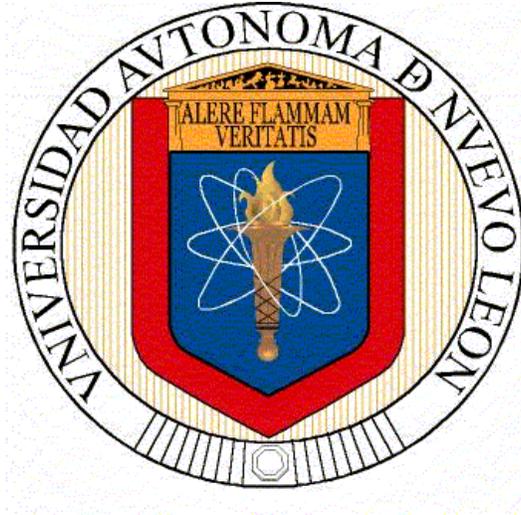


**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN
FACULTAD DE MEDICINA**



**DETERMINACIÓN Y CUANTIFICACIÓN DE PAHS EN PARTÍCULAS
PM2.5 EN EL ÁREA METROPOLITANA DE MONTERREY Y SU
RELACIÓN CON EL 1- HIDROXIPIRENO COMO MARCADOR
BIOLÓGICO DE EXPOSICIÓN.**

POR

JESSICA ARGENTINA GONZÁLEZ CÁRDENAS

**COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL GRADO DE
DOCTOR EN CIENCIAS CON ORIENTACIÓN EN FARMACOLOGÍA
Y TOXICOLOGÍA**

ENERO 2014

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

FACULTAD DE MEDICINA



**DETERMINACIÓN Y CUANTIFICACIÓN DE PAHs EN
PARTÍCULAS PM2.5 EN EL ÁREA METROPOLITANA DE
MONTERREY Y SU RELACIÓN CON EL 1-HIDROXIPIRENO
COMO MARCADOR BIOLÓGICO DE EXPOSICIÓN.**

Por

Q.B.P. JESSICA ARGENTINA GONZÁLEZ CÁRDENAS

**Como requisito parcial para obtener el grado de DOCTOR EN CIENCIAS
con orientación en Farmacología y Toxicología**

Enero 2014

Todo tiene su tiempo, y todo lo que se quiere debajo del cielo tiene su hora.

Eclesiastés 3:1

Agradecimientos

A Dios, por darme la oportunidad de lograr una más de mis metas.

A mi familia, por su amor y apoyo incondicional.

A mi hijo, por ser una fuente de amor y de inspiración importante en mi vida.

A mi asesora Dr. *med.* Lourdes Garza Ocañas.

A mi comisión de tesis: Dr. C. María Teresa Zanatta Calderón, Dr. *med.* Juan Antonio Cuéllar López, Dr. I. Benjamín Limón Rodríguez, Dr. C. Eduardo Javier Tamez De La O.

Al M.C. Humberto Garza Ulloa, por su asesoría.

A mis maestros.

Al M.C.P. Roque M. Mifuji Lira, gracias por su apoyo en el desarrollo de este proyecto.

A mis compañeros y amigos del Doctorado en Farmacología y Toxicología.

A todo el personal del Departamento de Farmacología y Toxicología de la U.A.N.L.

Al Sistema Integral de Monitoreo Ambiental (SIMA).

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) por la beca otorgada con la que fue posible alcanzar los objetivos de este trabajo.

Al Programa de Apoyo a la Investigación Científica y (PAICyT) por el apoyo al proyecto.

DETERMINACIÓN Y CUANTIFICACIÓN DE PAHS EN PARTÍCULAS PM2.5 EN EL ÁREA METROPOLITANA DE MONTERREY Y SU RELACIÓN CON EL 1-HIDROXIPIRENO COMO MARCADOR BIOLÓGICO DE EXPOSICIÓN.

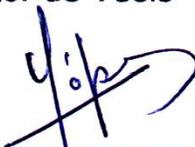
Aprobación de la Tesis:



Dr. med. LOURDES GARZA OCAÑAS
Director de Tesis



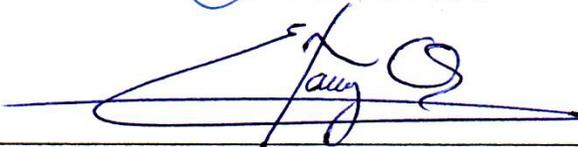
Dr. C. MARIATERESA ZANATTA CALDERÓN
Codirector de Tesis



Dr. med. JUAN ANTONIO CUÉLLAR LÓPEZ
Comisión de Tesis



Dr. I. BENJAMÍN LIMÓN RODRÍGUEZ
Comisión de Tesis



Dr. C. EDUARDO JAVIER TAMEZ DE LA O
Comisión de Tesis



Dr. med. GERARDO ENRIQUE MUÑOZ MALDONADO
Subdirector de Estudios de Posgrado

**DETERMINACIÓN Y CUANTIFICACIÓN DE PAHs EN PARTÍCULAS PM2.5
EN EL ÁREA METROPOLITANA DE MONTERREY Y SU RELACIÓN CON
EL 1-HIDROXIPIRENO COMO MARCADOR BIOLÓGICO DE
EXPOSICIÓN.**

Presentado por

Q.B.P. Jessica Argentina González Cárdenas

Este trabajo fue realizado en el Departamento de Farmacología y Toxicología de la Facultad de Medicina de la UANL bajo la dirección de la Dr. *med.* Lourdes Garza Ocañas.



Dr. *med.* LOURDES GARZA OCAÑAS
Director de Tesis

Jessica Argentina González Cárdenas Fecha de Graduación: Enero, 2014

Universidad Autónoma de Nuevo León
Facultad de Medicina.

Título del Estudio: **DETERMINACIÓN Y CUANTIFICACIÓN DE PAHs EN PARTÍCULAS PM2.5 EN EL ÁREA METROPOLITANA DE MONTERREY Y SU RELACIÓN CON EL 1-HIDROXIPIRENO COMO MARCADOR BIOLÓGICO DE EXPOSICIÓN.**

Número de páginas: 133

Monterrey y su área metropolitana (AMM) constituyen una zona con un importante número de industrias y tráfico vehicular y los niveles de contaminación por partículas PM2.5, desde el 2003 a la fecha se han reportado superiores a lo establecido por la Norma Oficial Mexicana. Dentro de los compuestos tóxicos que constituyen estas partículas destacan los Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos (PAHs), que han sido relacionados con el desarrollo de cáncer pulmonar, debido a lo cual la evaluación de la exposición a los PAHs en el medio ambiente ha adquirido relevancia en la actualidad, particularmente el análisis en orina de sus metabolitos hidroxilados, entre los que se encuentra el 1-hidroxipireno (1-OHP). **Objetivo.** Determinar el contenido de PAHs en partículas PM2.5 en dos zonas del AMM: una con alto tráfico vehicular (zona 1) y otra con potencial exposición industrial (zona 2). Medir los niveles de excreción de 1-OHP urinario en población de ambas zonas. **Material y Métodos.** Se obtuvieron muestras de partículas PM2.5 en filtros de fibra de vidrio acondicionados previamente. Para el muestreo se utilizó un equipo Hi-Vol con un flujo de aire de 1600 m³/24 horas. El muestreo se realizó cada 6 días durante el periodo de noviembre de 2011 a diciembre de 2012. Se revalidó el método para el análisis de 16 PAHs en partículas PM2.5 por HPLC/fluorescencia. Para el análisis de 1-OHP se incluyeron en el estudio hombres y mujeres entre 20-60 años de edad, no fumadores, que habitaron o trabajaron en la zona mínimo 5 años. Se colectaron muestras de orina en frascos de polietileno, una muestra mensual a final de cada mes en noviembre-diciembre de 2011 y enero-febrero de 2012. Se almacenaron a -20 °C hasta su análisis, el cual se realizó por el método de hidrólisis enzimática y detección fluorimétrica por HPLC. El método fue validado en nuestro laboratorio. Los resultados se ajustaron con la concentración de creatinina. **Resultados.** Se obtuvieron 51 muestras de partículas PM2.5 por zona. El promedio de partículas fueron de 33.8 y 24.8 µg/m³ para la zona 1 y 2, respectivamente. Estos valores son superiores al nivel establecido por la legislación mexicana de 15 µg/m³ en promedio anual. Se detectaron 12 PAHs en las partículas. El promedio de PAHs totales expresados como equivalentes de benzo[a]pireno, fue de 3.31 y 2.61 ng/m³ para la zona 1 y 2, respectivamente. En cuanto al estudio de 1-OHP, participaron 96 voluntarios (55 en zona 1 y 44 en zona 2). Se analizaron 321 muestras de orina. La media de 1-OHP fue de 0.02 (rango: 0.002 a 0.07 µmol/mol de creatinina). El 50% tuvo valores entre 0.005-0.02 µmol/mol de creatinina. **Conclusiones.** Los resultados aportan información relevante en el campo de la salud ambiental al establecer la presencia de 12 PAHs con potencial carcinógeno en las partículas PM2.5 e indican la necesidad de establecer medidas más estrictas encaminadas a mejorar la calidad del aire en el AMM. El presente trabajo de tesis es el primer estudio donde se cuantifica el nivel de excreción de 1-OHP en población adulta. Los resultados se observan por debajo del valor de referencia de la guía Benchmark (0.24 µmol/mol de creatinina) para personas no fumadoras y no ocupacionalmente expuestas a PAHs.

Dr. med. LOURDES GARZA OCAÑAS

Director de Tesis

ÍNDICE

Capítulo	Página
1. Introducción.....	1
1.1 Contaminación del aire.....	3
1.2 Partículas ambientales	7
1.3 Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos.....	8
1.4 Monitoreo de la calidad del aire: PAHs en partículas ambientales.....	15
1.5 Evaluación de la exposición a PAHs	21
1.6 Área Metropolitana de Monterrey	26
Justificación	31
Objetivo general	32
Objetivos específicos	32
2. Material y métodos	34
2.1 Material y equipos	34
2.2 Muestreo de partículas PM2.5.....	34
2.2.1 Cronograma de muestreo.	34
2.2.2 Área de estudio.....	35
2.2.3 Preparación del equipo y material para la toma de muestras.....	36
2.3 Cálculo de PM2.5 en las muestras ambientales	38
2.4 Estandarización del método analítico para cuantificación de 16 PAHs	39
2.5 Validación del método analítico para la cuantificación de 16 PAHs	42
2.5.1 Validación del sistema de medición	44
2.5.2 Validación del método analítico.....	47
2.6 Determinación cuantitativa de los niveles de 16 PAHs en las muestras de partículas PM2.5 obtenidas	50
2.6.1 Determinación del riesgo por exposición a PAHs.....	51
2.6.2 Estimación de las fuentes de emisión de PAHs	53
2.7 Biomonitoreo de 1-OHP urinario.....	54
2.7.1 Población en estudio.....	54
2.7.2 Cronograma de muestreo biológico	54
2.7.3 Condiciones de transporte y almacenamiento de muestras de orina	56

2.8 Estandarización del método analítico para cuantificación de 1-OHP	56
2.9 Validación del método analítico para la cuantificación de 1-OHP	57
2.9.2 Validación del método analítico.....	58
2.10 Determinación cuantitativa de los niveles de excreción de 1-OHP	61
2.11 Correlación entre las variables	63
3. Resultados.....	64
3.1 Obtención de muestras de partículas PM2.5	64
3.2 Niveles de concentración de partículas PM2.5 en las muestras obtenidas	64
3.2.1 Correlación de los niveles de partículas PM2.5 con las variables meteorológicas.	68
3.3 Validación del método analítico para cuantificación de 16 PAHs.....	70
3.3.1 Validación del sistema de medición	70
3.3.2 Validación del método analítico.....	73
3.4 Análisis de muestras para la determinación cuantitativa de los niveles de 16 PAHs.....	78
3.4.1 Concentración de PAHs individuales.	79
3.4.2 Concentración de PAHs totales	85
3.4.3 Equivalentes de benzo[a]pireno (BAPEq).....	87
3.5 Estimación de las fuentes de PAHs.....	89
3.6 Validación del método analítico para la cuantificación de 1-OHP	90
3.7 Análisis de muestras para la determinación de 1-OHP urinario.....	91
3.8 Correlación entre el contenido de partículas PM2.5, PAHs totales, BAPEq y 1-hidroxipireno obtenidos en ambas zonas.	93
Discusión	95
Perspectivas	104
Conclusiones	105
Bibliografía.....	107
A n e x o s.....	114
Anexo 1	115
Anexo 2.....	118
Anexo 3.....	123
Anexo 5.....	128
Anexo 6.....	132
Anexo 7.....	133

LISTA DE TABLAS

Tabla	Página
Tabla 1. Clasificación establecida por la IARC para algunos PAHs y mezclas de interés	11
Tabla 2. Comparación de PAHs asociados a PM2.5 de un estudio realizado por el CINVESTAV en la ciudad de México, con otros países.....	20
Tabla 3. Condiciones de operación finales del HPLC para el análisis de PAHs	41
Tabla 4. Programa final de fluorescencia (longitudes de onda de excitación y emisión) utilizado para la determinación de PAHs.....	41
Tabla 5. Factores de equivalencia tóxica (TEF's) para PAHs. (44)	52
Tabla 6. Relación diagnóstica para emisiones de PAHs (38)	53
Tabla 7. Condiciones de operación finales del HPLC para el análisis de 1-OHP urinario (39).....	57
Tabla 8. Estadística descriptiva de los niveles de concentración de partículas PM2.5 ($\mu\text{g}/\text{m}^3$) obtenidas por zona, durante el periodo de muestreo.....	65
Tabla 9. Estadística descriptiva de los niveles de concentración de partículas PM2.5 ($\mu\text{g}/\text{m}^3$) anual (enero-diciembre 12) obtenidas por zona de muestreo.	68
Tabla 10. Correlación de las partículas PM2.5 con las variables meteorológicas.....	69
Tabla 11. Resultados de la evaluación de la linealidad del sistema de medición (Coeficiente de correlación, factor de respuesta y %CV) obtenidos para cada uno de los 16 PAHs.	70
Tabla 12. Resultados de la evaluación de precisión y exactitud instrumental (%CV y %E) obtenidos para cada uno de los 16 PAHs.	71

Tabla 13. Límite de detección y de cuantificación del sistema de medición, obtenidos para cada uno de los 16 PAHs.....	72
Tabla 14. Resultados de la evaluación de la linealidad del método (Coeficiente de correlación, factor de respuesta y %CV) obtenidos para cada uno de los 16 PAHs.	73
Tabla 15. Resultados de la evaluación precisión y exactitud del método a condiciones de repetibilidad (%CV y %E) obtenidos para cada uno de los 16 PAHs.....	74
Tabla 16. Resultados de la evaluación precisión y exactitud del método a condiciones de reproducibilidad (%CV y %E) obtenidos para cada uno de los 16 PAHs.....	75
Tabla 17. Resultados de la evaluación de la exactitud como porcentaje de recuperación (%R).....	76
Tabla 18. Límite de detección y de cuantificación del sistema de medición, obtenidos para cada uno de los 16 PAHs.....	77
Tabla 19. Hidrocarburos aromáticos policíclicos encontrados en las muestras de partículas PM2.5.	78
Tabla 20. Niveles de PAHs en las partículas PM2.5 obtenidas en la zona 1 (ng/m ³).....	80
Tabla 21. Niveles de PAHs en las partículas PM2.5 obtenidas en la zona 2 (ng/m ³).....	82
Tabla 22. Estadística descriptiva de los PAHs totales (ng/m ³) para ambas zonas.	85
Tabla 23. Estadística descriptiva de los BAPEq (ng/m ³) para ambas zonas.	88
Tabla 24. Resultados de los radios diagnóstico para emisiones de PAHs ...	89
Tabla 25. Resultados de la evaluación de los parámetros para la validación del método analítico para la cuantificación de 1-OHP	90

Tabla 26. Muestras de orina obtenidas mensualmente durante el muestreo.
..... 92

Tabla 27. Correlación de Pearson para cada una de las variables analizadas
en ambas zonas..... 94

LISTA DE FIGURAS

Figura	Página
Figura 1. Estructura química de los 16 Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos que la Environmental Protection Agency (EPA) recomienda monitorear continuamente.	12
Figura 2. Ubicación del AMM, segunda área conurbada más grande de México, después de la ciudad de México y la tercera en población (67)	26
Figura 3. Elevaciones montañosas del AMM y ubicación de las estaciones de monitoreo de SIMA.	27
Figura 4. Dirección de los vientos predominantes en el AMM. Los vientos dominantes provienen del oeste y del sureste, en el invierno predominan los del norte	28
Figura 5. Concentración anual de PM2.5 reportadas por el SIMA en el periodo de 2003-2013.....	29
Figura 6. a) Aspecto del muestreador de alto volumen TE-6001 (TISH® Environmental) colocado en la zona 2 (Santa Catarina), b) Posición del filtro en el equipo.	38
Figura 7. Aspecto del HPLC, HP Agilent 1100.....	39
Figura 8. a) Ubicación de los municipios de Monterrey y Santa Catarina dentro del estado de Nuevo León, municipios donde se ubicaron los muestreadores de PM2.5. b) Área de la población en estudio para la determinación de 1-OHP en orina.....	55
Figura 9. Concentraciones promedio de partículas PM2.5 durante el periodo de muestreo para ambas zonas.....	65
Figura 10. Concentración de partículas PM2.5 por fecha de muestreo.	66

Figura 11. Concentraciones promedio mensuales de partículas PM2.5 en ambas zonas.....	67
Figura 12. Cromatograma empalmado de una muestra y estándar.....	79
Figura 13. Promedio mensual de PAHs (ng/m ³) cuantificados en partículas PM2.5 obtenidas en la zona 1.....	84
Figura 14. Promedio mensual de PAHs (ng/m ³) cuantificados en partículas PM2.5 obtenidas en la zona 2.....	84
Figura 15. Promedio mensual de PAHs totales (ng/m ³) obtenidos durante el periodo de muestreo (noviembre-2011 a diciembre 2012) en ambas zonas.	86
Figura 16. Concentración de PAHs totales expresados como BAPeq obtenidos durante el periodo de muestreo en ambas zonas.	87
Figura 17. Promedio mensual de las concentraciones de PAHs totales expresados como BAPeq para ambas zonas.	88
Figura 18. Participación de la población en estudio en ambas zonas.....	91
Figura 19. Niveles de excreción en promedio mensual para cada una de las poblaciones en la zona 1 y 2.....	92

ABREVIATURAS

PAHs	Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos
PM2.5	Partículas con diámetro aerodinámico menor a 2.5 micras
PM10	Partículas con diámetro aerodinámico menor a 10 micras
PST	Partículas suspendidas totales
HPLC	Cromatografía de líquidos de alta resolución
LD	Límite de detección
LC	Límite de cuantificación
AMM	Área Metropolitana de Monterrey
EPA	Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos
B[a]P	Benzo[a]Pireno
BAPeq	Equivalentes de Benzo[a]Pireno
B[ghi]P	Benzo[ghi]Perileno
B[k]F	Benzo[k]Fluoranteno
B[b]F	Benzo[b]Fluoranteno
FE	Fenantreno
BAA	Benzo[a]antraceno
FLU	Fluoranteno
PIR	Pireno
CRI	Criseno
BBF	Benzo[b]fluoranteno
BKF	Benzo[k]fluoranteno

BAP	Benzo[a]pireno
DBA	Dibenzo[ah]antraceno
BGP	Benzo[ghi]perileno
ICP	Indeno[1,2,3-cd]pireno
DBP	Dibenzo[ae]pireno
SIMA	Sistema Integral de Monitoreo Ambiental
PTFE	Politetrafluoretileno
mL	Mililitros
CE	Centro
NO _x	Dióxidos de Nitrógeno
SO _x	Dióxidos de Azufre
SO	Suroeste
μg/m ³	microgramos por metro cúbico
ng/m ³	nanogramos por metro cúbico
%DER	Porcentaje de desviación estándar relativa
%CV	Porcentaje de Coeficiente de variación
DCM	Diclorometano
ACN	Acetonitrilo
μL	microlitros
%E	Porcentaje de error
%R	Porcentaje de recuperación
Hi-Vol	Alto volumen
FR	Factor de respuesta

r	Coeficiente de correlación
DE	Desviación estándar
VOC's	Compuestos orgánicos volátiles
°C	Grados centígrados
PM	partículas ambientales

CAPÍTULO I

1. Introducción

La calidad del medio ambiente es de vital importancia para el desarrollo y bienestar de los seres vivos, sin embargo estos necesitan adaptarse o modificarlo para sobrevivir. El hombre no ha sido la excepción, ya que ha hecho uso de éste y lo ha modificado desde hace miles de años, llevándonos a vivir en una sociedad industrial compleja.^{1, 2}

Una parte esencial de la sociedad son las actividades económicas que permiten la producción de riquezas, generan trabajo a los habitantes además de bienes y servicios. Al crecer la población, aumenta la necesidad de estas actividades, lo que genera presión sobre los recursos y sistemas naturales, los cuáles ya han experimentado graves niveles de degradación.

Las actividades económicas no solo degradan el ambiente, también representan una fuente permanente de contaminación, uno de los principales problemas que se enfrenta en el mundo.^{3, 4}

En la década de los setentas, se pensaba que la contaminación era un fenómeno exclusivo de las zonas en las que se generaban los contaminantes. La preocupación ante esta situación, se limitaba a las regiones en las que la concentración de los contaminantes era más alta o

representaba mayor peligrosidad, sin embargo, se ha cobrado conciencia de que la contaminación es un problema que afecta a todos los seres vivos independientemente del lugar donde se genere, y su control es responsabilidad de todos.⁵

Actualmente la comunidad científica ha centrado sus esfuerzos en el estudio de la distribución, toxicidad y efectos de los agentes químicos en el medio ambiente, ya que al afectar a éste, se han presentado problemas en materia de salud humana derivados de la mala calidad ambiental.⁴

Contaminación ambiental

La contaminación ambiental se entiende por el deterioro de la pureza de las sustancias que componen la biósfera, es decir, parte de la tierra donde se desarrolla la vida.¹ Una definición más completa, considera a la contaminación como la introducción o presencia de sustancias, organismos o formas de energía, en ambientes o sustratos a los que no pertenecen o en cantidades superiores a las propias, por un tiempo suficiente, y bajo condiciones tales, que esas sustancias interfieren con la salud y la comodidad de las personas, dañan los recursos naturales y alteran el equilibrio ecológico de la zona.⁶

Tradicionalmente, el medio ambiente se ha dividido para su estudio e interpretación, en tres componentes que son: aire, agua y suelo. Sin embargo, esta división es meramente teórica, ya que la mayoría de los

contaminantes interactúan con más de uno de los componentes del ambiente.

1.1 Contaminación del aire

El aire limpio se considera un requisito básico para la salud y el bienestar del ser humano. No obstante, su contaminación sigue representando una amenaza importante para la salud en todo el mundo.⁷

El aire se define como el fluido que forma la atmósfera de la Tierra. Es una mezcla gaseosa formada principalmente por nitrógeno (78%) y oxígeno (20.99%), el resto lo componen vapor de agua, gases nobles y bióxido de carbono. El equilibrio en las concentraciones de esta mezcla permite que los seres humanos puedan respirar sin tener afectaciones en la salud, sin embargo, el aire que respiramos puede ser alterado debido a la presencia de otros compuestos. En este sentido, se define como contaminante del aire, al compuesto o compuestos que alteran nocivamente la concentración normal del aire ambiente; y la calidad del aire, como el estado de la concentración de los diferentes contaminantes atmosféricos en un periodo de tiempo y lugar determinados.^{8,9}

Los problemas de contaminación o mala calidad del aire se han presentado cuando la capacidad de limpieza de la atmósfera, mediante la lluvia y el viento, se ha visto superada. El uso sin control de combustibles para la producción de energía, dio origen, a que la especie humana rebasara el umbral de equilibrio de la capacidad de amortiguamiento que posee la

naturaleza para ciertos contaminantes. Con la Revolución Industrial y la explosión tecnológica del siglo XX, el ser humano hizo uso intensivo de combustibles, como el gas y los derivados del petróleo, cuyos productos de combustión son los principales causantes de la contaminación atmosférica.⁸

La calidad del aire también se deteriora por contaminantes emitidos de manera natural, mediante los procesos de erosión del suelo, descomposición de materia orgánica, incendios forestales, procesos volcánicos, etc., sin embargo es mínima comparada con las emisiones causadas por el ser humano.⁴ Entre los contaminantes emitidos por causa de las actividades del hombre o antropogénicas, están los producidos por: fuentes fijas (establecimientos industriales estacionarios), fuentes de área (conjunto de pequeños establecimientos industriales o comerciales) y fuentes móviles (vehículos automotores).⁹

Los contaminantes que son emitidos de manera directa, ya sea de una fuente natural o antropogénica, son llamados contaminantes primarios (por ejemplo, el monóxido de carbono y el dióxido de nitrógeno). También existen los llamados contaminantes secundarios, los cuales son resultado de las reacciones químicas entre contaminantes primarios y otros componentes del aire (un ejemplo es el ozono, que se forma de la reacción entre el dióxido de nitrógeno y compuestos orgánicos volátiles).⁴

La contaminación del aire es considerada un fenómeno inherente al estado económico, poblacional y tecnológico y tiene sus expresiones más graves en las ciudades, zonas fronterizas e industriales. Es además, uno de los problemas más difíciles de comprender, evaluar, normar y controlar, entre

otras causas, por la cantidad y variedad de fuentes emisoras, la dilución y/o transformación de los contaminantes en la atmósfera y los efectos que estos tienen sobre la salud humana y los ecosistemas.⁹

Efectos de la contaminación del aire en la salud

Sabemos que los contaminantes no se limitan al sitio de origen, sino que se extienden más allá de donde fueron originalmente emitidos. Estos efectos se conocen como macroambientales, los más importantes son: el calentamiento global o efecto invernadero, destrucción de la capa de ozono, lluvia ácida y alteraciones en la salud de las personas.¹⁰

Estudios epidemiológicos han declarado que niveles elevados de contaminación del aire se han asociado claramente con efectos adversos en la salud.¹¹ El primer caso de efectos severos, reconocido históricamente fue el ocurrido en Londres en diciembre de 1952, donde los altos niveles de contaminantes se asociaron con un alarmante incremento en el número de muertes (alrededor de 4000). Entre las ciudades donde se han presentado altos niveles de contaminantes del aire están: México, Río de Janeiro, Milán, Ankara, Melbourne, Búfalo, Tokio y Moscú.¹²

Según una evaluación de la OMS, son más de dos millones las muertes prematuras que se pueden atribuir cada año a los efectos de la contaminación del aire en espacios abiertos urbanos y en espacios cerrados (producida por la quema de combustibles sólidos). Más de la mitad de esta carga de enfermedad recae en la población de países en vías de desarrollo.⁷

Debido a que la exposición a la contaminación del aire es vía inhalatoria, es de esperarse que sus principales efectos sean en las vías respiratorias, (bronquitis, enfermedad pulmonar obstructiva crónica, neumonía etc.) y en el sistema cardiovascular (arritmias, infartos, etc.).¹³ Cabe mencionar que los efectos de la contaminación en la salud de la población dependen de diversos factores, entre los que se encuentran: el estado de salud (son más susceptibles los niños, personas de la tercera edad y asmáticos), carga genética del individuo, el grado de exposición y el tipo de contaminante.¹²

Contaminantes presentes en el aire

Algunos de los contaminantes del aire, por sus efectos en la salud de la población, han sido normados y se han establecido límites máximos de concentración en el aire ambiente. Estos contaminantes son conocidos como criterio. En México, los contaminantes criterio son: el ozono (O₃), el monóxido de carbono (CO), el bióxido de azufre (SO₂), el bióxido de nitrógeno (NO₂), el plomo (Pb), las partículas suspendidas totales (PST), y las partículas suspendidas menores a 10 y a 2.5 micrómetros (PM₁₀ y PM_{2.5}).⁹ De los contaminantes presentes en el aire destacan, con especial atención, las partículas ambientales, ya que representan una mezcla compleja que puede contener compuestos tanto de origen natural como productos de las actividades antropogénicas. Pueden contener compuestos orgánicos tanto cíclicos, como no cíclicos, dentro de los cuales están algunos con potencial cancerígeno.¹³

1.2 Partículas ambientales

Las partículas ambientales (PM) son entidades no específicas químicamente, se presentan como una mezcla de diferentes tamaños, composición y propiedades, emitidas por diferentes fuentes (naturales y antropogénicas).

La clasificación más utilizada para el estudio de las partículas es con base a su diámetro aerodinámico. Las partículas gruesas ($\leq 10 \mu\text{m}$), finas ($\leq 2.5 \mu\text{m}$) y ultrafinas ($\leq 0.1 \mu\text{m}$), han sido las más estudiadas en años recientes debido a sus efectos en la salud.¹⁴ Se han encontrado en mayor concentración en zonas urbanizadas que en aquellas que no lo están. La proporción presente en el ambiente de cada uno de los tamaños de partícula, es probable que varíe de manera sustancial entre ciudades en todo el mundo, en función de la geografía, la meteorología y las fuentes específicas de PM de cada lugar.⁷ Los componentes presentes en ellas dependen exclusivamente de la fuente emisora. En términos generales pueden estar formadas por una fracción inorgánica y otra orgánica. La fracción inorgánica se compone principalmente de sulfatos, amonio, nitratos, metales de transición y materiales térreos. La fracción orgánica contiene miles de compuestos dentro de los que encontramos: carbón elemental, compuestos orgánicos volátiles (VOCs), Hidrocarburos Aromáticos Policíclico (PAHs), componentes biológicos tales como alérgenos y endotoxinas.¹⁵

Estudios epidemiológicos han mostrado correlación entre la concentración de partículas en el aire y un incremento en las tasas diarias de

mortalidad en enfermedades respiratorias y cardiovasculares.¹⁶ Debido a estos antecedentes, va en aumento la preocupación acerca de la exposición de humanos a las partículas ambientales, ya que la evidencia indica que las partículas generadas en procesos de combustión, principalmente emisiones diesel que contienen PAHs, se relacionan con una mayor capacidad para generar efectos en la salud, a diferencia de las partículas no generadas en procesos de combustión. Además, se ha estimado que el 50% de las emisiones presentes en áreas urbanas altamente industrializadas son generadas principalmente por el tránsito vehicular.^{17, 18, 19, 20}

1.3 Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos

Los hidrocarburos aromáticos policíclicos (polycyclic aromatic hydrocarbons, PAHs), son compuestos orgánicos que contienen solamente carbono e hidrógeno, están formados por anillos bencénicos fusionados, no obstante también existen PAHs que contienen anillos de cinco eslabones en su estructura, como el acenafteno y fluoranteno. Otros PAHs derivados contienen en sus estructuras grupos alquil sustituyentes u otros grupos funcionales (nitro, halo, carboxil, etc.)(Figura 1).²¹

Los PAHs constituyen una familia de más de 100 compuestos ampliamente distribuida en el medio ambiente. Debido a su estructura singular, origen y comportamiento ambiental característico, suelen estudiarse de forma diferenciada del conjunto de hidrocarburos.¹⁵

Fuentes y distribución de PAHS en la atmósfera

Los PAHs se forman por la combustión incompleta de carbón, aceite, gas y basura, tabaco u otras sustancias orgánicas.²² En la atmósfera los PAHs pueden ser transportados en fase de vapor y/o adsorbidos en materia particulada. Su distribución entre el aire y la materia particulada depende de las características individuales de estos hidrocarburos, por ejemplo: de su lipofilia, presión de vapor y solubilidad acuosa. Los PAHs más volátiles, con 2 o 3 anillos aromáticos, son emitidos a la fase gaseosa, mientras que entre el 80-100% de estos compuestos con 5 o más anillos se encuentran asociados a partículas.²⁰ Las aerosoles con diámetro $\geq 1 \mu\text{m}$ (PM1.0), así como la materia particulada con diámetro $\geq 2.5 \mu\text{m}$ (PM2.5), son de especial interés, ya que representan la fracción de partículas inhaladas con penetración más profunda, llegando hasta la región de intercambio gaseoso de los pulmones, a su vez, es en estas partículas donde se concentra la mayor cantidad de PAHs.^{23, 24}

En las ciudades, la contaminación del aire por PAHs se debe principalmente a las emisiones de combustión de combustibles fósiles de los vehículos de motor (ej. diesel y gasolina), fuentes de energía y calefacción (ej. carbón, aceite y biomasa) y en el interior del hogar, tales como cocinar, calefacción y el humo de tabaco.^{25, 26} Por lo tanto, la exposición de la población general a PAHs por inhalación del aire ambiente, varía según el grado de urbanización e industrialización y al nivel del tráfico vehicular,

además está influenciado por factores como el ambiente familiar y el estilo de vida.^{27, 28}

Los PAHs con potencial cancerígeno han sido encontrados en asociación con partículas, predominantemente en partículas PM_{2.5}.²⁹ Los procesos de combustión de los motores de los vehículos producen una variedad de PM, en su mayoría partículas con diámetro menor a 2.5 µm (PM_{2.5}).³⁰ Se puede declarar que los PAHs y PM_{2.5} son co-contaminantes producto de los procesos de combustión en motores, además existe suficiente evidencia que declaran que los PAHs son componentes significativamente tóxicos presentes en estas partículas.³¹

Toxicidad de los PAHs

Los PAHs son contaminantes medioambientales con gran interés en el medio científico debido a su elevada toxicidad y su alto potencial carcinogénico y mutagénico. Varios de estos PAHs son considerados por la Agencia Internacional de Investigación contra el cáncer (IARC) como probables cancerígenos en humanos.²⁵ En la tabla 1 se presenta la clasificación establecida por la IARC para diferentes PAHs y mezclas relacionadas.

Tabla 1. Clasificación establecida por la IARC para algunos PAHs y mezclas de interés

Grupo 1	Benzo[a]pireno, gasificación de carbón, producción de coque, destilación de alquitrán de carbón, deshollinador de chimeneas, pavimentado con alquitrán, producción de aluminio.
Grupo 2A	Ciclopenta[c,d]pireno, dibenz[a,h]antraceno, dibenzo[a,l]pireno, creosota, manufactura de carbón mediante electrodos.
Grupo 2B	Benz[a]antraceno, benzo[b]fluoranteno, benzo[j]fluoranteno, benzo[k]fluoranteno, benzo[c]fenantreno, criseno, dibenzo[a,h]pireno, dibenzo[a,i]pireno, indeno[1,2,3- c,d]pireno, 5-metilcriseno
Grupo 3	Acenafteno, antraceno, benzo[b]criseno, benzo[g]criseno, benzo[a]fluoranteno, benzo[g,h,i]fluoranteno, benzo[a]fluoreno, benzo[b]fluoreno, benzo[c]fluoreno, benzo[g,h,i]perileno, benzo[e]pireno, coroneno, dibenz[a,c]antraceno, dibenzo[a,j]antraceno, dibenzo[a,e]fluorantano, dibenzo[defmono]criseno, dibenzo[h,rst]pentafeno, dibenzo[a,e]pireno, dibenzo[e,l]pireno, 1,4-dimetilfenantreno, fluoranteno, fluoreno, 1-metilcriseno, 2-metilcriseno, 3-metilcriseno, 4-metilcriseno, 6-metilcriseno, 2-metilfluoranteno, 3-metilfluoranteno, 1-metilfenantreno, perileno, fenantreno, piceno, pireno, trifenileno.

Grupo 1, el compuesto es cancerígeno para los humanos. **Grupo 2A**, probablemente cancerígeno para los humanos. **Grupo 2B**, posiblemente cancerígeno para los humanos. **Grupo 3**, no clasificable como cancerígeno para los humanos.

La EPA también ha elaborado varias publicaciones relativas a la toxicidad y los efectos dañinos de los PAHs. Además ha clasificado 16 PAHs como contaminantes orgánicos prioritarios (Figura 1).

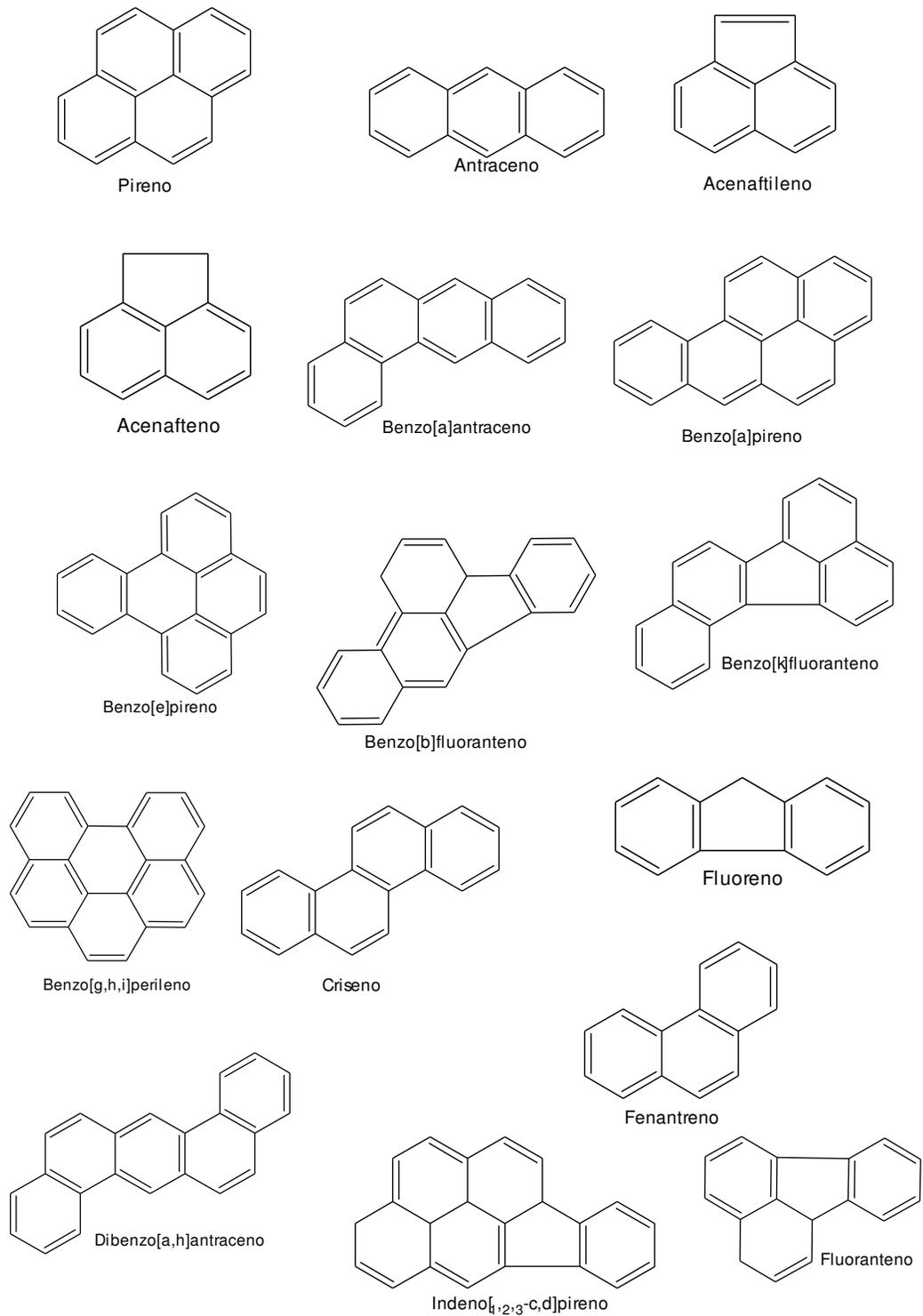


Figura 1. Estructura química de los 16 Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos que la *Environmental Protection Agency* (EPA) recomienda monitorear continuamente.

Estos son el naftaleno, acenafteno, acenaftileno, fluoreno, fenantreno, antraceno, fluoranteno, pireno, benzo[a]antraceno, criseno, benzo[b]fluoranteno, benzo[k]fluoranteno, benzo[a]pireno, dibenzo[a,h]antraceno, benzo[ghi]perileno e indeno[1,2,3-c,d]pireno. Por otro lado, ha clasificado el benzo[a]antraceno, benzo[b]fluoranteno, benzo[k]fluoranteno, benzo[a]pireno, criseno, dibenzo[a,h]antraceno e indeno[1,2,3-c,d]pireno como probables carcinógenos y reconoce como cancerígenas, mezclas de compuestos como por ejemplo el hollín, las emisiones de hornos de coque y el alquitrán de carbón.^{14, 32}

Salud: relación PAHs-Cáncer

Históricamente la primera referencia sobre la toxicidad de estos compuestos data de 1775, cuando el médico británico Percival Pott encontró cierta relación entre la profesión de deshollinador y el cáncer de escroto. Dedujo que tras años de exposición al hollín, algunos trabajadores desarrollaban este tumor maligno. Desde entonces se han realizado investigaciones para poder establecer la relación entre estos compuestos y sus posibles efectos nocivos.³³

Estudios epidemiológicos ya han demostrado la relación entre PAHs y cáncer en los seres humanos. Algunos PAHs carcinógenos (benzo[a]antraceno, benzo[b]fluoranteno, benzo[a]pireno, criseno, indeno[1,2,3,-cd]pireno) tienen habilidad para dañar el ADN y se ha demostrado una asociación significativa entre la exposición a estos (independientemente de la fuente: humo de tabaco, actividad laboral y/o

contaminación del aire) y el retardo en el crecimiento intrauterino, incluso provocando después del nacimiento algunos problemas de salud.^{34, 35} Se cree que esto se debe a la formación de aductos en el ADN y a que los PAHs y sus metabolitos pueden unirse con el receptor de hidrocarburos arilo, presente en el citosol (AHR, por sus siglas en inglés), acumularse en los núcleos celulares resultando en un incremento de la tasa de mutagénesis y a su vez generar actividad estrogénica y depleción de estrógenos endógenos, es decir, causan un efecto de disrupción endocrina lo que puede incrementar la proporción de cánceres y anomalías en el sistema reproductivo, como por ejemplo: anovulación, reducción de la velocidad de concepción, abortos, desórdenes menstruales y defectos en el desarrollo de los tejidos reproductivos femeninos así como la disminución de la fertilidad en varones. La exposición a PAHs puede también afectar los niveles de inmunoglobulinas, moléculas importantes en el mecanismo de defensa inmunológica.³⁶ Se ha encontrado también una asociación entre mutaciones en el gen TP53, acumulación de proteína p53, polimorfismos NBS1, con el desarrollo de cáncer pulmonar, en individuos expuestos a humo de tabaco y humo de combustión fósil.³⁷ Investigaciones epidemiológicas en humanos expuestos en diferentes escenarios ocupacionales, muestran asociación en el incremento de cáncer pulmonar, cáncer de vejiga, cáncer de riñón, cáncer colorrectal y cáncer dérmico asociados con la exposición a altos niveles de PAHs en aire y alimentos.^{38, 39, 40} Otros riesgos que se han asociados a la exposición a PAHs, son efectos agudos y crónicos en el sistema nervioso

central, pérdida de consciencia, depresión respiratoria, alteraciones de la función intelectual y problemas cardiovasculares.^{26, 41}

1.4 Monitoreo de la calidad del aire: PAHs en partículas ambientales

Investigaciones del impacto a la salud de estos contaminantes (tanto de las partículas ambientales como de los PAHs contenidos en estas), dieron paso a otra serie de investigaciones en las cuales se pretendía evaluar no solo sus efectos a corto o largo plazo, sino conocer sus niveles de concentración presentes en el aire, para lo que se desarrollaron técnicas de muestreo, así como métodos de extracción y de análisis, no solo para realizar medidas cualitativas, sino también cuantitativas.^{42, 43}

La EPA y otras organizaciones como la IARC recomiendan monitorear cierto número de PAHs, los cuales son identificados por su toxicidad, y estudiados por su mayor probabilidad de contacto con los humanos, mayor frecuencia de ocurrencia en sitios con desechos peligrosos y debido a que se posee mayor información de estos que del resto del grupo. Los 16 PAHs que la EPA recomienda monitorear se presentan en la figura 1.^{14, 22, 25}

Actualmente existen múltiples estudios observacionales en los que se han cuantificado las concentraciones de PAHs en el aire ambiente. Los primeros monitoreos se realizaron en ambientes de trabajo, como industrias productoras de aluminio, hierro y en hornos de coque, etc., estos lugares se caracterizan por una alta exposición a PAHs por parte de los trabajadores. Un claro ejemplo es el reportado en el año 2002 por Yang H.H. *et al*, donde

se observaron niveles de PAHs totales de hasta $1\ 020\ \mu\text{g}/\text{m}^3$ en zonas industriales de Taiwan, este valor se obtuvo en invierno.⁴³

Los niveles de exposición a PAHs totales pueden ser expresados como equivalentes de benzo[a]pireno [BAPeq], ya que este compuesto, históricamente ha sido utilizado como un indicador de carcinogenicidad a PAHs y sus derivados. No obstante, el uso del benzo[a]pireno (B[a]P) como un indicador ha sido cuestionado, principalmente porque la evaluación cuantitativa de los riesgos que más se han citado, se basan en un aumento del riesgo de cáncer de pulmón en trabajadores de hornos de coque. Las mezclas de PAHs emitidas al ambiente actualmente (provenientes de combustibles fósiles, madera, tráfico, etc.) probablemente difieren de las emitidas por la quema de coque, y el B[a]P no sea tan abundante en estas emisiones. Para evitar este tipo de situaciones existen los BAPeq, los cuales son la suma de los factores de equivalencia tóxica (TEFs, por sus siglas en inglés: toxicity equivalency factors) de cada PAHs, es decir, este factor indica el potencial carcinogénico de cada compuesto respecto al B[a]P. Así tenemos que el TEF del benzo[a]antraceno es de 0.1, es decir, este PAHs es 10 veces menos tóxico que el B[a]P.⁴⁴

Al ser considerado un indicador, existen legislaciones que regulan los niveles de B[a]P en el aire ambiente, un ejemplo es el establecido por la Directiva 2004/107/CE de la Comunidad Europea, la cual estableció un límite máximo de $1\ \text{ng}/\text{m}^3$ en promedio anual para este compuesto.⁴⁵ Hay otras legislaciones como la establecida en Inglaterra y en el estado de Arizona

(EUA), las cuales establecen límites máximos de 0.25 y 0.5 ng/m³ respectivamente para el B[a]P.^{46, 47}

El monitoreo de los PAHs en el aire ambiente se ha realizado en múltiples escenarios, no solo en zonas industriales donde es de esperarse su alta concentración, así también en zonas urbanas y rurales, encontrándose en todas ellas su presencia. En un estudio realizado en Alemania, se observó que las concentraciones de B[a]P detectadas en lugares caracterizados por tráfico (1.8 ng/m³), industrias o ambientes urbanos (1.3 ng/m³), son significativamente mayores que las detectadas en zonas rurales (0.92 ng m⁻³). Resultados similares se han encontraron en el Reino Unido, donde se registraron niveles entre 1-4 ng/m³ en zonas urbanas y 0.3 ng/m³ en zonas rurales. Los niveles de B[a]P más elevados se registraron en invierno, debido principalmente a la combustión de fuel para calentamiento de los espacios domésticos. También se han encontrado niveles considerables de PAHs en ambientes interiores. En un estudio realizado en China (Hangzhou) se encontraron niveles entre 425 y 3620 ng/m³ en ambientes residenciales. Los mayores niveles de contaminación se registraron en viviendas de fumadores, más concretamente en las cocinas y durante el periodo invernal.^{43, 48}

En Suecia, los hogares que utilizan la quema de madera como medio de calefacción doméstica, presentaron niveles medios de B[a]P (0.52 ng/m³), cinco veces mayores que el umbral establecido en el país para este contaminante (0.1 ng/m³). Por otra parte, los niveles encontrados en hogares

rurales del norte de India durante la preparación de alimentos, oscilaron entre 7750 y 15770 ng/m³.⁴⁹

En su mayoría la presencia de PAHs se ha evaluado en partículas PM₁₀. Haciendo una comparación en las concentraciones de PAHs totales detectados en los diferentes estudios a nivel mundial en los meses de invierno, entre las zonas estudiadas, los países Asiáticos (Taiwan, zona industrial petroquímica: 116.8 ng/m³, zona de alto tráfico vehicular: 912 ng/m³, zona urbana: 203.9 ng/m³), tienen las concentraciones más altas en comparación a los países de Europa (Italia, zona industrial: 39.5 ng/m³), Sureste de Asia (India, zona industrial: 38.8 ng/m³, zona urbana: 24.5 ng/m³, Malasia, zona urbana: 6.3 ng/m³, zona rural: 0.3 ng/m³) y América (México: 1.5 ng/m³, zona urbana). Generalmente los niveles de PAHs tienden a disminuir en los meses de verano, reflejo de los cambios meteorológicos. En invierno no se presentan inversiones térmicas frecuentes y además hay un mayor número de fuentes emisoras para mantener el calor de las casas en las zonas urbanas. Esto ha sugerido que en las zonas urbanas, la concentración de partículas asociadas con PAHs es alta en invierno, mientras que la fase de vapor de estos compuestos es más alta en verano, por tal motivo su presencia en partículas es menor.⁴³

México es un país en vías de desarrollo, cuenta con industrias que contribuyen a la contaminación del aire (y otros sustratos), zonas urbanas y rurales, donde los habitantes están expuestos a partículas ambientales incluyendo a estos hidrocarburos. Las grandes ciudades son las que presentan mayores niveles de partículas ambientales debido al mayor

número de fuentes contaminantes y a determinadas condiciones geográficas y meteorológicas. En México las ciudades con mayor población son: la ciudad de México, Distrito Federal, Guadalajara y Monterrey.

Estudios realizados en la ciudad de México (la tercera aglomeración urbana más grande del mundo) han reportado la presencia de PAHs en las partículas ambientales. El estudio se inició debido a las continuas violaciones de la norma mexicana en cuanto a partículas. Se midió la concentración de PST, la cual vario entre 106 y 230 $\mu\text{g}/\text{m}^3$. En cuanto a la concentración de PAHs totales en las muestras, la suma promedio fue de 7.84 ng/m^3 (rango: 5.04-10.77 ng/m^3). El PAHs más abundante encontrado en las muestras fue el benzo(ghi)perileno, el cual se ha asociado con emisiones vehiculares. Los menos abundantes fueron el benzo[a]antraceno y fenantreno. El B[a]P represento el 6% del total de PAHs en las partículas (0.534 ng/m^3). Se utilizaron los TEFs de los PAHs y se obtuvieron 0.962 ng/m^3 de BAPEq, éste valor es menor al establecido por la Comunidad Europea.⁵⁰

Las concentraciones de PAHs en PST y PM10 en México son menores que las reportadas en Shijiazhuang, China (78.93-214.63 ng/m^3) y Nueva Delhi, India (35.82-162.76 ng/m^3), similares a los reportados en Seoul, Korea, Jakarta, Xiamen, China and Bangkok, Tailandia (24.1-34.6 ng/m^3), pero significativamente altas en comparación con las concentraciones observadas en Italy, London, Gran Canaria, Grecia and California, EUA. (7.4 ng/m^3).⁵⁰

Estudios realizados en la Ciudad de México (2006-2007), en los cuales se midieron las concentraciones de PAHs en PM2.5, se observaron las más altas concentraciones en épocas de frío-seco (>2 ng/m³), en comparación con las épocas de lluvia y de calor sin precipitaciones (>1 ng/m³). Los PAHs cancerígenos contenidos en éstas partículas se encontraron entre el 65 y 68%. Las altas concentraciones de B[a]P, benzo[ghi]perileno y dibenzo[a,h]antraceno, son indicadores que la ciudad de México es impactada por las emisiones del tráfico vehicular. En la tabla 2 se muestran las concentraciones promedio obtenidas de cada uno de los PAHs detectados en las muestras de PM2.5 de la Ciudad de México, que en comparación con las obtenidas en otros países se muestran similares a los reportados por otras ciudades en América Latina como Sao Paulo, pero más altas que las ciudades muestreadas en Estados Unidos de América y España.⁵⁰

Tabla 2. Comparación de PAHs asociados a PM2.5 de un estudio realizado por el CINVESTAV en la ciudad de México, con otros países.

	México	EUA	EUA	Brasil	España
ng/m ³	CINVESTAV	Lompoc/LA	Riverside/LA	Sao Paulo	Valencia
Naftaleno	0.629	0.015	0.007	0.020	0.13
Acetileno	0.644	N.D	N.D.	0.090	0.5
Acenafteno	0.488	0.003	0.001	0.350	N.D
Fluoreno	0.293	0.008	0.008	N.D	0.17
Fenantreno	0.739	0.001	0.027	0.150	0.33
Antraceno	0.667	0.002	0.002	N.D.	0.03
Fluoranteno	0.858	0.003	0.024	0.650	0.37
Pireno	0.962	0.006	0.038	0.520	0.23
Benzo(a)antraceno	1.081	0.006	0.020	0.460	0.29
Criseno	1.180	0.008	0.032	0.510	0.33
Benzo(b)fluoranteno	1.831	0.012	0.056	1.230	0.48
Benzo(k)fluoranteno	0.811	0.006	0.027	0.760	0.27
Benzo(a)pireno	1.483	0.009	0.047	0.520	0.32
Indeno [1,2,3-cd] pirene	1.899	0.012	0.052	2.470	0.42
Dibenzo [a,h] antraceno	1.297	0.002	0.006	N.D.	0.49
Benzo [ghi] perileno	1.862	0.23	0.112	2.360	0.41

1.5 Evaluación de la exposición a PAHs

Los PAHs pueden absorberse en el cuerpo a través de diferentes vías (inhalatoria, oral o dérmica) y pasar con facilidad las membranas celulares gracias a su capacidad lipofílica.⁵¹ Dentro del organismo son metabolizados por diferentes rutas y en todos los tejidos del cuerpo, principalmente en el hígado y en los pulmones, esto mediante la activación de las isoenzimas CYP1A1 y CYP1B1 del Citocromo P450. Estas enzimas son responsables de la formación de compuestos areno-óxidos, que pueden ser transformados a dihidrioles (sustancias que se excretan más fácilmente), algunos de estos dihidrioles sufren una segunda epoxidación dando lugar a dioles-epóxidos (estos forman aductos con el ADN) o transformarse a fenoles en una reacción catalizada por la enzima epóxido hidrolasa. Los fenoles se transforman en quinonas y dioles-fenol, reaccionando posteriormente con moléculas de glutatión y sulfatos de forma covalente gracias a las enzimas glutatión-s-transferasa y sulfatasas, formando complejos orgánicos glucurónidos o sulfónicos que son eliminados del organismo a través de las heces y la orina.^{22, 52}

Para evaluar el grado de exposición de la población se han cuantificado los niveles de algunos PAHs específicos, como el B[a]P o de PAHs totales en matrices ambientales (aire, agua, suelo). Sin embargo, a diferencia de estas estrategias, los metabolitos encontrados en heces y orina, son indicadores de la dosis interna por exposición reciente a PAHs, estos muestran la suma de las diferentes vías de exposición y proporcionan información acerca de la biodisponibilidad o absorción de estos

contaminantes en el humano. A estos indicadores se les conoce como biomarcadores de exposición.^{53, 54, 55, 56}

1-Hidroxipireno como biomarcador de exposición a PAHs

Existen metabolitos urinarios monohidroxilados estudiados como biomarcadores en diferentes escenarios de exposición a PAHs. Sin embargo, en la mezcla de PAHs encontrados en el aire, el pireno está presente en la mayoría de los escenarios de exposición entre 1-10% del total de la mezcla.⁵⁷ El pireno es metabolizado y excretado como 1-hidroxipireno (1-OHP) en orina, por lo tanto la excreción de 1-OHP es dependiente de la dosis del pireno absorbido. El 1-OHP es el primer biomarcador analizado por Jongeneelen en 1987, además es considerado el metabolito estándar en una amplia variedad de estudios en población general (indicador de baja exposición PAHs) y en población ocupacionalmente expuesta (indicador de altos niveles de PAHs).⁵²

Su uso se debe a su relativa alta concentración en orina (se encuentra de 200 a 2000 veces más concentración que el hidroxibenzo[a]pireno, metabolito del B[a]P y a su fácil medición (su vida media es de 18 horas con un rango de 6-35 horas, después de su colecta permanece estable a -20° C durante 1 año), lo que permite su fácil detección y aplicabilidad. Es indicador sensible de la presencia de PAHs independientemente del tipo de fuente generadora y de las características de exposición propias de cada país.^{53, 54}

Es considerado como un biomarcador de exposición a partículas finas (2.5µm) que son la principal fuente de exposición ambiental a PAHs y su uso

como biomarcador indirecto de la mezcla de PAHs, ha sido ampliamente estudiado y justificado.^{58, 59}

En la actualidad, el 1-OHP es una herramienta para la aplicación de límites de seguridad, conocidos como Índices Biológicos de Exposición (BEIs, por sus siglas en inglés) en diferentes ambientes de exposición ocupacional en Europa. (Guía Benchmark) Esta guía propone tres valores de referencia de acuerdo al percentil 95: 1) 0.24 μmol 1-OHP/mol de creatinina (Cr) para individuos no expuestos y no fumadores, 2) 0.76 μmol 1-OHP/mol de Cr para individuos no expuestos y fumadores, 3) 1.4 μmol 1-OHP/mol de Cr Nivel de No Efecto (NOAEL, por sus siglas) nivel en el cual no hay efectos observados, 4) 1.9 μmol 1-OHP/mol de Cr (LOAEL, por sus siglas en inglés) nivel mínimo de efecto observado en trabajadores expuestos (efectos genotóxicos). A partir de este último valor se han creado los límites de exposición ocupacional a PAHs (OEL), a partir de la concentración de 1-OHP en orina y las concentraciones de PAHs en aire en dos escenarios industriales, 2.3 μmol 1-OHP/mol de Cr para trabajadores en hornos de coque y 4.9 μmol 1-OHP/mol de Cr para trabajadores de la industria del aluminio.⁶⁰ Estos límites han sido de gran utilidad para disminuir los niveles de exposición a PAHs, aunque se encuentren por arriba del nivel mínimo de efecto observado.

Evaluación de exposición a PAHs en población no ocupacionalmente expuesta

El monitoreo biológico en humanos está tomando relevancia en estudios de salud en personal ocupacional y ambientalmente expuestos. Las concentraciones más altas encontradas de 1-OHP se han detectado entre los trabajadores de industrias petroquímicas (1696 μmol 1-OHP/mol de Cr, Taiwan, 1998) y de hornos de coque (145 μmol 1-OHP/mol de Cr, Taiwan, 2003; 95 μmol 1-OHP/mol de Cr, China, 2001).²⁸

La evaluación de exposición ambiental a PAHs es importante para proveer información sobre la variación inter e intra individual en los niveles de excreción de 1-OHP en las diferentes poblaciones. En individuos no ocupacionalmente expuestos, se encontraron concentraciones de 1-OHP más altas en personas que fuman (0.11-1.16 μmol 1-OHP/mol de Cr) que aquellas que no fuman (0.05-0.26 μmol 1-OHP/mol de Cr) o que son fumadores pasivos (0.06-0.46 μmol 1-OHP/mol de Cr).^{61, 62}

La exposición a PAHs no ocupacional se ha clasificado en áreas o zonas, de acuerdo a la principal fuente de emisión posible de estos compuestos, así tenemos varios estudios que reportan niveles de excreción de 1-OHP en zonas industriales, zonas con alto tráfico vehicular, zonas rurales, etc. En áreas industriales se han reportado niveles de excreción media de 0.48 y 0.15 μmol 1-OHP/mol de Cr, en población fumadora y no fumadora, respectivamente (estudio realizado en Alemania en mujeres adultas).⁶³ Otros estudios han reportado niveles de excreción entre 0.008-

0.191 y 0.01-0.48 μmol 1-OHP/mol de Cr (excreción reportada en mujeres no fumadoras de Bélgica).⁴³

Un estudio realizado por Levin, reportó excreciones de 0.03, 0.04, 0.08, 0.07 μmol 1-OHP/mol de Cr en población no ocupacionalmente expuesta y no fumadora de Suecia, Alemania, Italia y Canadá, respectivamente.⁶⁴

En estudios realizados referente a la exposición ambiental, se ha observado una tendencia de mediciones altas en la concentración de 1-OHP en los países de Europa del Éste y Asiáticos.²⁸

Entre las poblaciones más estudiadas, está la de los niños (menores a 18 años), ya que son más susceptibles (inhalan más aire por kg de peso que los adultos). Se han reportado concentraciones tan altas como 7.15 μmol 1-OHP/mol de Cr (Holanda, 1992) y tan bajos como 0.01-0.63 y 0.01-1.66 μmol 1-OHP/mol de Cr en niños de Dinamarca habitantes en áreas urbanas y rurales, respectivamente.⁴³

En México se han realizado evaluaciones sobre la exposición a PAHs en niños en diferentes áreas. En un estudio realizado en la comunidad del Ramonal en Quintana Roo, se reportó una media de 2.9 μmol 1-OHP/mol de Cr. Los habitantes del lugar usan materia sólida y biomasa como combustible para cocinar y para mantener el calor, estando expuestos al humo de estos combustibles dentro de sus hogares.⁶⁵ En otro estudio realizado en México, se observaron los niveles de excreción en niños en diferentes escenarios, tales como: a) niños habitantes cercanos a caminos con tráfico pesado (0.08-0.20 μmol 1-OHP/mol de Cr), b) rellenos sanitarios (0.30 μmol 1-OHP/mol de

Cr), c) comunidades obreras (0.35 μmol 1-OHP/mol de Cr) y d) niños expuestos a la combustión de biomasa (3.25 μmol 1-OHP/mol de Cr), siendo este último escenario el que mostró los más altos niveles de excreción.⁶⁶

1.6 Área Metropolitana de Monterrey

El Área metropolitana de Monterrey (AMM) se ubica en el estado de Nuevo León, en ésta se incluye la ciudad capital del estado: Monterrey, y parte de los municipios de García, General Escobedo, San Nicolás de los Garza, Guadalupe, Benito Juárez, Cadereyta Jiménez, Santiago, Santa Catarina, San Pedro Garza García (Figura 2). Ocupa el 1.2% del área total del estado y concentra en su superficie a casi el 88% de la población del estado, es decir a más de 4 199 292 de habitantes, además cuenta con más de 2 084 776 unidades de vehículos registrados y 9 740 unidades activas de industrias manufactureras.⁶⁷

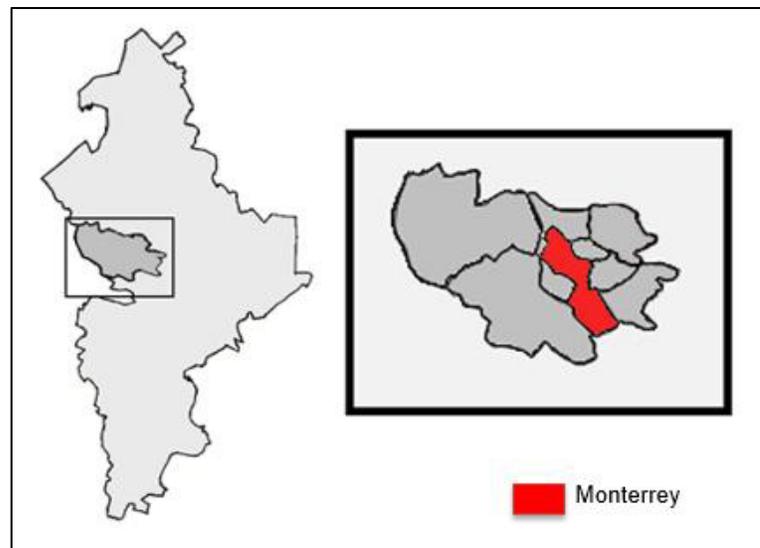


Figura 2. Ubicación del AMM, segunda área conurbada más grande de México, después de la ciudad de México y la tercera en población.⁶⁷

El AMM se encuentra a una altura aproximada de 500 metros sobre el nivel del mar. Está rodeada de la Sierra Madre Oriental, el cerro de la Silla, el cerro de las Mitras y el cerro del Topo Chico. Estas elevaciones montañosas constituyen una barrera física natural para la circulación del viento e impiden el desalojo de contaminantes atmosféricos (figura 3). De igual modo, se halla sujeta a la influencia de sistemas anticiclónicos procedentes del golfo de México que provocan estabilidad atmosférica, he inhiben el mezclado vertical del aire (figura 4)

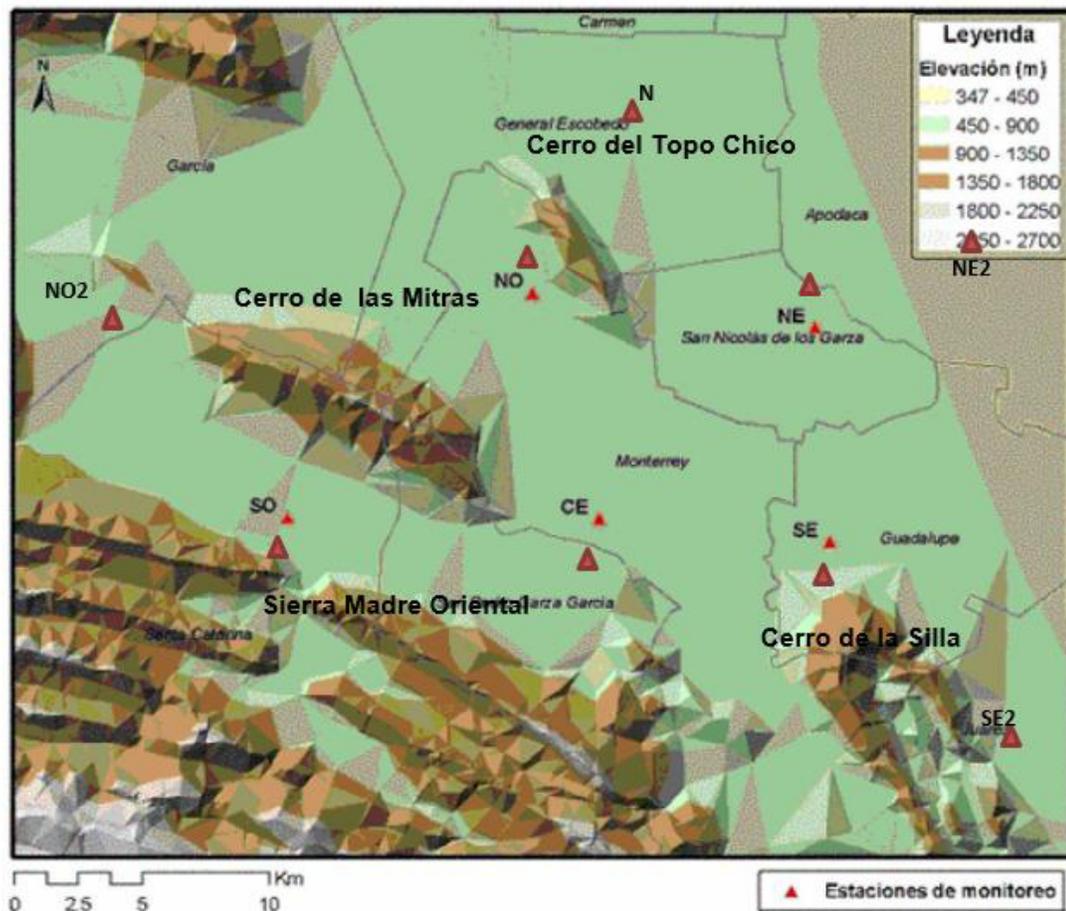


Figura 3. Elevaciones montañosas del AMM y ubicación de las estaciones de monitoreo de SIMA. (68)

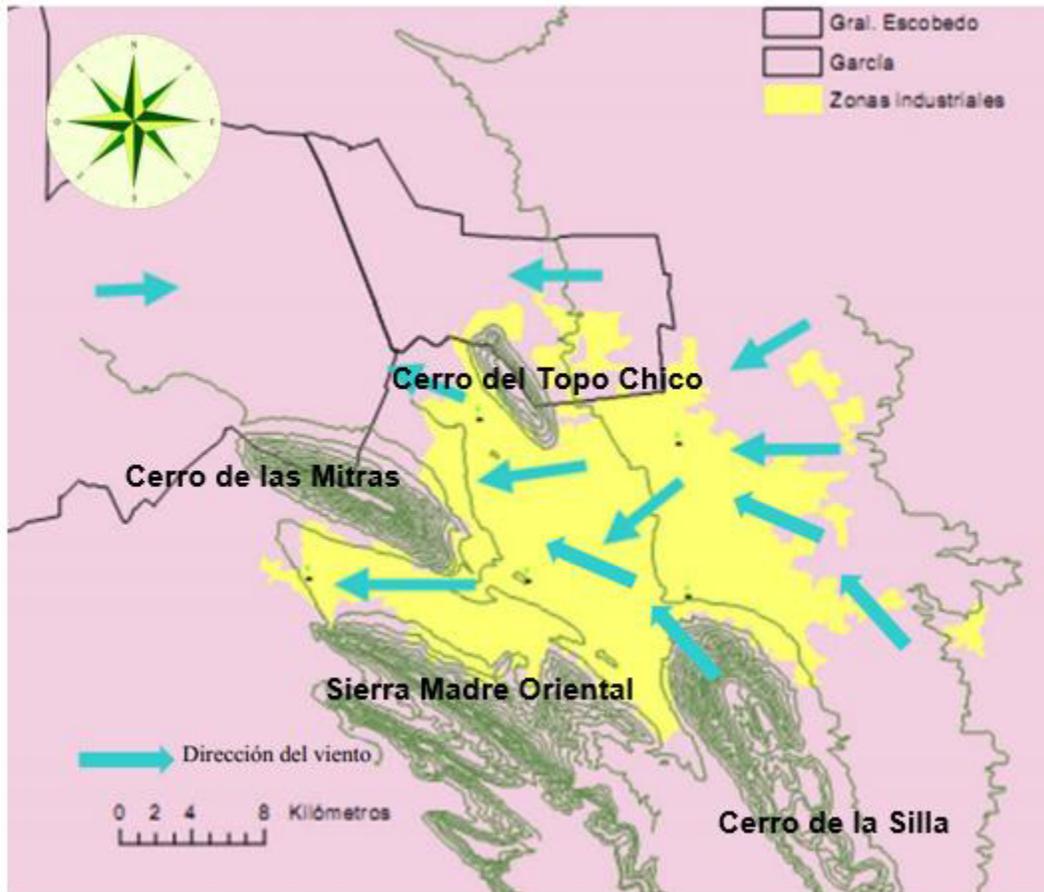


Figura 4. Dirección de los vientos predominantes en el AMM. Los vientos dominantes provienen del este y del sureste, en el invierno predominan los del norte.⁶⁸

Las características anteriores y el hecho de ser un área industrial con un número de habitantes y de vehículos considerablemente elevado, pueden favorecer la aparición de episodios de severa contaminación atmosférica. Es debido a esto que en el año de 1992 se estableció el Sistema Integral de Monitoreo Ambiental (SIMA). El sistema comprende actualmente una red de 9 estaciones de monitoreo que están midiendo continuamente los niveles de los contaminantes criterio (vea Figura 3), entre ellos las PM2.5. De acuerdo a reportes del SIMA, los niveles de PM2.5 en los últimos años han sido

superiores a los $15 \mu\text{g}/\text{m}^3$, que es el valor límite máximo anual establecido en la Norma Oficial Mexicana NOM-025-SSA1-1993 (figura 5).

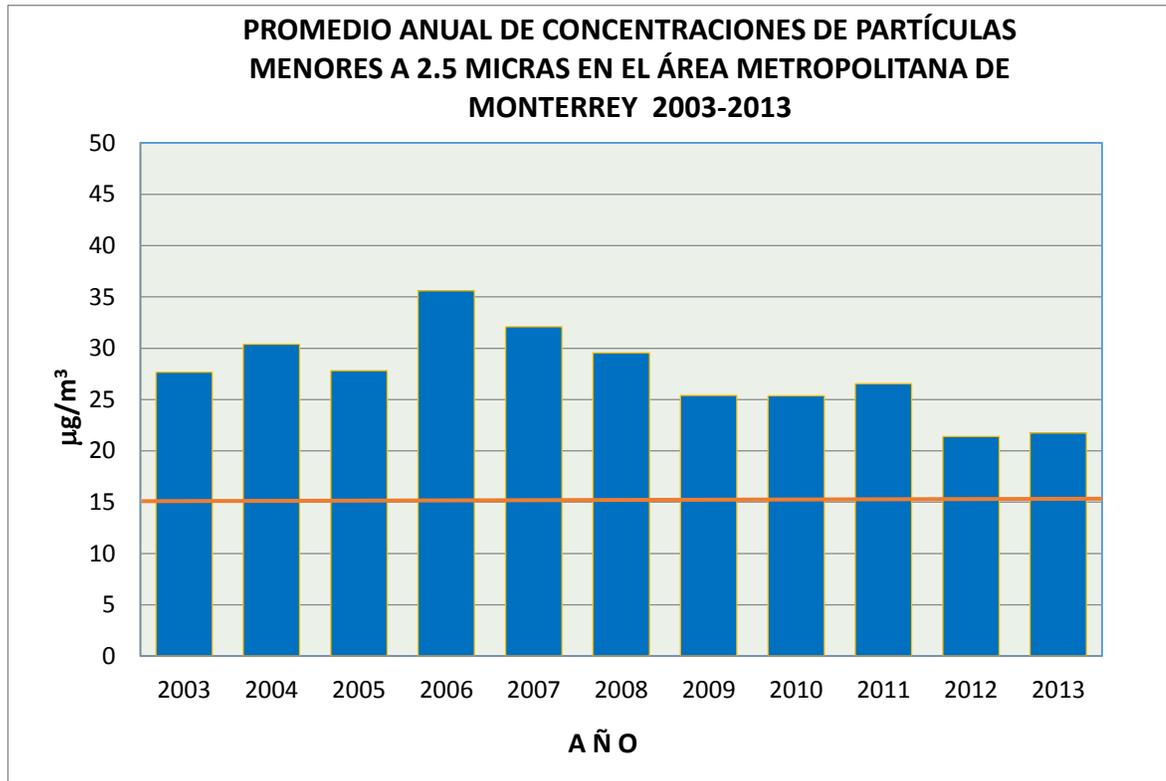


Figura 5. Concentración anual de PM2.5 reportadas por el SIMA en el periodo de 2003-2013.

La exposición a partículas finas se ha asociado con aumentos en la morbilidad y mortalidad en la población, además, estudios han demostrado la estrecha relación entre estas partículas y PAHs cancerígenos. En un estudio realizado en el AMM por periodo de un año (2008-2009) se realizó la caracterización de éstas partículas y fueron detectados 14 de los 16 PAHs que la EPA recomienda monitorear, sin embargo solo se pudieron cuantificar 6 PAHs (benzo[a]antraceno, criseno, benzo[b]fluoranteno,

benzo[k]fluoranteno, benzo[a]pireno y benzo[ghi]perileno. Las concentraciones más altas fueron registradas en los meses de otoño-invierno.⁶⁹ El resultado de esta investigación hace necesario el monitoreo de estos contaminantes y la evaluación de su exposición mediante biomarcadores en población del Área Metropolitana de Monterrey.

Justificación

Considerando que los niveles anuales de partículas PM2.5 en el AMM, rebasan lo establecido por la NOM-025-SSA1 desde el 2003 hasta la fecha, la presencia de PAHs en estas partículas, acentuándose la concentración de los mismos en los meses de otoño-invierno, aunado a esto, su comprobada toxicidad, hacen importante la medición de un marcador biológico de exposición en la población del AMM.

Objetivo general

Determinar y cuantificar 16 PAHs (naftaleno , acenafteno, fluoreno, fenantreno, antraceno, fluoranteno, pireno, benzo[a]antraceno, criseno, benzo[b]fluoranteno, benzo[k]fluoranteno, benzo[a]pireno, dibenzo[ah]antreceno, benzo[ghi]perileno, indeno[1,2,3-cd]pireno, dibenzo[ae]pireno) en partículas PM2.5 en dos zonas del AMM: una zona de alto tráfico vehicular y otra con potencial exposición industrial, así como establecer si existe relación con los niveles de excreción de 1-hidroxi pireno como marcador biológico de exposición.

Objetivos específicos

1. Obtener muestras de partículas PM2.5 en dos zonas del AMM, una con alto tráfico vehicular y otra zona con potencial exposición industrial.
2. Determinar la concentración de partículas PM2.5 en las muestras obtenidas.
3. Revalidar los procedimientos de preparación y análisis de las partículas PM2.5 para la determinación de los PAHs.
4. Determinar cuantitativamente el contenido de PAHs totales (naftaleno , acenafteno, fluoreno, fenantreno, antraceno, fluoranteno, pireno, benzo[a]antraceno, criseno, benzo[b]fluoranteno, benzo[k]fluoranteno, benzo[a]pireno, dibenzo[ah]antreceno, benzo[ghi]perileno,

indeno[1,2,3-cd]pireno, dibenzo[ae]pireno) en las muestras de partículas PM2.5 obtenidas

5. Validar los procedimientos de preparación y análisis de las muestras de orina para la determinación del 1-hidroxipireno.
6. Obtener muestras de orina de la población en ambas zonas donde se realizó el muestreo ambiental.
7. Correlacionar el contenido de partículas PM2.5, PAHs totales y 1-hidroxipireno obtenidos en ambas zonas.

CAPÍTULO II

2. Material y métodos

2.1 Material y equipos

La lista del material utilizado para la determinación de partículas PM2.5, PAHs y 1-OHP se encuentran en el Anexo 1.

2.2 Muestreo de partículas PM2.5

2.2.1 Cronograma de muestreo.

El muestreo de partículas se realizó cada 6 días a partir del 1 de Noviembre de 2011 hasta el 26 de Diciembre de 2012. Se utilizó en cada sitio un muestreador de alto volumen TE-6001 (TISH[®] Environmental) con separador para partículas PM2.5 (Figura 6a). En situaciones de lluvia o humedades relativas mayores al 80 %, se cambió el día de muestreo por el siguiente día y así sucesivamente hasta 3 días consecutivos. En casos donde se pasó el límite de 3 días, fue suspendido el muestreo y se procedió a continuar con la siguiente fecha del cronograma. Se registraron las condiciones meteorológicas de temperatura, humedad, dirección y velocidad del viento de las estaciones suroeste (SO) y Centro (CE) de SIMA.

2.2.2 Área de estudio

Para la selección del sitio de muestreo se tomó en cuenta las zonas del AMM previamente muestreadas en un estudio realizado en el Departamento de Farmacología y Toxicología en el año 2007-2008.⁶⁹ Esto con la finalidad de comparar si los niveles de contaminación son similares o muestran diferencias significativas 3 años después.

Las áreas muestreadas las denominaremos como zona 1 y zona 2.

Zona 1. El equipo Hi-Vol se colocó en el edificio de cardiología de la Facultad de Medicina de la UANL ubicado en el cruce de las avenidas Francisco I. Madero y José Eleuterio González del municipio de Monterrey, que corresponde a la zona Centro (CE) del AMM de acuerdo al SIMA. Representa una zona con alto tráfico vehicular, que registra en promedio, un aforo diario de 140 mil automóviles.⁷⁰

Las coordenadas geográficas de ubicación del equipo son: 29°41'29" latitud norte y 100°21'0" Longitud Oeste, a una altura aproximada de 556 msnm (metros sobre el nivel del mar).

Zona 2. El equipo se instaló en la estación de monitoreo suroeste (SO) del SIMA, en el centro del municipio de Santa Catarina, ubicado al Suroeste del AMM. Esta zona representa una zona con potencial exposición industrial, (está localizada a favor del viento de la mayoría de las fuentes industriales de Monterrey, San Pedro Garza García y Santa Catarina) además de alto tráfico

vehicular. Tiene un historial de elevados niveles de contaminación con respecto a las demás estaciones según datos del SIMA.

Las coordenadas geográficas de ubicación del equipo son: 25°40'30" latitud norte y 100°27'30" Longitud Oeste, a una altura aproximada de 678 msnm (metros sobre el nivel del mar).⁶⁸

En la figura 8a se muestra el mapa de la localización de los sitios de muestreo.

2.2.3 Preparación del equipo y material para la toma de muestras

- **Calibración del equipo Hi-Vol.** El muestreador de partículas PM2.5 se calibró al inicio del periodo de muestreo. Este proceso se realizó cada vez que se le daba mantenimiento al motor o en su defecto cada 700 horas de uso. En promedio el equipo trabajo con un flujo de aire de 1.16-1.29 m³/min. En el anexo 2 se detallan los pasos en la calibración del equipo.

-**Preparación de filtro.** Para el muestreo se utilizaron filtros de fibra de vidrio GF/A Watman (No. Cat. 1820-9932), de 21.59 x 27.94 cm. Los filtros utilizados fueron pretratados, para ello se envolvieron individualmente en aluminio y horneados en una mufla a 500°C por 4 horas, esto con el objetivo de eliminar cualquier traza de compuestos orgánicos que pudieran interferir en el análisis cualitativo y cuantitativo de PAHs, posteriormente se guardaron en bolsas de plástico con cierre hermético hasta su acondicionamiento.

-Acondicionamiento del filtro. El filtro previamente horneado se identificó en 2 de las esquinas con un código interno. Los primeros 2 dígitos del código corresponden al año, el tercero a la zona muestreada y los últimos 2 dígitos representan la secuencia numérica en que fueron utilizados para el muestreo, por ejemplo, el código 11201 correspondió a la primera muestra tomada el año 2011 en la zona 2.

Una vez marcado el filtro se acondicionó por 24 horas a temperatura de 20 ± 5 °C y a $< 50\%$ de humedad relativa. Para mantener el filtro a estas condiciones se colocó en un desecador con sílica gel. Transcurrido el tiempo de acondicionamiento el filtro se pesó en una balanza analítica, se envolvió en aluminio y se guardó nuevamente en la bolsa plástica de cierre hermético y se transportó al sitio de muestreo.

-Obtención de la muestra. El filtro se colocó en el portafiltros y posteriormente en el muestreador de partículas PM_{2.5} Hi-Vol por 24 ± 1 horas (Figura 6b). Se registró la hora y la caída de presión con el manómetro (venturi) antes y después de transcurrido el tiempo de muestreo. Se retiró el filtro con cuidado del equipo, se dobló longitudinalmente, se envolvió nuevamente con el papel aluminio y se guardó en una bolsa plástica. Posteriormente se transportó al laboratorio bajo condiciones de refrigeración ($7-10$ °C).

Se rechazaron muestras en las que hubo bajas considerables de voltaje en el equipo o si el tiempo de muestreo fue menor a 23 horas.



A



b

Figura 6. a) Aspecto del muestreador de alto volumen TE-6001 (TISH® Environmental) colocado en la zona 2 (Santa Catarina), b) Posición del filtro en el equipo.

-Almacenamiento. El filtro con muestra se sometió nuevamente al acondicionamiento por 24 horas a las mismas condiciones de temperatura y humedad relativa previas al muestreo. Posteriormente se pesó y almacenó a $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ hasta su análisis para la determinación de PAHs.

2.3 Cálculo de PM_{2.5} en las muestras ambientales

Los niveles de partículas PM_{2.5} ($\mu\text{g}/\text{m}^3$) se calcularon con el volumen de aire muestreado y la diferencia de los pesos inicial y final de los filtros. El volumen de aire total muestreado (m^3) se calculó con los datos de temperatura ambiental, presión atmosférica y las caídas de presión inicial y

final del venturi (manómetro). En el anexo 3 se detallan los cálculos y ecuaciones utilizadas.

2.4 Estandarización del método analítico para cuantificación de 16 PAHs

-Reactivos. Se utilizaron 16 estándares marca AccusStandard de PAHs, los cuales son: naftaleno, acenafteno, fluoreno, fenantreno, antraceno, fluoranteno, pireno, benzo[a]antraceno, criseno, benzo[b]fluoranteno, benzo[k]fluoranteno, benzo[a]pireno, dibenzo[ah]antraceno, benzo[ghi]perileno, indeno[1,2,3-cd]pireno, dibenzo[ae]pireno. Agua bidestilada y Acetonitrilo grado HPLC.

-Equipo. El análisis de las muestras se realizó en un cromatógrafo de líquidos de alta resolución (HPLC) HP Agilent 1100 con automuestreador y bomba cuaternaria, acoplado a un detector de fluorescencia, columna Supelcosil PAHs de 0.4 X 250 mm de diámetro interno y 5 µm de espesor de película (Figura 7).



Figura 7. Aspecto del HPLC, HP Agilent 1100

-Condiciones de trabajo. El equipo se programó para detectar y cuantificar los 16 PAHs, cada uno de los cuales tiene tiempos de retención y fluorescencia particulares que permiten su identificación en el equipo. Para establecer el programa de longitudes de onda de excitación y emisión óptimas para el análisis de PAHs, primeramente se prepararon soluciones estándar de cada uno de los PAHs a concentraciones de 0.2 µg/ml. Posteriormente se corrieron cada uno de los estándares en el equipo tantas veces como fuera necesario. En cada corrida se registró el tiempo de retención y el área bajo la curva (ABC) de cada PAHs. Las longitudes de excitación y emisión se modificaron hasta obtener la señal más intensa correspondiente a un pico grande y una mayor ABC. Obtenidas las longitudes de onda óptimas se prepararon 3 mezclas de PAHs. La primer mezcla correspondió a los primeros 5 PAHs (naftaleno, acenafteno, fluoreno, fenantreno, antraceno), la segunda a los siguientes 5 PAHs (fluoranteno, pireno, benzo[a]antraceno, criseno, benzo[b]fluoranteno) y la tercera a los últimos 6 PAHs (benzo[k]fluoranteno, benzo[a]pireno, dibenzo[ah]antraceno, benzo[ghi]perileno, indeno[1,2,3-cd]pireno, dibenzo[ae]pireno). Cada una de las mezclas se corrió en el equipo y se ajustaron las longitudes de onda del detector según fuese necesario, también se ajustó el gradiente de elución agua:acetonitrilo, así como la temperatura de la columna. Por último se mezclaron todos los PAHs para obtener una mezcla final de 16 PAHs. Esta mezcla se inyectó varias veces en el cromatógrafo ajustando las condiciones

previas mencionadas hasta obtener las condiciones óptimas para el análisis final (tabla 3 y 4).

Tabla 3. Condiciones de operación finales del HPLC para el análisis de PAHs

Fase móvil	A agua B acetoniitrilo
Elución	Gradiente A-B 40-60 % minuto 0 A-B 40-60 % minuto 11 A-B 0-100 % minuto 12 A-B 0-100 % minuto 24 A-B 0-100 % minuto 25
Temperatura	27 °C
Flujo	1.5 mL/min
Volumen de inyección	20 µL
Tiempo de análisis	30 minutos

Tabla 4. Programa final de fluorescencia (longitudes de onda de excitación y emisión) utilizado para la determinación de PAHs.

Tiempo (min)	PAHs	Excitación (nm)	Emisión (nm)
0.0	Naftaleno	224	330
6.0	Acenafteno Fluoreno	224	323
9.5	Fenantreno	250	366
12.5	Antraceno	245	400

Continuación

Tiempo (min)	PAHs	Excitación (nm)	Emisión (nm)
13.7	Fluoranteno	235	449
14.4	Pireno	235	390
15.0	Benzo[a]antraceno Criseno	267	395
16.5	Benzo[b]fluoranteno	268	430
17.5	Benzo[k]fluoranteno Benzo[a]pireno Dibenzo[ah]antraceno Benzo[ghi]perileno	295	420
22.5	Indeno[1,2,3 cd]pireno	250	500
24	Dibenzo[ae]pireno	268	400

2.5 Validación del método analítico para la cuantificación de 16 PAHs

Previamente a la validación del método analítico se realizó la validación del sistema cromatográfico, el cual incluye solo la etapa de análisis instrumental. Posteriormente se validó el método analítico completo que incluye las etapas de preparación de muestras y análisis instrumental.

La validación del método analítico consiste en el establecimiento de una base de datos experimental que certifica que el método analítico se desempeña adecuadamente para cumplir los requerimientos de las aplicaciones pretendidas. Implica la demostración de la determinación de

fuentes de variabilidad y del error del sistema y al azar de un procedimiento, no solo dentro de la calibración sino en el análisis de las muestras reales.

Los parámetros utilizados para validar tanto el sistema cromatográfico como el método completo fueron: Linealidad, exactitud, precisión, límite de cuantificación y límite de detección.

Linealidad. Es la capacidad del método analítico (dentro de un rango dado) para obtener resultados de prueba que son directamente proporcionales a la concentración del analito en las muestras.

Exactitud. Es la cercanía entre el valor que es aceptado, sea como un valor convencional verdadero (material de referencia interno), sea como un valor de referencia aceptado (material de referencia certificado o estándar de una farmacopea) y el valor encontrado (valor promedio) obtenido al aplicar el procedimiento de análisis un cierto número de veces.

Precisión. Expresa el grado de concordancia (grado de dispersión) entre una serie de mediciones obtenidas de múltiples muestreos de una misma muestra homogénea bajo condiciones establecidas. Puede considerarse a tres niveles: repetibilidad, precisión intermedia y reproducibilidad.

Esto debe determinarse utilizando muestras originales y homogéneas. Sin embargo, si no es posible obtener una muestra homogénea puede ser determinada usando muestras preparadas o una disolución de la muestra.

La precisión de un método analítico se expresa como la varianza, desviación estándar o el coeficiente de variación de una serie de mediciones.

Repetibilidad. Es la precisión obtenida bajo las mismas condiciones de operación en un intervalo corto de tiempo (mismo día), por un mismo analista, con la misma muestra homogénea y en el mismo equipo.

Reproducibilidad. Expresa la precisión entre laboratorios como resultado de estudios diseñados para estandarizar la metodología.

Límite de cuantificación. Es la cantidad más pequeña del analito en una muestra que puede ser cuantitativamente determinada con precisión aceptable. Es un parámetro del análisis cuantitativo para niveles bajos de compuestos en matrices de muestras y se usa particularmente para impurezas y productos de degradación. Se expresa como concentración del analito.

Límite de detección. Cantidad más pequeña del analito en una muestra que puede ser detectada por una única medición, con un nivel de confianza determinado, pero no necesariamente cuantificada con un valor exacto.

2.5.1 Validación del sistema de medición

En esta etapa solo se evaluó el análisis de medición, para ello se tomaron los criterios de aceptación establecidos por US-EPA Method 8000B; Rev. 2, 1996.

Linealidad del sistema.

Para cada PAHs se prepararon soluciones estándar de calibración a 5 niveles de concentración (11.7-1515 ng/mL) por triplicado y se analizaron en

el equipo HPLC/FLU. Con la respuesta obtenida se elaboró la gráfica de calibración correspondiente graficando la respuesta en función con la concentración. Se obtuvo la ecuación de la recta por medio del análisis de mínimos cuadrados, así como el coeficiente de correlación (r) utilizando el programa EXCEL®. El criterio de aceptación para el coeficiente de correlación fue de ≥ 0.995 . Se calcularon los factores de respuesta (FR) para cada uno de los puntos de la gráfica utilizando la siguiente ecuación:

$$FR = \frac{\text{Respuesta del detector o ABC}}{\text{Concentración del estándar en ng/mL}}$$

Se calculó el coeficiente de variación de los FR (%CV) para cada nivel de concentración y se promediaron los resultados de todos los puntos. El criterio de aceptación establecido fue de $\leq 20\%$.

Precisión del sistema.

Con los estándares previamente preparados a 5 niveles de concentración analizados por triplicado, se calculó el promedio y el coeficiente de variación para cada nivel de concentración. La desviación estándar relativa (%DER), conocida también como coeficiente de variación (%CV), se calculó de la siguiente forma:

$$\% DER = \frac{(DE * 100)}{\text{Promedio}}$$

Dónde: DE = desviación estándar

El criterio de aceptación utilizado en cada uno de los niveles de concentración y como promedio general fue $\%CV \leq 15\%$.

Exactitud del sistema.

Se determinó el error residual al aplicar la ecuación de la gráfica a cada una de las respuestas obtenidas (ABC) durante la misma calibración y se calculó el %Error. El error máximo permitido a cada nivel de concentración se estableció en $\leq 15\%$, excepto para el nivel más bajo, para el cual se aceptan valores de %Error también para el promedio de los 5 niveles de concentración.

Límite de cuantificación (LC)

Se estableció como límite de cuantificación la concentración menor del intervalo de calibración de cada PAHs que cumplió con el criterio de precisión de $\%CV \leq 20\%$.

Límite de detección (LD)

Se estableció para cada PAHs como límite de detección un tercio del límite de cuantificación ($LD = LC/3$)

2.5.2 Validación del método analítico

En esta fase de la validación se evaluaron las etapas de preparación de la muestra y de análisis instrumental. Como criterios de aceptación se establecieron los descritos por el método USA-EPA Method TO-13^a.

Preparación de la muestra estándar

Se tomó una tira 1 x 8 pulgadas de un filtro sin muestra, para ello se utilizó un molde de la misma medida y un exacto para cortar. La tira del filtro se fortificó adicionando una mezcla de 16 PAHs con concertación conocida. Posteriormente se colocó dentro de un frasco color ámbar y se le agregó 30 mL del solvente de extracción diclorometano/acetonitrilo (2:1), se agitó en ultrasonido por 30 minutos (en intervalos de 10 para evitar sobrecalentamiento del equipo). Se retiró el filtro del frasco, y la solución de extracción que originalmente era de 30 mL se redujo su volumen hasta 2-3 mL usando corriente de nitrógeno y baño de agua a 45°C. El volumen residual se midió exactamente con micropipeta de 0.1-1.0 mL. Posteriormente se filtró el residuo utilizando filtros con poro de 0.45 µm (Millipore). De este filtrado se tomó 1 mL y se transfirió a un vial ámbar de 1.5 ml con tapa de Silicón y septa de PTFE y se redujo el volumen hasta 200-300 µL utilizando solamente corriente de nitrógeno.

Linealidad del método.

Se procesaron filtros fortificados a 5 niveles de concentración por triplicado. Los niveles procesados estaban entre 77.4-1254 ng/mL. Se determinaron los factores de respuesta, coeficiente de variación y coeficiente de correlación de la misma manera como se hizo en la validación del sistema.

Precisión y exactitud a condiciones de repetibilidad.

Se analizaron el mismo día filtros fortificados a 3 niveles de concentración por quintuplicado. Los niveles procesados estaban entre 100-1029 ng/mL. Estas concentraciones fueron diferentes a los utilizados en la evaluación de la linealidad. Se calculó la precisión de la misma manera que en la validación del sistema y el porcentaje de error (%E) con la siguiente fórmula:

$$\% E = \frac{(CE - CO) * 100}{CE}$$

Dónde:

CE= concentración esperada

CO= concentración obtenida.

Los criterios de aceptación en cada nivel de concentración y como promedio de los 5 puntos de la gráfica, fueron $\%CV \leq 15$ para la precisión y el $\%E \leq 15$ para la exactitud.

Precisión y exactitud a condiciones de reproducibilidad.

Se analizaron en 3 días diferentes filtros fortificados a 3 niveles de concentración por duplicado. Los niveles procesados estaban entre 77.4-1254 ng/mL. Los niveles utilizados fueron diferentes a los que se utilizaron en la evaluación de la linealidad. Se calculó la exactitud y la precisión de la misma manera que en las condiciones de repetibilidad, y se utilizaron los mismos criterios de aceptación.

Exactitud como porcentaje de recuperación (%R)

Se fortificaron filtros a 5 niveles de concentración por triplicado y se sometieron a todo el proceso de extracción. Los niveles procesados estaban entre 77.4-1254 ng/mL. Se analizaron estándares de los mismos niveles de concentración sin someterlos al proceso de extracción y se determinó el porcentaje de recuperación por comparación de las áreas obtenidas. Para ello se utilizó la siguiente fórmula:

$$\% R = \frac{AO * 100}{AE}$$

Dónde:

AO= área obtenida y AE = área esperada.

Criterio de aceptación: %R= 100±20% (NOM-177-SSA1-1998)

Límite de cuantificación y límite de detección.

Se evaluaron del mismo modo que se hizo en la validación del sistema cromatográfico.

2.6 Determinación cuantitativa de los niveles de 16 PAHs en las muestras de partículas PM2.5 obtenidas

Procedimiento de extracción de PAHs de las PM2.5

Se tomó del centro de cada filtro con muestras de partículas PM2.5, una tira de 1 x 8 pulgadas, para ello se utilizó un molde de la misma medida y un exacto para cortar el filtro (para evitar contaminación cruzada, el cortador se limpió con metanol después de cada corte). Se seleccionó para el análisis el centro del filtro para evitar el efecto de las orillas, es decir, la distribución no uniforme de las partículas. La tira se colocó dentro de un frasco color ámbar y se le agregó 30 mL de solvente de extracción diclorometano/acetonitrilo (2:1), se agitó en ultrasonido por 30 minutos (en intervalos de 10 para evitar sobrecalentamiento del equipo) para solubilizar los PAHs presentes en las partículas PM2.5. Se retiró el filtro del frasco, y la solución de extracción que originalmente era de 30 mL se redujo su volumen hasta 2-3 mL usando corriente de nitrógeno y baño de agua a 45 °C. El volumen residual se midió exactamente con micropipeta de 0.1-1.0 mL. Posteriormente se filtró el residuo utilizando filtros Millipore de 0.45 μm de tamaño de poro. De este filtrado se tomó 1 mL y se transfirió a un vial ámbar de 1.5 mL y se redujo el volumen hasta 200-300 μL utilizando solamente corriente de nitrógeno. Se colocó el vial en el equipo y se inyectaron 20 μL de la muestra para su análisis.

Análisis de muestras

Para el análisis cualitativo y cuantitativo de PAHs, se aplicó el método previamente validado a las muestras obtenidas durante el periodo de muestreo. La identificación se realizó comparando el tiempo de retención de la muestra con el del estándar correspondiente y la respuesta de fluorescencia específica. El análisis cuantitativo se realizó integrando las ABC de la respuesta de cada PAHs y aplicando la ecuación de regresión obtenida durante la validación para cada analito. El equipo se programó para que al final del análisis de cada muestra se realizara un lavado de la columna por 5 minutos. También por cada 6 muestras se procesó un blanco y un solución estándar con los 16 PAHs, esto para poder identificar con facilidad los PAHs validados.

2.6.1 Determinación del riesgo por exposición a PAHs.

El riesgo potencial de los PAHs es determinado en términos del benzo[a]pireno, el cual es un indicador de carcinogenicidad. Para determinar el riesgo de exposición, cada PAHs se convirtió al equivalente de benzo[a]pireno multiplicando la concentración obtenida por un factor de equivalencia tóxica (TEF) reportado en la literatura para cada uno de los PAHs. La suma de todos los valores de los PAHs convertidos se reporta como equivalentes de B[a]P [BAPEq]. Debido a que en la legislación mexicana no hay un límite establecido para exposición a benzo[a]pireno, en el presente trabajo se tomaron como valores de referencia los recomendados por la legislación de Arizona, EUA (0.5 ng/m^3), Inglaterra

(0.25 ng/m³) y la Comunidad Europea (1.0 ng/m³) que periódicamente monitorean los niveles de PAHs en partículas ambientales. En la tabla 5 se muestran los factores de equivalencia tóxica de cada PAHs para convertirlos en BAPEq.

Tabla 5. Factores de equivalencia tóxica (TEF's) para PAHs. (44)

PAHs	TEF's	PAHs	TEF's
Dibenzo(a,h)Antraceno	5	Antraceno	0.01
Benzo(a)pireno	1	Fluoranteno	0.001
Dibenzo(ae)pireno	1	Pireno	0.001
Indeno(1,2,3 cd)Pireno	0.1	Acenafteno	0.001
Benzo(b)Fluoranteno	0.1	Acenaftileno	0.001
Benzo(k)Fluoranteno	0.1	Fluoreno	0.001
Benzo(a)Antraceno	0.1	Naftaleno	0.001
Benzo(ghi)Perileno	0.01	Fenantreno	0.001
Criseno	0.01		

2.6.2 Estimación de las fuentes de emisión de PAHs

Para estimar la probable contribución de las fuentes de PAHs en el AMM se utilizaron radios diagnóstico previamente reportados. En la tabla 6 se muestra los valores de radios diagnósticos para estimar la contribución de fuentes como son: emisiones de vehículos e industriales, quema de madera y carbón, etc.

Tabla 6. Relación diagnóstica para emisiones de PAHs (38)

Radio	Vehículos Gasolina	Vehículos Diesel	Madera	Carbón mineral	Industria
B[ghi]P/B[a]P	2.5-3.3	1.2-2.2			
B[a]P/B[ghi]P	0.30-0.44			0.90-6.6	
(B[b]F+B[k]F)/ B[ghi]F			2.18		7.10-11.20
B[a]A/(B[a]A+Cri)	0.76	0.73	0.43	0.50-0.55	
B[a]P/(B[a]P+Cri)	0.73	0.49			

Análisis de resultados.

Los datos obtenidos se analizaron con el paquete SSPS. Se obtuvo la estadística descriptiva de los niveles de PM2.5 y PAHs. Se utilizó un diseño de bloques al azar, tomando como bloque cada de las mediciones para buscar diferencia estadísticamente significativa en cuanto a los niveles de PM2.5 y PAHs en las muestras.

2.7 Biomonitorio de 1-OHP urinario

Para la realización del presente trabajo, que comprende la participación por parte de la población en las áreas de estudio, el protocolo de investigación se sometió al Comité de Ética de la Facultad de Medicina de la Universidad Autónoma de Nuevo León y Hospital Universitario “Dr. José Eleuterio González”, el cual fue aprobado y quedó registrado con la clave FA11-002.

2.7.1 Población en estudio

Se seleccionó la población que habitará (mínimo 5 años) o trabajara (como mínimo 8 horas) en un radio de 1 km de distancia de donde se colocó el muestreador de PM_{2.5}, en ambas zonas (Figura 8b). Las personas que participaron en el estudio tenían entre 20-60 años de edad y eran no fumadoras. Se les explicó en lo que consistía el proyecto y firmaron una carta de consentimiento informado donde se comprometían a participar en el estudio (Anexo 4).

2.7.2 Cronograma de muestreo biológico

Se colectaron las muestras de orina de la población que decidió entrar al estudio en ambas zonas de muestreo. Las muestras se colectaron en los meses de noviembre-diciembre de 2011 y enero-febrero de 2012. Se tomó una muestra por mes (por individuo), en los últimos tres días de cada mes (ejemplo: 28, 29 y 30 de noviembre de 2012, siendo estos días de lunes a viernes). Se decidió acudir 3 días a recolectar las muestras, esto para tener

el mayor número de muestras en caso que a algún participante hubiese olvidado coleccionar la orina.

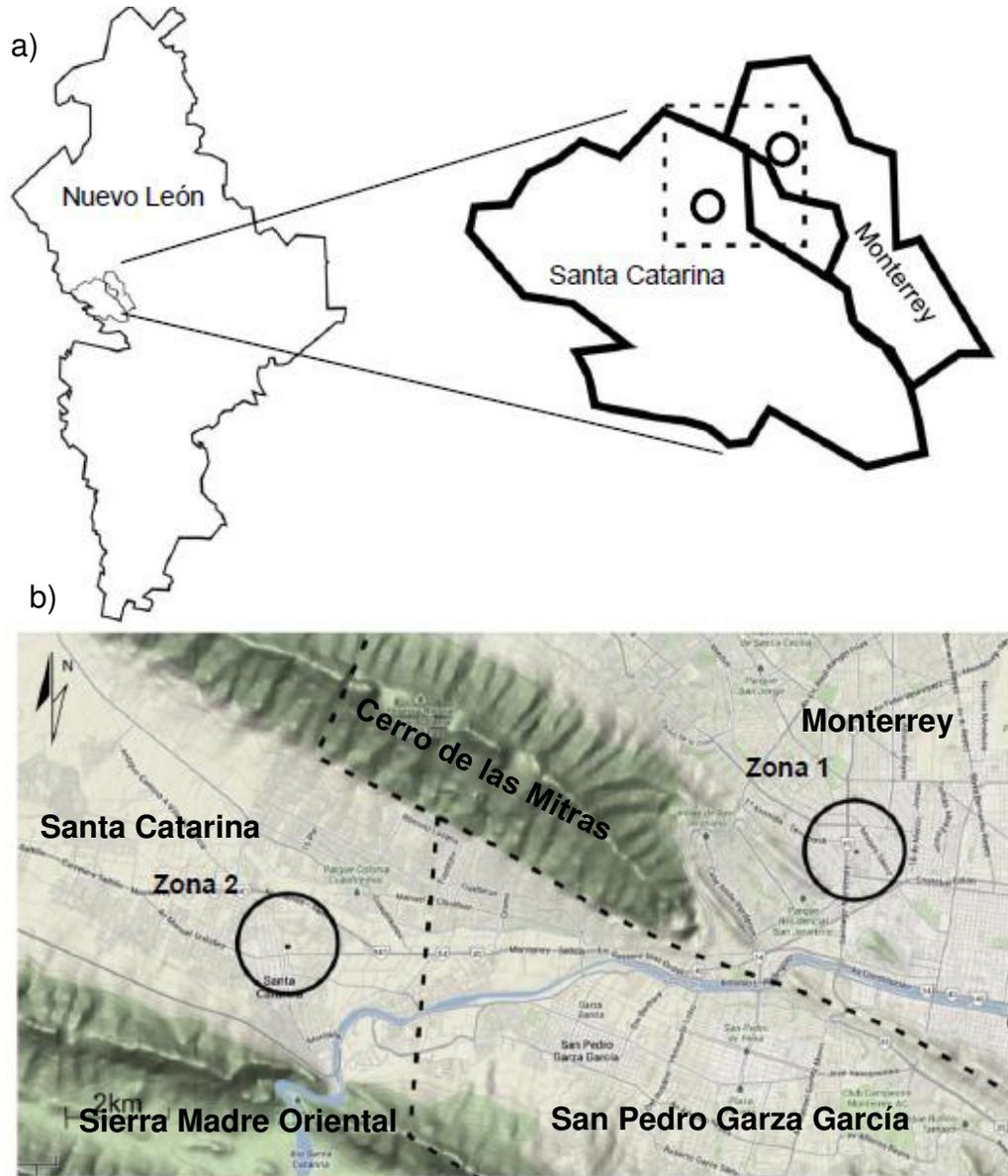


Figura 8. a) Ubicación de los municipios de Monterrey y Santa Catarina dentro del estado de Nuevo León, municipios donde se ubicaron los muestreadores de PM_{2.5}. b) Área de la población en estudio para la determinación de 1-OHP en orina.

2.7.3 Condiciones de transporte y almacenamiento de muestras de orina

Para la recolecta de las muestras de orina se le proporcionó a la población participante, frascos de polietileno de 100 mL. Se excluyeron muestras que tuvieran un volumen menor a 10 mL de orina. Las muestras fueron transportadas bajo condiciones de refrigeración (7-10 °C). Posteriormente fueron filtradas (a través de filtros Millipore de 0.45 µm) para su posterior almacenamiento a -20 °C hasta su análisis.

2.8 Estandarización del método analítico para cuantificación de 1-OHP

-Reactivos. 1-OHP marca AccusStandard (Nº CAS 5315-79-7). Agua bidestilada y Acetonitrilo grado HPLC

-Equipo. El análisis de las muestras se realizó en un cromatógrafo de líquidos de alta resolución (HPLC) HP Agilent 1100 con automuestreador y bomba cuaternaria, acoplado a un detector de fluorescencia, columna Supelcosil PAHs de 0.4 X 250 mm de diámetro interno y 5 µm de espesor de película.

-Condiciones de trabajo. El equipo se programó para detectar y cuantificar el 1-OHP, para ello se realizaron varias pruebas previas inyectando el estándar a una concentración de 240 nmol/L para verificar su tiempo de retención en la columna. El análisis se realizó conforme lo establecido en el método MTA/MB-023/A99, titulado "Determinación de 1-Hidroxipireno en orina. Método de hidrólisis enzimática y detección fluorimétrica /

Cromatografía líquida de alta resolución", el cual es un método aceptado por el Instituto Nacional de Seguridad e Higiene en el Trabajo (INSHT) de España. En la tabla 7 se muestran las condiciones del HPLC utilizadas para la determinación de 1-OHP.⁷²

Tabla 7. Condiciones de operación finales del HPLC para el análisis de 1-OHP urinario.

Fase móvil	A agua B acetonitrilo
Elución	Gradiente A-B 40-60 % minuto 0 A-B 40-60 % minuto 7.5 A-B 5-95 % minuto 10 A-B 5-95 % minuto 12.5 A-B 40-60 % minuto 14
Longitud de onda	Excitación 242 nm Emisión 388 nm
Temperatura	30° C
Flujo	1.5 ml/min
Volumen de inyección	20 µL
Tiempo de análisis	15 minutos

2.9 Validación del método analítico para la cuantificación de 1-OHP

Para la determinación de 1-OHP solo se realizó la validación del método analítico. El método utilizado es un método aceptado por el Instituto Nacional de Seguridad e Higiene en el Trabajo (INSHT). Se entiende por método aceptado, un método utilizado en el INSHT y que ha sido sometido a

un protocolo de validación por organizaciones oficiales competentes en el área de la normalización de métodos analíticos.⁷²

2.9.2 Validación del método analítico

En esta fase de la validación se evaluaron las etapas de preparación de la muestra y de análisis instrumental. Como criterios de aceptación se establecieron los descritos por la NOM-177-SSA1-1998. Los parámetros utilizados para validar el método fueron: linealidad, exactitud, precisión, límite de cuantificación y límite de detección.

Preparación de la muestra estándar de 1-OHP

Se prepararon alícuotas de 10 ml de orina cada una, a las cuales se les agregó una concentración de 1-OHP conocida. Posteriormente pasaron por un proceso de limpieza mediante extracción sólido-líquida (para obtener el 1-OHP agregado en la orina), para lo cual se utilizaron columnas Octadecil C18 SPE con un volumen de 6 mL y 500 mg de adsorbente (marca Resprep). La retención del analito se lleva a cabo de acuerdo a las características de polaridad del mismo y del adsorbente presente en las columnas.

Para realizar la extracción de 1-OHP de las muestras de orina, primero se activaron las columnas Octadecil C18 SPE con un volumen de 5 mL acetonitrilo. Para el acondicionamiento se utilizó un volumen de 10 mL de agua bidestilada. Posteriormente se pasó la muestra de orina y se utilizó

para el lavado un volumen de 10 mL de agua bidestilada:acetonitrilo (9:1). Para la elusión del analito se utilizó un volumen de 5 mL de acetonitrilo, el cual fue recuperado en tubos de ensayo. Los 5 mL de acetonitrilo fueron incorporados a un matraz bola de 250 mL, el disolvente se eliminó en el rotavapor y baño de agua a 50°C, hasta llevarse a sequedad. El residuo se reconstituyó en 1 mL de acetonitrilo, la disolución que se obtuvo fue filtrada con filtros Millipore de 0.45 μm de tamaño de poro. El filtrado se colocó en el equipo para determinar la concentración de 1-OHP.

Linealidad del método.

Se procesaron filtros fortificados a 10 niveles de concentración (0.161, 0.268, 0.536, 1.072, 1.608, 2.144, 3.216, 5.36, 10.72, 13.4 ng/mL) por triplicado. Se determinaron los factores de respuesta, coeficiente de variación y coeficiente de correlación.

Precisión y exactitud a condiciones de repetibilidad.

Se analizaron el mismo día muestras de orina fortificadas a 3 niveles de concentración por triplicado. Los niveles procesados fueron 0.42, 1.876, 8.04 ng/mL. Estas concentraciones fueron diferentes a los utilizados en la evaluación de la linealidad. Se calculó la precisión y el porcentaje de error (%E). Los criterios de aceptación en cada nivel de concentración y como promedio de los 3 puntos de la gráfica, fueron $\%CV \leq 15$ para la precisión y el $\%E \leq 15$ para la exactitud.

Precisión y exactitud a condiciones de reproducibilidad.

Se analizaron en 3 días diferentes los 10 niveles de concentración utilizados para la validación de la linealidad del método. Se calculó la precisión y el porcentaje de error (%E). Los criterios de aceptación fueron los mismos a los utilizados en condiciones de repetibilidad.

Exactitud como porcentaje de recuperación (%R)

Se fortificaron muestras de orina a 3 niveles de concentración por triplicado y se sometieron a todo el proceso (extracción sólido-líquido y de evaporación del disolvente y reconstitución en acetonitrilo, pag. 60). Los niveles procesados fueron 78.4, 313.5 y 1254 ng/mL. Se analizaron estándares de los mismos niveles de concentración sin someterlos al proceso de extracción y se determinó el porcentaje de recuperación por comparación de las áreas obtenidas (la fórmula para el cálculo del porcentaje de recuperación está en la pag. 51). El criterio de aceptación para el %R fue de $100 \pm 20\%$ (NOM-177-SSA1-1998).

Límite de cuantificación (LC)

Se estableció como límite de cuantificación la concentración menor del intervalo de calibración para el 1-OHP que cumplió con el criterio de precisión de $CV \leq 20\%$.

Límite de detección (LD)

El límite de detección del 1-OHP se calculó a partir de la ecuación de la recta según el criterio de Miller, *et al.*

$$LD= 3.3 (DEr)/ P$$

Dónde:

DEr= desviación estándar de la respuesta

P= pendiente de la recta

2.10 Determinación cuantitativa de los niveles de excreción de 1-OHP

Procedimiento de extracción de 1-OHP de las muestras de orina.

Las muestras de orina se descongelaron a temperatura ambiente, y se tomaron alícuotas de 10 mL de cada una, se les añadió 50 μ L de la enzima β -glucuronidasa/arilsulfatasa (*Helix pomatia* tipo HP-2/ 98000U/ mL, SIGMA) y posteriormente para la activación de ésta, se adicionó un volumen de 10 mL de solución amortiguadora de ácido acético de 0.2 M a pH=5.0. Las muestras se introdujeron en una baño de agitación orbital a 70 rpm (rotaciones por minuto) y 37°C por 18 horas. Posteriormente se procedió a realizar la preparación de la muestra cómo se mencionó en la página 60 del presente trabajo, sin necesidad de adicionar concentraciones del estándar 1-OHP.

Análisis de muestras

Para el análisis cualitativo y cuantitativo de 1-OHP, se aplicó el método previamente validado a las muestras obtenidas durante el periodo de muestreo. La identificación del analito se realizó comparando el tiempo de retención de la muestra con el del estándar correspondiente. El análisis cuantitativo se realizó integrando las ABC de la respuesta del 1-OHP y aplicando la ecuación de regresión obtenida durante la validación del método. Durante el análisis cada 10 muestras se procesó un blanco y un solución estándar con 1-OHP, esto para poder identificar con facilidad el pico del 1-OHP.

Los resultados de hidroxipireno urinario individuales fueron ajustados con la excreción de creatinina, por lo que los resultados se reportan en μmol 1-OHP/mol de creatinina (Cr)

Análisis de resultados.

Los datos obtenidos se analizaron con el paquete SSPS. Se obtuvo la estadística descriptiva de los niveles de excreción del 1-OHP para ambas zonas. Se utilizó un diseño de bloques al azar, tomando como bloque cada una las mediciones obtenidas por mes para buscar diferencia estadísticamente significativa entre ambas zonas y los meses muestreados.

2.11 Correlación entre las variables

Se realizó mediante el Coeficiente de Correlación de Pearson. Se realizaron las correlaciones entre estas variables: partículas PM2.5, PAHs totales, BAPEq y los niveles de excreción del 1-OHP.

CAPÍTULO III

3. Resultados

3.1 Obtención de muestras de partículas PM2.5

En el periodo de muestreo comprendido entre el 1 de Noviembre de 2011 al 26 de Diciembre de 2012 (14 meses), se obtuvieron un total de 102 muestras (51 muestras por zona).

3.2 Niveles de concentración de partículas PM2.5 en las muestras obtenidas

Se obtuvieron los promedios de las partículas PM2.5 en el periodo de muestreo para ambas zonas. En la zona 1 (Monterrey) se calcularon niveles de partículas en un rango de 7.5-76 $\mu\text{g}/\text{m}^3$, con un promedio de 33.8 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ (\pm DE= 18.1) y en la zona 2 (Santa Catarina) de 9.6-98.8 $\mu\text{g}/\text{m}^3$, con un promedio de 24.8 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ (\pm DE=13.8). La diferencia en el promedio obtenido en ambas zonas fue de 9 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ (tabla 8), y se observó una diferencia estadísticamente significativa ($p=0.003$), siendo la zona 1 (Monterrey) la que presentó los niveles de partículas PM2.5 más altos. En la figura 9 se aprecia

mejor esta diferencia entre los promedio de partículas PM2.5 obtenidos por zona.

Tabla 8. Estadística descriptiva de los niveles de concentración de partículas PM2.5 ($\mu\text{g}/\text{m}^3$) obtenidas por zona, durante el periodo de muestreo.

	N	Mínimo	Máximo	Media	DE
Zona 1	51	7.5	76	33.8	18.1
Zona 2	51	9.6	98.8	24.8	13.8

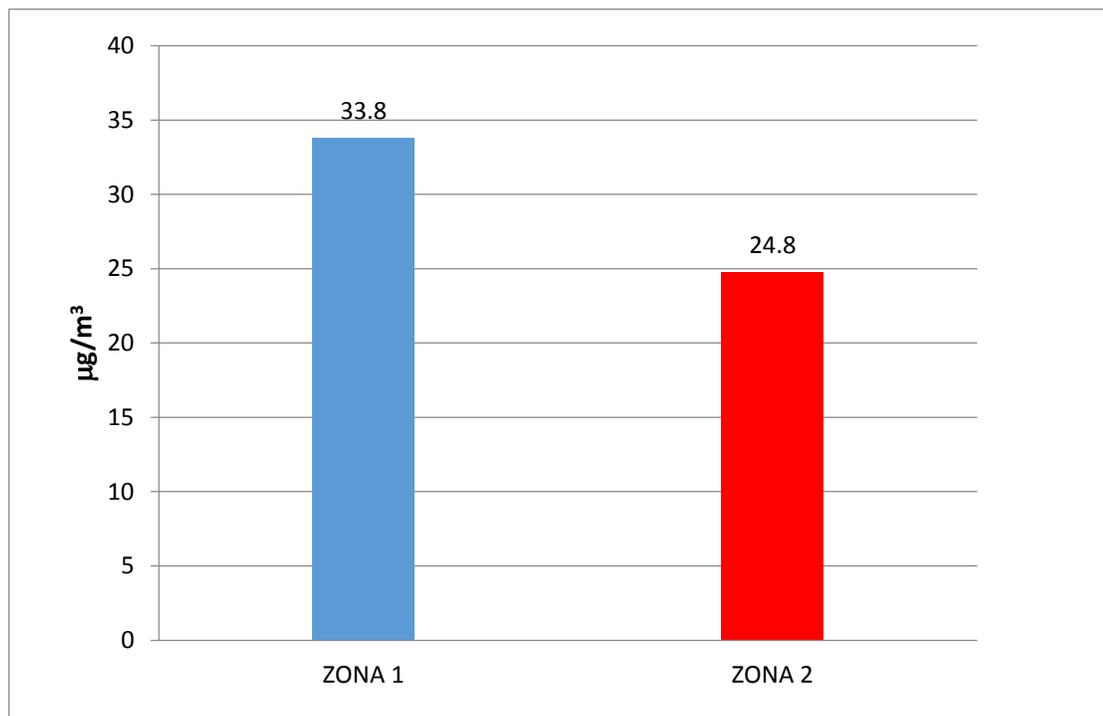


Figura 9. Concentraciones promedio de partículas PM2.5 durante el periodo de muestreo para ambas zonas.

En las figuras 10 y 11 se puede ver el comportamiento temporal de las concentraciones de partículas PM2.5 por fecha de muestreo, así como los promedios mensuales de las mismas, respectivamente.

Durante el periodo de muestreo se registraron 4 días en los que se rebasó el límite máximo diario en las concentraciones de partículas PM2.5 permitido por la NORMA OFICIAL MEXICANA NOM-025-SSA1-1993, el cual es de $65 \mu\text{g}/\text{m}^3$. Tres de éstos días se registraron en la zona 1 (Monterrey), en los meses de febrero, noviembre y diciembre de 2012. En la zona 2 solo se registró un día en el mes de enero de 2012 (figura 10).

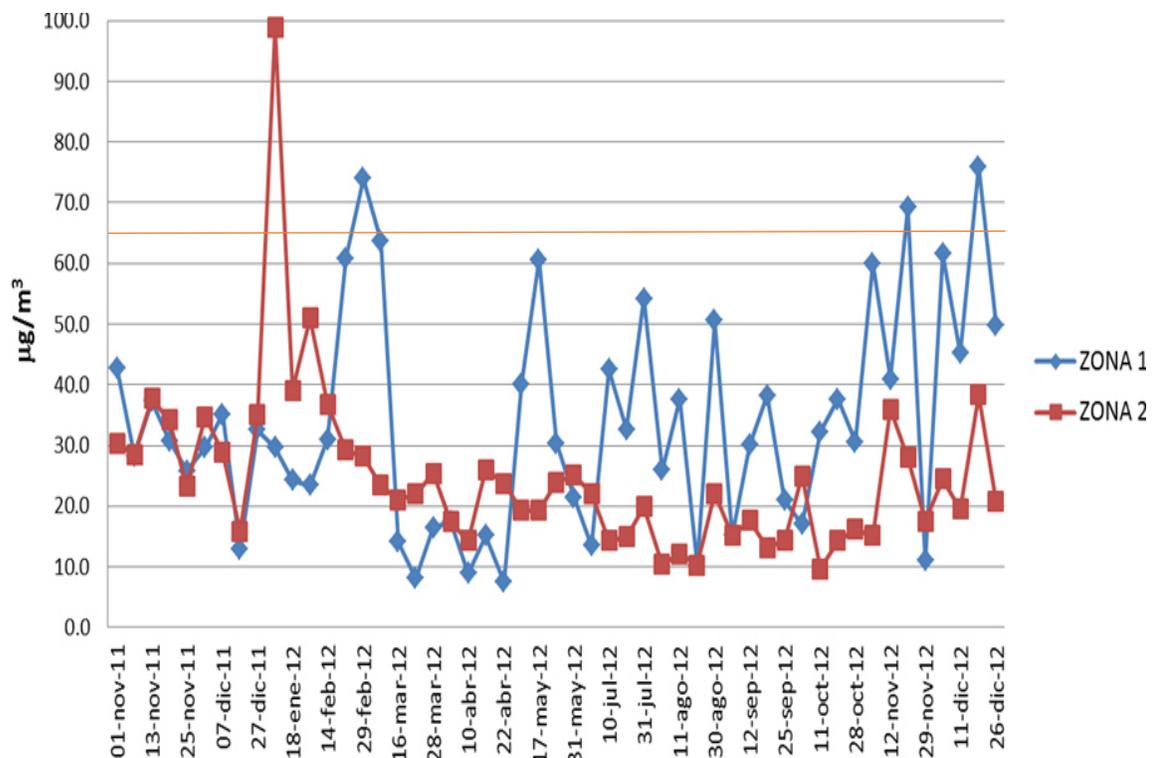


Figura 10. Concentración de partículas PM2.5 por fecha de muestreo. (En el anexo 6 se muestra la tabla de datos de la gráfica).

En la figura 9 puede observarse que en promedio mensual, el mes de enero del 2012 es el que presentó los niveles más altos de partículas PM2.5 en la zona 2, sin embargo no mostró diferencia estadística significativa con la concentración de partículas PM2.5 obtenidas en el mes de enero de 2012 de

la zona 1 ($p= 0.18$). En la zona 1, las más altas concentraciones se presentaron en los meses de diciembre del 2011 y febrero del 2012.

En el mes de diciembre del 2012, la zona 1 presentó los niveles de partículas PM2.5 más altas que la zona 2, apreciando una diferencia estadística significativa ($p=0.007$). Fue el único mes (diciembre-2012) en el que se apreció diferencia significativa entre ambas zonas.

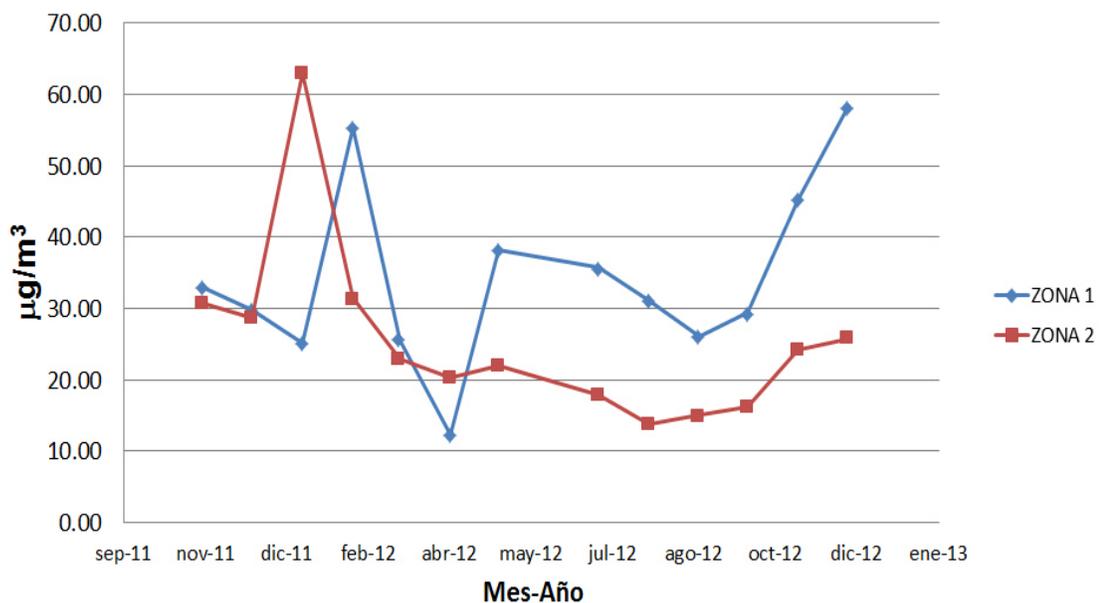


Figura 11. Concentraciones promedio mensuales de partículas PM2.5 en ambas zonas

Con el propósito de comparar los resultados obtenidos con lo establecido en la NORMA OFICIAL MEXICANA NOM-025-SSA1-1993 respecto al promedio anual de partículas PM2.5 (límite máximo permitido= $15 \mu\text{g}/\text{m}^3$), se determinó el promedio anual (enero-diciembre 2012) para ambas zonas. Los resultados obtenidos fueron: 34.5 y $23.7 \mu\text{g}/\text{m}^3$ para la

zona 1 y zona 2, respectivamente. En ambas zonas se violó la norma establecida. En promedio anual, los niveles de concentración más altos de partículas PM2.5, se observaron en la zona 1 (Monterrey) en comparación con la zona 2 (Santa Catarina), con una diferencia estadística significativa ($p=0.005$) (tabla 9).

Tabla 9. Estadística descriptiva de los niveles de concentración de partículas PM2.5 ($\mu\text{g}/\text{m}^3$) anual (enero-diciembre 12) obtenidas por zona de muestreo.

	N	Mínimo	Máximo	Media	DE
Zona 1	42	7.5	76	34.5	19.6
Zona 2	42	9.6	98.8	23.7	14.7

3.2.1 Correlación de los niveles de partículas PM2.5 con las variables meteorológicas.

Los resultados de las concentraciones de partículas PM2.5 se correlacionaron con las variables meteorológicas de temperatura, humedad relativa, velocidad del viento y dirección del viento (tabla 10). En la zona 1 hubo una correlación positiva con la humedad relativa (al aumentar la humedad la concentración de partículas PM2.5 también aumenta) y una correlación negativa con la velocidad del viento (al aumentar la velocidad del viento la concentración de partículas PM2.5 disminuía). Sin embargo el valor del coeficiente de correlación, demuestra que si hay una correlación, pero esta es débil. En la zona 2 solo hubo correlación negativa con la velocidad del viento. El resto de las variables meteorológicas no mostró correlación.

Los resultados indicaron que la variable que más influyó en los niveles de contaminación por partículas PM2.5 fue la velocidad del viento.

Tabla 10. Correlación de las partículas PM2.5 con las variables meteorológicas.

ZONA 1	Temperatura	Humedad	Viento	
			Velocidad	Dirección
Correlación Pearson	-0.025	0.418	-0.397	0.145
Sig (2 colas)	0.723	0.000	0.009	0.235
N	51	51	51	51
ZONA 2	Temperatura	Humedad	Viento	
			Velocidad	Dirección
Correlación Pearson	-0.105	0.112	-0.498	0.208
	0.373	0.298	0.001	0.135
N	51	51	51	51

3.3 Validación del método analítico para cuantificación de 16 PAHs

3.3.1 Validación del sistema de medición

Linealidad. Los resultados obtenidos en la evaluación de la linealidad cumplieron con los criterios de aceptación del Method 8000b US-EPA.

Tabla 11. Resultados de la evaluación de la linealidad del sistema de medición (Coeficiente de correlación, factor de respuesta y %CV) obtenidos para cada uno de los 16 PAHs.

PAHs	Intervalo de calibración (ng/mL)	FR	%CV de FR	Coeficiente de correlación
Naftaleno	93.8-1500	1.7	1.9	0.999
Acenafteno	11.9-1520	5.8	1.2	0.999
Fluoreno	23.5-1500	1.8	2.9	0.999
Fenantreno	23.5-1500	3.2	1.1	0.999
Antraceno	23.5-1500	8.5	1.1	0.999
Fluoranteno	23.7-1515	1.4	2	0.999
Pireno	11.7-1500	2.4	20	0.999
Benzo[a]antraceno	11.7-1500	2.5	1.9	0.999
Criseno,	11.8-1505	3.1	2.9	0.999
Benzo[b]fluoranteno,	23.4-1500	1.7	1.0	0.999
Benzo[k]fluoranteno	11.7-1492	6.5	0.8	0.999
Benzo[a]pireno	11.7-1500	4.4	1.3	0.999
Dibenzo[ah]antraceno	23.7-1518	2.8	2.3	0.999
Benzo[ghi]perileno	46.7-1493	1.1	5.1	0.999
Indeno[1,2,3-cd]pireno	46.9-1500	0.5	4.1	0.999
Dibenzo[ae]pireno	46.9-1500	0.9	4.4	0.999

Criterios de Aceptación: %CV \leq 20; Coeficiente de correlación \geq 0.995.
FR (factor de respuesta)

Precisión y exactitud. En la tabla 12 se muestra en resumen los resultados de la evaluación de la precisión y exactitud instrumental. Los resultados cumplieron con los criterios de aceptación.

Tabla 12. Resultados de la evaluación de precisión y exactitud instrumental (%CV y %E) obtenidos para cada uno de los 16 PAHs.

PAHs	Intervalo de calibración (ng/mL)	%CV	%E promedio
Naftaleno	93.8-1500	3.5	2.1
Acenafteno	11.9-1520	2.4	1.6
Fluoreno	23.5-1500	2.2	6.5
Fenantreno	23.5-1500	2.2	0.2
Antraceno	23.5-1500	2.3	4.5
Fluoranteno	23.7-1515	1.7	0.5
Pireno	11.7-1500	5.2	2.2
Benzo[a]antraceno	11.7-1500	2.3	2.1
Criseno,	11.8-1505	2.4	3.9
Benzo[b]fluoranteno,	23.4-1500	1.5	1.7
Benzo[k]fluoranteno	11.7-1492	1.9	4.6
Benzo[a]pireno	11.7-1500	2.4	4.4
Dibenzo[ah]antraceno	23.7-1518	2.8	2.6
Benzo[ghi]perileno	46.7-1493	1.2	1.3
Indeno[1,2,3-cd]pireno	46.9-1500	3.6	2.5
Dibenzo[ae]pireno	46.9-1500	3.1	3.8

Criterios de Aceptación: %CV ≤ 15; %E ≤ 15
 %E (porcentaje de error)

Límite de detección y límite de cuantificación. Se estableció como límite de cuantificación la concentración menor del intervalo de calibración de cada PAHs que cumplió con el criterio de precisión de $\%CV \leq 20\%$, y como límite de detección un tercio del límite de cuantificación; $LD = LC/3$ (tabla 13)

Tabla 13. Límite de detección y de cuantificación del sistema de medición, obtenidos para cada uno de los 16 PAHs

PAHs	LC (ng/mL)	%CV del LC	LD
Naftaleno	93.8	2.0	31.3
Acenafteno	11.9	2.2	4.0
Fluoreno	23.5	2.6	7.8
Fenantreno	23.5	2.8	7.8
Antraceno	23.5	3.4	7.8
Fluoranteno	23.7	2.5	7.9
Pireno	11.7	2.7	3.9
Benzo[a]antraceno	11.7	3.2	3.9
Criseno,	11.8	2.9	3.9
Benzo[b]fluoranteno,	23.4	2.6	7.8
Benzo[k]fluoranteno	11.7	2.1	3.9
Benzo[a]pireno	11.7	4.0	3.9
Dibenzo[ah]antraceno	23.7	5.1	7.9
Benzo[ghi]perileno	46.7	0.6	15.6
Indeno[1,2,3- cd]pireno	46.9	6.4	15.6
Dibenzo[ae]pireno	46.9	4.0	15.6

Criterios de Aceptación: $\%CV \leq 20$, para el nivel de concentración más bajo de la curva de calibración.

LC (límite de cuantificación); LD (límite de detección)

3.3.2 Validación del método analítico

Linealidad. Los resultados obtenidos en la evaluación de la linealidad cumplieron con los criterios de aceptación de USA-EPA Method TO-13^a (Tabla 14).

Tabla 14. Resultados de la evaluación de la linealidad del método (Coeficiente de correlación, factor de respuesta y %CV) obtenidos para cada uno de los 16 PAHs.

PAHs	Intervalo de calibración (ng/mL)	FR	%CV de FR	Coeficiente de correlación
Naftaleno	78.4-1254	3.2	6.1	0.999
Acenafteno	79.6-1274	10.8	5.9	0.999
Fluoreno	78.3-1253	3.0	6.4	0.999
Fenantreno	77.8-1245	5.1	6.7	0.999
Antraceno	77.6-1241	14.1	3.5	0.998
Fluoranteno	77.7-1243	2.3	7.2	0.999
Pireno	77.6-1242	3.8	7.1	0.999
Benzo[a]antraceno	78.4-1254	4.8	6.7	0.999
Criseno,	77.6-1242	6.0	4.2	0.998
Benzo[b]fluoranteno,	78.4-1254	3.3	6.0	0.999
Benzo[k]fluoranteno	77.7-1243	11.5	5.8	0.999
Benzo[a]pireno	78.4-1254	7.4	4.8	0.999
Dibenzo[ah]antraceno	77.6-1242	4.3	7.5	0.999
Benzo[ghi]perileno	77.4-1238	2.2	8.8	0.999
Indeno[1,2,3-cd]pireno	77.7-1243	1.0	6.9	0.999
Dibenzo[ae]pireno	77.7-1243	2.3	9.1	0.999

Criterios de Aceptación: %CV ≤ 15; Coeficiente de correlación ≥ 0.995
FR (factor de respuesta)

Precisión y exactitud a condiciones de repetibilidad. En la tabla 15 se muestra en resumen los resultados de la evaluación de la precisión y exactitud del método. Los resultados cumplieron con los criterios de aceptación.

Tabla 15. Resultados de la evaluación precisión y exactitud del método a condiciones de repetibilidad (%CV y %E) obtenidos para cada uno de los 16 PAHs.

PAHs	Precisión	Exactitud
	%CV	%E
Naftaleno	6.9	5.7
Acenafteno	7.2	5.9
Fluoreno	7.0	5.8
Fenantreno	7.5	5.1
Antraceno	6.7	9.0
Fluoranteno	7.4	5.6
Pireno	7.0	5.9
Benzo[a]antraceno	7.1	6.2
Criseno,	6.9	7.3
Benzo[b]fluoranteno,	7.2	5.4
Benzo[k]fluoranteno	6.6	2.9
Benzo[a]pireno	5.7	8.6
Dibenzo[ah]antraceno	7.3	5.4
Benzo[ghi]perileno	7.3	4.1
Indeno[1,2,3-cd]pireno	7.3	4.3
Dibenzo[ae]pireno	7.2	4.4

Criterios de Aceptación: %CV \leq 15; %E \leq 15
 %E (porcentaje de error)

Precisión y exactitud a condiciones de reproducibilidad. Los resultados cumplieron con los criterios de aceptación, los cuales se muestran en resumen en la tabla 16.

Tabla 16. Resultados de la evaluación precisión y exactitud del método a condiciones de reproducibilidad (%CV y %E) obtenidos para cada uno de los 16 PAHs.

PAHs	Precisión	Exactitud
	%CV	%E
Naftaleno	4.9	5.6
Acenafteno	5.6	6.0
Fluoreno	4.3	6.6
Fenantreno	5.3	5.5
Antraceno	4.5	5.1
Fluoranteno	5.6	4.4
Pireno	4.9	4.5
Benzo[a]antraceno	5.4	5.9
Criseno	5.3	5.6
Benzo[b]fluoranteno	3.8	5.0
Benzo[k]fluoranteno	3.7	4.7
Benzo[a]pireno	5.6	4.9
Dibenzo[ah]antraceno	4.4	5.8
Benzo[ghi]perileno	4.2	5.4
Indeno[1,2,3-cd]pireno	3.6	6.1
Dibenzo[ae]pireno	3.5	5.8

Criterios de Aceptación: %CV \leq 15; %E \leq 15
 %E (porcentaje de error)

Exactitud como porcentaje de recuperación. Se obtuvo el promedio del porcentaje de recuperación de los 3 niveles evaluados, en la tabla 17 se muestran los resultados.

Tabla 17. Resultados de la evaluación de la exactitud como porcentaje de recuperación (%R)

PAHs	%R
Naftaleno	93
Acenafteno	95
Fluoreno	96
Fenantreno	95
Antraceno	81
Fluoranteno	96
Pireno	91
Benzo[a]antraceno	89
Criseno,	82
Benzo[b]fluoranteno,	96
Benzo[k]fluoranteno	81
Benzo[a]pireno	83
Dibenzo[ah]antraceno	96
Benzo[ghi]perileno	94
Indeno[1,2,3-cd]pireno	95
Dibenzo[ae]pireno	95

Criterios de Aceptación: $80 \leq \%R \leq 120$

Límite de detección y límite de cuantificación. Se estableció como límite de cuantificación la concentración menor del intervalo de calibración de cada PAHs que cumplió con el criterio de precisión de $\%CV \leq 20\%$, y como límite de detección un tercio del límite de cuantificación; $LD = LC/3$. Los resultados se muestran en la tabla 18.

Tabla 18. Límite de detección y de cuantificación del sistema de medición, obtenidos para cada uno de los 16 PAHs.

PAHs	LC (ng/mL)	%CV del LC	LD
Naftaleno	78.4	6.9	26.1
Acenafteno	79.6	6.9	26.5
Fluoreno	78.3	7.0	26.1
Fenantreno	77.8	7.1	25.9
Antraceno	77.6	4.9	25.9
Fluoranteno	77.7	6.7	25.9
Pireno	77.6	6.2	25.9
Benzo[a]antraceno	78.4	6.4	26.1
Criseno,	77.6	7.2	25.9
Benzo[b]fluoranteno,	78.4	7.5	26.1
Benzo[k]fluoranteno	77.7	7.2	25.9
Benzo[a]pireno	78.4	4.8	26.1
Dibenzo[ah]antraceno	77.6	7.3	25.9
Benzo[ghi]perileno	77.4	7.1	25.8
Indeno[1,2,3-cd]pireno	77.7	7.1	25.9
Dibenzo[ae]pireno	77.7	6.7	25.9

Criterios de Aceptación: $\%CV \leq 20$, para el nivel de concentración más bajo de la curva de calibración. LC (límite de cuantificación); LD (límite de detección)

3.4 Análisis de muestras para la determinación cuantitativa de los niveles de 16 PAHs.

Con el método analítico validado se procesaron un total de 102 muestras de partículas PM_{2.5} para el análisis cuantitativo de PAHs. Se identificaron y cuantificaron en las muestras 12 de los 16 PAHs validados en ambas zonas de muestreo. En la tabla 19 se mencionan los PAHs encontrados y en la figura 12 se presentan los cromatogramas obtenidos de una muestra real y una mezcla estándar de los 16 PAHs.

Tabla 19. Hidrocarburos aromáticos policíclicos encontrados en las muestras de partículas PM_{2.5}.

Pico	Analito	Tiempo de retención
4	Fenantreno	10.8
6	Fluoranteno	14.2
7	Pireno	14.5
8	Benzo[a]antraceno	15.3
9	Criseno,	16.0
10	Benzo[b]fluoranteno,	17.2
11	Benzo[k]fluoranteno	18.1
12	Benzo[a]pireno	19.4
13	Dibenzo[ah]antraceno	20.4
14	Benzo[ghi]perileno	21.9
15	Indeno[1,2,3-cd]pireno	23.1
16	Dibenzo[ae]pireno	24.6

Pico= Número con el que se identificó a los PAHs en el cromatograma de la figura 10.

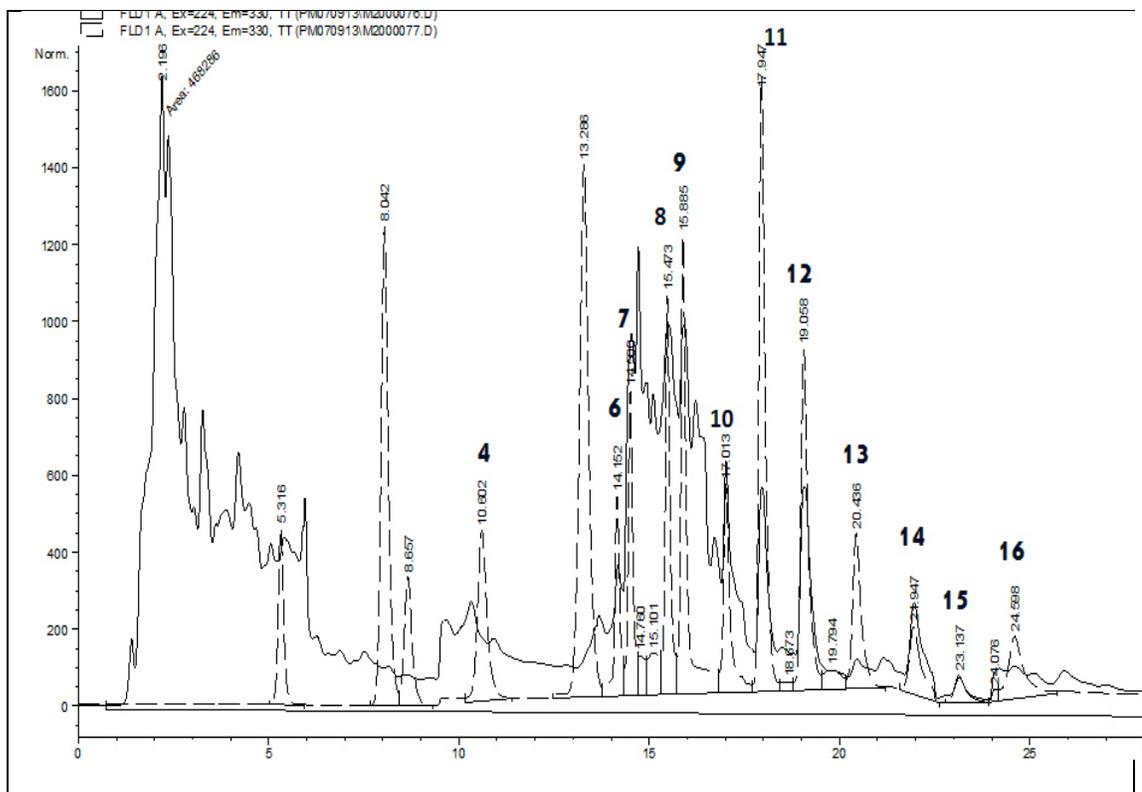


Figura 12. Cromatograma empalmado de una muestra y estándar.

— Muestra real
 - - - Mezcla estándar de 16 PAHs

3.4.1 Concentración de PAHs individuales.

En las tablas 20 y 21 se presentan los resultados del análisis de PAHs cuantificados en cada una de las muestras de PM_{2.5} de las zonas 1 y 2 respectivamente, así como los PAHs totales obtenidos por muestra.

Solo se reportaron las concentraciones mayores al límite de cuantificación.

Tabla 20. Niveles de PAHs en las partículas PM2.5 obtenidas en la zona 1 (ng/m³)

FECHA	FE	FLU	PIR	BAA	CRI	BBF	BKF	BAP	DBA	BGP	ICP	DBP	PAHs totales
01-nov-11	0.06	0.10	0.10	0.09	0.16	0.37	0.15	0.10	<LC	0.59	0.27	<LC	1.98
07-nov-11	0.06	0.10	0.11	0.12	0.15	0.20	0.11	0.11	<LC	0.62	0.22	<LC	1.79
13-nov-11	0.06	0.10	0.12	0.14	0.23	0.52	0.23	0.14	0.04	0.88	0.43	<LC	2.88
19-nov-11	0.03	0.08	0.11	0.09	0.16	0.46	0.19	0.14	<LC	0.88	0.40	0.10	2.64
25-nov-11	0.37	0.65	0.86	1.00	0.96	1.21	0.98	0.80	0.63	2.02	1.46	0.70	11.63
01-dic-11	0.09	0.14	0.17	0.19	0.26	0.43	0.20	0.15	0.04	0.79	0.31	<LC	2.76
08-dic-11	0.14	0.43	0.57	0.88	1.09	1.08	0.62	0.68	0.10	2.18	0.86	0.15	8.78
20-dic-11	<LC	0.07	0.09	0.18	0.24	0.29	0.14	0.15	<LC	0.75	0.29	<LC	2.20
26-dic-11	0.07	0.28	0.34	0.58	0.72	0.63	0.40	0.53	0.08	1.72	0.63	0.10	6.07
06-ene-12	0.09	0.21	0.32	0.27	0.29	0.69	0.42	0.44	0.08	1.96	0.88	0.13	5.77
18-ene-12	<LC	0.12	0.20	0.23	0.23	0.24	0.12	0.16	<LC	0.62	0.24	<LC	2.16
24-ene-12	0.07	<LC	0.31	0.29	0.34	0.47	0.25	0.33	<LC	1.13	0.44	<LC	3.62
14-feb-12	0.11	0.27	0.32	0.28	0.32	0.56	0.32	0.44	0.05	1.43	0.54	<LC	4.63
22-feb-12	0.25	0.54	0.66	0.49	0.67	0.64	0.35	0.47	0.06	1.39	0.55	<LC	6.07
29-feb-12	0.07	0.12	0.13	0.12	0.14	0.20	0.10	0.08	<LC	0.44	0.19	<LC	1.58
10-mar-12	0.10	0.25	0.26	0.26	0.30	0.59	0.34	0.33	<LC	1.88	0.84	<LC	5.15
16-mar-12	0.05	0.26	0.24	0.18	0.19	0.37	0.20	0.11	<LC	0.82	0.33	<LC	2.74
22-mar-12	0.08	0.17	0.16	0.14	0.19	0.33	0.17	0.11	<LC	0.72	0.29	<LC	2.36
28-mar-12	0.07	0.31	0.13	0.21	0.19	0.21	0.27	0.29	<LC	1.34	0.54	<LC	3.56
04-abr-12	0.09	0.20	0.17	0.16	0.24	0.33	0.16	0.14	<LC	0.65	0.21	0.04	2.38
10-abr-12	0.09	0.10	0.07	0.10	0.48	0.56	0.41	0.64	<LC	1.01	0.40	0.04	3.90
16-abr-12	0.10	0.10	0.14	0.21	0.24	0.33	0.16	0.14	<LC	0.26	0.10	0.07	1.84
22-abr-12	<LOC	0.11	0.09	0.07	0.10	0.17	0.08	0.04	<LC	0.32	0.17	0.04	1.20
11-may-12	0.07	0.11	0.12	0.11	0.12	0.21	0.11	0.09	<LC	0.34	0.14	<LC	1.41
17-may-12	<LOC	<LOC	0.08	0.07	0.05	0.09	0.03	<LOC	<LC	0.27	0.11	<LC	0.70
25-may-12	0.12	0.14	0.24	0.11	0.22	0.29	0.09	0.08	<LC	0.42	0.10	<LC	1.79
31-may-12	<LOC	<LOC	0.05	0.06	0.03	0.06	0.03	0.02	<LC	0.24	<LC	<LC	0.50
04-jul-12	<LOC	<LOC	0.07	0.06	0.08	0.11	0.05	0.05	<LC	0.30	0.15	<LC	0.89
10-jul-12	<LOC	<LOC	0.04	0.04	0.04	0.08	0.03	0.01	<LC	0.22	<LC	<LC	0.45
23-jul-12	<LOC	<LOC	0.02	0.03	0.03	0.06	0.03	0.02	<LC	0.19	<LC	<LC	0.37

Continuación. Niveles de PAHs en las partículas PM2.5 obtenidas en la zona 1 (ng/m³).

FECHA	FE	FLU	PIR	BAA	CRI	BBF	BKF	BAP	DBA	BGP	ICP	DBP	PAHs totales
31-jul-12	<LOD	<LOC	0.03	0.04	0.05	0.09	0.04	0.03	<LC	0.30	0.11	<LC	0.70
05-ago-12	<LOC	<LOC	0.03	0.04	0.05	0.09	0.04	0.01	<LC	0.29	0.12	<LC	0.67
11-ago-12	<LOC	0.06	0.06	0.05	0.08	0.18	0.06	0.04	<LC	0.39	0.15	<LC	1.07
17-ago-12	0.06	0.10	0.09	0.10	0.10	0.17	0.09	0.07	<LC	0.51	0.17	<LC	1.45
30-ago-12	0.06	0.10	0.09	0.10	0.10	0.18	0.09	0.07	<LC	0.53	0.18	<LC	1.50
05-sep-12	0.05	0.09	0.10	0.10	0.11	0.18	0.08	0.08	<LC	0.47	0.17	<LC	1.43
11-sep-12	<LOC	<LOC	0.05	0.06	0.04	0.08	0.04	0.02	<LC	0.29	0.11	<LC	0.68
17-sep-12	0.08	0.13	0.21	0.18	0.22	0.24	0.13	0.17	<LC	0.73	0.23	<LC	2.33
25-sep-12	<LOC	<LOC	0.03	0.04	0.03	0.07	0.04	0.03	<LC	0.31	0.11	<LC	0.65
05-oct-12	0.05	0.08	0.08	0.10	0.15	0.25	0.12	0.09	<LC	0.43	0.17	<LC	1.53
11-oct-12	<LOC	<LOC	0.02	0.04	0.04	0.06	0.03	0.05	<LC	0.30	0.10	<LC	0.65
18-oct-12	<LOC	<LOC	0.05	0.05	0.06	0.08	0.03	0.02	<LC	0.27	0.11	<LC	0.68
23-oct-12	0.05	0.09	0.11	0.11	0.11	0.14	0.07	0.08	<LC	0.33	0.12	<LC	1.20
05-nov-12	0.11	0.17	0.21	0.26	0.32	0.35	0.19	0.25	<LC	0.92	0.31	<LC	3.10
06-nov-12	<LOC	0.06	0.07	0.06	0.06	0.08	0.04	0.04	<LC	0.28	0.11	<LC	0.80
29-nov-12	0.12	0.26	0.34	0.45	0.60	0.66	0.38	0.41	<LC	1.25	0.48	<LC	4.96
23-nov-12	0.06	0.02	0.10	0.04	0.08	0.19	0.07	0.14	<LC	0.35	0.01	<LC	1.07
04-dic-12	0.15	0.25	0.32	0.52	0.62	0.49	0.28	0.35	<LC	1.08	0.41	<LC	4.46
11-dic-12	<LOC	0.14	0.20	0.20	0.21	0.34	0.18	0.16	<LC	0.86	0.33	<LC	2.63
20-dic-12	0.14	0.40	0.44	0.54	0.62	0.40	0.22	0.27	<LC	0.72	0.32	<LC	4.07
26-dic-12	0.07	0.12	0.31	0.29	0.34	0.47	0.25	0.33	<LC	1.13	0.44	<LC	3.74

Tabla 21. Niveles de PAHs en las partículas PM2.5 obtenidas en la zona 2 (ng/m³)

FECHA	FE	FLU	PIR	BAA	CRI	BBF	BKF	BAP	DBA	BGP	ICP	DBP	PAHs totales
01-nov-11	0.06	0.08	0.08	0.10	0.15	0.25	0.12	0.09	<LC	0.43	0.17	<LC	1.54
07-nov-11	0.06	0.19	0.24	0.32	0.37	0.61	0.39	0.56	0.08	1.53	0.62	0.10	5.06
13-nov-11	0.10	0.39	0.45	0.40	0.71	1.24	0.59	0.32	0.10	2.10	0.84	0.13	7.37
19-nov-11	0.10	0.70	0.58	0.74	1.09	1.34	0.84	0.84	0.14	2.53	1.27	0.20	10.36
25-nov-11	0.10	0.20	0.19	0.19	0.22	0.47	0.26	0.24	0.05	1.18	0.45	<LC	3.56
01-dic-11	<LC	0.26	0.30	0.37	0.54	0.57	0.32	0.35	0.06	1.46	0.54	0.11	4.88
08-dic-11	0.22	0.65	0.62	0.78	0.75	0.55	0.34	0.41	0.07	1.09	0.56	<LC	6.03
20-dic-11	<LC	0.22	0.29	0.52	0.61	0.55	0.38	0.47	0.06	1.21	0.45	<LC	4.76
26-dic-11	<LC	0.35	0.45	0.52	0.66	0.99	0.58	0.62	0.12	2.56	1.02	0.17	8.03
06-ene-12	<LC	0.33	0.97	0.78	0.51	0.81	0.50	0.92	0.12	1.48	0.70	0.16	7.27
18-ene-12	0.05	0.27	0.37	0.44	0.55	0.82	0.45	0.70	0.09	2.66	0.96	0.15	7.50
24-ene-12	0.05	0.35	1.00	0.50	0.70	0.60	0.30	0.60	0.10	2.07	0.83	0.15	7.26
14-feb-12	0.09	0.38	0.53	0.66	0.71	1.18	0.78	1.21	0.16	3.07	1.21	0.15	10.14
22-feb-12	0.14	0.44	0.57	0.44	0.58	0.78	0.43	0.68	0.08	1.86	0.63	0.12	6.76
29-feb-12	0.10	0.17	0.18	0.16	0.20	0.31	0.17	0.19	<LC	0.77	0.28	<LC	2.52
10-mar-12	0.10	0.25	0.26	0.26	0.30	0.59	0.34	0.33	<LC	1.88	0.84	0.10	5.25
16-mar-12	0.05	0.26	0.24	0.18	0.19	0.37	0.20	0.11	<LC	0.82	0.33	<LC	2.74
22-mar-12	0.01	0.14	0.18	0.14	0.15	0.20	0.09	0.05	<LC	0.24	0.11	0.02	1.31
28-mar-12	0.07	0.31	0.13	0.21	0.19	0.21	0.27	0.29	<LC	1.34	0.54	0.08	3.64
04-abr-12	0.09	0.20	0.17	0.16	0.24	0.33	0.16	0.14	<LC	0.65	0.21	0.04	2.38
10-abr-12	0.09	0.10	0.07	0.10	0.48	0.56	0.41	0.64	<LC	1.01	0.40	0.04	3.90
16-abr-12	<LC	0.10	0.14	0.21	0.24	0.33	0.16	0.14	<LC	0.26	0.10	0.07	1.74
22-abr-12	<LC	<LC	0.04	0.16	0.24	0.33	0.16	0.14	<LC	0.12	0.21	0.01	1.40
11-may-12	0.07	0.11	0.12	0.11	0.12	0.21	0.11	0.09	<LC	0.34	0.14	<LC	1.41
17-may-12	0.06	0.14	0.18	0.14	0.15	0.20	0.09	0.05	<LD	0.24	0.11	0.02	1.36
25-may-12	0.12	0.14	0.24	0.11	0.22	0.29	0.09	0.08	<LC	0.42	0.10	<LC	1.79
31-may-12	0.07	0.11	0.12	0.11	0.12	0.21	0.11	0.09	<LC	0.23	0.09	<LC	1.25
04-jul-12	<LC	<LC	0.07	0.06	0.08	0.11	0.05	0.05	<LC	0.30	0.15	0.02	0.89
10-jul-12	<LC	<LC	0.01	0.01	0.02	0.02	0.01	0.01	<LC	0.14	<LOC	<LC	0.22

Continuación. Niveles de PAHs en las partículas PM_{2.5} obtenidas en la **zona 2** (ng/m³).

23-jul-12	<LC	<LC	0.01	0.03	0.02	0.02	0.01	0.01	<LC	0.12	<LOC	<LC	0.22
31-jul-12	0.07	0.11	0.10	0.11	0.12	0.16	0.08	0.08	<LC	0.65	0.20	<LC	1.69
05-ago-12	<LC	0.07	0.06	0.08	0.12	0.15	0.07	0.03	<LC	0.31	0.12	<LC	1.01
11-ago-12	<LC	0.06	0.07	0.05	0.08	0.13	0.05	0.03	<LC	0.31	0.11	<LC	0.90
17-ago-12	0.06	0.10	0.09	0.10	0.10	0.17	0.09	0.07	<LC	0.51	0.17	<LC	1.45
30-ago-12	0.08	0.13	0.13	0.12	0.16	0.33	0.18	0.18	<LC	0.87	0.35	<LC	2.54
05-sep-12	0.05	0.09	0.10	0.10	0.11	0.18	0.08	0.08	<LC	0.47	0.17	<LC	1.43
11-sep-12	0.09	0.12	0.20	0.19	0.16	0.30	0.16	0.29	<LC	1.58	0.39	<LC	3.49
17-sep-12	0.06	0.08	0.08	0.10	0.15	0.25	0.12	0.09	<LC	0.43	0.17	<LC	1.54
25-sep-12	0.09	0.09	0.11	0.11	0.14	0.21	0.11	0.10	<LC	0.60	0.27	<LC	1.82
05-oct-12	0.05	0.08	0.08	0.10	0.15	0.25	0.12	0.09	<LC	0.43	0.17	<LC	1.53
11-oct-12	0.07	<LC	0.03	0.02	0.03	0.09	0.03	0.04	<LC	0.03	0.13	<LC	0.47
18-oct-12	0.06	<LC	0.07	0.06	0.06	0.09	0.03	0.04	<LC	0.39	0.12	<LC	0.91
23-oct-12	0.09	0.10	0.16	0.11	0.11	0.14	0.07	0.10	<LC	0.52	0.15	<LC	1.55
05-nov-12	0.08	0.12	0.13	0.12	0.13	0.19	0.10	0.14	<LC	0.63	0.21	<LC	1.85
06-nov-12	<LC	0.05	0.05	0.06	0.06	0.07	0.04	0.04	<LC	0.38	0.01	<LC	0.77
29-nov-12	0.06	0.02	0.10	0.04	0.08	0.19	0.07	0.14	<LC	0.35	0.01	<LC	1.07
23-nov-12	<LC	0.06	0.09	0.08	0.09	0.15	0.07	0.10	<LC	0.45	0.08	<LC	1.23
04-dic-12	<LC	0.19	0.24	0.22	0.30	0.50	0.27	0.41	0.06	1.85	0.50	0.12	4.65
11-dic-12	0.10	0.35	0.49	0.55	0.60	0.55	0.32	0.47	0.07	1.76	0.58	0.11	5.93
20-dic-12	0.14	0.40	0.39	0.33	0.37	0.35	0.19	0.22	<LC	0.87	0.29	<LC	3.57
26-dic-12	0.08	0.33	0.39	0.73	0.78	0.69	0.38	0.59	0.09	2.00	0.70	0.16	6.92

Promedios mensuales de cada PAHs

En las figuras 13 y 14 se observa el comportamiento temporal de los promedios mensuales de cada uno de los 12 PAHs cuantificados en la zona 1 y 2, respectivamente.

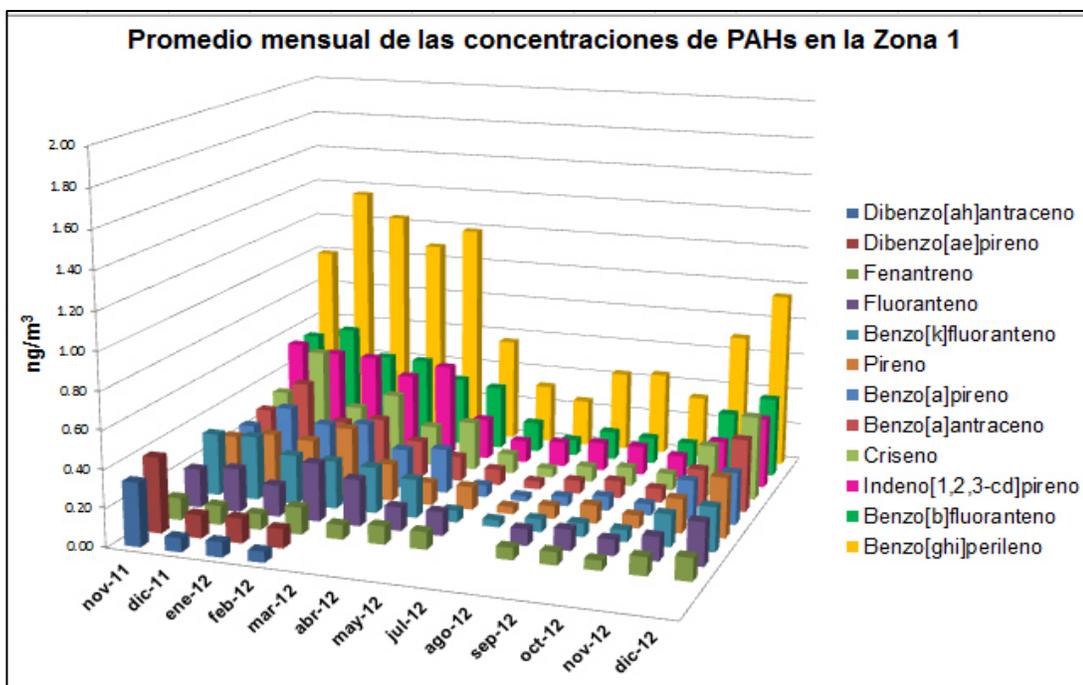


Figura 13. Promedio mensual de PAHs (ng/m^3) cuantificados en partículas $\text{PM}_{2.5}$ obtenidas en la zona 1 (los datos de las gráficas están en el anexo 7).

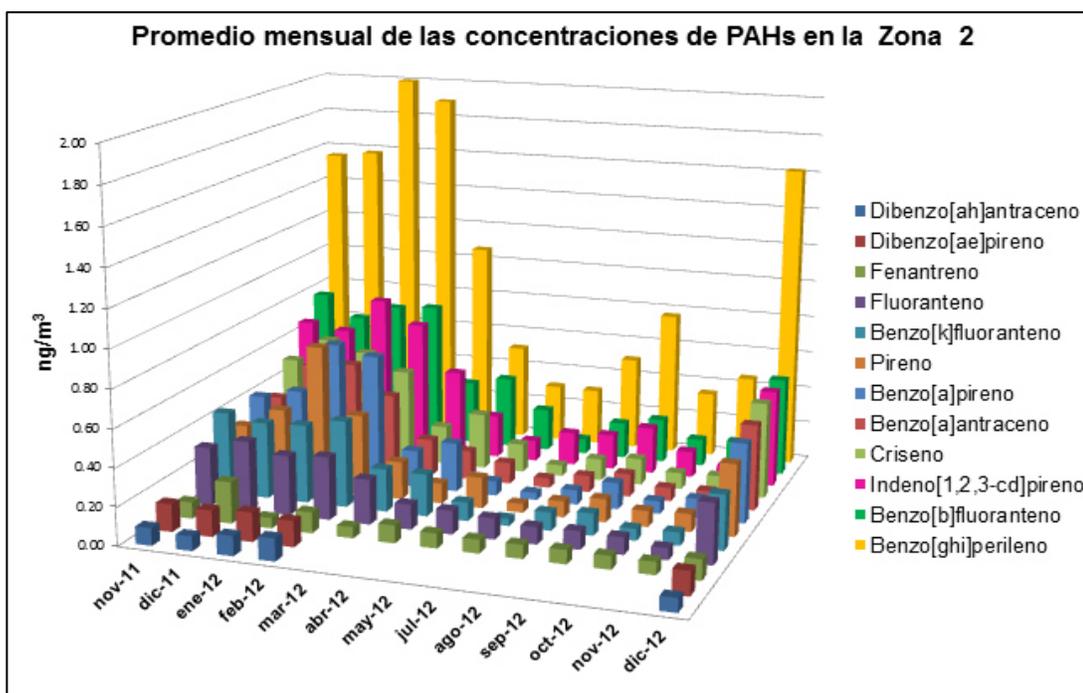


Figura 14. Promedio mensual de PAHs (ng/m^3) cuantificados en partículas $\text{PM}_{2.5}$ obtenidas en la zona 2 (los datos de las gráficas están en el anexo 7)

El fenantreno, fluoranteno, pireno, benzo[a]antraceno, criseno, benzo[b]fluoranteno, benzo[k]fluoranteno, benzo[a]pireno, benzo[ghi]perileno, indeno[1,2,3-cd]pireno, se cuantificaron en todos los meses muestreados, en ambas zonas. El dibenzo[ah]antraceno y dibenzo[ae]pireno solo se detectaron en los meses de otoño-invierno (noviembre, diciembre, enero y febrero).

En ambas zonas el PAHs que presento los mayores niveles de concentración fue el benzo[ghi]perileno (barras amarillas).

3.4.2 Concentración de PAHs totales

La concentración de PAHs totales se determinó sumando la concentración de los 12 PAHs detectados en las partículas PM2.5 (vea tabla 20 y 21 previas, PAHs totales por fecha de muestreo para ambas zonas).

Se obtuvo el promedio del total de las muestras obtenidas. En la zona 1 el promedio fue de 3.31 ng/m³, mientras que en la zona 2 fue de 2.61 ng/m³. En la tabla 22 se muestra la estadística descriptiva.

Tabla 22. Estadística descriptiva de los PAHs totales (ng/m³) para ambas zonas.

	N	Mínimo	Máximo	Media	DE
Zona 1	51	0.22	10.36	3.31	2.7
Zona 2	51	0.37	11.63	2.61	2.2

Estadísticamente no se observó diferencia significativa en los niveles de PAHs totales entre ambas zonas ($p=0.07$), y tampoco se observó diferencia comparando ambas zonas mes por mes, por lo que se consideran estadísticamente iguales en cuanto a las concentraciones de estos contaminantes en el aire.

En la figura 15 se observan los promedios mensuales de los PAHs totales en ambas zonas estudiadas. Los meses de otoño-invierno mostraron las concentraciones más altas, mientras que en los meses de primavera-verano los más bajos en ambas zonas.

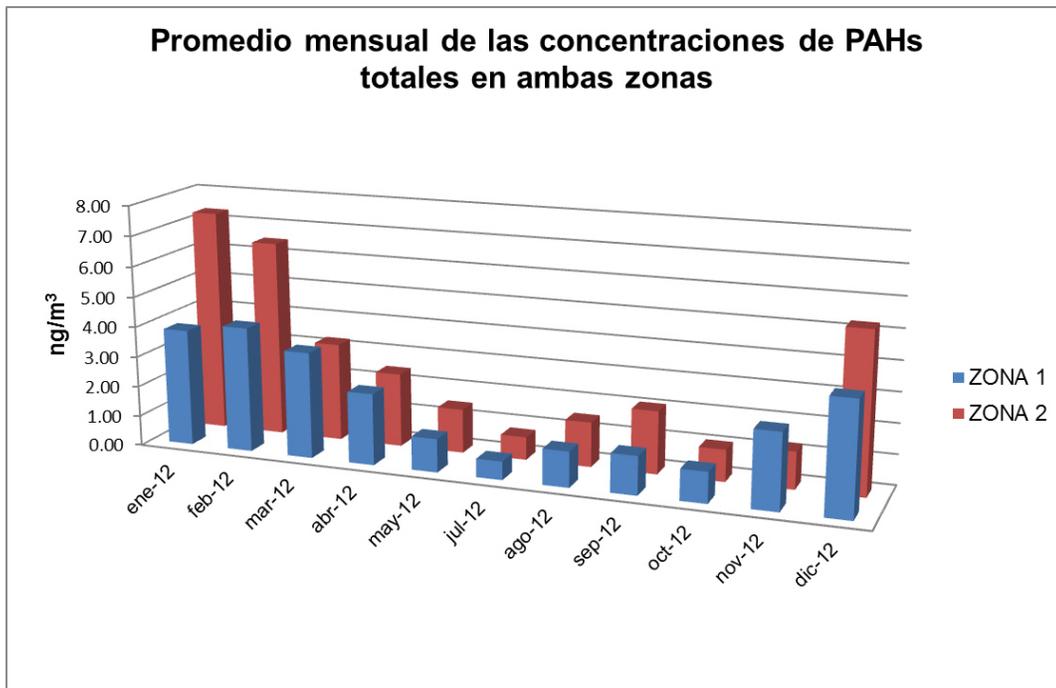


Figura 15. Promedio mensual de PAHs totales (ng/m^3) obtenidos durante el periodo de muestreo (noviembre-2011 a diciembre 2012) en ambas zonas.

3.4.3 Equivalentes de benzo[a]pireno (BAPEq)

Para obtener los equivalentes de benzo[a]pireno, se multiplicaron las concentraciones individuales de cada PAHs detectado en las muestras por su factor de equivalencia tóxica, TEFs.

En la figura 16 se observa el comportamiento temporal de los BAPEq durante el periodo de muestreo.

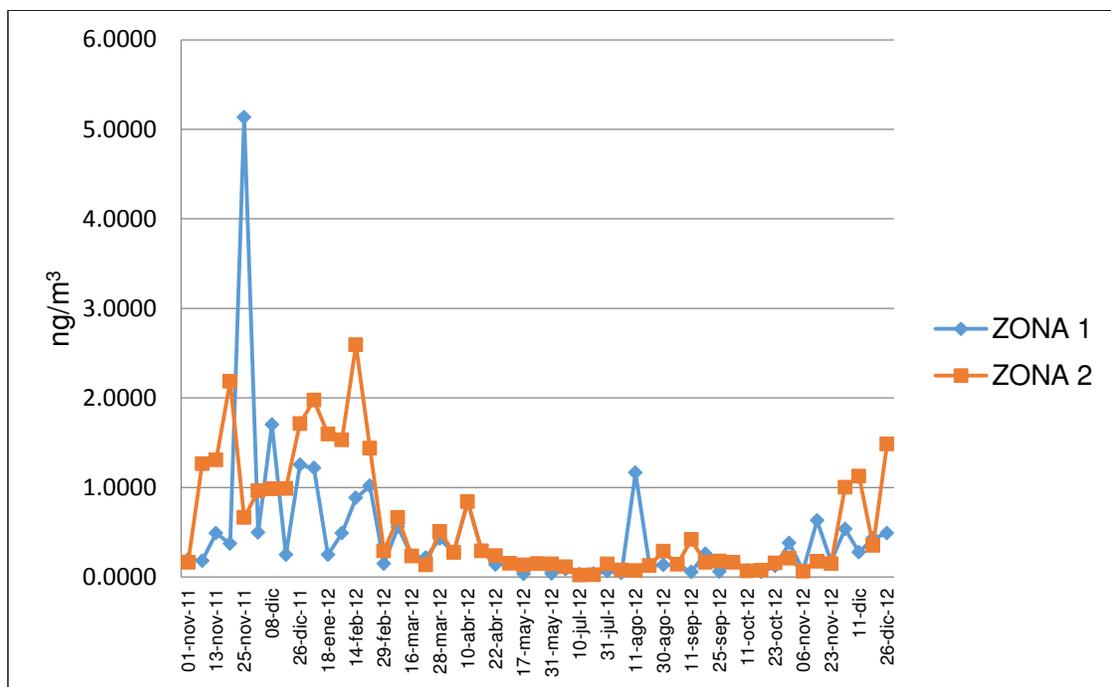


Figura 16. Concentración de PAHs totales expresados como BAPEq obtenidos durante el periodo de muestreo en ambas zonas.

Se promedió los resultados de 14 meses (duración completa del estudio) y se obtuvieron valores de 0.5 y 0.6 ng/m³ (tabla 23), para la zona 1 y 2 respectivamente. No se observó diferencia estadísticamente significativa ($p=0.07$).

Tabla 23. Estadística descriptiva de los BAPEq (ng/m³) para ambas zonas.

		N	Mínimo	Máximo	Media	DE
Total	Zona 1	51	0.22	10.36	0.5	0.76
	Zona 2	51	0.37	11.63	0.6	0.65
Anual	Zona 1	42	0.03	5.13	0.3	0.31
	Zona 2	42	0.02	2.60	0.5	0.61

En la tabla 23 también se muestra el promedio anual (enero-diciembre 2012), para comparar los resultados con otras organizaciones que monitorean los niveles de benzo[a]pireno. Ambas zonas presentaron concentraciones anuales de BAPEq superiores a lo establecido por Inglaterra (0.25 ng/m³). No se demostró diferencia estadísticamente significativa en el promedio anual de BAPEq entre las zonas (p=0.06)

Se calculó el promedio mensual de los BAPEq, de las muestras obtenidas en el año 2012, los resultados muestran que los meses de enero, febrero y diciembre muestran los niveles más altos (Figura 17).

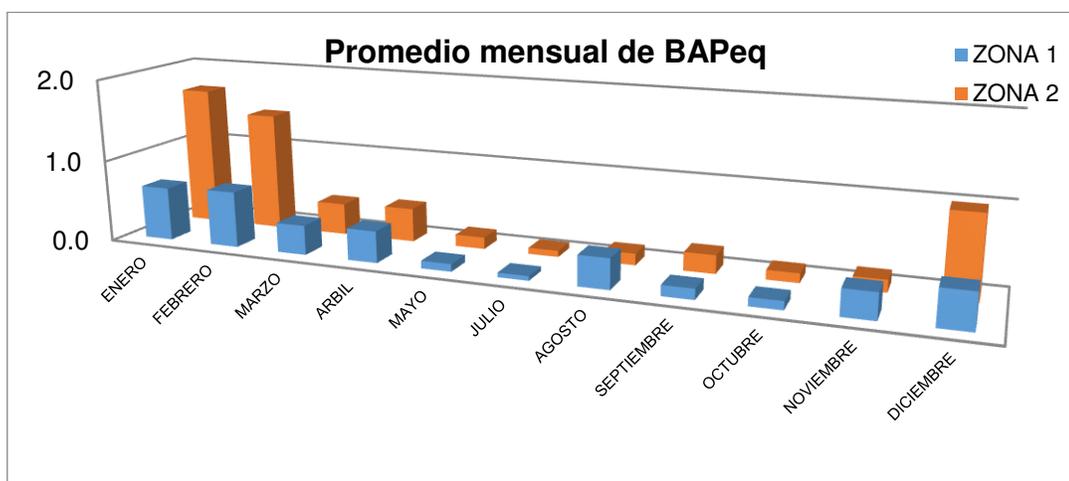


Figura 17. Promedio mensual de las concentraciones de PAHs totales expresados como BAPEq para ambas zonas.

Se realizó una prueba t de comparación de medias, y se observó que en el único mes donde se presentó diferencia estadísticamente significativa ($p=0.02$), fue en el mes de enero-2012, siendo la zona 2 (Santa Catarina) la que presentó los mayores niveles de BAPEq.

El análisis de varianza para la comparación de los promedios de cada uno de los PAHs entre ambas zonas estudiadas, indicó que no hubo diferencia estadísticamente significativa en ninguno de los PAHs (los valores de p fueron mayores de 0.05)

3.5 Estimación de las fuentes de PAHs

Los resultados de ratios diagnósticos para estimar las probables fuentes de PAHs en las zonas estudiadas del AMM se muestran en la tabla 24. Los resultados de los ratios de B(ghi)P/B(a)P, B(a)/[B(a)A+Cri] y B(a)P/[B(a)P+Cri] indican que las probables fuentes de PAHs en las zonas estudiadas son los vehículos automotores. El resultado del ratio de [B(b)F+B(k)F]/B(ghi)P indica que las fuentes industriales contribuyen poco a la generación de PAHs.

Tabla 24. Resultados de los ratios diagnóstico para emisiones de PAHs

Radio	Zona		Valores de referencia				
	1	2	Gasolina	Diesel	Madera	Carbón	Industria
B(ghi)P/B(a)P	4	3.57	2.5-3.3	1.2-2.2			
B(a)P/B(ghi)P	0.25	0.30	0.30-0.44			0.90-6.6	
[B(b)F+B(k)F]/B(ghi)P	0.7	0.6			2.18	-	7.10-11.20
B(a)A/[B(a)A+ Cri]	0.44	0.45	0.76	0.73	0.43	0.50-0.55	-
B(a)P/[B(a)P+ Cri]	0.43	0.49	0.73	0.49			

3.6 Validación del método analítico para la cuantificación de 1-OHP

Previamente al análisis de muestras se procedió a evaluar los parámetros de validación del método, los resultados se muestran en la tabla 25, los cuales cumplieron con los criterios de aceptación de la NOM-177-SSA1-1998

Tabla 25. Resultados de la evaluación de los parámetros para la validación del método analítico para la cuantificación de 1-OHP

Parámetro	Criterio de aceptación	Resultado
Linealidad	Coeficiente de variación (CV) entre los FR $\leq 15\%$	9.5
	Coeficiente de Determinación (r^2) ≥ 0.990	0.998
Intervalo de trabajo	Precisión. Coeficiente de variación en cada nivel de concentración $\leq 15\%$, excepto LC $\leq 20\%$	15.1*
	Exactitud. %Error absoluto en cada nivel de concentración: $\leq 15\%$, excepto LC $\leq 20\%$	14.6*
Repetibilidad	Precisión. Coeficiente de variación $\leq 15\%$	4.14*
	Exactitud. %Error $\leq 15\%$	6.4*
Reproducibilidad	Precisión. Coeficiente de variación $\leq 15\%$	11.95*
	Exactitud. %Error $\leq 15\%$	5.4*
Límite de cuantificación (LC)	Precisión. Coeficiente de variación para el nivel más bajo de la curva de calibración $\leq 20\%$	15.1
	Exactitud. Error absoluto promedio $\leq 15\%$	14.6

* Valor obtenido de mayor magnitud.

Intervalo de trabajo 0.072-6.0 nmol/L de orina (0.016 -1.34 mg/L orina)

Límite de cuantificación= 0.072 nmol/L de orina (0.016 mg/L orina)

Límite de detección= 0.062 nmol/L de orina (0.014 mg/L orina)

3.7 Análisis de muestras para la determinación de 1-OHP urinario.

En el estudio participaron un total de 96 sujetos (41 en la zona 1 y 55 en la zona 2). En ambas zonas hubo mayor participación por la población del sexo femenino. En la figura 18 se muestra la participación de la población por zona y género.

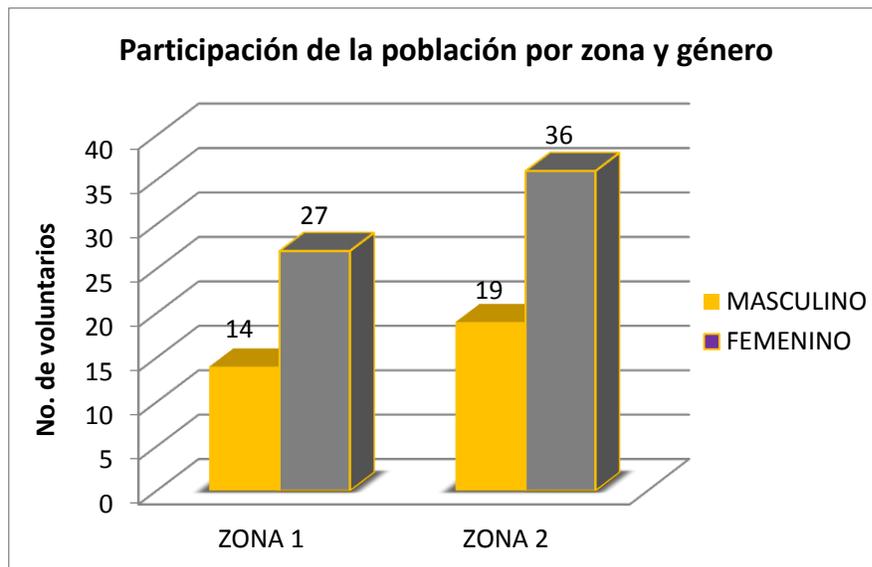


Figura 18. Participación de la población en estudio en ambas zonas.

La población en estudio tenían entre 20-60 años, los grupos de edad que tuvieron mayor participación fueron los superiores a los 30 años.

Durante el periodo de muestreo se obtuvieron un total de 321 muestras (134 en la zona 1 y 187 en la zona 2). En la tabla 26 se observan el total de muestras obtenidas por mes en ambas zonas. Hubo mayor participación por la población de la zona 2.

Tabla 26. Muestras de orina obtenidas mensualmente durante el muestreo.

Mes zona	Noviembre- 11	Diciembre-11	Enero-12	Febrero-12
1	33	30	39	32
2	49	48	47	43

Los niveles de excreción de 1-OHP en la zona 1 y 2 fueron de 0.019 y 0.018 μmol 1-OHP/mol de Cr, respectivamente. Estos niveles expresan la excreción promedio de 1-OHP en los 4 meses de muestreo por zona. Los resultados no mostraron diferencia estadísticamente significativa entre zonas ($p=0.304$); respecto al efecto de mes tampoco se observó diferencia significativa ($p=0.092$). En la figura 19 se muestran los promedios mensuales de 1-OHP por mes y zona.

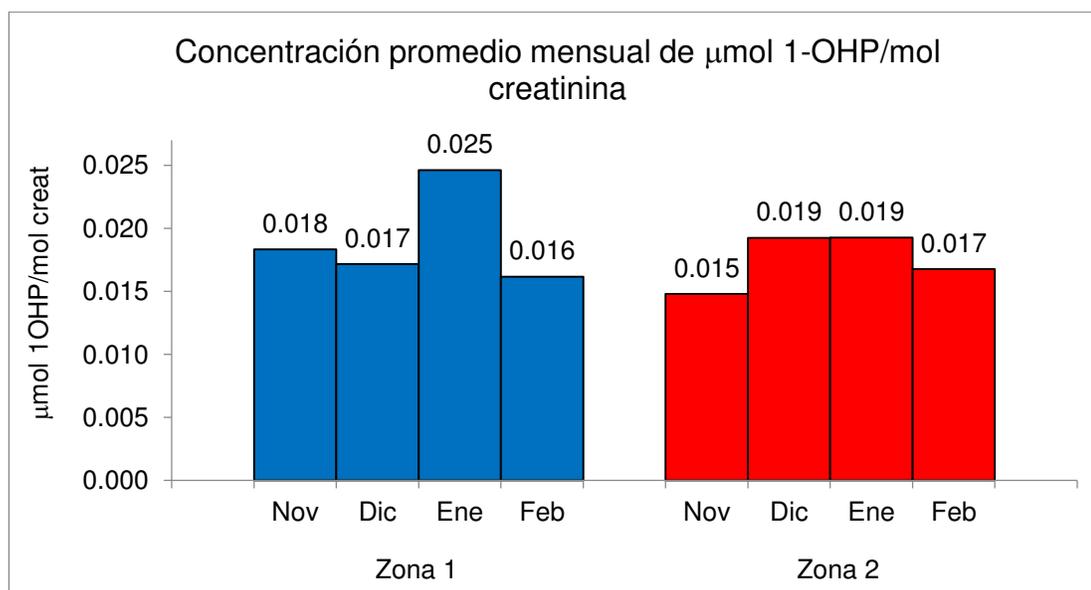


Figura 19. Niveles de excreción en promedio mensual para cada una de las poblaciones en la zona 1 y 2.

Del total de las muestras analizadas, el 50% tuvo valores de 1-OHP entre 0.005-0.02 μmol 1-OHP/mol de Cr (Media: 0.02, rango: 0.002-0.07 μmol 1-OHP/mol de Cr).

Ya que no se presentó diferencia en la excreción de 1-hidroxi pireno urinario entre la población de ambas zonas, y que la mayoría de las muestras presentaron niveles de excreción entre 0.005-0.02 μmol 1-OHP/mol de Cr, se considera como el nivel de excreción en la población en el AMM.

3.8 Correlación entre el contenido de partículas PM2.5, PAHs totales, BAPEq y 1-hidroxi pireno obtenidos en ambas zonas.

Para determinar la correlación entre las variables se utilizó el coeficiente de correlación de Pearson. Los resultados se muestran en la tabla 27.

En la zona 2 se observó correlación positiva casi perfecta ($r= 0.94$) entre las concentraciones de partículas PM2.5 y PAHs totales, es decir, cuando una de ellas aumenta, la otra también lo hace en proporción constante.

En la zona 1 se ve correlación positiva muy alta entre los PAHs totales y BAPEq ($r=0.91$), en la zona 2 también se observó este fenómeno, pero en menor proporción que en la zona 1 ($r=0.62$)

Tabla 27. Correlación de Pearson para cada una de las variables analizadas en ambas zonas.

Correlación entre		ZONA 1	ZONA 2
PM2.5-PAHs totales	$r \leq$	0.08	0.94
	$p \leq$	0.76	0.00
PM2.5-BAPEq	$r \leq$	-0.144	0.43
	$p \leq$	0.61	0.11
PAHs totales-BAPEq	$r \leq$	0.91	0.62
	$p \leq$	0.00	0.01
	N	51	51

Para determinar la correlación del 1-OHP con el resto de las variables, solo se tomaron en cuenta los resultados de los meses de noviembre, diciembre de 2011 y enero, febrero de 2012, para las partículas PM2.5, PAHs totales y BAPEq. Los resultados no mostraron correlación positiva.

CAPÍTULO IV

Discusión

En este proyecto se monitorearon los niveles de partículas PM_{2.5} en la zona suroeste del AMM (Santa Catarina) y en el cruce de las avenidas Francisco I. Madero y Gonzalitos (Centro). La primera representando una zona con potencial impacto industrial y la segunda representando una zona de alto tráfico vehicular. Así mismo se revalidó y aplicó un proceso analítico para la cuantificación de 16 PAHs (naftaleno, acenafteno, fluoreno, fenantreno, antraceno, fluoranteno, pireno, benzo[a]antraceno, criseno, benzo[b]fluoranteno, benzo[k]fluoranteno, benzo[a]pireno, dibenzo[ah]antraceno, benzo[ghi]perileno, indeno[1,2,3-cd]pireno, dibenzo[ae]pireno) en las partículas PM_{2.5}. También se evaluó un marcador biológico de exposición a PAHs: 1-OHP en población de ambas zonas, se validó y aplicó el proceso analítico para su determinación en muestras de orina.

Las partículas PM_{2.5} como contaminantes criterio tienen una normatividad mexicana, la cual establece que las concentraciones en promedio anual no deben ser mayor a 15 µg/m³. Nuestros resultados muestran que en

ambas zonas se rebasó el límite máximo permisible en promedio anual. En los meses de diciembre, enero y febrero se presentaron los niveles más altos de partículas rebasando el límite de $65 \mu\text{g}/\text{m}^3$ una vez al año. La zona 1 excedió el límite en 3 ocasiones y la zona 2 lo excedió en una ocasión. En el caso del mes de diciembre, es probable que los niveles altos se deben al alto congestionamiento vehicular por las compras navideñas, el uso tradicional de la pirotecnia en esas fechas y al cambio en las condiciones meteorológicas, como mayor humedad relativa y menor velocidad del viento. El viento tiene la capacidad de dispersar y facilitar la limpieza de contaminantes presentes en el aire, incluido las PM_{2.5}, por lo que al disminuir su velocidad, disminuye su dispersión. En México solo el Distrito Federal y el AMM cuentan con un sistema de monitoreo ambiental. En ambas redes han reportado niveles de partículas PM_{2.5} que exceden el límite anual promedio de $15 \mu\text{g}/\text{m}^3$ (NOM-025-SSA1-1993)

Se comparó el promedio anual de partículas PM_{2.5} entre la zona 1 y 2, los niveles de concentración más altos se observaron en la zona 1 (Monterrey) en comparación con la zona 2 (Santa Catarina), con una diferencia estadísticamente significativa ($p=0.005$). En comparación con un estudio previo realizado, la zona 2 fue la que presentó los más altos niveles de partículas en el año 2007-2008.⁷³ Cabe mencionar que el tránsito vehicular va en aumento con los años, por ejemplo, tan solo en la avenida Gonzalitos transita por día un total de 140 mil vehículos⁷⁰ y son los vehículos automotrices productores de una variedad de PM, en su mayoría partículas

con diámetro menor a 2.5 μm . Se consideran la principal fuente de emisión de partículas en las ciudades.³⁰

Los resultados en cuanto a partículas PM2.5 son indicativos que la calidad de aire en el AMM no es adecuada. Esta información debería ser considerada, ya que estudios epidemiológicos han mostrado que los incrementos a corto plazo de tan solo 10 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ de partículas PM2.5 se han asociado a incrementos del 1 % en la mortalidad de la población por todas las causas. Así mismo la exposición a largo plazo incrementa: 1) 6 % el riesgo de mortalidad por causas no accidental por cada 10 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ de aumento en las PM2.5. 2) un riesgo aumentado de mortalidad por cáncer pulmonar (15-21 % por cada incremento de 10 $\mu\text{g}/\text{m}^3$) y 3) causas cardiovasculares (12-14 % por cada incremento de 10 $\mu\text{g}/\text{m}^3$). Además el hecho de vivir cerca de una avenida con gran carga vehicular parece estar asociado con elevado riesgo de estos últimos 3 resultados.

Actualmente el AMM no cuenta con estudios de mortalidad asociada a incrementos de partículas PM2.5. Sin embargo con los resultados obtenidos y la evidencia del riesgo de mortalidad por estar expuestos a estos contaminantes, podemos suponer que la población está en riesgo de presentar tales efectos adversos, dado que los niveles de contaminación por PM2.5, obtenidos a través del SIMA desde el año 2003, se han observado consistentemente elevados.

Estudios realizados sobre partículas PM2.5, muestran que la composición química de estas varía de un lugar a otro y que la composición de estas pudiera influir de manera importante en los efectos adversos a la salud. La legislación mexicana y de otros países se basa solamente en los niveles de partículas ambientales como medida de protección de la población a la contaminación del aire, ignorando la contribución que pudiera tener la composición química de estas en el desarrollo de los efectos adversos. Debido a la gran cantidad de compuestos presentes en las PM2.5 los estudios de composición química implican un alto costo, por lo que a la fecha no se cuenta con información relacionada con los componentes de estas partículas, particularmente en el AMM.

En la actualidad no hay un método oficial para el análisis de PAHs en partículas ambientales. Se han descrito varios métodos en la literatura que incluyen el análisis por cromatografía de gases/masas y cromatografía líquida de alta resolución (HPLC). Uno de los objetivos del presente estudio fue revalidar y mejorar la sensibilidad del proceso analítico de PAHs en partículas PM2.5 utilizando un HPLC con detector de fluorescencia. El método revalidado fue descrito por Eiguere-Fernandez. Las ventajas del método son su fácil extracción de la matriz por medio del sonicador y la preservación de la muestra en las etapas de concentración con corriente de nitrógeno. En la revalidación del método se mejoró la sensibilidad del proceso analítico, teniendo el antecedente de las concentraciones encontradas en las muestras, se partió de éstas para determinar los rangos

de la curva de calibración, así también se obtuvieron límites de cuantificación y detección más bajos en comparación con el estudio previo.⁷³ La concentración mínima de PAHs que se esperaba cuantificar en las partículas PM_{2.5} es de 0.01 ng/m³.

Los resultados de la extracción de PAHs en los filtros expresados como porcentaje de recuperación estuvieron dentro de los criterios de aceptación, lo que demuestra que el procedimiento es eficaz. Otra de las ventajas de la extracción por sonicación es el menor uso de solventes, lo que se traduce a menos costos de operación y también a una menor exposición a dichos solventes por parte del personal de laboratorio.⁷⁴ Para la correlación de los cálculos en el proceso analítico es importante medir exactamente los volúmenes reducidos durante las etapas de concentración, ya que pequeñas diferencias modifican la concentración final y por ende la concentración de PAHs. El uso de frascos ámbar es recomendable para evitar la degradación de los PAHs con la luz visible.

Para la evaluación de los parámetros de validación del sistema y del método analítico se utilizaron los criterios establecidos por los métodos US-EPA Method 8000B y USA-EPA Method TO-13^a respectivamente. Los resultados cumplieron los criterios de aceptación tanto en la revalidación del sistema como en la revalidación del método completo, y se demostró que el método fue adecuado para el análisis de PAHs en partículas PM_{2.5}.

El método revalidado por nuestro laboratorio se aplicó al análisis cuantitativo de 16 PAHs. Durante el periodo de muestreo (noviembre 2011-

diciembre 2012) se detectaron y cuantificaron en ambas zonas el fenantreno, fluoranteno, pireno, benzo[a]antraceno, criseno, benzo[b]fluoranteno, benzo[k]fluoranteno, benzo[a]pireno, dibenzo[ah]antraceno, benzo[ghi]perileno, indeno[1,2,3-cd]pireno y dibenzo[ae]pireno. El dibenzo[ah]antraceno y dibenzo[ae]pireno solo se detectaron en los meses de otoño-invierno (noviembre, diciembre, enero y febrero). En ambas zonas el PAHs que presentó los mayores niveles de concentración fue el benzo[ghi]perileno, el cual se ha asociado con emisiones vehiculares. Las concentraciones promedio de PAHs totales fueron de 3.31 y 2.61 ng/m³ para la zona 1 y 2, respectivamente, sin encontrarse diferencia significativa. Las concentraciones de PAHs cancerígenos contenidos en partículas PM_{2.5} se encontraron entre el 50 y 60%.

Fue en los meses de otoño-invierno donde se encontraron los niveles más elevados de PAHs totales en ambas zonas. Entre los factores que se encontraron que contribuyen a éste fenómeno son: la deficiencia de dispersión y limpieza debida a una menor velocidad el viento y por la degradación disminuida de PAHs causada por la menor radiación solar aumento de la humedad relativa en estos meses.

Estos resultados concuerdan con los reportes de estudios realizados en India, Suecia, China en los cuales también se observó la presencia de estos PAHs en partículas PM_{2.5} y la concentración de PAHs totales fue más alta en los meses de invierno.^{43, 48, 49} Estudios realizados en la Ciudad de México (2006-2007), en los cuales se midieron las concentraciones de PAHs

en PM2.5, se observaron las más altas concentraciones en épocas de frío-seco ($>2 \text{ ng/m}^3$), en comparación con las épocas de lluvia y de calor sin precipitaciones ($>1 \text{ ng/m}^3$). Los PAHs cancerígenos contenidos en éstas partículas se encontraron entre el 65 y 68%.⁵⁰

Actualmente no hay una legislación que establezca un límite para cada uno de los PAHs presentes en el aire. Algunos organismos como la Comunidad Europea recomiendan que el promedio anual de PAHs totales expresados como BAPeq no debe ser mayor a 1.0 ng/m^3 . En Estados Unidos en estado de Arizona recomienda que los niveles de BAPeq no sea mayor de 0.5 ng/m^3 como promedio anual y en Inglaterra se recomienda un valor de 0.25 ng/m^3 . Los resultados de este estudio muestran que durante el periodo evaluado, el promedio de la suma de equivalentes de B[a]P fue superior al límite recomendado por Inglaterra.

La Comunidad Europea ha estimado un riesgo de desarrollar cáncer pulmonar de 1×10^{-6} , 1×10^{-5} y 1×10^{-4} si los niveles de BAPeq en aire son de 0.01, 0.1 y ng/m^3 respectivamente. Los valores de PAHs totales expresados como ng/m^3 o como BAPeq obtenidos durante el periodo de muestreo, y que en comparación al estudio anterior realizado en estas mismas zonas están rebasando límites regulatorios, deberían ser considerados.

El análisis de ratios de PAHs para estimar la contribución de las fuentes indicó, que con un alta probabilidad, los automóviles son la principal fuente emisora de PAHs en ambas zonas. La zona 2 además de tener potencial exposición industrial, también posee una carga vehicular considerable debido a que en esta zona se encuentra la carretera a Saltillo. Por esta carretera fluyen principalmente vehículos de carga pesada lo cual podría explicar la similitud en los ratios de PAHs. Los ratios de B(a)P/B(ghi)P, B(a)A/[B(a)A+ Cri] y B(a)P/[B(a)P+ Cri] indican que la quema de combustibles (gasolina, carbón mineral y diesel, respectivamente) son la principal fuente de PAHs en ésta zona. El carbón mineral es utilizado como combustible a nivel industrial.

A la fecha, es poca la información científica que se tiene en torno a la contaminación del aire en el AMM. Con los resultados obtenidos en el presente trabajo, hace necesario que se realicen estudios epidemiológicos de mortalidad y morbilidad que pueden estimar los efectos que las partículas ambientales pueden tener en nuestra población.

Ante esta situación, en la cual está comprometida la calidad del aire con la presencia de PAHs en partículas PM_{2.5} del AMM, se realizó el monitoreo del 1-hidroxipireno como biomarcador de exposición a PAHs tanto en la zona 1 como en la zona 2 y no se observaron diferencias en los niveles de excreción entre las poblaciones de ambas zonas. Esto puede haberse

reflejado ya que lo mismo sucedió con la concentración de PAHs totales determinados en las muestras de PM2.5 de ambas zonas.

La población del AMM mostro niveles de excreción inferiores al primer nivel de la Guía Benchmark, el cual es de 0.24 μmol 1-OHP/mol de creatinina (Cr) para individuos no expuestos y no fumadores. Sin embargo comparando nuestros resultados de excreción de 1-OHP con los obtenidos en otras poblaciones no expuestas ocupacionalmente, resultaron similares a los de Suecia, Alemania, Italia y Canadá.⁶⁴

El presente trabajo constituye el primer estudio en México en el que se monitorea la exposición a PAHs biológicamente mediante el 1-OHP urinario en población adulta no ocupacionalmente expuesta.

Perspectivas

Evaluar otras zonas con potencial riesgo de exposición a PAHs por industrias petroquímicas adyacentes

Evaluar otros biomarcadores de exposición-daño de los PAHs, como aductos en el ADN

CAPÍTULO V.

Conclusiones

1.- Los niveles de PM_{2.5} en las zona 1 y zona 2 del AMM estudiadas rebasaron el límite anual de 15 µg/m³ establecido por la NORMA OFICIAL MEXICANA NOM-025-SSA1-1993. La zona 1 (con alto tráfico vehicular) tuvo los niveles más altos.

2.- Los meses con los niveles más altos de PM_{2.5} en ambas zonas fueron a los correspondientes a las estaciones de otoño-invierno.

3.- En ambas zonas se detectaron y cuantificaron 12 PAHs: fenantreno, fluoranteno, pireno, benzo[a]antraceno, criseno, benzo[b]fluoranteno, benzo[k]fluoranteno, benzo[a]pireno, dibenzo[ah]antraceno, benzo[ghi]perileno, indeno[1,2,3-cd]pireno y dibenzo[ae]pireno.

4.- El hidrocarburo aromático policíclico más abundante en ambas zonas fue el benzo[ghi]perileno, seguido de benzo[b]fluoranteno y indeno[1,2,3-cd]pireno.

5.- En ambas zonas el promedio anual de hidrocarburos aromáticos policíclicos expresados como BAPeq fue superior al límite anual recomendado por Inglaterra (0.25 ng/m^3), país que los monitorea anualmente.

6.- Los niveles de excreción de 1-OHP de la población del AMM se mostraron inferiores a los establecidos en la Guía Benchmark para personas no ocupacionalmente expuestas y no fumadoras.

Bibliografía

1. Croxatto, H. (1985). Ciencia, Humanismo y Biósfera. Ambiente y Desarrollo, 9-12.
2. Holdridge, L. (1979). Ecología Basada en Zonas de Vida. San José, Costa Rica: IICA.
3. Enkerlin, E., Cano, G., Garza, R., & Vogel, E. (1997). Ciencia ambiental y Desarrollo Sostenible. México: International Thomson.
4. Solís Segura, L. M., & López Arriaga, J. (2003). Principios básicos de contaminación ambiental. Toluca, México: Universidad Autónoma del Estado de México.
5. Flores, J. (2004). Efectos globales de la contaminación. En L. Albert, Toxicología Ambiental (págs. 191-213). Juárez, Chihuahua: Universidad Autónoma de Ciudad Juárez.
6. Turk, A., Turk, J., & Wittes, J. (1997). Ecología contaminación medio ambiente. McGraw-Hill Interamericana.
7. OMS. (2005). Guías de calidad del aire de la OMS relativas al material particulado, el ozono, el dióxido de nitrógeno y el dióxido de azufre.
8. Seinfeld, J., & Pandis, S. (1997). Atmospheric Chemistry and Physics: From Air Pollution to Climate Change. Wiley-Interscience.
9. Instituto Nacional de Ecología. (2010). INSTITUTO NACIONAL DE ECOLOGÍA Y CAMBIO CLIMÁTICO. Principios de la Medición de la Calidad del Aire, 42. México. Obtenido de <http://www.inecc.gob.mx/>
10. Albert, L. (1997). Introducción a la Toxicología Ambiental. México: Gobierno del Estado de México.
11. Künzli, N., & Tager, I. (2005). Air pollution: from lung to heart. Swiss Med Wkly, 697-702.
12. Rosales-Castillo, J., Torres-Meza, V., Olaiz-Fernandez, G., & Borja-Aburto, V. (2001). Los efectos agudos de la contaminación del aire en la salud de la población: evidencias de estudios epidemiológicos. Salud Pública de México, 544-555.
13. Miguel-Pérez, G., Maya, G., Flores-Márquez, A., Amador-Muñoz, O., Villalobos-Pietrini, R., Eguía-Aguilar, P., Perezpeña-Diazconti, M., Arenas-Huertero, F.(2013). Efectos de la contaminación del aire en células humanas de pulmón. Boletín Médico del Hospital Infantil de México, 70(2):107-115.

14. USEPA. (Abril de 2008). *United States Environmental Protection Agency*. Recuperado el 8 de Marzo de 2011, de <http://www.epa.gov/airscience/air-particulatematter.htm>
15. Harvey, R. (1997). *Polycyclic Aromatic Hydrocarbons*. n: Wiley-VCH.
16. Douglas, W., Dockery, J., & Spengler, J. (1995). Air pollution and daily mortality and particulate air pollution. In *particulate air pollution and daily mortality*. Health Effects Institute, Cambridge, M.A.
17. Xianglu, H., P.L., & Naehe. (2005). review of traffic-related air pollution exposure assessment studies in the developing world.
18. Myers, I., & Maynard, R. (2005). Polluted air outdoors and indoors. (55), 432-438.
19. WHO. (2005). World Health Organization. Obtenido de <http://www.who.int/en/>
20. USEPA. (2005). U.S Environmental Protection Agency. Obtenido de Particulate matter research publications.
21. Connell, D. (2005). *Basic Concepts of Environmental Chemistry*. Boca Ratón, New York: Taylor & Francis Group.
22. ATSDR. (2004). Agency for Toxic Substances and Disease Registry. Toxicological Profile for Creosote.
23. Pope C.A. III, R. R. (2002). Lung cancer, cardiopulmonary mortality, and long-term exposure to fine particulate air pollution. *Journal of the American Medical Association*, 287, 1132–1141.
24. Greaves, S. (2006). Variability of personal exposure to fine particulates for urban commuters inside an automobile. *Transportation Research Record*, 161–169.
25. IARC. (1973). *Certain Polycyclic Aromatic Hydrocarbons and heterocyclic compounds. Monographs on the Evaluation of carcinogenic risks to humans, Vol. 3.*
26. Lewtas, J. (2007). Air pollution combustion emissions: characterization of causative agents and mechanisms associated with cancer, reproductive, and cardiovascular effects. *Mutation Research - Genetic Toxicology and Environmental*, 95-133.
27. Hansen, A., Raaschou-Nielsen, O., & Knudsen, L. (2005). Urinary 1-hydroxypyrene in children living in city and rural residences in Denmark. *Science of the Total Environment*(363), 70-77.

28. Hansen, A., Mathiesen, L., Pedersen, M., & Knudsen, L. (2008). Urinary 1-Hydroxypyrene (1-HP) in environmental and occupational studies- A review. *International Journal of Hygiene and Environmental Health*(211), 471-503.
29. Hsi-Hsien, Y., Shu-An, L., Dennis P.H., H., Mu-Rong, C., & Che-Yu , T. (2008). PM2.5 and Associated Polycyclic Aromatic Hydrocarbon and Mutagenicity Emissions from Motorcycles. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 412-415.
30. Lightly, J., Veranth , J., & Sarofin, A. (2000). Combustion aerosols:factors governing their size and composition and implications to human health. *Journal of the Air & Waste Management Association*(50), 1565-1618.
31. Deng, W., Louie, P., Liu, W., Bi, X., Fu, J., & Wong, M. (2006). Atmospheric levels and cytotoxicity of PAHs and heavy metals in TSP and PM2.5 at an electronic waste recycling site in southeast China. *Atmospheric Environment*, 6945-6955.
32. IRIS. (1999). Integrated Risk Information System. Obtenido de <http://www.epa.gov/iris/subst/index.html>
33. Koss , G., & Tesseraux , I. (1999). Hydrocarbons. *In Toxicology*, 603-609
34. Srám, R., Binková, B., Dejmek, J., & Bobak, M. (s.f.). Ambient air pollution and pregnancy outcomes: a review of the literature. 113(4).
35. Kamiya, M., Toriba, A., Onoda, Y., Kizu, R., & K., H. (2005). Evaluation of estrogenic activities of hidroxyolated polycyclic aromatic hydrocarbons in cigarette smoke condensate. (43).
36. Jedrychowski, W., Galas, A., Pac, A., Flak, E., Camman, D., Rauh, F., y otros. (2005). Prenatal ambient air exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons and the ocurrence of respiratory symptoms over the first year of line. (20).
37. Vineis, P., & Husgafvel-Pursiainen, K. (2005). Air pollution and cancer: biomarker studies in human populations. 26(11).
38. Boffeta P, Jourenkova N & Gustavsson P (1997) Cancer risk from occupational and environmental exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons. *Cancer Causes & Control* 8: 444-472
39. Ronneberg, A., Haldorsen, T., Romundstad, P., & Andersen, A. (1999). Occupational exposure and cancer incidence among workers from an aluminum smelter in western Norway. 25(3).

40. Cross, A., & Sinha, R. (2004). Meat-related mutagens/carcinogens in the etiology of colorectal cancer. (44).
41. Oficina Internacional del Trabajo. (1998). Enciclopedia de Salud y Seguridad en el Trabajo. Obtenido de http://www.insht.es/InshtWeb/Contenidos/Documentacion/TextosOnline/EnciclopediaOIT/tomo4/104_07.pdf
42. Hansen, A., Mathiesen, L., Pedersen, M., & Knudsen, L. (2007). Urinary 1-hydroxypyrene (1-HP) in environmental and occupational studies- A review. *International Journal of Hygiene and Environmental Health*, 471-503.
43. Srogi, K. (2007). Monitoring of environmental exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons: a review. *Environmental Chemistry Letters*(5), 169-195.
44. Nisbet, I., & LaGoy, P. T. (1992). Toxic equivalency factors (TEFs) for polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs). *Regulatory Toxicology and Pharmacology*(16), 290-300.
45. Comunidad Europea. (1996). Directiva 96/62/CE del Consejo de 27 de septiembre de 1996 sobre evaluación y gestión de la calidad del aire ambiente, Diario Oficial L296.
46. NATICH. (1992). Report on state, local, and EPA air toxics activities. US Environmental Protection Agency.
47. Department of the Environment, Transport and the Regions. (1999). Expert Panel on Air Quality Standards 9th Report. Polycyclic Aromatic Hydrocarbons.
48. Fertmann, R., Tesseraux, I., Schümann, M., & Neus, H. (2002). Evaluation of ambient air concentrations of polycyclic aromatic hydrocarbons in Germany from 1990 to 1998. *Journal of Exposure Analysis and Environmental Epidemiology*, 115-123.
49. Gustafson, P., Östman, C., & Sällsten, G. (2008). Indoor levels of polycyclic aromatic hydrocarbons in homes with and without wood burning for heating. *Environmental Science & Technology* 2008(14), 5074-5080.
50. Mugica, V., Torres, M., Salinas, E., Gutierrez, M., & García, R. (2010). Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in the Urban Atmosphere of Mexico City. En V. Villanyi, & b. V. Villanyi (Ed.), *Polycyclic Aromatic* (págs. 75-97).

51. ATSDR. (2006). Toxicological profile for polycyclic aromatic hydrocarbons.
52. Bouchard, M., & Viau, C. (1999). Urinary 1-hydroxypyrene as a biomarker of exposure to PAHs: biological monitoring strategies and methodology for determining biological exposure indices for various work environments. 4(3).
53. Jongeneelen, F., Anzion, R. B., & Henderson, P. T. (1987). Determination of hydroxylated metabolites of polycyclic aromatic hydrocarbons in urine. (413).
54. Jongeneelen, F., Anzion, R. B., & Henderson, P. T. (1997). 1-Hydroxypyrene in urine as a biological indicator of exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons in several work environments. (32).
55. Kuusimäki, L., Peltonten, Y., Mutanen, P., Peltonten, K., & Savela, K. (2004). Urinary hydroxy-metabolites of naphthalene, phenanthrene and pyrene as marker of exposure to diesel exhaust. (77).
56. Wang, Y., Zhang, W., Dong, Y., Fan, R., Sheng, G., & Ji, F. (s.f.). Quantification of several monohydroxylated metabolites of polycyclic aromatic hydrocarbons in urine by high-performance liquid chromatography with fluorescence detection. (383).
57. Strickland, P., Kang, D., & Sithisarankul, P. (1996). PAHs metabolites in urine as biomarkers exposure and effect. 104(5).
58. Viau, C., Vysocil, A., & Martel, L. (1995). Background urinary 1-hydroxypyrene levels in non-occupationally exposed individuals in the Province of Québec, Canada and comparison with its excretion in workers exposed to PAH mixtures. (163).
59. Chuang J., C. P. (1999). Polycyclic aromatic hydrocarbons exposures of children in low-income families. (2).
60. Jongeneelen, F. J. (2001). Benchmark Guideline for Urinary 1-Hydroxypyrene as Biomarker of Occupational Exposure to Polycyclic Aromatic Hydrocarbons. *Annals of Occupational Hygiene*, 45(1), 3-13.
61. Van Rooij, J., Veeger, M., Bodelier-Bade, M., Scheepers, P., & Jongeneelen, F. (1994). Smoking and dietary intake of polycyclic aromatic hydrocarbons as sources of interindividual variability in the baseline excretion of 1-hydroxypyrene in urine. *International Archives of Occupational and Environmental Health*(66), 55-65.

62. Scherer, G., Frank, S., Riedel, K., Meger-Kossien, I., & Renner, T. (2000). Biomonitoring of exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons of nonoccupationally exposed person. *Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention*(9), 373-380.
63. Gündel, J., Mannschreck, K., Ewers, U., & Angerer, J. (1996). Urinary levels of hydroxypyrene, 1-,2-,3-, and 4-hydroxyphenanthrene in females living in an industrial area of Germany. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*(31), 585-590.
64. Levin, J. (1995). First International workshop on 1-hydroxypyrene as biomarker for PAHs exposure in man-summary and conclusions. *Science Total Environment*(38), 1141-1144.
65. Trejo-Acevedo, A., Rivero-Pérez, N., Flores-Rámirez, R., Orta-García, N., Varela-Silva, J., & Pérez-Maldonado, I. (2012). Assesment of Levels of Persistent Organic Pollutants and 1-Hydroxypyrene in Blood an Urine Samples from Mexican Children Living in an Endemic Malaria Area in México. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*.
66. Martínez-Salinas, R., Leal, M., Batres-Esquivel, L., Domínguez-Cortinas, G., Calderón, J., Díaz-Barriga, F., y otros. (2010). Exposure of children to polycyclic aromatic hydrocarbons in Mexico: assessment of multiple sources. *International Archives of Occupational and Environmental Health*, 617-623.
67. INEGI. (2012). Anuario de estadísticas por entidad federativa 2012.
68. SIMA. (s.f.). Sistema Integral de Monitoreo Ambiental. Obtenido de http://www.ni.gob.mx/?P=med_amb_mej_amb_sima
69. Garza-Ocañas, L., Omar, S.-G., Garza-Ullóa, H., & Luján-Rangel, R. (2009). DETERMINACION DE HIDROCARBUROS AROMATICOS POLICICLICOS EN PARTICULAS AMBIENTALES PM 2.5 DE DOS ZONAS DEL AREA METROPOLITANA DE MONTERREY. U.A.N.L. Monterrey, Nuevo León México: Memorias XXV CONGRESO NACIONAL DE INVESTIGACIÓN BIOMÉDICA.
70. El Horizonte. (9 de Abril de 2013). Colocan cables sobre avenida Gonzalitos para estudio vial. Obtenido de <http://elhorizonte.mx/a/noticia/384419>.
71. Zhang, X. L., Tao, S., Liu, W. X., Yang, Y., Zuo, Q., & Liu, S. Z. (2005). Source Diagnostics of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons Based on Species Ratios: A Multimedia Approach. *Environmental Science & Technology*, 9109–9114.

72. INSHT. (s.f.). Determinación de 1-hidroxipireno en orina - Método de hidrólisis enzimática con detección fluorimétrica / Cromatografía líquida de alta resolución. Obtenido de http://www.insht.es/InshtWeb/Contenidos/Documentacion/FichasTecnicas/MetodosAnalisis/Ficheros/MB/MB_023_A99.pdf
73. González-Santiago, O. (2009). Determinación de PAHs en partículas PM2.5 en una zona de alto tráfico vehicular y otro potencial impacto industrial del Área Metropolitana de Monterrey. Facultad de Medicina, U.A.N.L.
74. Ryno, M., Rantanen, L., Papaioannou, E., Konstandopoulos, A., Koskentalo T., & Savela, K. (2006). Comparación of pressurized fluid extraction, Soxhlet extraction and sonication for the determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in urban air and diesel exhaust particulate matter. *Journal Environmental Monit.*, 488-493.

Anexos

Anexo 1

Material, equipos y reactivos utilizados

Cromatógrafo de líquidos de alta resolución (HPLC). Agilent 1100.

Muestreador de alto volumen Hi-Vol para partículas PM2.5. (TICHS[®] Environmental).

Campana de extracción

Balanza analítica

Muffla

Baño de ultrasonido

Plancha de calentamiento

Congelador -80°C

Termohigrómetro

Kit de calibración equipos Hi-Vol Variflo.

Manómetro.

Balanza analítica.

Desecador.

Filtros de Fibra de vidrio GF/A Watman (No. Cat 1820-9932)

Papel aluminio.

Cortador, tijeras.

Bomba de vacío.

Columna Supelcosil LC-PAH

Micropipetas de 100, 1000µL.

Puntillas 100, 1000 µL.

Sistema de filtración de solventes Millipore.

Matraces de aforación de 100, 250, 500 mL.

Pipetas volumétricas de 10, 25 mL.

Filtros de .45 μm Millipore.

Viales de vidrio ámbar de 2 mL con tapón de rosca y Septem de PTFE/Silicon.

Termómetro -10 -200° C.

Vaso de precipitado de 500, 1000 mL.

Gradillas para viales de 2 mL.

Frascos de polietileno de 100 mL

Frascos ámbar de 30 mL

Jeringas desechables

Tubos Corning de 50 mL

Columnas Octadecil C18 SPE con un volumen de 6 mL y 500 mg de adsorbente (marca Resprep)

Reactivos

Acetonitrilo grado HPLC.

Diclorometano grado HPLC.

Agua bidestilada.

Nitrogeno grado industrial

Sílica gel con marcador

Metanol

Tampón de Acetatos 0.2 M, pH=5

Enzima β -glucuronidasa/arilsulfatasa (*Helix pomatia* tipo HP-2/ 98000U/ml, SIGMA)

Estándares individuales de PAHs AccusStandard:

naftaleno

acenafteno,

fluoreno,

fenantreno,
antraceno,
fluoranteno
pireno
benzo[a]antraceno
criseno
benzo[b]fluoranteno
benzo[k]fluoranteno
benzo[a]pireno
dibenzo[ah]antraceno
benzo[ghi]perileno
indeno[1,2,3-cd]pirneo
Dibenzo[ae]pireno
1-hidroxipireno

Anexo 2

Calibración del muestreador de alto volumen con separador para PM2.5

Se instala un filtro limpio en el muestreador.

Se cierra el equipo.

Se instala el manómetro en el muestreador.

Se deja operar el equipo por cinco minutos.

Se toma la caída de presión en el manómetro.

Se toman los datos de presión atmosférica y temperatura locales.

Una vez tomada la lectura del manómetro se apaga el equipo y se retira el filtro.

Se instala el calibrador (VARIFLO) en el muestreador (Figura A1.1).



Figura A1.1 Instalación del VARIFLO.

Los orificios del VARIFLO deben encontrarse totalmente abiertos.

Se enciende nuevamente el quipo y se deja operar por al menos dos minutos.

Se comienza a girar la perilla del VARIFLO para ajustar la lectura de presión del manómetro al mismo valor que se obtuvo con el filtro limpio.

Una vez que se han igualado las presiones se toma la caída de presión del VARIFLO (Figura A 1.2)

Toda la información debe ser vaciada en la hoja de calibración del muestreador.



Figura A 1. 2.- Lectura de la caída de presión del VARIFLO.

Cálculos

1.- Primero se obtiene el valor del flujo de diseño del equipo. Este flujo corresponde al obtenido con el filtro limpio. La presión del manómetro medida en el equipo en pulgadas de agua debe transformarse a mm Hg, para ello se multiplica por 1.87.

A la presión ambiente (P_a) se le resta la caída de presión del equipo DP_{cfd} . Se denomina $P_1 = (P_a - DP_{cfd})$.

Se obtiene la relación de presión (P_1/P_a), este cociente siempre va a ser menor de 1. El valor obtenido de P_1/P_a se cruza en la tabla de flujos contra el valor de temperatura y donde se cruza es el flujo.

2.- El segundo paso es obtener el valor de flujo dado por el calibrador VARIFLO. La presión del manómetro medida en el equipo en pulgadas de agua debe transformarse a mm Hg.

Se obtiene la siguiente expresión:

$$Q_{STD} = \frac{\sqrt{\frac{\Delta H * P_a * T_{STD}}{P_{STD} * T_1}} - b}{m}$$

Éste es el flujo volumétrico a condiciones estándar.

m y b son la pendiente y la intersección al eje de la calibración del VARIFLO a condiciones estándar.

Una vez obtenido el flujo a condiciones estándar se transforma a las condiciones locales de presión y temperatura.

$$Q_a = Q_{STD} * \frac{P_{STD} * T_1}{P_a * T_{STD}}$$

El flujo obtenido con el VARIFLO debe ser el mismo (con un error no mayor del 5 %) que se obtuvo de la tabla con el filtro limpio instalado.

Si esto sucede la calibración se considera satisfactoria.

Anexo 3

Cálculo de la concentración de PM2.5

Para obtener la concentración del filtro se hace lo siguiente:

1. Se obtiene el flujo de trabajo del equipo tal y como lo indica el formato de instalación del filtro.
2. Se obtiene el volumen de aire muestreado: $V = Qa * t$.

Donde:

V = Volumen de aire muestreado (m³)

Qa = Flujo volumétrico (m³/min)

t = Tiempo (min)

Ya obtenido el volumen de aire se procede al cálculo de la concentración

$$C = \frac{(W_f - W_i) * 10^6}{V} \quad (\mu\text{g} / \text{m}^3)$$

Donde:

C = Concentración

Wi = Peso del filtro antes del muestreo (gramos)

Wf = Peso del filtro después del muestreo (gramos)

Universidad Autónoma de Nuevo León

Facultad de Medicina. Departamento de Farmacología y Toxicología

MUESTREADOR DE PARTICULAS PM2.5 CON SISTEMA VENTURI

Equipo: Muestreador de Alto Volumen

Marca: Tisch-Enviroment Estado: _____

Modelo: _____ Ciudad: _____

No. de serie: _____ Localidad: _____

FILTRO

No. de Filtro: _____

Fecha de instalación: _____ Fecha de retiro: _____

DATOS DEL MUESTREO

ti: _____ Hrs Convertir a minutos multiplicando por 60

tf: _____ Hrs

$\Delta t = t_f - t_i =$ _____ Hrs $\Delta t =$ _____ Mins

Pavg: _____ mm Hg

Tavg: _____ °C

Nota 1: ti y tf tomados del indicador de tiempo transcurrido del equipo

Nota 2: La presión y temperatura son promedios del día del muestreo

FLUJO DE MUESTREO

$\Delta H_2O_i =$ _____ in H2O Tomada cuando se instala el filtro en el equipo

$\Delta H_2O_f =$ _____ in H2O Tomada antes de retirar el filtro del equipo después del muestreo

$\Delta H_2O_{avg} = (\Delta H_2O_f + \Delta H_2O_i) / 2 =$ _____ in H2O

Para convertir a mm Hg se multiplica X 1.87 $\Delta P = \Delta H_2O_{avg} * 1.87 =$ _____ mm Hg

$(P_{avg} - \Delta P) / P_{avg} =$ _____

Para encontrar el valor del flujo cruzar el último resultado con la temperatura en la "Look-up Table"

Flujo de muestreo Qa = _____ **m³/min**

CONCENTRACIÓN DE PARTICULAS PM2.5

Numero de filtro = _____

	_____	_____
	Inicial	Final
Peso (g)	_____	_____
Fecha	_____	_____
Operador	_____	_____

Calcular el volumen total del aire muestreado con la siguiente ecuación:

$$V = Qa \times t = \underline{\hspace{2cm}}$$

Donde:

V = volumen de aire total

Qa = flujo de muestreo m³/min

t = tiempo total en minutos

Calcular y reportar la concentración de partículas con la siguiente ecuación:

$$PM2.5 = (Pf - Pi/V) (10^6)$$

Donde:

Pf = peso final del filtro en gramos

Pi = peso inicial del filtro en gramos

V = volumen de aire total

Concentración de partículas PM2.5 = _____ **µg/m³**

Responsable

Firma

Anexo 4

Cálculo de la concentración de PAHs en ng/m^3 a partir de $\mu\text{g/mL}$

- 1.- Primero se obtiene la concentración del extracto PAH en $\mu\text{g/mL}$ de la tira analizada. Para esto se aplica la ecuación de la recta (obtenida en la validación del método completo) al área bajo la curva del respectivo PAHs.
- 2.- Posteriormente se convierte esta concentración a μg inyectados en el HPLC. Esto se hace multiplicando la concentración obtenida del correspondiente PAHs por el volumen final reducido 0.1-0.2 mL
- 3.- Una vez obtenida la cantidad de μg inyectados, se calculan los μg totales de la tira analizada. Para ello se multiplica esta cantidad en μg por el primer volumen reducido de 2-3 mL.
- 4.- Para obtener los μg totales de cada PAHs en el filtro completo, los μg totales de la tira individual se multiplican por 9. Cabe recordar que la tira que se analizó fue de 1 x 8 pulgadas y representa 1/9 del filtro.

5.- Con los μg totales del filtro se procedió a calcular los ng/m^3 de cada PAHs. Esto se hizo dividiendo los μg totales entre el volumen de aire que pasó a través del filtro durante el muestreo.

Ejemplo. Cálculo para obtener los ng/m^3 a partir de $\mu\text{g}/\text{mL}$

Nota. Hay que recalcar que el proceso de tratamiento de la muestra involucra 2 etapas de concentración. El volumen final de cada evaporación fue medido exactamente y aplicado a cada muestra en particular, por lo que el ejemplo que se muestra a continuación, se realizó tomando el volumen que se indica para fines de cálculo.

Base del cálculo.

Volumen aire muestra = 1600 m^3 ($1500\text{-}1600 \text{ m}^3$)

Fracción del filtrado analizado = $1/9$

Volumen final de la primera concentración = 2mL ($2\text{-}3 \text{ mL}$)

Volumen final de la segunda concentración = 0.1 mL ($0.1\text{-}0.2 \text{ mL}$)

Cálculo del Factor (F) de equivalencia de $\mu\text{g}/\text{mL}$ a ng/m^3

$$F = (1/1600 \text{ m}^3) (1000 \text{ ng}/\text{m}^3) (9) (2) (0.1)$$

$$F = 1.125$$

Anexo 5

Carta de Consentimiento Informado

Proyecto de Investigación

Determinación y cuantificación de PAH's en partículas PM2.5 en el Área Metropolitana de Monterrey y su relación con el 1-hidroxicipireno como marcador biológico de exposición

Patrocinador: CONACYT/PAICYT

Investigador principal: Dr. *med.* Lourdes Garza Ocañas

Teléfono: (0181) 8348 5247/8348 6883

Centro: Universidad Autónoma de Nuevo León

Departamento de Farmacología y Toxicología

Ave. Gonzalitos 235 Norte, 1er Piso, Col. Mitras Centro

Monterrey, Nuevo León

INVITACIÓN A PARTICIPAR:

Usted ha sido invitado a participar en forma voluntaria en un estudio de investigación. Si acepta participar en este estudio es importante que lea este consentimiento informado pues puede tener palabras que Usted no comprenda, en ese caso, por favor solicite al personal del estudio que le explique cualquier palabra que no entienda.

OBJETIVO DEL ESTUDIO:

El objetivo es determinar exclusivamente los niveles de excreción del 1-hidroxicipireno (un metabolito del pireno, que es un hidrocarburo aromático policíclico presente en partículas del aire) en orina.

El 1-hidroxipireno es un marcador biológico de exposición que se estudia para conocer el grado en que las personas se exponen a los hidrocarburos aromáticos policíclicos del ambiente. El pireno entra a nuestro organismo por medio de la respiración y es absorbido por nuestro organismo, posteriormente en el torrente sanguíneo llega al hígado, donde es transformado a compuestos más simples para poderse eliminar del cuerpo por la orina.

INFORMACIÓN PARA EL VOLUNTARIO:

Su participación constará en proporcionar 5 muestras de orina, una por mes durante los meses de agosto, noviembre y diciembre de 2011, enero y febrero de 2012, para lo cual se le proporcionará un frasco recolector de orina cada mes, así también la calendarización para la recolecta de muestras (la calendarización puede ser modificada por cuestiones del estudio). Antes de su participación Usted llenará una encuesta de datos generales, donde se le solicita información relevante y de esta forma se seleccionará a los voluntarios que participarán en el estudio.

Dos días antes de proporcionar la muestra de orina, no debe de ingerir alcohol. En caso de ser mujer, si está embarazada será retirada del estudio.

CRITERIOS DE SELECCIÓN DE LOS VOLUNTARIOS:

Para poder participar en el estudio Usted debe:

- Haber firmado el consentimiento informado para participar en el estudio, de acuerdo con las Buenas Prácticas Clínicas
- Ser un hombre o mujer de 20 a 60 años de edad.
- Ser sujetos que han entendido y están dispuestos a cumplir con los procedimientos del estudio, incluyendo el seguimiento y las restricciones.

Usted no podrá participar en el estudio en caso de:

- Antecedentes de exposición crónica al alcohol u otras sustancias de abuso dentro del último año.
- Tener una historia de fumador en el último trimestre

- Si es una mujer embarazada en el momento de la selección.

RESPONSABILIDADES DEL VOLUNTARIO:

Deberá seguir con las instrucciones que se le proporcionen, así también con la calendarización de la recolección de muestras.

POSIBLES RIESGOS Y MOLESTIAS:

Ninguno.

CONFIDENCIALIDAD:

Personal del estudio recolectará información sobre Usted. En todos estos registros su nombre será remplazado por un número. Todos los datos recopilados se mantendrán en confidencialidad.

Su identidad no será revelada en ningún momento y sus datos se mantendrán en confidencialidad.

PARTICIPACIÓN/RETIRO VOLUNTARIO DEL ESTUDIO:

Su participación es completamente voluntaria. La decisión de participar o no en el estudio es suya. Aún cuando decida participar, Usted es libre de abandonar el estudio en cualquier momento.

PREGUNTAS/INFORMACIÓN:

Si usted tiene alguna duda en cuanto a la investigación, deberá comunicarse al teléfono que aparece en la página principal.

CONSENTIMIENTO:

Lea la siguiente sección detenidamente y si está de acuerdo con la información, firme y coloque la fecha.

Reconozco que tuve la oportunidad de hacer preguntas acerca del presente estudio de investigación y que fueron respondidas de manera satisfactoria. Comprendo que si deseo hacer más preguntas respecto a la investigación

puedo contactarme con el personal al número de teléfono que está en la primera página de este consentimiento.

Se me han proporcionado los detalles de cuál y cómo será mi participación en el presente estudio.

Al otorgar mi consentimiento, reconozco que mi participación en el estudio es voluntaria y que puedo interrumpirla en cualquier momento sin recibir sanción alguna.

Acepto que los datos recabados para el estudio sean usados para los fines descritos anteriormente. Acepto que se pueda dar acceso directo a mis resultados a las personas autorizadas.

He leído y comprendo la información presente en este formulario de Consentimiento Informado. Recibiré una copia firmada y fechada del mismo.

SECCIÓN DE FIRMAS:

Firma del voluntario	Nombre	Fecha
----------------------	--------	-------

Dirección: _____

Firma del testigo	Nombre	Fecha
-------------------	--------	-------

Dirección: _____

Firma del testigo	Nombre	Fecha
-------------------	--------	-------

Dirección: _____

Firma y nombre de quien explicó el Consentimiento Informado	Fecha
--	-------

Anexo 6

Concentración de partículas PM2.5 ($\mu\text{g}/\text{m}^3$) por fecha de muestreo.

FECHA	ZONA 1	ZONA 2	FECHA	ZONA 1	ZONA 2
01-nov-11	42.8	30.2	31-may-12	21.5	25.1
07-nov-11	28.3	28.5	04-jul-12	13.5	22.1
13-nov-11	37.3	37.7	10-jul-12	42.5	14.3
19-nov-11	30.8	34.3	23-jul-12	32.7	15.0
25-nov-11	25.8	23.3	31-jul-12	54.1	19.9
01-dic-11	29.7	34.8	05-ago-12	25.9	10.4
07-dic-11	35.1	28.9	11-ago-12	37.6	12.1
20-dic-11	12.9	15.9	17-ago-12	10.2	10.2
27-dic-11	32.5	35.0	30-ago-12	50.6	22.1
01-ene-12	29.7	98.8	05-sep-12	15.2	15.2
18-ene-12	24.3	39.0	12-sep-12	30.1	17.6
24-ene-12	23.4	51	17-sep-12	38.2	13.2
14-feb-12	31.0	36.8	25-sep-12	21.0	14.3
22-feb-12	60.8	29.2	05-oct-12	17	25
29-feb-12	74.0	28.2	11-oct-12	32.2	9.6
10-mar-12	63.7	23.4	17-oct-12	37.6	14.3
16-mar-12	14.1	21.1	28-oct-12	30.6	16.2
22-mar-12	8.1	22	06-nov-12	60.0	15.1
28-mar-12	16.5	25.4	12-nov-12	40.9	36.0
04-abr-12	17.5	17.5	23-nov-12	69.2	28
10-abr-12	8.9	14.3	29-nov-12	11	17.5
16-abr-12	15.1	26	04-dic-12	61.5	24.5
22-abr-12	7.5	23.7	11-dic-12	45.2	19.5
11-may-12	40.1	19.3	20-dic-12	76.0	38.4
17-may-12	60.6	19.3	26-dic-12	49.9	20.8
25-may-12	30.4	24			

Anexo 7

Promedio mensual de cada PAHs (ng/m³) cuantificados en las partículas PM_{2,5} obtenidas en la ZONA 1 y 2.

Zona 1

PAHs (ng/m ³)	MES-AÑO													Promedio
	nov-11	dic-11	ene-12	feb-12	mar-12	abr-12	may-12	jul-12	ago-12	sep-12	oct-12	nov-12	dic-12	
Dibenzo[ah]antraceno	0.33	0.07	0.08	0.06	<LC	0.14								
Dibenzo[ae]pireno	0.40	0.12	0.13	0.10	<LC	0.19								
Fenantreno	0.12	0.10	0.08	0.14	0.08	0.10	0.09	<LC	0.06	0.07	0.05	0.10	0.12	0.09
Fluoranteno	0.20	0.23	0.17	0.31	0.25	0.12	0.12	<LC	0.09	0.11	0.09	0.13	0.23	0.17
Benzo[k]fluoranteno	0.33	0.34	0.26	0.25	0.24	0.20	0.06	0.04	0.07	0.07	0.06	0.17	0.23	0.18
Pireno	0.26	0.29	0.28	0.37	0.20	0.12	0.12	0.04	0.07	0.10	0.07	0.18	0.32	0.18
Benzo[a]pireno	0.26	0.38	0.31	0.33	0.21	0.24	0.06	0.03	0.05	0.08	0.06	0.21	0.28	0.19
Benzo[a]antraceno	0.29	0.46	0.26	0.30	0.20	0.13	0.08	0.04	0.07	0.09	0.08	0.20	0.39	0.20
Criseno	0.33	0.58	0.29	0.37	0.22	0.26	0.11	0.05	0.08	0.10	0.09	0.27	0.45	0.25
Indeno[1,2,3-cd]perileno	0.56	0.52	0.52	0.43	0.50	0.22	0.12	0.13	0.15	0.15	0.12	0.23	0.37	0.31
Benzo[b]fluoranteno	0.55	0.61	0.47	0.46	0.37	0.35	0.16	0.09	0.15	0.14	0.13	0.32	0.43	0.33
Benzo[ghi]perileno	1.00	1.36	1.24	1.09	1.19	0.56	0.32	0.25	0.43	0.45	0.33	0.70	0.95	0.76

Zona 2

PAHs (ng/m ³)	MES-AÑO													Promedio
	nov-11	dic-11	ene-12	feb-12	mar-12	abr-12	may-12	jul-12	ago-12	sep-12	oct-12	nov-12	dic-12	
Dibenzo[ah]antraceno	0.09	0.08	0.10	0.12	<LC	0.07	0.09							
Dibenzo[ae]pireno	0.15	0.14	0.15	0.14	<LC	0.13	0.14							
Fenantreno	0.09	0.22	0.05	0.11	0.06	0.09	0.08	0.07	0.07	0.07	0.07	0.07	0.11	0.09
Fluoranteno	0.31	0.37	0.31	0.33	0.24	0.13	0.12	0.11	0.09	0.10	0.09	0.06	0.32	0.20
Benzo[k]fluoranteno	0.44	0.41	0.41	0.46	0.23	0.22	0.10	0.04	0.10	0.12	0.06	0.07	0.29	0.23
Pireno	0.31	0.42	0.78	0.43	0.20	0.11	0.16	0.05	0.09	0.12	0.08	0.09	0.38	0.25
Benzo[a]pireno	0.41	0.46	0.74	0.69	0.20	0.26	0.08	0.04	0.08	0.14	0.07	0.10	0.42	0.28
Benzo[a]antraceno	0.35	0.55	0.57	0.42	0.20	0.16	0.11	0.05	0.09	0.12	0.07	0.08	0.46	0.25
Criseno	0.51	0.64	0.59	0.50	0.21	0.30	0.15	0.06	0.12	0.14	0.09	0.09	0.51	0.30
Indeno[1,2,3-cd]perileno	0.67	0.64	0.83	0.71	0.46	0.23	0.11	0.18	0.19	0.25	0.14	0.08	0.52	0.38
Benzo[b]fluoranteno	0.78	0.67	0.74	0.76	0.34	0.38	0.23	0.08	0.19	0.24	0.15	0.15	0.52	0.40
Benzo[ghi]perileno	1.55	1.58	2.07	1.90	1.07	0.51	0.31	0.30	0.50	0.77	0.35	0.45	1.62	1.00

Los número en negritas son las concentraciones más altas detectadas para cada PAHs