some unsaturated acids, such as linoleic and oleic acids, has been quantified.

It is remarkable the identification in these samples of some secondary dicarboxylic acids, such as pinic, cis-pinonic and trans-norpinonic acids, recognized as photooxidation products of terpenes. Another identified compound was azelaic acid, which is a degradation product of long chain fatty acid, mainly oleic and stearic acids.

CARACTERIZACIÓN DE LA FRACCIÓN ORGÁNICA DEL AEROSOL ATMOSFÉRICO EN UNA ZONA RURAL

O. Pindado Jiménez, R. Pérez Pastor, S. García Alonso
Unidad de Cromatografía, División de Química, Departamento de Tecnología, CIEMAT
Avda. Complutense, 22. 28040 Madrid (España)

INTRODUCCIÓN

El estudio detallado de los componentes orgánicos del aerosol atmosférico es importante, tanto por sus efectos climáticos y medio ambientales, como por las reconocidas propiedades mutagénicas y cancerígenas de algunos de estos compuestos.

El objetivo de este trabajo es la caracterización experimental de algunas de estas especies orgánicas (hidrocarburos alifáticos, PAHs, alcoholes y ácidos) en las distintas fracciones de interés ambiental (PM_{10} y $PM_{2.5}$) en una zona rural del centro peninsular, con el objeto de investigar sus fuentes.

El muestreo se realizó en la localidad de Chapinería (Madrid), entre los meses de Mayo y Julio de 2004.

RESULTADOS

n-Alcanos

Se detecta la serie homologa entre C_{14} y C_{28} . Se observa un predominio de los compuestos impares, siendo más acusado en las muestras de PM_{10} .

PAHs

Los isómeros se encuentran prioritariamente en la fracción $PM_{2.5}$, siendo los más abundantes el Benzo(e)Pireno, Benzo(b)Fluoranteno, Benzo(ghi)Perileno y el Pireno.

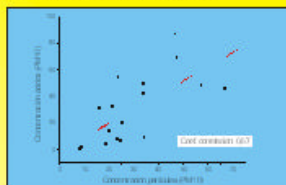
Alcoholes

La serie homologa entre el C_{16} y el C_{28} se detecta en todas las muestras, con predominio de los compuestos pares. El alcohol más abundante es el C_{16} .

Ácidos

Se ha identificado la serie homologa C_{17} - C_{29} , con predominio de los compuestos pares, y otros ácidos como Ac. Oleico, linoleico y azelaico. También se detectan el ácido pinico, cis pinónico y transpinónico, considerados productos de oxidación del β -pineno. El analito más abundante es el ácido C_{18} , con concentraciones de 4.8 ng/m^3 en PM_{10} y de 9.5 ng/m^3 en $PM_{2.5}$.

El estudio de las correlaciones entre las partículas y las diferentes familias caracterizadas no muestra ningún resultado destacable, exceptuando la relación entre los ácidos y las partículas de la fracción $PM_{2.5}$.



CONCLUSIONES

- 1) Los valores de CPI y de %WNA sugieren que los alcanos presentes en PM_{10} tiene un origen mixto, mientras que los presentes en $PM_{2.5}$ son emitidos fundamentalmente por fuentes biogénicas.
- 2) Los PAHs se encuentran prioritariamente en la fracción fina del aerosol.
- 3) Los ácidos y los alcoholes detectados presentan un origen fundamentalmente biogénico.
- 4) Existe un relación entre las partículas presentes en fracción pesada del aerosol, y la concentración de ácidos carboxílicos.
- 5) La presencia de ácidos insaturados confirma que el aerosol no ha sufrido fenómenos de transporte y tiene poca "edad".
- 6) La presencia de productos de la oxidación del α -pineno confirma la contribución biogénica del aerosol de la zona.

AGRADECIMIENTOS

Este estudio ha sido realizado como parte del proyecto CICYT REN2003-08603-C04-02/CL1 del Plan Nacional del MEC.

PARTE EXPERIMENTAL

Las fracciones PM_{10} y $PM_{2.5}$ se recogieron simultáneamente sobre filtros de fibra de cuarzo, en periodos de 24 horas, utilizando captadores de alto volumen con cabezal DIGITEL.



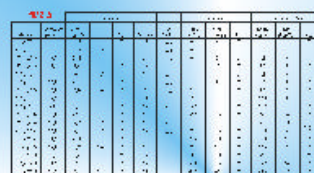
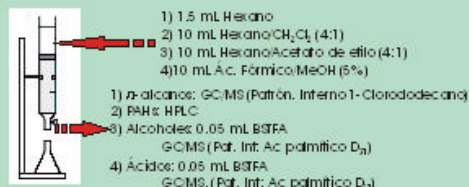
Captador AIDB381 utilizado para muestreo de PM_{10}



Captador MCV utilizado para muestreo de $PM_{2.5}$

La extracción mediante Soxhlet se realiza con 150 mL de CH_2Cl_2 durante 8 horas.

Los extractos se fraccionan a través de una columna cromatográfica con 1.5 g de gel de sílice.



CPI: Índice de preferencia de carbono.
% WNA: Alcanos originados a partir de la cera de las plantas.

REFERENCIAS

- 1) Yu Cheng, Shao-Meng Li, Amy Leithead, Peter C. Brickell, W. Richard Leitch, 2004. Atmospheric Environment 38, 5789-5800.
- 2) Célia Alves, Casimiro Pio, Armando Duarte, 2001. Atmospheric Environment 35, 5485-5496.
- 3) M. Radzi Bin Abas, NoorSaadiah A. Rahman, Nasr Yousef M.J. Omar, M. Jamil Maah, Azizan Abu Samah, Daniel R. Orco, Angella Otto, Bernd R.T. Simoneit, 2004. Atmospheric Environment 38, 4223-4241.
- 4) Jianzhen Yu, Richard C. Pagan, John H. Seinfeld, 1998. Environment Science & Technology 32, 2357-2370.

DEVELOPMENT AND APPLICATION OF AN ANALYTICAL PROCEDURE TO CHARACTERIZE ORGANIC FRACTION FROM NATURAL AEROSOL

O. Pindado Jiménez, R. Pérez Pastor, S. García Alonso, Ana I. Barrado Olmedo.
Chemistry Division, Department of Technology, CIEMAT, Avenue Complutense 22,
28040 Madrid, Spain. Tel. 913466523 / 913466539. Fax: 913466121. e-mail:
oscar.pindado@ciemat.es rosa.perez@ciemat.es susana.garcia@ciemat.es
anaisabel.barrado@ciemat.es

Over the last few years, detailed studies of the organic composition of atmospheric aerosols are being held in order to evaluate its effect on human health as far as its role in climate change. There are known the mutagenic and carcinogenic features of some organic components. Besides, some of them have been recognized as source tracers. Aerosols can be either anthropogenic or natural in origin, primary or secondary, being the last less understood, so they will be a goal in this work.

This work is aimed at optimise an analytical method to identify and quantify some organic constituents of atmospheric aerosols, such as alkanes, PAHs, alcohols and fatty acids, with special interest on secondary biogenic components, and finally characterising them in two size fractions, PM₁₀ and PM_{2.5}.

Several extraction techniques, such as Soxhlet, microwave and ultrasonic extraction, employing various organic solvents, have been evaluated. Moreover, a clean-up step with silica gel chromatography has been optimised. Four fractions were obtained by using solvents with increasing polarities. First fraction contains n-alkanes, second fraction includes PAHs, third fraction comprises alkanols and the fourth fraction recovered fatty acids. Some of the studied compounds posse high polarities, so it was necessary to derivatizate them before GC. Several derivatization reactivities such as BF₃/MeOH, PFBHA and BSTFA have been assessed.

Aliphatic compounds were analysed by GC/MS. PAHs fraction was submitted to HPLC with fluorescence detection. Polar compounds were analysed by GC/MS after derivatization. A recovery test has been accomplished employing some analytical standards. Furthermore, to validate the analytical procedure, a certified reference material, SRM 1649 Urban Dust, has been evaluated.

The procedure has been applied to investigate the organic fraction in aerosols from a rural area in Madrid. Samples of PM₁₀ and PM_{2.5} were collected simultaneously over quartz filters during the spring of 2004.

For all studied samples, n-alkanes ranged from C₁₅ to C₄₀, showed C_{max} at C₂₉ or C₃₁ with odd to even predominance. This distribution is typical from biogenic sources. Alkanols ranged from C₁₀ to C₃₀, with even to odd predominance. Fatty acids ranged from C₉ to C₂₈, being C_{max} palmitic acid, showing even to odd predominance, typical of biogenic sources. Some unsaturated acids, such as linoleic and oleic acids, have been quantified. It is remarkable the identification in these samples of some secondary dicarboxylic acids, such as pinic, cis-pinonic and trans-norpinonic acids, recognized as photooxidation products of terpenes. Another identified compound was azelaic acid, which is a degradation product of long chain fatty acid, mainly oleic and stearic acids.