

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE LA SANTÍSIMA CONCEPCIÓN
FACULTAD DE CIENCIAS



**Facultad de
Ciencias**
Universidad Católica de la Santísima Concepción

DETERMINACIÓN DE HIDROCARBUROS AROMÁTICOS POLICÍCLICOS
(HAPS), UTILIZANDO EL NÚCLEO Y HOJA DE PINOS (*PINUS
SYLVESTRIS*) COMO BIOINDICADORES EN UNA ZONA INDUSTRIAL
(BAHÍA DE SAN VICENTE)

Por

MACARENA SOLEDAD OSSES GUZMÁN

Memoria entregada a la Facultad de Ciencias de la Universidad Católica de la Santísima
Concepción para optar al título profesional de Químico Ambiental.

Profesor Guía: Dra. Lorena Gerli Candia.

Concepción
2019

AGRADECIMIENTOS

Quisiera agradecer a mis Profesores por estar siempre dispuestos a resolver dudas e inquietudes, sobre todo a mi Profesora Guía la Dra. Lorena Gerli Candia, quien me dio el apoyo y las herramientas necesarias para cumplir el objetivo de mi trabajo. A Mariett Torres, asistente de laboratorio en aquel entonces, por ayudarme a entender tantas cosas cuando inicié mi Seminario de investigación el cual se convirtió en el inicio de mi proyecto de Tesis y a Estefany Reyes por su gran disposición para también resolver dudas en todo momento y hacer tan ameno el trabajo dentro de su laboratorio.

Aún con mayor énfasis quisiera dar gracias a mi Abuela y Madre, Odia Torres Figueroa, por inculcarme los valores que tengo y por siempre creer en mí. Nadie ha sacrificado tanto en su vida por mí, como ella. Gracias por todo Lela.

Y para finalizar, imposible no mencionar a mi gran amiga Victoria Vergara, quien me dio el apoyo, cariño y fuerza en muchos momentos difíciles, jamás flaqueamos juntas y eso lo agradezco infinitamente.

INDICE

INTRODUCCION	1
<i>Figura 1. Ubicación geográfica Bahía San Vicente. Zona de Muestreo, Latitud: 36° 44' 00" S, Longitud: 73° 09' 00" WO Océano Pacífico-Chile</i>	2
Problemática ambiental de los HAPs.....	2
HIPOTESIS	7
OBJETIVOS	8
Objetivo general:.....	8
Objetivos Específicos:	8
METODOLOGÍA	9
Recolección de muestras	9
<i>Figura 2. Ubicación geográfica de la zona de muestreo, Bahía de San Vicente, Talcahuano</i>	9
<i>Tabla 1. Coordenadas geográficas de cada estación en zona de muestreo.</i>	10
Estándar de recuperación.....	10
<i>Tabla 2. Cálculos realizados para determinar los porcentajes de recuperación de HAPs presentes en las muestras.</i>	11
Limpieza y Activación de Silica.....	11
Preparación, extracción e inyección de muestras.....	11
Preparación del material	11
Obtención y conservación de las muestras.....	12
Preparación y extracción de compuestos de las muestras.....	12
Clean up o limpieza de las muestras	13
Inyección de muestras y Análisis cromatográfico	13
Condiciones del equipo	14
Cuantificación de compuestos.	14
Límites de detección y cuantificación	14
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	16
Validación del método analítico	16
Curva de calibración	16
<i>Tabla 3. Curva de calibrado de Fluoreno y Fenantreno</i>	17
<i>Tabla 4. Coeficientes de correlación de los compuestos</i>	17

Figura 3. Cromatograma obtenido del estándar que contiene los 16 HAPs. (Tiempo de retención frente a intensidad de señal de los compuestos).....	18
Recuperación de muestras de hoja representada a través de porcentajes	19
Tabla 5. Porcentajes de recuperación de HAPs obtenidos en hoja de Pino Silvestre. (Estaciones 2 y 4).....	19
Límites de detección y cuantificación para las muestras	22
Tabla 6. Límites de detección y cuantificación obtenidos para los compuestos presentes en las muestras.....	22
Capacidad de la hoja y núcleo de Pino Silvestre de retener HAPs.....	24
Figura 4. Comparación de la capacidad de retención de HAPs en hoja (H) y madera (M), representado a través de concentraciones ($g\ kg^{-1}$) vs sus respectivas estaciones.....	26
Figura 5. Concentración de HAPs en núcleo de pino vs estaciones de muestreo.....	28
Tratamiento aplicado a Hojas de Pino	29
Tabla 7. Concentraciones medias en $g\ kg^{-1}$ obtenidas de hidrocarburos aromáticos policíclicos captados en muestras de Hoja de pino.	29
Figura 6. Variación estacional de la concentración de HAPs en $g\ kg^{-1}$	36
Tratamiento aplicado a Core de Pino	37
Tabla 8. Concentraciones medias en $g\ kg^{-1}$ obtenidas de hidrocarburos aromáticos policíclicos captados en muestras de Hoja de pino.	37
CONCLUSIONES	40
BIBLIOGRAFÍA	42
ANEXO	48
Figura A1. Reacción electrofílica del benceno frente al Ácido sulfúrico.....	48
Tabla A1. Datos obtenidos en las curvas de calibración de cada HAP para el cálculo de las concentraciones respectivas.	48
Tabla A1.1 Continuación de los datos obtenidos en las curvas de calibración de cada HAP para el cálculo de las concentraciones respectivas.	49
Figura A2. Relación lineal entre la concentración en ppm y Áreas obtenidas de Fluoreno.	49
Figura A3. Relación lineal entre la concentración en ppm y Áreas obtenidas de Fenantreno.	50
Figura A4. Relación lineal entre la concentración en ppm y Áreas obtenidas de Naftaleno.	50

Figura A5. Relación lineal entre la concentración en ppm y Áreas obtenidas de Fluoranteno.	51
Figura A6. Relación lineal entre la concentración en ppm y Áreas obtenidas de Pireno.	51
Figura A7. Relación lineal entre la concentración en ppm y Áreas obtenidas de Benzo(a)antraceno.	52
Figura A8. Relación lineal entre la concentración en ppm y Áreas obtenidas de Criseno.	52
Tabla A2. Correlaciones obtenidas a partir de los compuestos cuantificados en las muestras de Hoja de pino silvestre, utilizando el Test de correlación de Pearson a través del programa estadístico Stadistix, versión 10.	53
Tabla A3. Datos obtenidos para el posterior cálculo de los límites de detección y cuantificación, a través del programa estadístico Stadistix, versión 10.	53

RESUMEN

Los Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos (HAPs) son un grupo extenso de compuestos orgánicos, formados por la fusión de dos o más anillos de benceno y en algunos casos un anillo pentagonal, constituidos en su mayoría por Carbono e Hidrógeno. Una de las características más importantes es su toxicidad para los seres vivos y medio ambiente.

Existen diferentes formas para poder determinar la concentración de HAPs presente en el medio ambiente, una de ellas a través de Bioindicadores.

En el presente estudio se llevó a cabo la cuantificación e identificación de HAPs a través de una metodología puesta en marcha en un laboratorio de la facultad de ciencias de la UCSC, en donde se utilizó la hoja y núcleo de Pino Silvestre como bioindicadores.

Además, se realizó una prueba de recuperación a través de estándares (MIX de 16 HAPs), que fueron añadidos al duplicado de las muestras originales de hoja de pino, lo que permitió la recuperación de los HAPs, obteniendo resultados sobre el 50% en más de la mitad del MIX inyectado en las muestras, lo que indicó que la metodología utilizada es apta para analizar y cuantificar HAPs. Posterior a esto se identificaron y cuantificaron las concentraciones HAPs contenidos en muestras de Hoja y Núcleo a través de un Cromatógrafo de gases acoplado a un espectrómetro de masas (CG-MS), en donde se obtuvieron resultados entre 0,0787 y 0,741 g kg⁻¹ en Hoja, encontrándose también 7 HAPs y entre 0,0652 y 0,101 g kg⁻¹ con 2 HAPs en núcleo. Se observó una diferencia significativa en la capacidad de retención de HAPs y en el origen de los mismos, obteniendo

compuestos de origen petrogénico y pirogénicos en Hoja, y en muestras de Núcleo de Pino sólo se observaron HAPs de origen petrogénico.

INTRODUCCION

La Bahía San Vicente es un sector de la ciudad de Talcahuano y puerto de la Región del Bío - Bío, el cual se encuentra ubicado en las cercanías de un sector industrial, cercano a poblaciones y sectores de recreación familiar como “Caleta Lenga” (Fig. 1).

Las bahías son áreas protegidas en forma natural y en ellas se desarrollan múltiples actividades. Una de ellas es la implementación de puertos pesqueros, de cabotaje y/o comerciales, (presentes en la Zona).

La ubicación de los puertos en el interior de las Bahías, se realiza por su protección a vientos y/o marejadas, lo que junto con las obras de ingeniería que se realizan, tienen el propósito de disminuir las corrientes costeras, lo que aumenta los tiempos de residencia y sedimentación de partículas en dichos sectores (Aguirre et al., 2009).

La actividad portuaria en sí es compleja, por lo que requiere de servicios de carga/descarga, como; suministros, combustible, traslado de personal y/o reparaciones, lo que sumado a eventos de derrames crónicos de hidrocarburos e ingreso de residuos hacen que las zonas portuarias sean sistemas fuertemente alterados, con una alta presión ambiental y una paulatina alteración de la calidad de las aguas y sedimentos (Aguirre et al., 2009).

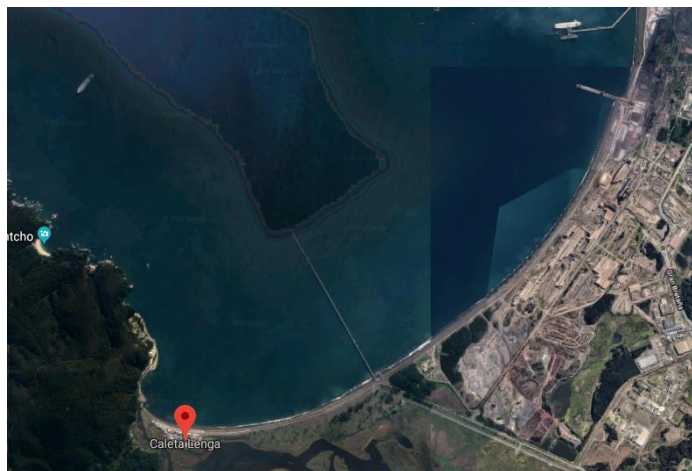


Figura 1. Ubicación geográfica Bahía San Vicente. Zona de Muestreo, Latitud: 36° 44' 00" S, Longitud: 73° 09' 00" WO Océano Pacífico-Chile.

La urbanización de la Zona, se ve afectada por todas estas intervenciones, las cuales llevan a un aumento de concentraciones de diferentes compuestos contaminantes. Uno de los principales compuestos a los que los seres vivos se exponen, son los Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos, más conocidos por sus siglas (HAPs).

Problemática ambiental de los HAPs

Los HAPs son un grupo extenso de compuestos orgánicos, formados por la fusión de dos o más anillos de benceno y en algunos casos un anillo pentagonal (Katiyar et al., 1993 citado en Howsam et al., 1998). La mayor parte de ellos está constituida por carbono e hidrógeno, creando estructuras polinucleares de tipo aromático, por lo que también se les conoce como “hidrocarburos polinucleares”. En general, los hidrocarburos aromáticos policíclicos se encuentran formando

parte de mezclas complejas, las cuales pueden estar constituidas por numerosos compuestos diferentes (Autoridad Europea de Seguridad alimentaria, EFSA, 2008).

Desde el punto de vista químico, los HAPs reaccionan por sustitución del hidrógeno o por adición cuando se produce su saturación, conservando generalmente su estructura de anillos. La mayoría de los HAPs se fotooxidan, la cual es una reacción fundamental para eliminarlos de la atmosfera. La reacción de fotooxidación más importante es la formación de endoperoxidos que pueden convertirse en quinonas (Enciclopedia de salud y enfermedad en el trabajo, INSHT, 2007).

Los HAPs reaccionan rápidamente con óxidos de nitrógeno o HNO_3 . Por ejemplo, el antraceno puede oxidarse a antraquinona por acción del HNO_3 o producir un derivado nitrogenado mediante una reacción de sustitución con NO_2 , también pueden reaccionar con SO_2 , SO_3 y H_2SO_4 para formar ácidos sulfonínicos y sulfónicos, siendo este un aspecto mencionado en el Anexo, Fig. A1 (Enciclopedia de salud y enfermedad en el trabajo, INSHT, 2007).

Estos contaminantes se caracterizan principalmente por ser:

- Persistentes: son resistentes a los procesos naturales de degradación, ya sea a la luz, reacciones químicas o procesos biológicos.
- Bioacumulables: se acumulan o concentran en los tejidos grasos del cuerpo.
- Viajeros globales: tienen gran capacidad de adsorción de partículas atmosféricas, por lo que se desplazan a gran escala, causando daño en lugares lejanos al sitio donde se encuentra la fuente emisora.

- Contaminantes tóxicos: tienen la capacidad de causar daños a las personas y a otros seres vivos, aún en pequeñas cantidades (Ministerio de Medio ambiente y recursos naturales el Salvador, MARN, 2012).

Los HAPs muestran propiedades tóxicas para los seres vivos y el medio ambiente. En los últimos años se ha demostrado que algunos compuestos de este grupo poseen efectos cancerígenos, mutagénicos, teratogénicos e influencia inmunosupresora sobre los organismos vivos (Oishi et al., 2013, citado en Meştrak et al., 2016).

A pesar de esto, las personas continúan estando expuestas a estos compuestos en numerosos ambientes y a través de diferentes vías: inhalatoria, alimentos, agua e incluso percutánea (Agencia para sustancias tóxicas y el registro de enfermedades, ATSDR, 1995).

Se ha demostrado que existen dos tipos de Fuentes de HAPs: Fuentes naturales y antropogénicas. Algunas de las primeras mencionadas, son las erupciones de volcanes y los incendios forestales. El petróleo y en general los combustibles fósiles contienen de forma natural HAPs en bajas concentraciones (alrededor del 1 %) (MCA-UGT Federación Industrial, 2009). Las fuentes antropogénicas, hacen referencia a todas las formas en las que se originan HAPs que sean dependientes de la actividad humana. Estos compuestos son utilizados en actividades industriales, donde los HAPs se forman o se emiten al por la utilización de productos ricos en HAPs, otros se utilizan en medicinas, así como para la producción de tintas, plásticos y pesticidas. Se encuentran HAPs en el petróleo crudo, asfalto, carbón, alquitrán, brea, creosota y algunos disolventes

comerciales. También se producen HAPs en plantas de generación de energía eléctrica, incineradores de residuos domésticos. Las calefacciones domésticas son una de las fuentes primarias y más importantes de generación de HAPs, por la combustión incompleta de madera, gas y otros combustibles orgánicos. Por último, se pueden observar HAPs en las emisiones de vehículos de motor, incluyendo barcos (existe un puerto en la bahía San Vicente) y aviones. En las áreas urbanas una de las fuentes principales de HAPs son los gases de los tubos de escape de automóviles y camiones. Los HAPs se encuentran tanto en las emisiones de la gasolina como de los motores de Diesel (MCA-UGT Federación Industrial, 2009).

Existen diferentes formas para poder determinar la concentración de HAPs presente en el medio ambiente, una de ellas es a través de Bioindicadores, los cuales han utilizado vegetación a través de la hoja, dependiendo de la capa foliar de árboles perennes y la corteza (Mętrak et al., 2016).

Investigaciones han reportado que la determinación de la concentración de HAPs en Pino es viable, ya que la concentración en hoja de árboles como Pino, Romero silvestre y Abedul, aumenta en zonas Industrializadas y productoras de carbón. Este aumento se da con mayor facilidad en las zonas antes mencionadas que en zonas urbanas. En éstas últimas se han reportado mínimas concentraciones de HAPs provenientes directamente de la combustión incompleta, de combustible usado en calefacción (Mętrak et al., 2016).

Los HAPs se clasifican según su origen en; biogénicos, petrogénicos y pirogénicos.

Los HAPs Biogénicos, son producto de procesos metabólicos de organismos microscópicos, como las plantas y las termitas donde se ha

comprobado que aportan naftaleno y perileno al suelo (Wicke et al., 2005, citado en Ortiz et al., 2012). También provienen de la degradación de materia orgánica en condiciones tanto aerobias y como anaerobias, ya que son la fuente de HAPs de 4, 5 y 6 anillos, precursores de humus (Wicke et al., 2007, citado en Ortiz et al., 2012).

Los petrogénicos son derivados del petróleo y generalmente ingresan al ambiente en fase gaseosa (por evaporación-deposición) y en fase líquida (por derrames de crudo). En este grupo se encuentran los naftalenos, fluorenos, fenantrenos, entre otros (Ortiz et al., 2012).

Como última clasificación, se encuentran los HAPs provenientes de fuentes pirogénicas, los que son producto de la combustión incompleta de todo material orgánico; lo que incluye hidrocarburos y carbón mineral. En este grupo predominan los HAPs de 3 y 5 anillos, tales como el antraceno y el benzo(a)pireno, pireno y benzo(a)antraceno (Krauss et al., 2000, citado en Ortiz et al., 2012). En general la combustión de compuestos orgánicos se reconoce como la principal fuente de HAPs en el ambiente.

En base a investigaciones anteriores, se continuará el estudio en la Bahía de San Vicente, la cual incluye por una Zona turística y relativamente urbanizada “Caleta Lengua” ubicado en la Provincia de Concepción.

HIPOTESIS

Hidrocarburos aromáticos policíclicos de diferentes orígenes, se encuentran en el núcleo y en hojas de Pino silvestre "*Pinus Sylvestris*", en Zonas industriales, correspondientes a la Bahía de San Vicente.

OBJETIVOS

Objetivo general:

Determinar la presencia y concentración de Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos (HAPs) en 4 muestras de Pino, utilizando dos partes de éste como Bioindicadores (núcleo y hoja) tomadas en Zona industrial, correspondiente a la Bahía de San Vicente.

Objetivos Específicos:

- Evaluar la recuperación de HAPs en 2 muestras de Hoja de Pino Silvestre utilizando un MIX de 16 HAPs.
- Determinar la presencia de HAPs en muestras de núcleo y hoja de Pino Silvestre, obtenidas en la Bahía de San Vicente, utilizando cromatografía gaseosa acoplado a espectrómetro de masas.
- Cuantificar la concentración de los HAPs presentes en las muestras de núcleo y hoja de Pino Silvestre.
- Comparar ambas partes del árbol estudiadas (Núcleo y hoja), en su capacidad de retener HAPs.

METODOLOGÍA

Recolección de muestras

Las muestras en duplicado ($n = 2$) fueron tomadas en Julio del año 2018, en 4 pinos ($h = 4$) ubicados en la zona de Caleta Lengua, pertenecientes a la Bahía de San Vicente. Para esto se utilizó un instrumento llamado Borer, el cual permite taladrar los troncos de los árboles, facilitando la extracción de una muestra del núcleo de tronco. También se tomaron muestras de hojas de los mismos árboles. Una vez extraídas las muestras de los 4 árboles, estas fueron limpiadas con una mezcla de solvente acetona-hexano (1:1), guardadas en papel aluminio y etiquetadas para su posterior almacenaje en un recipiente a temperatura constante, para ser llevadas a laboratorio donde fueron congeladas para su posterior análisis. Paralelo a esto, se registraron las coordenadas de los sitios de muestreo presentes en Caleta Lengua, zona ubicada en la Bahía de San Vicente mediante de un GPS (Fig. 2).



Figura 2. Ubicación geográfica de la zona de muestreo, Bahía de San Vicente, Talcahuano.

Tabla 1. Coordenadas geográficas de cada estación en zona de muestreo.

Estación	Latitud	Longitud
1	36°45'43.0"S	73°10'28.0"W
2	36°45'41.5"S	73°10'29.4"W
3	36°45'50.4"S	73°09'10.6"W
4	36°76'55.2"S	73.15'53.0"W

Estándar de recuperación

Se realizó una “Prueba de recuperación” con 2 muestras en duplicado, para evaluar el porcentaje de recuperación y buen funcionamiento de la metodología en el caso de la extracción de HAPs en hojas, siendo la idea principal determinar una baja pérdida de muestra. Para tal fin se inyectó una solución madre que contiene HAPs de forma artificial, que también se encuentran de forma “natural” en el medio ambiente. Para evitar que estos HAPs, los cuales se pudiesen encontrar presentes en cada muestra se mezclen o solapen sus áreas, se procedió a realizar de la manera que se menciona a continuación.

La tabla 2 muestra un ejemplo del procedimiento que se utilizó para evitar el solapamiento de las áreas de cada muestra. Para cada estación (2 y 4), se tomaron 2 porciones masadas de la misma forma y cantidad. Por ejemplo; para la estación 2, existe una muestra con MIX y otra sin el MIX, lográndose una diferencia de áreas para obtener la real y así poder cuantificar a partir de ese valor. Así como también se inyectó en el cromatógrafo un vial sólo con el MIX

(misma concentración y cantidad que se les añadió a las muestras), para evitar errores de procedimiento o sistemáticos.

Tabla 2. Cálculos realizados para determinar los porcentajes de recuperación de HAPs presentes en las muestras.

	Estándar	Estación c/MIX	Estación s/MIX		
HAPs	Áreas			Δ Áreas	%Rec
	A	B	C	B-C	$((B-C)/A)*100$

Una vez realizado este cálculo se continuó con el procedimiento que se menciona a continuación (United States Environmental Protection Agency, US, EPA, 1996).

Limpieza y Activación de Silica

La Silica se introdujo en un dedal de celulosa, siendo sellada con lana de vidrio, el cual fue depositado dentro de un tubo esmerilado para completar el equipo Soxhlet, utilizando como solvente diclorometano el cual por reflujo durante 12 o en su defecto 24 hrs, logra el proceso de limpiado de la Silica. Posterior a esto se calcinó durante 8 hrs a 150°C para evitar cualquier tipo de contaminación y así activar la Silica (Canosa R, 2008).

Preparación, extracción e inyección de muestras

Preparación del material

Todo el material de vidrio como; balones, vasos precipitados, pipetas Pasteur, tubos de centrifuga y tubos de vidrio con tapa rosca, equipo Soxhlet, etc., Fue previamente lavado y secado en estufa para eliminar restos de agua. A continuación, estos fueron calcinados en una mufla a 500°C para eliminar

cualquier tipo de contaminante presentes en ellos y evitar alguna alteración en futuros resultados. Antes de cada procedimiento fueron cebados añadiendo el respectivo solvente con probeta (Diclorometano o Hexano para cromatografía) dependiendo de la etapa que se encuentre de la metodología aplicada.

Obtención y conservación de las muestras

Las muestras de Core de Pino fueron obtenidas a través de un Borer y las de hoja cortando la rama del árbol y quitando una a una las hojas de ésta, luego de la obtención y posterior conservación de muestras (explicado en detalle, en el punto “Recolección de muestras”), las muestras fueron sometidas al Liofilizador Operon FDU7012, siendo luego trituradas con un Molino Grinder FM200 a 10.000 rpm, equipo en el cual las muestras quedan impalpables, para así poder extraer en los próximos pasos de mejor forma los compuestos.

Preparación y extracción de compuestos de las muestras

Las muestras por duplicado fueron masadas, para ser ingresadas a tubos de vidrio c/tapa rotulados, incorporando a ellos el solvente (Hexano).

Los tubos son sometidos a un baño ultrasónico durante 30 minutos (proceso que se repite dos veces), éste como método de extracción de los compuestos de la matriz. Una vez completada la sonicación y logrando ver el sobrenadante separado de la muestra. Se extrajo con pipetas pasteur el sobrenadante, el cual fue depositado dentro de balones, con el cual se obtuvieron aproximadamente 20 mL de extracto de cada muestra los cuales fueron concentrados en Rotavapor Heldolph LABOROTA 4001 hasta obtener 1 a 0,5 mL de muestra.

Clean up o limpieza de las muestras

Para continuar con el proceso y obtener una buena purificación de las muestras, se realizó un Clean Up, el cual consiste en la preparación de una columna cromatográfica con Silica en presencia de Hexano para cromatografía, el hexano sirve para que la Sílica sea depositada de una forma más compacta e uniforme dentro la columna. Para eliminar cualquier la humedad dentro de la Fase estacionaria se le añadió Na_2SO_4 anhidro.

Las muestras fueron sembradas dentro de cada columna y para minimizar su pérdida se hizo pasar por la columna una mezcla de 40 mL Hexano-Diclorometano (1:1), lográndose lavar o arrastrar lo que pudiese quedar de cada muestra en la columna. Recibiendo las muestras y el solvente que pasaron por las columnas en balones. Se realizó una evaporación del solvente, la cual puede ser por Rotavapor Heldolph LABOROTA 4001 o a través de evaporación.

Inyección de muestras y Análisis cromatográfico

Nuevamente se concentraron las muestras, ésta vez mediante el uso de corriente de nitrógeno hasta lograr una cantidad mínima, la que fue agregada a un inserto, el cual es depositado previamente dentro de un vial. Se fue lavando en pequeñas cantidades con hexano para no perder muestra, luego se llevó a sequedad y se añadió 200 μL del solvente utilizado, estando las muestras listas para ser inyectadas en un cromatógrafo de gases acoplado a un espectrómetro de masas cuadripolar; marca Shimalzu y modelo QP5050A.

Condiciones del equipo

El gas portador fue Helio 5.0, 1 mL x min⁻¹, con una columna HP-5 de 30 m x 0,25 mm de diámetro interno, teniendo una temperatura de inyección de 50°C x 2 min, subiendo 30°C x min⁻¹ hasta llegar a 120°C, para subir de 7°C x min⁻¹ llegando a una temperatura de 280°C, así nuevamente incrementándose 1°C x min⁻¹ hasta llegar a 290°C x 5 min. Se inyectó un volumen de 1µL y el volumen final de cada muestra utilizada fue de 200µL, con un tiempo final de inyección de 42 min.

Cuantificación de compuestos.

La cuantificación se logró mediante el uso de la curva de calibrado de cada compuesto utilizando la siguiente fórmula:

$$y = mx + b$$
$$x = (y - b) / m$$

Fórmula 1. Siendo “y” el área obtenida de cada compuesto, “b” el intercepto, “m” la pendiente o sensibilidad, datos obtenidos en la curva de calibración respecto a cada compuesto y “x” la concentración de cada hidrocarburo aromático policíclico. (Tabla 1 del anexo).

Límites de detección y cuantificación

Los valores reportados para los límites de detección y cuantificación fueron calculados a partir de la construcción de una curva de calibrado, extrapolando las

ecuaciones de la recta, límite de detección y de cuantificación. Las fórmulas resultantes fueron las siguientes:

$$\text{LOD} = 3 * \sigma_{y/x} / b$$

$$\text{LOQ} = 10 * \sigma_{y/x} / b$$

Fórmula 2. LOD es el límite de detección y LOQ el límite de cuantificación, $\sigma_{y/x}$ la desviación estándar de la curva y b, la pendiente.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Validación del método analítico

Curva de calibración

Para la validación del método utilizado, se realizó una curva de calibración previa de 4 puntos, más el blanco con una solución madre de $85 \mu\text{g mL}^{-1}$, el cual contenía un Mix de 16 HAPs, contaminantes considerados prioridad para la Agencia de Protección del Medio ambiente. Esta disolución contempla los siguientes compuestos: Naftaleno, Acenaftileno, Fluoreno, Acenafteno, Fenantreno, Antraceno, Fluoranteno, Pireno, Benzo (a) antraceno, Criseno, Benzo (b) fluoranteno, Benzo (k) fluoranteno, Benzo (a) pireno, Dibenzo (a,h) antraceno, Benzo (g,h,i) perileno e Indeno (1,2,3- C.D) pireno.

Se obtuvo como resultado en las curvas de calibrado, coeficientes de correlación entre r : 0,9927 y 0,9998. El coeficiente de correlación indica como un cambio de variable independiente, X , se refleja en la variable dependiente, Y . Cuando r (X , Y) es exactamente uno, quiere decir que la correlación es perfecta (Rubinson A. & Rubinson F, 2001). Los valores obtenidos en el ajuste de esta relación son relativamente cercanos a 1, cabe mencionar que el éxito del método de curva de calibrado depende, en gran medida, de la exactitud que tengan las concentraciones de los patrones y de lo que se parezca la matriz [...] (Skoog, 2001).

En la tabla 3 se observan las concentraciones utilizadas para las curvas de calibración de los 16 HAPs, para los cuales se obtuvo su cromatograma y un

comportamiento lineal para todos los HAPs estudiados. Lo que indica que el método cromatográfico y el procedimiento utilizado, es eficiente para el análisis de los HAPs.

Posteriormente, se observa en la tabla 4 los coeficientes de correlación en detalle de todos los compuestos encontrados en las muestras reales. Para mayor detalle las gráficas lineales de cada compuesto se encuentran en el Anexo desde la Fig. 2 a la 8.

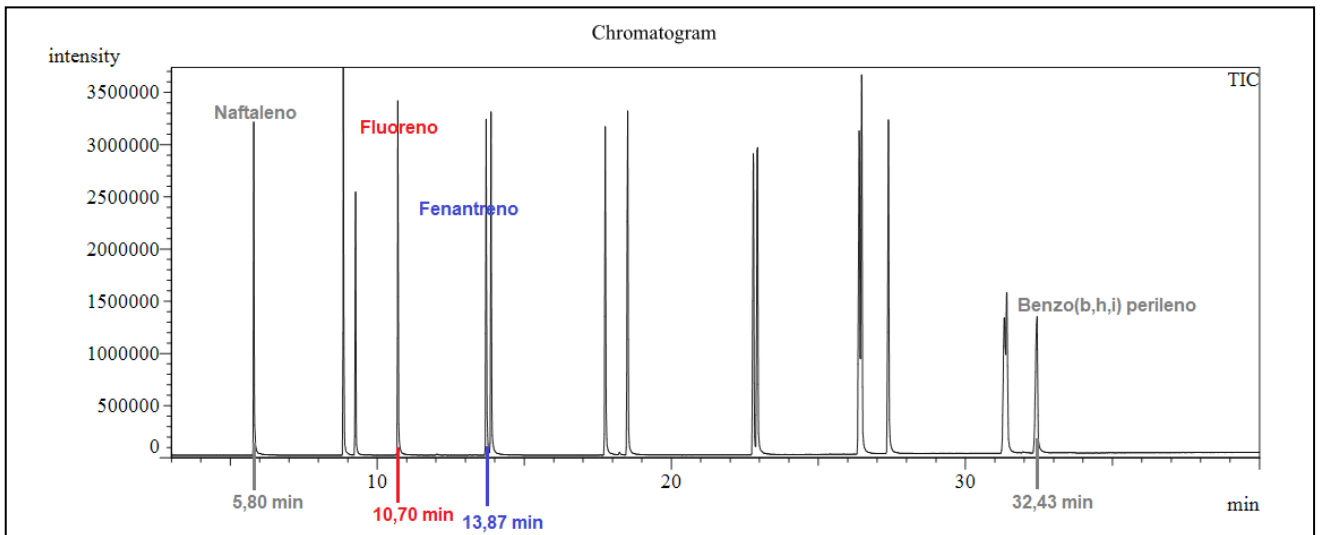
Tabla 3. Curva de calibrado de Fluoreno y Fenantreno

Punto	Conc (ppm)	Áreas en cm ²	
		Fluoreno	Fenantreno
Blanco	0	0	0
1	0,102	28981	30133
2	0,246	57018	65985
3	0,502	101528	124196
4	0,748	148321	190921

Tabla 4. Coeficientes de correlación de los compuestos

Compuesto	r ²
Naftaleno	0,9927
Fluoreno	0,9954
Fenantreno	0,9987
Fluoranteno	0,9967
Pireno	0,9970
Benzo(a)antraceno	0,9998
Criseno	0,9898

Figura 3. Cromatograma obtenido del estándar que contiene los 16 HAPs.
(Tiempo de retención frente a intensidad de señal de los compuestos)



El cromatograma hace referencia al resultado obtenido del estándar que contenía el MIX de HAPs inyectado con una concentración de 5 ppm (mg L^{-1}), misma concentración agregada a las muestras durante el proceso de recuperación a través de porcentajes (Fig. 3).

El método más común en espectrómetros de masas modernos es un diagrama que representa la intensidad relativa frente a m/z (relación masa/carga), en donde la abundancia de los iones es proporcional a la intensidad de los peaks (Carey, 1999). De acuerdo a los peaks obtenidos, se observa la presencia de 16 compuestos, destacando el Fluoreno y el Fenantreno, los que encontraron presentes en ambas partes del árbol, Fenantreno con un tiempo de retención de 10,70 min y el Fluoranteno de 13,87 min. El tiempo que transcurre después de la inyección de la muestra, hasta que el peak de concentración del analito alcanza el detector, se denomina *tiempo de retención* y se le da el símbolo de t_R (Skoog A. et al, 2001).

Como en cualquier separación cromatográfica, los tiempos de retención en una columna dependen de los factores que modifiquen el reparto (Rubinson, 2000), quedando como cabeza el Naftaleno y cola el Benzo (b,h,i) perileno. Para evitar la confusión se utilizan los términos cabeza y cola de una banda, en donde la cabeza se refiere al compuesto que emplea menos tiempo (o volumen) para eluir, mientras que la cola se refiere al compuesto que emplea más tiempo (o volumen) para eluir (Rubinson, 2000).

Recuperación de muestras de hoja representada a través de porcentajes

Tabla 5. Porcentajes de recuperación de HAPs obtenidos en hoja de Pino Silvestre. (Estaciones 2 y 4).

Nombre HAP	ESTÁNDAR 5ppm		ESTACIÓN 2			ESTACIÓN 4		
	t _R (min)	Área	t _R (min)	Área	% REC	t _R (min)	Área	% REC
Naftaleno	5,8	4071098	5,85	480266	12	5,81	546011	13
Acenaftileno	8,85	4682709	8,85	1243163	27	8,84	1153058	25
Acenafteno	9,26	3028805	9,22	940796	31	9,26	820969	27
Fluoreno	10,7	3257643	10,64	1923907	59	10,7	1009075	31
Fenantreno	13,7	5008007	13,65	3337959	67	13,67	3331717	67
Antraceno	13,87	5067195	13,73	3311120	65	13,86	1972205	39
Fluoranteno	17,75	6035637	17,66	4380110	73	17,67	4327960	72
Pireno	18,51	6343284	18,43	4582379	72	18,42	4395057	69
Benzo (a) antraceno	22,79	6160294	22,64	3936338	64	22,69	3952734	64
Criseno	22,92	6042768	22,89	3779885	63	22,81	3581972	59
Benzo (b) fluoranteno	26,39	7193507	26,27	3892985	54	26,28	4214402	59
Benzo (k) fluoranteno	26,47	6684892	26,31	3781295	57	26,35	3958094	59
Benzo (a) pireno	27,38	6019565	27,23	3082461	51	27,19	3368542	56
Indeno (1,2,3-cd) pireno	31,32	5055240	31,04	2566827	51	30,95	3223325	64
Dibenzo (a,h) antraceno	31,41	4042566	31,17	1296828	32	31,1	1587121	39
Benzo (g,h,i) perileno	32,43	5104324	32,08	2313281	45	32,09	2589412	51

Los HAPs han sido detectados y cuantificados en suelos (Hildebrandt et al., 2009), sedimentos (Aguirre et al., 2009), agua y aire (Lipiatou et al., 1997). Sin

embargo, su presencia en Hoja y Núcleo de pino en la zona, no ha sido explorada, por esto se llevó a cabo esta investigación.

La tabla 5 muestra los porcentajes obtenidos durante la recuperación de HAPs, en la cual se utilizó como bioindicador hoja de árbol, específicamente el Pino silvestre o *Pinus Silvestrys*, los cálculos fueron obtenidos a partir de la fórmula expresada en la Tabla 2, adjuntada en el punto de “Estándar de recuperación”.

Según informes de estudios realizados anteriormente, la vegetación es un medio eficaz para la acumulación de éstos y otros compuestos, principalmente a través de la deposición atmosférica (Barber et al., 2004 citado en Metrak et al., 2016). Por esto fue posible recuperar los 16 que contenía el MIX que se les agregó a las muestras en ambas estaciones.

Encontrando el menor porcentaje de recuperación en Naftaleno, con un 12 y 13% en la estación 2 y 4 respectivamente, el cual es uno de los compuestos estructuralmente, más sencillos de éste grupo. El menor porcentaje detectado en el Naftaleno, se explica debido a la poca cantidad de anillos bencénicos que posee, ya que tiene sólo 2 de éstos, haciendo que su volatilidad sea mayor que la de otros compuestos. Este compuesto también se degrada por acción microbiana y por efecto fotoquímico (Energy, ecology and environmental, 2018). Lo cual también es conocido como reacción inducida por la luz, fenómeno que consiste en que la luz hace reaccionar la molécula, produciendo radicales, como grupos alquilo. Las fotorreacciones se producen fácilmente, siempre que pueda

producirse la absorción de luz, porque la absorción de luz lleva a la molécula a un estado excitado que contiene más energía que el estado fundamental. Al contener más energía, la molécula excitada es más reactiva (Levenspiel, 1987). Este fenómeno es importante, ya que los radicales son compuestos extremadamente inestables, de gran poder reactivo y vida media muy corta (McNaught y Wilkinson, 2012).

Otros de los compuestos sencillos de este grupo de contaminantes son el antraceno y fenantreno, encontrándose este último en un 67% de recuperación en ambas estaciones. Este es un compuesto termoquímicamente más estable, el cual se genera a temperaturas bajas. El Antraceno (65% y 39%, respectivamente, resultados reflejados en la Tabla 5), es un compuesto inestable termoquímicamente, por lo tanto, la pérdida o baja recuperación que existe de una estación respecto a la otra, podría ser debido a su inestabilidad (Alberty y Reif., 1988 citado en Sánchez. Y et al., 2015).

Se obtuvo un máximo de recuperación del Fluoranteno con un 73 y 72 % en las estaciones 2 y 4 respectivamente, a pesar de ser un compuesto de 3 anillos bencénicos tiene un ciclo pentano, lo que le brinda una mayor estabilidad a la molécula y puede adherirse de mejor forma a los compuestos de las hojas, debido a que el anillo pentagonal hace que la polaridad del Fluoranteno disminuya. Este compuesto posee un carácter apolar con lo que logra, una mayor afinidad a los compuestos apolares que poseen las hojas.

En cuanto a los compuestos de 4 anillos bencénicos como el pireno, del cual se obtuvo un 72 y 69% respectivamente. Así como también aquellos que poseen más de 4 anillos, son compuestos los cuales se caracterizan por tener un mayor peso molecular, lo que les brinda una baja volatilidad haciendo que exista una menor pérdida durante el tratamiento y/o almacenamiento.

Cabe destacar que el hecho de haber podido recuperar HAPs, se debe a que en estudios anteriores se concluyó que las agujas de pino, son también una matriz con propiedades acumuladoras comprobadas, hacia un amplio espectro de contaminantes y convirtiéndose cada vez más en un bioindicador o biomonitor apropiado de HAPs en el aire (Simonich e Hites, 1995 citado en Metrak et al., 2016). Debido a lo anterior y al hecho de haber podido recuperar HAPs en las muestras, indica que la metodología utilizada es apta para analizar y poder cuantificar HAPs.

Límites de detección y cuantificación para las muestras

Tabla 6. Límites de detección y cuantificación obtenidos para los compuestos presentes en las muestras.

Compuesto	LOD (g kg ⁻¹)	LOQ (g kg ⁻¹)
Naftaleno	0,106	0,354
Fluoreno	0,0847	0,282
Fenantreno	0,0454	0,151
Fluoranteno	0,0710	0,237

Pireno	0,0679	0,226
Benzo(a)antraceno	0,0195	0,0652
Criseno	0,126	0,420

El límite de detección se define como la mínima concentración o mínima masa de analito que se puede detectar para un nivel de confianza dado. La mínima señal analítica distinguible es igual a la suma de la señal media del blanco, más un múltiplo k de la desviación estándar del mismo.

Las tablas 7 y 8 hacen referencia a las concentraciones obtenidas para Hoja y Core de Pino de los compuestos retenidos por ambas partes del árbol, sin embargo, las que contienen un “ND” en vez de su concentración, son aquellas concentraciones que no estuvieron dentro de los límites de detección, ni de cuantificación. En simples palabras el límite de cuantificación que es la cantidad mínima en concentración que el equipo puede cuantificar (Universidad autónoma de Madrid, UAM, 2014).

Las muestras que se encontraron dentro de los límites de cuantificación, son aquellas que en términos estadísticos se pueden reportar, ya que son datos fiables (Berbeyer. M & García. R, 2013) sin embargo, el hecho de no serlo no significa que no estén presentes en las muestras. Una forma de solucionar esto en futuros estudios y utilizando la misma metodología es concentrando más la muestra, pudiendo obtener una mayor señal de esta y así ser cuantificada adecuadamente.

Cabe destacar que los resultados son reportados y presentados cuando las concentraciones se encuentran dentro del límite de cuantificación, en el presente estudio, para el Core de pino las concentraciones quedaron fuera del límite de cuantificación, por lo que se tomó la decisión de presentarlos para poder hacer una diferencia de compuestos encontrados en ambas partes del árbol, siendo sólo eliminadas aquellas que no se encontraron dentro del límite de cuantificación, ni de detección.

Capacidad de la hoja y núcleo de Pino Silvestre de retener HAPs.

El equipo y método utilizado para determinar las concentraciones o el contenido de HAPs presente en cada muestra, fue un cromatógrafo de gases acoplado a un espectrómetro de masas, más conocido por sus siglas, CG-MS. Es un método el cual posee la facilidad de cuantificar específicamente compuestos orgánicos (Rubinson A & Rubinson F. 2001), por ende, si los compuestos contienen átomos de carbono e hidrógeno serán leídos, arrojando otros peaks en el cromatograma final. En el caso particular de la presente investigación las hojas del árbol en estudio contienen muchos compuestos diferentes, tales como; aminoácidos, proteínas, celulosa, carbohidratos, etc (Ratola et al., 2014).

El objetivo principal de este estudio fue evaluar el potencial uso como bioindicador de la hoja y el núcleo del pino, los cuales pueden ser utilizados como herramienta de incidencia de HAPs a lo largo de Caleta Lengua, playa turística situada en Hualpén, Región del Biobío, Chile. La cual contiene una población de 400 habitantes aproximadamente, en donde su principal actividad económica es la

gastronomía, caracterizándose por la gran cantidad de restaurantes ubicados frente al mar (EcuRed, 2018). También se caracteriza por una alta actividad industrial realizada principalmente por ENAP, refinerías Biobío que se encuentra ubicada en las cercanías de Caleta Lengua y por Siderúrgica Huachipato, CAP, productora de acero, empresas las cuales se encuentran junto a centros urbanos de alta densidad.

Existen diversos estudios en los cuales muestran la eficiencia de la utilización de Pino Silvestre como bioindicador, aunque otros árboles como el abedul o el romero silvestre tienen una mayor retención de HAPs (Metrak et al., 2016). Sin embargo, lo mencionado anteriormente es utilizando la Hoja de árboles perennes y no en núcleo de pino, ya que no existen estudios previos, por lo que para iniciar la cuantificación en madera, antes se realizó la validación del método utilizando como patrón interno antraceno d10, dando como resultado porcentajes altos, inclusive se encontraron 2 HAPs de bajo peso molecular, por lo que se tomó la determinación de realizar la comparación y determinar si la metodología aplicada es la adecuada para Hoja o Núcleo de pino, la Fig. 4 muestra las diferencias que existen en la capacidad de retención de HAPs de las Hojas de pino silvestre, respecto a las del Núcleo del mismo. Ambas partes del árbol sirven.

Sin embargo, para poder cuantificar de mejor forma y mayor cantidad de HAPs las hojas fueron las adecuadas para la metodología, reteniendo 7 diferentes HAPs de hasta 4 anillos de benceno y en altas concentraciones, en cambio el núcleo solo logró retener 2 tipos de éste y ambos de menor peso molecular, cabe mencionar que las partes del árbol fueron tomadas del mismo árbol por estación,

para que hubiese representatividad en los datos obtenidos. Lo que se ve reflejado en la Fig. 4.

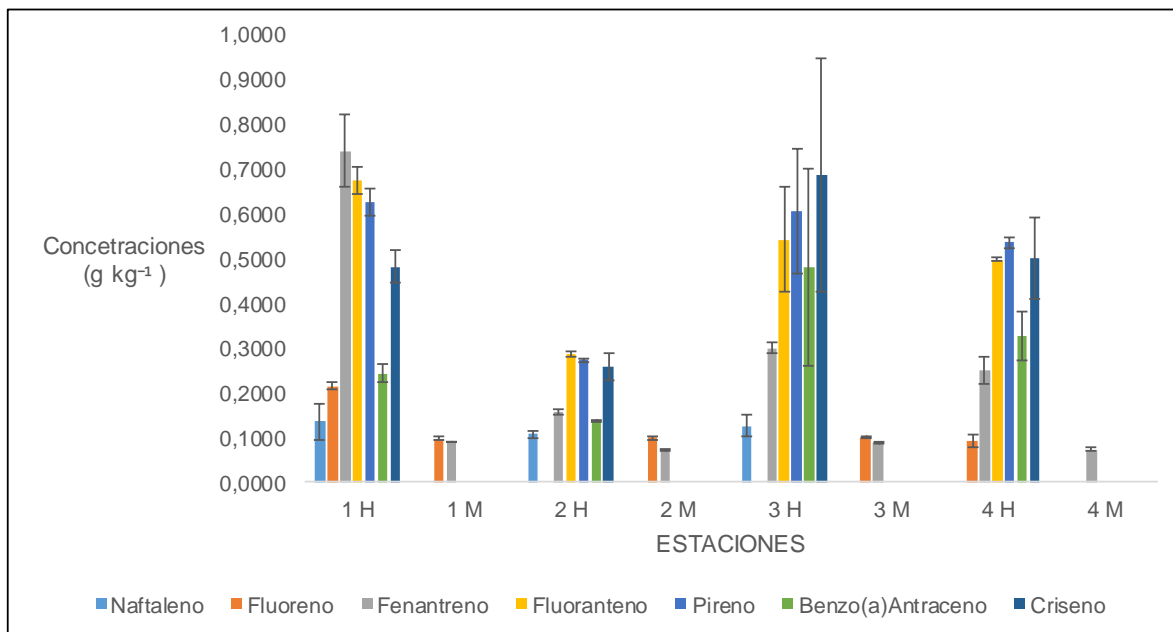


Figura 4. Comparación de la capacidad de retención de HAPs en hoja (H) y madera (M), representado a través concentraciones (g kg^{-1}) vs sus respectivas estaciones.

Estudios anteriores han encontrado diferentes compuestos en hoja de pino, algunos ejemplos de ellos son; el Río Ebro, España, utilizaron 3 tipos de pino diferentes para cuantificar y determinar el origen de los compuestos encontrados, estudio en el cual mientras menos anillos de benceno los contaminantes poseían, mayor fue la acumulación en las hojas, siendo en su mayoría de origen petrogénico (Ratola et al., 2014) y en Polonia, donde se trabajó con hojas de pino a lo largo del Sur del país, se encontraron alrededor de 16 HAPs siendo los de mayor concentración los que contenían entre 3 y 4 anillos bencénicos,

manteniendo el origen petrogénico, por lo que el interés de probar esta matriz en la zona de estudio aumentó junto a la presencia de industrias cercanas, haciéndose la comparación entre las hojas, bioindicador utilizado en otros estudios y core de pino (madera), bioindicador puesto a prueba.

La diferencia existente en la capacidad de retención de ambas partes se debe a la composición de la hoja y de la madera (núcleo de pino); en sí la madera está constituida en su mayoría por celulosa, lignina y hemicelulosa, compuestos polares, lo que le brinda la característica como tal, la polaridad de los HAPs disminuye en medida que estos posean mayor cantidad de anillos de bencenos, así como también los compuestos más ligeros son más volátiles y más solubles en agua (compuesto polar) (Mettrak et al., 2015), a esto se le atribuye la presencia en Core de Pino de contaminantes como el Fluoreno y Fenantreno, compuestos de 2 y 3 anillos bencénicos, los cuales fueron detectados pero no cuantificados, de acuerdo a los límites respectivos de detección y cuantificación.

En cambio la Hoja, por lo general éstas pueden retener HAPs directamente en fase vapor y gaseosa, a través de estomas o a través de laminas cuticulares externas, o simplemente acumular en la superficie de la hoja, donde posteriormente se incorporan a la capa de la cutícula rica en lípidos, cutícula la cual es un polímero insoluble en agua (Mettrak et al., 2016), por lo tanto estos contaminantes se adhieren de mejor forma a los compuestos internos de las hojas y por esto se explica la cantidad de HAPs encontrados, detectados y cuantificados en ellas, otro punto a favor de las hojas es que, las especies coníferas se consideran más eficaces que las especies de hoja ancha, las hojas largas y

estrechas de las especies coníferas son más fácilmente golpeadas por las partículas en el aire que las hojas grandes y planas, que tienen capas fronterizas más gruesas (Sæbø et al., 2012 Beckett et al., 1998).

Respecto a la diferencia estacional que existe de la concentración encontrada de HAPs en Hoja, de la estación 2 vs la otras estaciones, es por la ubicación del árbol, ya que se encontraba bajo el cerro, encerrado por el mismo, lo que hace que las corrientes de aire que se generan en el sector no penetren directamente como en las otras estaciones, ya que en madera las concentraciones son similares en todas las estaciones (Fig. 5), esto se explica también por la vía de entrada de los compuestos hacia las partes del árbol. Una es vía transporte atmosférico y la otra se deposita en los suelos, pudiendo entrar a los compartimentos del árbol, siendo ambas las vías de deposición totalmente diferentes por lo anteriormente mencionado, la composición de la Hoja y Core del Pino.

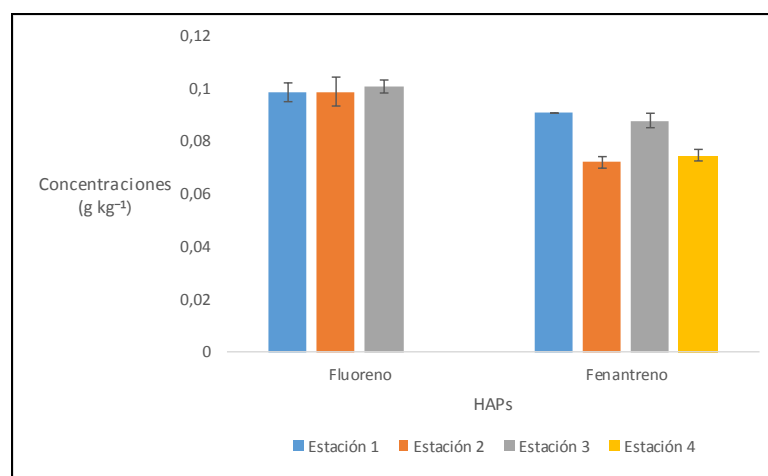


Figura 5. Concentración de HAPs en núcleo de pino vs estaciones de muestreo.

Tratamiento aplicado a Hojas de Pino

Tabla 7. Concentraciones medias en g kg^{-1} obtenidas de hidrocarburos aromáticos policíclicos captados en muestras de Hoja de pino.

COMPUESTOS	Concentraciones g kg^{-1}			
	E1	E2	E3	E4
Naftaleno	0,136	0,108	0,126	-
Fluoreno	0,215	ND	ND	0,0930
Fenantreno	0,741	0,157	0,300	0,251
Fluoranteno	0,674	0,286	0,544	0,499
Pireno	0,626	0,273	0,607	0,536
Benzo(a)Antraceno	0,244	0,138	0,481	0,327
Criseno	0,483	0,258	0,688	0,501

En la tabla 7 se observan las concentraciones de HAPs g kg^{-1} , contenidos en las muestras de hoja de Pino silvestre. La cuantificación se logró mediante el uso de la curva de calibrado de cada compuesto (Fórmula 1), mencionado en la en el punto “Cuantificación de compuestos”.

En investigaciones anteriores de mediciones de HAPs en hoja de pino en las que se utilizaron otras metodologías, (Kylín, 1996) menciona que las partes verdes de los árboles tienen una cera epicuticular, la cual actúa como sorbente para contaminantes lipofílicos. Esta característica se les atribuye a los contaminantes en estudio (HAPs), sobre todo en árboles perennes, por la

capacidad que tienen de mantener sus hojas durante el año, permitiendo ser una fuente de captación firme de compuestos, ya sean contaminantes éstos o no. Motivo por el cual luego de la obtención de los porcentajes de recuperación, se continuó con la cuantificación de Hidrocarburos aromáticos policíclicos.

Estudios realizados en el Río Ebro, España, utilizando hoja de 3 clases de pino diferentes, arrojaron los niveles más altos de HAPs de compuestos que contienen 3 anillos bencénicos (Fenantreno) y luego los compuestos de 4, 5 y 6 anillos de benceno, concentraciones que fueron disminuyendo a medida que más anillos estos poseían, siendo los de mayores concentraciones HAPs de origen petrogénicos (Ratola et al., 2014). Los resultados reportados anteriormente, concuerdan con los obtenidos en el presente estudio, ya que existe una alta concentración de HAPs de 3 anillos en las hojas de Pino silvestre. Sin embargo, dentro de éstos compuestos el que mayor porcentaje en concentración total se obtuvo, fue el Fluoranteno.

Una de las mayores concentraciones encontradas de HAPs es del Fluoranteno siendo sus concentraciones de 0,286 en la Estación 2 y un máximo encontrado en la Estación 1 con 0,674 g kg con un porcentaje de concentración total de un 21,2%. Dentro de los compuestos con 3 anillos bencénicos también se encontró Fenantreno, con concentraciones entre 0,157 y 0,741 g kg⁻¹ (15,60%), ambos compuestos son parte de las concentraciones totales más altas de HAPs.

En cuanto a las fuentes de origen de estos compuestos, el Fenantreno se encuentra en el alquitrán de hulla, una mezcla de sustancias orgánicas formadas

cuando la hulla se convierte en coque por calentamiento a alta temperatura (alrededor de 100°C) en ausencia de aire (Carey, 1999). También se generan a partir de la combustión incompleta de materiales orgánicos (combustión de madera y carbón, emisiones de vehículos, etc) (Gschwend e Hites, 1981 citado en Sanchez, 2015). Cercano a la zona en que se tomaron las muestras se encuentra ubicado ENAP, empresa la cual cuenta con una planta que como subproducto genera coque para luego a partir de este producir vapor y energía eléctrica, que es utilizada para sus procesos (ENAP, 2018). Puede ser este uno de los factores que hacen que los niveles de Fenantreno sean mayores a los de otros compuestos.

El Fluoranteno, también un compuesto de 3 anillos de benceno que lidera las concentraciones obtenidas en su categoría, es un compuesto derivado del petróleo, los HAPs recientemente mencionados suelen tener un comportamiento tanto pirogénico como petrogénico, dependiendo de la relación que tengan con otros compuestos.

Se hace una relación directa entre el Fluoranteno y el fenantreno con un coeficiente de correlación de 0,8557, por esto se determinó que el origen de ambos compuestos es similar. Sin embargo, su relación es aún mayor con el Pireno con un r^2 de 0,9527, el cual es un compuesto de origen pirogénico, lo que le brinda al Fluoranteno una concentración mayor, dándole el doble comportamiento, Petrogénico – Pirogénico.

Una de las formas más adecuadas y común de definir la fuente de los HAPs, es mediante el uso de relaciones, a partir del peso molecular o

características que estos posean en común. En este proceso, entiende que por lo general los compuestos emparejados con la misma masa molecular son diluidos en una medida similar, durante el medio de transporte y que tales relaciones se mantienen estables a través de la ruta desde la fuente hasta la matriz de recepción (Zhang *et al.*, 2005). Los límites; petrogénicos y pirógenos, se han establecido a partir de análisis en sedimentos y no en agujas de pino, a pesar de que ya existe evidencia que los pinos son una buena fuente de acumulación de HAPs, (Ratola *et al.*, 2014) menciona que uno de los mejores en su categoría como bioindicador, es el Pino Pinea (*Pinus Pinea*) en donde se han encontrado en comparación a otros pinos, las concentraciones y cantidad de HAPs más elevadas. Sin embargo, no se pudo realizar tal relación al encontrar pocos HAPs en las muestras, por lo que haciendo uso de coeficientes de correlación obtenidos a través del Test de correlación de Pearson (Tabla 2, del Anexo) para definir sus fuentes de origen.

En la zona estudiada la presencia de las 2 industrias y la zona de alta densidad poblacional; el uso de calefacción, humo del cigarrillo, utilización de automóviles para movilizarse y micro buses, pueden hacer que los niveles de Fenantreno, Fluoranteno y también el Naftaleno (3,99%), contaminante el cual se produce cuando se quema combustible, vayan en aumento o simplemente se encuentren presentes en las muestras de hoja ubicadas en Caleta Lengua, haciendo referencia a que los HAPs pueden viajar a largas distancias de su fuente emisora y depositarse en diferentes matrices.

Otros compuestos con mayores concentraciones totales presentes en las muestras, son el Pireno el cual se relaciona casi de forma directa con el Fluoranteno, haciendo que el origen de ambos sea el mismo. Para el pireno se obtuvieron concentraciones entre 0,273 y 0,626 g kg⁻¹ (21,6%), Benzo(a)antraceno entre 0,138 y 0,481 g kg⁻¹ (12,81%), así como el criseno obtuvo concentraciones que variaron desde 0,258 y 0,688 g kg⁻¹ (20,4%), todos compuestos que poseen 4 anillos de benceno en su estructura, los cuales se ven relacionados entre sí por los valores obtenidos en sus coeficientes de correlación ya que, para el Pireno y el Criseno se obtuvo un valor de 0,8552, siendo mayor aún la relación que existe entre el Pireno y el Benzo(a)antraceno con 0,9688, valor cercanos a uno, que es el ideal planteado por autores (Rubinson A. & Rubinson F., 2001).

Estos contaminantes son de mayor peso molecular, por ende, más pesados, siendo su capacidad de persistencia mayor. La alta concentración de los compuestos se explica debido a que en el sector se dan de manera continuada las fogatas, también la quema de basura entre los bosques, combustión de materias orgánicas; las muestras fueron recogidas en Julio y el uso de calefacción doméstica en invierno con las temperaturas en la zona tan bajas hacen que el uso de implementos para brindar calor sea mayor, también el constante uso de las cocinas por ser una zona con variedad en restaurantes y el hecho de estar cerca de un sector de alta densidad poblacional y el hecho de que existan las dos industrias ubicadas en las cercanías de la zona de muestreo emitiendo vapores, gases, etc. Hace que la presencia de estos compuestos derive de fuentes

pirogénicas como lo han sido también los otros HAPs encontrados, concordando con investigaciones anteriores en las cuales estos compuestos fueron aumentando en zonas donde las probabilidades de incendios forestales, combustiones a altas temperaturas, etc. Son mayores (Ratola et al., 2014), también (Rudolph et al., 2002) menciona que el pireno es un compuesto que proviene de la combustión incompleta, por lo tanto, de fuentes pirogénicas.

La diferencia respecto al primer estudio mencionado (Río Ebro, España) en donde la concentración era menor mientras más anillos de benceno los compuestos contenían, el compuesto con mayor concentración en todas las estaciones y bioindicadores fue el Fenantreno, atribuyendo su origen a fuentes pirogénicas. En el estudio presente los de mayor concentración total variaron entre los de 3 y 4 anillos, principalmente el Pireno, Fluoranteno y el Criseno, cambiando incluso el origen de las fuentes contaminantes, diferencia la cual puede estar relacionada con el clima en la zona. El Río Ebro se caracteriza por ser la zona húmeda más grande de Cataluña (Soria-Jáuregui, 2016), lo que contribuye a la escasa degradación por reacciones con el calor y luz solar de compuestos livianos. Sin embargo, Caleta Lengua suele presentar un clima cada vez más extremos, que se caracterizan por tener fuertes vientos, por lo que una mayor acumulación de HAPs de mayor peso molecular se puede deber a que esos compuestos se adhieren a la capa cerosa de las hojas (externa) la cual actúa como sorbente para contaminantes lipofílicos, característica propia de los HAPs, por lo tanto se adhieren de mejor forma en las hojas a través del aire, que es la fuente principal de transporte de los HAPs (Kylin, 1996) y teniendo las condiciones

que favorecen el transporte de los contaminantes en el aire, lo que puede promover que exista una mayor cantidad en las muestras de hojas.

En cuanto al origen de los compuestos, respecto a las actividades que se realizan o existen en las zonas, en las 9 localidades en las cuales se realizaron los muestreos en la cuenca del río Ebro, son sectores que se caracterizan por tener una alta actividad industrial, alrededor de 5 centros urbanos, los más poblados de Cataluña, obteniendo principalmente HAPs de fuentes petrogénicas. En Polonia también predominaron los HAPs de 3 y 4 anillos, variando su origen, siendo la mayoría de origen petrogénico y sólo 3 compuestos de origen biogénicos, por lo tanto de 5 y 6 anillos bencénicos. Los de origen petrogénicos tienen relación con las zonas muestreadas, ya que son fuertemente industrializadas, incluso una de las zonas es conocida como Región industrial Alta Silesia y otra zona aún es productora de carbón. Los compuestos de origen biogénicos fueron encontrados en una zona donde existe la presencia de un complejo de humedales y es una zona agrícola, libre de las principales fuentes de HAPs urbanas. Diferencia significativa respecto a éste estudio, ya que en éste fueron mayoritariamente de fuentes pirogénicas.

Análisis estadístico aplicado en muestras de hojas.

Se realizó un análisis de varianza de una vía utilizando el programa Statistix versión 7.0, para determinar si existía diferencia significativa de la concentración de algún HAP por estación de muestreo.

A partir, se obtuvo que el Fenantreno presentó un valor de Fisher de 35,25 mucho mayor al valor crítico el cual fue $F_{(3, 4; \alpha= 0,05)} = 6,591$, por lo que se determinó que existe una diferencia significativa de la Estación 1 respecto a las otras 3 (Anexo Tabla A4). En la Fig. 6 se puede observar de mejor forma la diferencia recién mencionada, ésta estación se encuentra ubicada en la costa de la bahía de San Vicente, zona la cual es más húmeda que otras, lo que contribuye a una baja degradación de compuestos livianos y el Fenantreno es parte de este grupo. Cabe destacar que los HAPs, son compuestos que pueden viajar a largas distancias y depositarse en diferentes matrices, por lo que la cercanía de las industrias, el constante uso de vehículos y micro buses que frecuentan la zona, pueden llevar a un aumento de este compuesto de origen petrogénico.

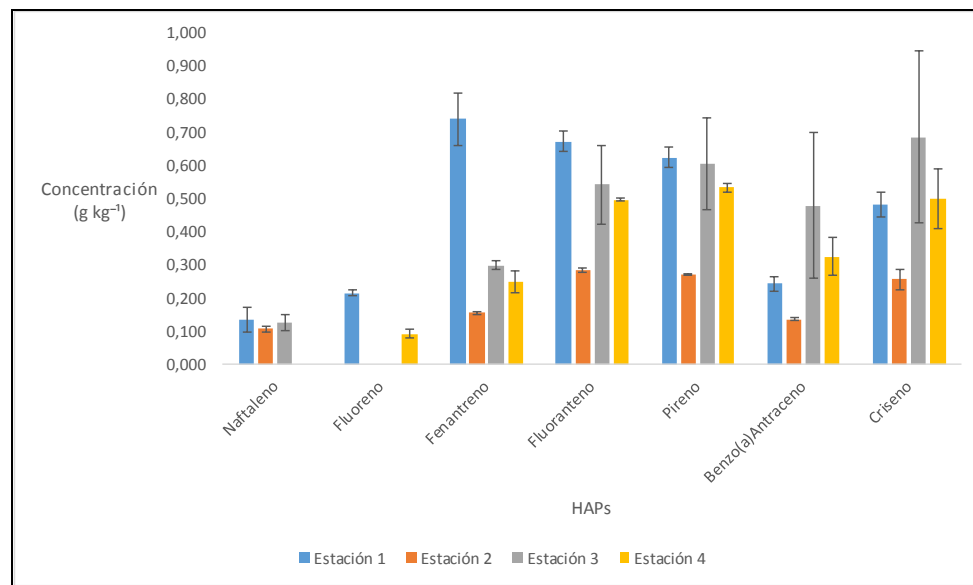


Figura 6. Variación estacional de la concentración de HAPs en g kg⁻¹.

Otro compuesto para el cual también existió una diferencia significativa, fue el Fluoranteno. Se obtuvo un Fisher de 6,86, mayor que su valor crítico, en este

caso el Fluoranteno varió en la Estación 2 (Anexo Tabla A5), donde se encontró la menor cantidad respecto a las otras estaciones, árbol el cual se encontraba ubicado bajo el cerro y encerrado por el mismo, lo que desfavoreció las corrientes de aire en esa zona, disminuyendo la posibilidad de que las hojas fuesen golpeadas por el aire y así pudiesen penetrar de forma directa, pudiéndose atribuir también a esto la baja cantidad de todos los compuestos encontrados en la estación 2.

En cuanto a los otros compuestos, a pesar de que en la Fig. 6, se pueden ver algunas diferencias de compuestos por estación, de acuerdo a los resultados obtenidos los cuales se encuentran en detalle en el Anexo desde la Tabla A6 a la A8, no hubo diferencias significativas las cuales pudiesen reportarse.

Tratamiento aplicado a Core de Pino

Tabla 8. Concentraciones medias en g kg^{-1} obtenidas de hidrocarburos aromáticos policíclicos captados en muestras de Hoja de pino.

COMPUESTOS	Concentraciones g kg^{-1}			
	E1	E2	E3	E4
Fluoreno	0,0988	0,0990	0,1010	0,0652
Fenantreno	0,0908	ND	0,0878	ND

A pesar de que existen estudios en Hojas, sedimentos, agua y aire, no se han encontrado estudios previos realizados con Núcleo de pino, por lo mismo se

quiere tener información de esta parte del pino silvestre, árbol el cual ya ha sido utilizado como bioindicador de HAPs y otros contaminantes.

Sólo se encontraron presentes 2 HAPs y en bajas concentraciones (no tan altas en promedio respecto a las encontradas en Hoja), el Fluoreno con concentraciones entre 0,0990 y 0,988 g kg⁻¹ y Fenantreno con sólo 2 concentraciones reportadas, 0,0908 en la estación 1 y 0,0878 en la estación 3 (g kg⁻¹).

Los compuestos encontrados son de bajo peso molecular y se obtuvieron valores de poca diferencia, así como también, el primero de 2 anillos bencénicos y el segundo de 3. El Fluoreno es un contaminante que proviene principalmente del alquitrán de hulla, el cual es un subproducto de la producción de coque, anteriormente se mencionó que ENAP tiene una planta que genera coque, fuente de la cual se podría estar generando éste producto. También se genera cuando productos como el carbón, petróleo y gas son quemados, pero el proceso de combustión no es completo (EcuRed, 2018), por lo que en estos casos se considera de fuentes petrogénicas. El Fenantreno, es un compuesto proveniente también de las mismas fuentes, se obtiene a partir de alquitrán de hulla y también está presente en el humo del tabaco (Enciclopedia de salud y enfermedad en el trabajo, INSHT, 2007). El bajo peso molecular de ambos compuestos, 2 y 3 anillos, son comunes en combustibles frescos, también en actividades de combustión y en algunas emisiones industriales (Yang et al., 1998 citado en Ratola et al., 2014), atribuyendo estos contaminantes principalmente a orígenes petrogénicos.

Una de las posibles causas de haber encontrado sólo 2 HAPs en el Core de Pino, es su composición. En su mayoría la madera está compuesta de Celulosa, Lignina y Hemicelulosa. El primer y tercer compuesto son polares y el segundo también, pero en menor grado, lo que le brinda a la composición de la madera características como tal. En contraste con los HAPs que son compuestos apolares y lipofílicos, es decir se mezclan bien con las grasas (Primo Yúfera E, 1995), a pesar de eso mientras más anillos estos posean, mayor es su apolaridad (Mettrak, M, 2016), razón a la que se podría atribuir la presencia de HAPs de bajo peso molecular.

CONCLUSIONES

- La metodología aplicada se validó a través de porcentajes de recuperación en Hoja de Pino silvestre, obteniendo resultados sobre el 50% en más de la mitad del MIX de HAPs inyectado en las muestras.
- La metodología utilizada en el estudio sirve para identificar y cuantificar HAPs en bioindicadores provenientes de Pino Silvestre.
- Los HAPs que se identificaron y predominaron en hoja en este estudio fueron principalmente el pireno con un 21,6% seguido por Fluoranteno con un 21,2% y el Criseno con un 20,4%, siendo principalmente su origen Pirogénico.
- Existe una diferencia significativa en la capacidad de retención de HAPs del Núcleo de Pino y la Hoja, debido a la composición química y estructural de cada uno.
- Existe diferencia en el origen de los compuestos captados entre ambas partes, en Hoja de Pino, fueron encontrados contaminantes de origen pirogénicos en su mayoría, en cambio en madera (núcleo de pino) fueron encontrados HAPs de origen petrogénicos.
- La capacidad de captación de los compuestos en hoja depende en gran medida de la ubicación que el árbol posea, en cambio en madera no hubo variación en las concentraciones obtenidas de HAPs.
- El análisis estadístico realizado en las estaciones de muestreo, muestra que el Fenantreno presenta una variación significativa en la estación 1 con respecto a las otras estaciones y el Fluoranteno presenta la menor

concentración en la estación 2 con respecto a las otras estaciones, esto debido al origen de cada uno de los compuestos antes mencionados.

BIBLIOGRAFÍA

Aguirre G - Martínez, Rudolph A, Ahumada R, Loyola R y Medina V. (2009). Toxicidad no específica en sedimentos portuarios, una aproximación al contenido de contaminantes críticos. *Revista de Biología Marina y Oceanografía*, pp, 1-3-5 y 7.

Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria (EFSA). (2008). Scientific Opinion of the Panel on Contaminants in the Food Chain on a request from the European Commission on Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Food. *The EFSA Journal*. Leído en Pérez, G., Morales, L., Morales, P & Haza, A. (2016). *Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos (haps) (i): toxicidad, exposición de la población y alimentos implicados*. Madrid: Ediciones Complutense. Consultado 30/04/2018.

Beckett, K. P., Freer- Smith, P- H., Taylor, G. (1998). Urban woodlands: their role in reducing the effects of particulate pollution. *Enviromental Pollution.*, Leído en: Mętrak, M., Aneta, E., Wilkomirski, B., Staszewski, T & Suska-Malawska, M. (2016). Interspecific differences in foliar 1 PAHs load between Scots pine, birch, and wild rosemary from three polish peat bogs. *Environ Monit Assess*.

Carey F. (1999). Química Orgánica. Mc Graw Hill. España, p, 379 y 487.

Contaminantes orgánicos persistentes. (2012). El Salvador: Ministerio de medio ambiente y recursos naturales.
<http://www.marn.gob.sv/descarga/contaminantes-organicos-persistentes-cuaderno/>. Consultado 09/08/2018.

Coquización retardada (Coker). (2018). Chile: ENAP, Refinerías Bio Bio. <https://www.enap.cl/pag/274/1563/coquizacion>. Consultado 17/12/2018.

Hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAP). (1995). España: Resumen de Salud Pública. http://www.atsdr.cdc.gov/es/phs/es_phs69.pdf. Consultado 28/04/2018.

EcuRed. (2018). Caleta Lengua. https://www.ecured.cu/Caleta_Lengua. Consultado 08/12/2018.

Energy and Wetlands Research @ CES, 2018. Naftalenos y naftalenos clorados. <http://wgbis.ces.iisc.ernet.in/energy/HC270799/HDL/ENV/envsp/Vol335.htm>. Consultado 04/11/2018.

Facultad de Ciencias (USC). (2008). *Desarrollo de metodología analítica para la determinación de Triclosan y Parabenes. Aplicación al estudio de su distribución y transformación en muestras ambientales*. España; María del Pilar Canosa Rodríguez. Consultado 01/05/2018.

Federación de Industria. (2010). *Los Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos (HAP). Acercamiento a su problemática como riesgo laboral, Metal, Construcción y Afines de UGT (MCA-UGT)*. Madrid: Agudo, A. Consultado 20/04/2018.

Hildebrandt, A., Lacorte, S & Barceló, D. (2009). Occurrence and fate of organochlorinated pesticides and pah in agricultural soils from the Ebro River basin. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*. Leído en Ratola

N & Alves, A., Lacorte, S & Barceló, D. (2011). Distribution and sources of PAHs using three pine species along the Ebro River. *Springer Science*.

Howsam, M & Jones, KC. (1998). *Sources of PAHs in the environment*. In *PAHs and related compounds 3/I*. New York: Springer-Verlag Berlin Heidelberg.

Leído en: Pérez G, Morales L, Morales P y Haza A. (2016) *Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos (haps) (i): toxicidad, exposición de la población y alimentos implicados*. Madrid: Ediciones Complutense.

Katiyar, S.K., Agarwal., R & Mukhtar, H. (1993). *CRC Handbook of Chromatography: Liquid chromatography of polycyclic aromatic hydrocarbons*. Boca Ratón, Florida. *CRC Press*. Consultado 11/09/2017. Leído en Pérez G., Morales L., Morales P & Haza A. (2016) *Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos (haps) (i): toxicidad, exposición de la población y alimentos implicados*. Madrid: Ediciones Complutense. Consultado 01/05/2018.

Krauss, M., Wilcke, W & Zech, W. (2000). Polycyclic aromatic hydrocarbons and polychlorinated biphenyls in forest soils. Depth distribution as indicator of different fate. *Environmental Pollution*. Leído en Ortiz R – Salinas, Cram S, Sommer I. (2012). *Hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAPs) en suelos de la llanura aluvial baja del estado Tabasco, México*. Universidad y ciencia. Universidad Nacional autónoma de México (UNAM). Consultado 26/09/2018.

Mętrak, M., Aneta, E., Wiłkomirski, B., Staszewski, T & Suska-Malawska, M. (2016). Interspecific differences in foliar 1 PAHs load between Scots pine, birch, and wild rosemary from three polish peat bogs. *Environ Monit Assess*.

Mętrak, M., Chmielewska, M., Sudnik-Wóicikowska, B., Wilkomirski, B & Suska-Malawska, M (2015). Does the function of railway infrastructure determine qualitative and quantitative composition of congenants (PAHs, heavy metals) in soils and plants biomass? *Water, air, and Soil Pollution.*, Leído en: Mętrak, M., Aneta, E., Wilkomirski, B., Staszewski, T & Suska-Malawska, M. (2016). Interspecific differences in foliar 1 PAHs load between Scots pine, birch, and wild rosemary from three polish peat bogs. *Environ Monit Assess.*

Levenspiel, O. (1987). *Ingeniería de las reacciones químicas*. Estado de Oregón: Ediciones REPLA, S.A., pp, 58.

Oishi, Y. (2013). Comparison of pine needles and mosses as bioindicators for polycyclic aromatic hydrocarbons. *Journal of Environmental Protection.*, Leído en: Mętrak, M., Aneta, E., Wilkomirski, B., Staszewski, T & Suska-Malawska, M. (2016). Interspecific differences in foliar 1 PAHs load between Scots pine, birch, and wild rosemary from three polish peat bogs. *Environ Monit Assess.*

Ortiz, R – Salinas., Cram, S & Sommer, I. (2012). *Hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAPs) en suelos de la llanura aluvial baja del estado Tabasco, México*. Universidad y ciencia. Universidad Nacional atónoma de México (UNAM). Consultado 26/09/2018.

Primo Yúfera, E. (1995). *Química Orgánica Básica y Aplicada. De la molécula a la Industria*. Editorial Reverté, pp, 81.

Propiedades de los hidrocarburos aromáticos. (2007). Ginebra: Enciclopedia de salud y enfermedad en el trabajo, INSHT.

http://www.insht.es/InshtWeb/Contenidos/Documentacion/TextosOnline/EnciclopediaOIT/tomo4/104_07.pdf. Consultado 17/12/2018.

Química analítica Instrumental. (2014). Madrid. Universidad autónoma de Madrid (UAM). <https://www.studocu.com/es/document/universidad-autonoma-de-madrid/quimica-analitica-instrumental/apuntes/quimica-analitica-instrumental/389394/view>. Consultado 10/01/2019.

Ratola, N., Alves, A., Lacorte, S & Barceló, D. (2014). Distribution and sources of PAHs using three pine species along the Ebro River. *Environ Monit Assess*.

Rodríguez C. María del Pilar. (2008). *Desarrollo de metodología analítica para la determinación de Triclosan y Parabenos. Aplicación al estudio de su distribución y transformación en muestras ambientales*. España. Facultad de Ciencias (USC). Consultado 01/05/2018.

Rubinson A & Rubinson F. (2001). *Análisis Instrumental*. Prentice Hall. Madrid, 57- 588 y 642.

Sæbø, A., Popek, R., Hanslin, H. M., Gawronska, H & Gawronski, S. W. (2012). Plants species differences in particulate matter accumulation on leaf surfaces. *Science of the total Environment.*, Leído en: Mętrak, M., Aneta, E., Wiłkomirski, B., Staszewski, T & Suska-Malawska, M. (2016). Interspecific differences in foliar 1 PAHs load between Scots pine, birch, and wild rosemary from three polish peat bogs. *Environ Monit Assess*.

Skoog A. & Holler F. & Nieman A. (2001). *Principios de Análisis instrumental*. McGrall Hill, 16-735-778 y 780.

Soria-Jáuregui A. (2016). Evolución geomorfológica cuaternaria del Alto Ebro: sector Cuenca de Miranda. *Revista geográfica Norte Grande*.

Terzaghi, E., Wild, E., Zaccchello, G & Cerabolini, B. E. L & Jones, K. C & Di Guardo, A. (2013). Forest filter effect: role of leaves in capturing/releasing air particulate matter and its associated PAHs. *Atmospheric Environment*. Leído en: Mętrak, M., Aneta, E., Wilkomirski, B., Staszewski, T & Suska-Malawska, M. (2016). Interspecific differences in foliar 1 PAHs load between Scots pine, birch, and wild rosemary from three polish peat bogs. *Environ Monit Assess*.

Wilcke W. (2007). Global patterns of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in soil. *Geoderma*. Leído en Ortiz R – Salinas., Cram, S & Sommer, I. (2012). *Hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAPs) en suelos de la llanura aluvial baja del estado Tabasco, México*. Universidad y ciencia. Universidad Nacional autónoma de México (UNAM). Consultado 26/09/2018.

Zhang, X., Tao, S., Liu, W., Yang, Y., Zuo, Q & Liu, S. Z. (2005). Source diagnostics of polycyclic aromatic hydrocarbons based on species ratios: A multimedia approach. *Environmental Science & Technology*.

ANEXO

La figura A1 hace mención al trabajo realizado anteriormente, durante una previa investigación donde se puso a prueba la metodología aplicada en hoja y pino de este trabajo, para la cual se logró la modificación y mejora de la misma, eliminando el ácido sulfúrico del proceso, ya que se atribuye a éste la pérdida de HAPs durante el proceso de validación.

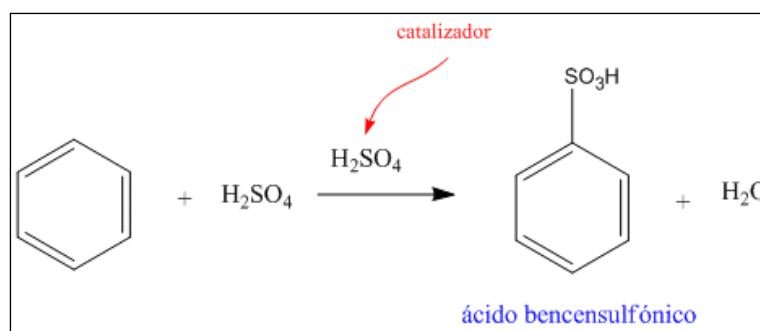


Figura A1. Reacción electrofílica del benceno frente al Ácido sulfúrico

Tabla A1. Datos obtenidos en las curvas de calibración de cada HAP para el cálculo de las concentraciones respectivas.

COMPUESTO	m	b
Naftaleno	280786	30090
Fluoreno	188796	7562,5
Fenantreno	267844	-3491,8
Fluoranteno	327178	-6903,3
Pireno	356637	-10188
Benzo(a)Antraceno	325084	-26313
Criseno	349204	4491,8

Tabla A1.1 Continuación de los datos obtenidos en las curvas de calibración de cada HAP para el cálculo de las concentraciones respectivas.

COMPUESTO	Área de cada estación en m ² "y"							
	E1	E1.1	E2	E2.2	E3	E3.3	E4	E4.4
Naftaleno	59918	38513	39380	43959	39794	53095	-	-
Fluoreno	42313	39451	19528	17503	19559	18132	18794	22954
Fenantreno	177003	142819	34621	36728	63314	69037	48998	62504
Fluoranteno	187004	171493	81067	77853	115062	176263	133308	135155
Pireno	189877	172239	82234	83775	136995	214233	159926	152542
Benzo(a)Antraceno	56968	48060	30277	28633	55923	151798	82640	58612
Criseno	153874	133932	72871	89583	128495	273439	174782	123562

Figura A2. Relación lineal entre la concentración en ppm y Áreas obtenidas de Fluoreno.

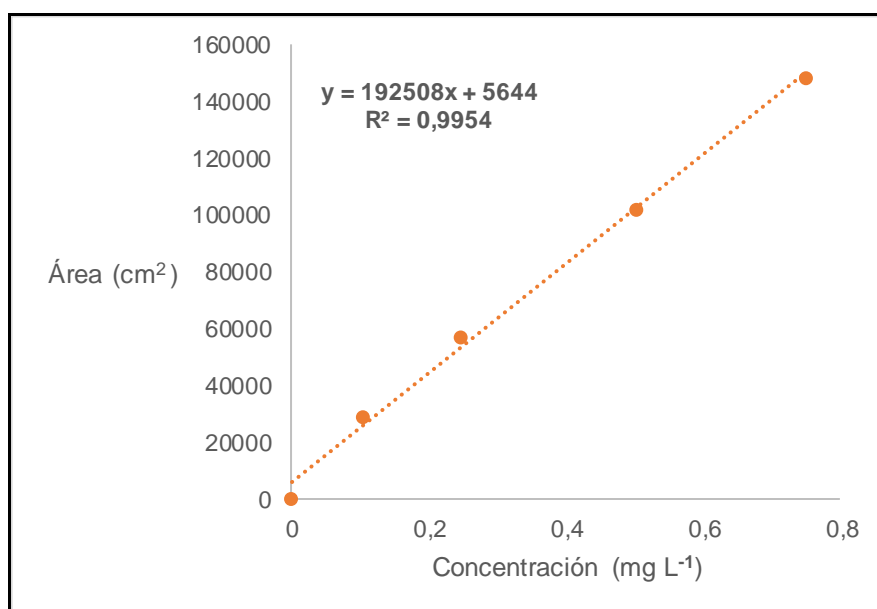


Figura A3. Relación lineal entre la concentración en ppm y Áreas obtenidas de Fenantreno.

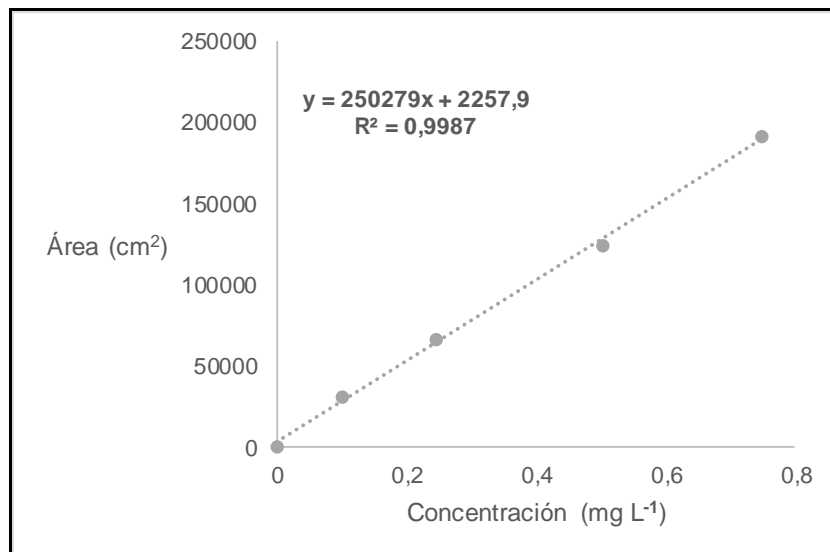


Figura A4. Relación lineal entre la concentración en ppm y Áreas obtenidas de Naftaleno.

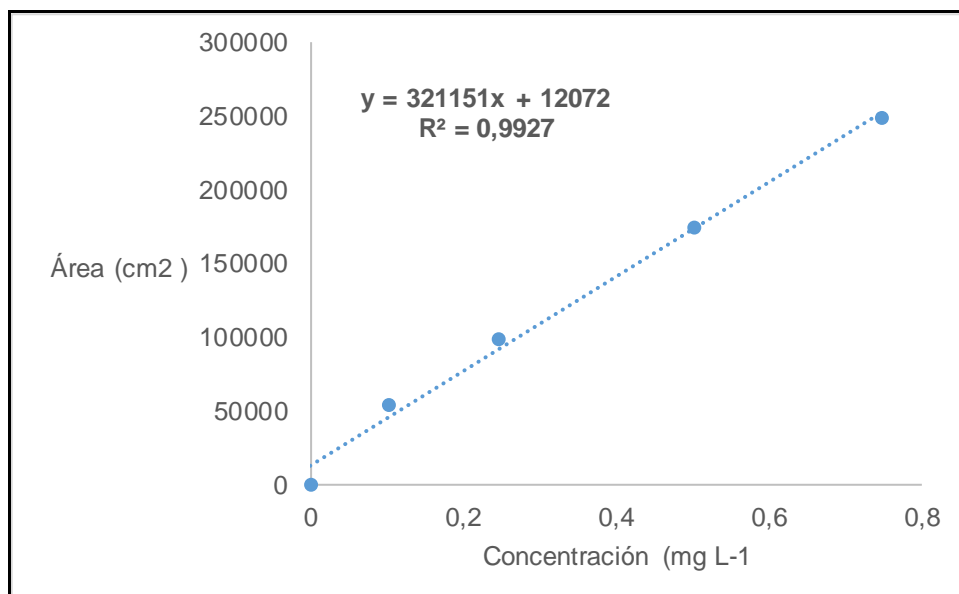


Figura A5. Relación lineal entre la concentración en ppm y Áreas obtenidas de Fluoranteno.

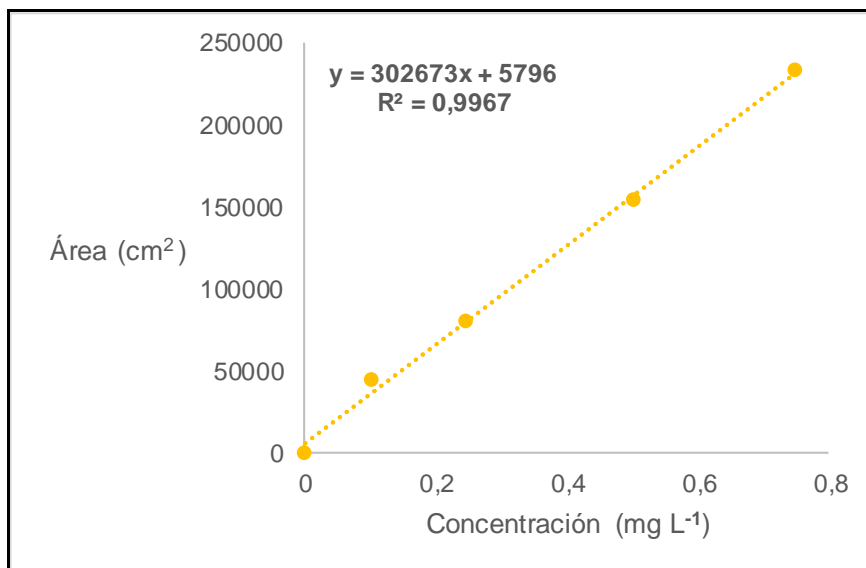


Figura A6. Relación lineal entre la concentración en ppm y Áreas obtenidas de Pireno.

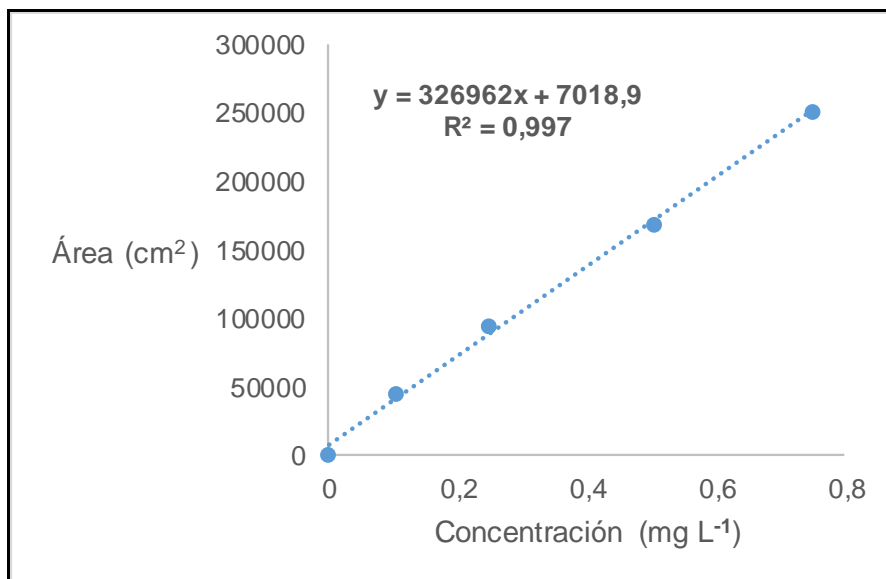


Figura A7. Relación lineal entre la concentración en ppm y Áreas obtenidas de Benzo(a)antraceno.

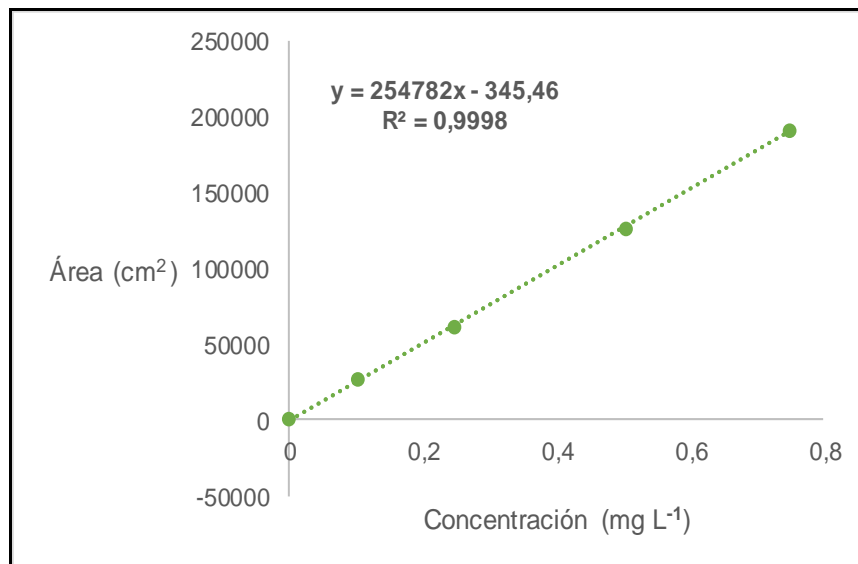


Figura A8. Relación lineal entre la concentración en ppm y Áreas obtenidas de Criseno.

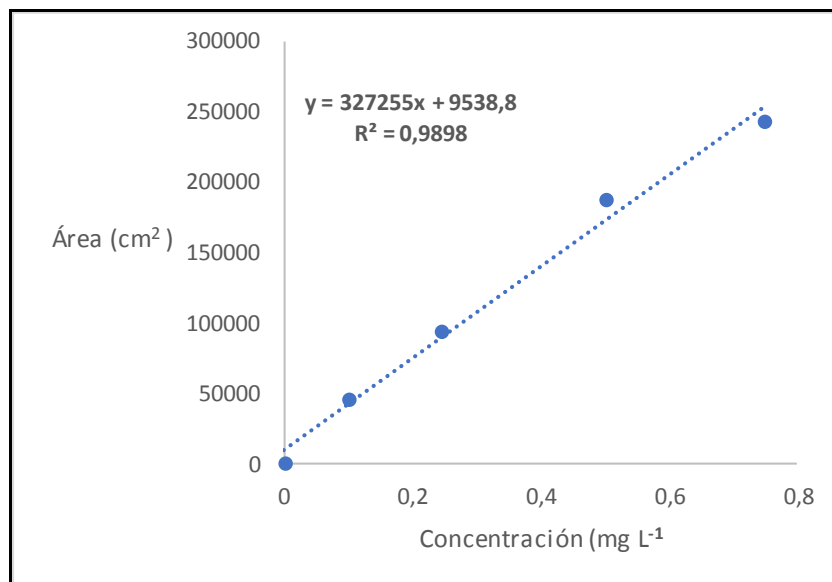


Tabla A2. Correlaciones obtenidas a partir de los compuestos cuantificados en las muestras de Hoja de pino silvestre, utilizando el Test de correlación de Pearson a través del programa estadístico Statistix, versión 10.

Statistix 10,0		sx; 20/12/2018; 12:30:57					
Correlations (Pearson)							
Compuesto	Naftaleno	Fluoreno	Fenantreno	Fluoranteno	Pireno	Benzo(a) antraceno	Criseno
Naftaleno	1						
Fluoreno	0.3772	1					
Fenantreno	0.4391	0.9755	1				
Fluoranteno	0.1902	0.7458	0.8557	1			
Pireno	0.0683	0.5081	0.6607	0.9527	1		
Benzo(a)antraceno	-0.0547	-0.2271	-0.0186	0.4685	0.7084	1	
Criseno	0.0473	0.0214	0.2298	0.6699	0.8552	0.9688	1
Cases Included	4	Missing Cases	0				

Tabla A3. Datos obtenidos para el posterior cálculo de los límites de detección y cuantificación, a través del programa estadístico Statistix, versión 10.

Compuesto	a	B	S (y/x)
Naftaleno	30090,5	280786	31047,9
Fluoreno	7562,54	188796	5306,89
Fenantreno	-3491,82	267844	6012,33
Fluoranteno	-6903,31	327178	26448,2
Pireno	-10188,2	356637	40034,7
Benzo (a) antraceno	-26313	325084	30688,5
Criseno	4491,76	349204	12809,5

Tabla A4. Variación de la concentración de Fenantreno respecto a las Estaciones. Utilizando el Test de Fisher a partir de un ANDEVA de una vía, a través del programa Statistix, versión 7.0.

STATISTIX 7.0						08-05-2019, 15:24:17	
ONE-WAY AOV FOR: E1 E2 E3 E4 FENANTRENO							
SOURCE	DF	SS	MS	F	P		
-----	----	-----	-----	-----	-----		
BETWEEN	3	0.40354	0.13451	35.25	0.0025		
WITHIN	4	0.01526	0.00382				
TOTAL	7	0.41880					
	SAMPLE	GROUP					
VARIABLE	MEAN	SIZE	STD	DEV			
-----	-----	-----	-----				
E1	0.7410	2	0.1131				
E2	0.1570	2	7,07E+00				
E3	0.3005	2	0.0191				
E4	0.2510	2	0.0453				
TOTAL	0.3624	8	0.0618				
CASES	INCLUDED	8	MISSING	CASES	0		

Tabla A5. Variación de la concentración de Fluoranteno respecto a las Estaciones. Utilizando el Test de Fisher a partir de un ANDEVA de una vía, a través del programa Statistix, versión 7.0.

STATISTIX 7.0						08-05-2019, 14:26:26	
ONE-WAY AOV FOR: E1 E2 E3 E4							
SOURCE	DF	SS	MS	F	P		
-----	----	-----	-----	-----	-----		
BETWEEN	3	0.15559	0.05186	6.86	0.0468		
WITHIN	4	0.03023	0.00756				
TOTAL	7	0.18582					
	SAMPLE	GROUP					
VARIABLE	MEAN	SIZE	STD	DEV			
-----	-----	-----	-----				
E1	0.6740	2	0.0424				
E2	0.2865	2	9,19E+00				
E3	0.5440	2	0.1683				
E4	0.4985	2	4,95E+00				
TOTAL	0.5008	8	0.0869				
CASES	INCLUDED	8	MISSING	CASES	0		

Tabla A6. Variación de la concentración de Pireno respecto a las Estaciones.

Utilizando el Test de Fisher a partir de un ANDEVA de una vía, a través del programa Statistix, versión 7.0.

STATISTIX 7.0 08-05-2019, 14:38					
ONE-WAY AOV FOR: E1 E2 E3 E4					
SOURCE	DF	SS	MS	F	P
-----	----	-----	-----	-----	-----
BETWEEN		3 0.15899	0.05300	5.16	0.0734
WITHIN		4 0.04107	0.01027		
TOTAL		7 0.20006			
VARIABLE	SAMPLE MEAN	GROUP SIZE	STD	DEV	
-----	-----	-----	-----		
E1	0.6260	2	0.0453		
E2	0.2735	2	3,54E+00		
E3	0.6070	2	0.1966		
E4	0.5365	2	0.0191		
TOTAL	0.5108	8	0.1013		
CASES	INCLUDED	8	MISSING	CASES	0

Tabla A7. Variación de la concentración de Benzo (a) antraceno respecto a

las Estaciones. Utilizando el Test de Fisher a partir de un ANDEVA de una vía, a través del programa Statistix, versión 7.0.

STATISTIX 7.0 08-05-2019, 14:35					
ONE-WAY AOV FOR: E1 E2 E3 E4					
SOURCE	DF	SS	MS	F	P
-----	----	-----	-----	-----	-----
BETWEEN		3 0.12633	0.04211	1.60	0.3221
WITHIN		4 0.10515	0.02629		
TOTAL		7 0.23148			
VARIABLE	SAMPLE MEAN	GROUP SIZE	STD	DEV	
-----	-----	-----	-----		
E1	0.2445	2	0.0290		
E2	0.1375	2	4,95E+00		
E3	0.4815	2	0.3132		
E4	0.3275	2	0.0785		
TOTAL	0.2977	8	0.1621		
CASES	INCLUDED	8	MISSING	CASES	0

Tabla A8. Variación de la concentración de Criseno respecto a las Estaciones. Utilizando el Test de Fisher a partir de un ANDEVA de una vía, a través del programa Statistix, versión 7.0.

STATISTIX 7.0 08-05-2019, 14:31					
ONE-WAY AOV FOR: E1 E2 E3 E4					
SOURCE	DF	SS	MS	F	P
-----	----	-----	-----	-----	-----
BETWEEN		3 0.18636	0.06212	1.58	0.3260
WITHIN		4 0.15704	0.03926		
TOTAL		7 0.34340			
VARIABLE	MEAN	GROUP SIZE	STD	DEV	
-----	-----	-----	-----		
E1	0.4830	2	0.0509		
E2	0.2580	2	0.0424		
E3	0.6885	2	0.3684		
E4	0.5010	2	0.1301		
TOTAL	0.4826	8	0.1981		
CASES	INCLUDED		8 MISSING	CASES	0