
Estandarización de un método para el análisis de hidrocarburos aromáticos policíclicos en muestras de agua empleando espectroscopia ultravioleta y HPLC

Standardization of a method for analyzing of polycyclic aromatic hydrocarbons in water samples using ultraviolet spectroscopy and HPLC

Rodrigo Andrés Sarria Villa^{*}, Ximena Cerón Sánchez, Edier Humberto Pérez

Grupo de Investigación en Química Analítica Ambiental (GIQA), Departamento de Química, Universidad del Cauca, Sector Tulcán, Edificio Antiguo Liceo, Popayán, Cauca, Colombia

Recibido: 11/12/2015; revisado: 05/05/2016; aceptado: 21/07/2016

Rodrigo Andrés Sarria Villa, Ximena Cerón Sánchez, Edier Humberto Pérez: Estandarización de un método para el análisis de hidrocarburos aromáticos policíclicos en muestras de agua empleando espectroscopia ultravioleta y HPLC. *Jou.Cie.Ing.* **8** (1): 39-46, 2016. ISSN 2145-2628.

Resumen

Se presentan los resultados obtenidos de la estandarización y validación de la técnica analítica para determinar Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos (PAH), empleando espectroscopia Ultravioleta y Cromatografía líquida de alta eficiencia con detección UV-FLD. El procedimiento involucra la extracción de los PAH por el método de SPE empleando un cartucho C18. El análisis cualitativo se llevó a cabo en un espectrofotómetro Ultravioleta y el cuantitativo en un cromatógrafo líquido con detectores UV y FLD; en el cual se obtuvieron límites de detección para el Fenantreno y Benzo[a]pireno con detector FLD respectivamente de 93 y 31 ppt y de cuantificación de 310 y 104 ppt. La técnica se aplicó a muestras reales aleatorias del río Cauca en su paso por el municipio de Popayán; la cual permitió determinar y cuantificar efectivamente la concentración total de PAH de 206.60, 803.30 y 297.47 ppt en Pisoje Bajo, Julumito y Torremolinos respectivamente.

Palabras Clave: Hidrocarburos aromáticos policíclicos, contaminación, agua.

Abstract

The results of standardization and validation of the method to Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAH) using UV spectroscopy and high performance liquid chromatography with UV and FLD detection are presented. The procedure involves the extraction of PAH by SPE using a C18 cartridge. Qualitative analysis was performed on a quantitative UV spectrophotometer and a liquid chromatograph with UV and FLD detectors; in which detection and quantification limits to phenanthrene and Benzo [a] pyrene were to FLD detector of 93; 31 ppt and 310; 104 ppt respectively. The method was applied to real samples from Cauca River; which allowed to determine and quantify of the PAH of 260.60, 803.30 and 297.47 ppt in Pisoje Bajo, Julumito and Torremolinos respectively.

Keywords: Polycyclic aromatic hydrocarbons, pollution, water.

^{*} rodrigov@unicauca.edu.co

1. Introducción

Los problemas ambientales ocupan cada vez un mayor espacio en el interés mundial, por lo que se han elaborado herramientas científicas para medir la incidencia de sustancias peligrosas en el medio ambiente y la salud humana. Los PAH son potentes contaminantes con propiedades carcinogénicas, teratogénicas y mutagénicas [1] que han sido incluidos por la EPA y la EU en la lista de contaminantes de mayor prioridad [2,3], además han sido decretadas por el Ministerio de Salud como sustancias de interés sanitario a nivel nacional y reguladas a nivel mundial por organizaciones como la EPA, UNESCO y OMS (MS, 1984).

Los PAH se forman por fuentes naturales (actividad volcánica e incendios forestales) y antropogénicas (combustión incompleta de combustibles del petróleo) [4]. Mezclas complejas de estos contaminantes ambientales ubicuos son comúnmente encontradas en el aire, suelo, humo de cigarrillo, ecosistemas acuáticos (agua, sedimentos, materia suspendida) y alimentos [5, 6]. Al ser Colombia un país donde el petróleo juega un importante papel en su economía es de vital importancia el estudio de contaminantes como los PAH en diversas matrices ambientales, ya que gran parte de los residuos aceitosos y aguas residuales generadas por la industria petrolera son arrojados directamente a los suelos y fuentes hídricas del país [7, 8]; siendo necesario desarrollar metodologías rápidas que permitan evaluar estas sustancias en matrices complejas como agua, suelos o sedimentos. A pesar de que los niveles de PAH en los países en vía de desarrollo de América del Sur podrían estar aumentando debido al crecimiento económico y el aumento del consumo de energía, la investigación acerca de la situación actual con respecto a los niveles de PAH en los diferentes compartimentos ambientales es más bien escasa [9].

Los estudios sobre la contaminación por PAH en el medio acuático de Colombia son muy pocos. Recientemente, se informó de altas concentraciones de PAH y sus metabolitos hidroxilados de los sedimentos y la bilis de pescado de la costa del Caribe colombiano [7]. Niveles por encima de 3720 ng PAH/g de sedimento fueron detectados en la Bahía de Cartagena. Estos fueron atribuidos a descargas industriales por refinería de petróleo, plaguicidas, plantas petroquímicas y al intenso tráfico de barcos. Niveles por debajo de 495 ng PAH/g sedimento en la Bahía de Buenaventura, un importante puerto en el Océano Pacífico Colombiano, también han sido reportados [8].

El desarrollo de métodos de análisis de componen-

tes aromáticos en muestras complejas de origen natural e industrial es muy importante desde el punto de vista de la protección y la aplicación industrial. Los métodos de análisis normalmente empleados, requieren extensos fraccionamientos de mezclas complejas. Los métodos analíticos que no requieran de una separación de todos o algunos de sus componentes de las mezclas complejas son indudablemente muy ventajosos. Algunos métodos empleando técnicas espectroscópicas pueden cumplir con estas necesidades [10]. Existen varias técnicas para analizar PAH, entre las que se destacan la cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) y GC/MS.

La espectroscopia UV-Vis también es utilizada para el análisis cualitativo de estas sustancias. Se escogió la técnica de espectroscopia ultravioleta para el análisis de PAH por ser una técnica cualitativa rápida y no destructiva de la muestra. Como técnica de corroboración se optó por la cromatografía líquida de alta eficiencia porque permite cuantificar y separar eficientemente los PAH con una buena resolución de los isómeros empleando una fase estacionaria C18 monomérica convencional.

El análisis de PAH puede llevarse a cabo por medio de diferentes técnicas analíticas, entre las cuales se encuentran la cromatografía de gases con detector de ionización de llama (FID) o detector de masas (MS) y la cromatografía líquida de alta eficiencia en fase reversa (RP-HPLC) con detector fotométrico (UV) o de fluorescencia (FLD). Entre todos ellos, el detector de fluorescencia (FLD) ha sido encontrado como el más adecuado para la cuantificación de PAH en una gran variedad de muestras ambientales debido a la alta fluorescencia de los PAH. La detección de fluorescencia (FLD) puede llegar a ser cerca de 20 a 320 veces más alta que la detección UV y 0.8 a 50 veces más alta que la detección de MS. El método de HPLC con detección UV o FLD no requiere gas de arrastre, permitiendo la determinación de compuestos no volátiles, moléculas térmicamente lábiles sin la necesidad de realizar una derivatización. Debido a las ventajas mencionadas, la técnica HPLC-FLD es de las más apropiadas en el análisis de PAH [11]. En este trabajo se plantea la estandarización de la técnica analítica rápida para la identificación cualitativa de PAH por espectroscopia ultravioleta y de corroboración la cromatografía líquida de alta eficiencia (HPLC) con detección ultravioleta y fluorescente [12].

2. Materiales y métodos

2.1. Equipos

Se utilizó un espectrofotómetro de doble haz UV-Vis DMS100 Varian, de longitud de onda variable en el rango de 190 a 800 nm, con dos celdas de cuarzo de 10 mm de camino óptico. Un cromatógrafo líquido Hewlett Packard 1100, con detector UV G1314A, de longitud de onda variable en el rango de los 190 a 600 nm, con una celda de flujo de 14.0 μL de volumen y 10 mm de camino óptico, un detector de fluorescencia G1321A, con un rango de excitación de 200 a 700 nm y de emisión de 280 a 900 nm; un inyector manual 1100 con un loop de 20.0 μL . Se trabajó con una columna empaquetada C18 Hypersil ODS de 5 m de diámetro de partícula, 4.0 mm de diámetro interno y 25 cm de longitud. Se utilizaron cartuchos Supelco C₁₈ de 6 mL con capacidad para 500 mg para realizar la extracción en fase sólida de las muestras de agua. Se empleó un rotaevaporador Buchi serie 124 para la concentración de muestras.

2.2. Reactivos y materiales

Se emplearon estándares de Fenantreno, Carlo Erba, 99.5 % grado espectrofotométrico, Benzo[a]pireno, Sigma, 97.0 % grado HPLC. Se escogieron dos representativos PAH (Fenantreno (3 anillos) y Benzo[a]Pireno (5 anillos)) de los 16 PAH (2-6 anillos) regulados por la EPA en diferentes matrices ambientales para realizar análisis de los compuestos individuales y mezclados por medio de la técnica espectrofotométrica (UV-Vis) y de separación (HPLC) [10]. Se empleó agua destilada triplemente desionizada (conductividad menor de 1 Ω), Acetonitrilo grado HPLC, J.T.Baker 100 %, Metanol, grado HPLC, Omnisolv 99.99 %, Diclorometano, Carlo Erba 99.5 %, Balanza Analítica Mettler AE200, con cinco cifras significativas, Balones aforados de 10.0 mL y 25.0 mL, tipo A, filtros de membrana para solvente HPLC RC 55, 0.45 μm de poro, 47 mm de diámetro, Jeringa Hewlett Packard de 25.0 μL , filtros Hewlett Packard para muestra de polipropileno de 0.45 μm de poro, 13 mm de diámetro.

2.3. Estandarización de la metodología analítica

Se establecieron las condiciones óptimas para el análisis espectrofotométrico en cuanto a slit (ancho de banda), velocidad de corrida, rango de longitud de onda. El rango de concentraciones preparadas de Fenantreno

y Benzo[a]pireno se hizo de acuerdo a la sensibilidad del equipo. La técnica espectroscópica permitió llevar a cabo el análisis cualitativo de los PAH con la observación de sus máximos de absorción en el espectro. Se buscaron las mejores condiciones cromatográficas para la separación, detección y cuantificación (método de estándar externo) de PAH. Optimización de la velocidad de flujo, fase móvil, gradiente y longitud de onda. Para realizar la extracción en fase sólida, inicialmente el cartucho de C18 fue activado con diclorometano (5 mL/min), metanol (5 mL/min) y agua (5 mL/min), se secó el cartucho al vacío y se adicionó metanol agua (1:4) (5 mL/min), se adicionó 1 L de muestra, se aplicó vacío por 10 minutos, se realizó la elución con 10 mL de acetonitrilo a 5 mL/min. Se concentra en rotavapor a 2.5 mL, se afora a 3 mL y se analiza por espectroscopia ultravioleta y HPLC con detección UV y FLD. Los PAH fueron extraídos y determinados en muestras de agua siguiendo el método 550.1 de la US EPA [13]

2.4. Validación del método

Para el método espectroscópico y cromatográfico se evaluó linealidad, la precisión en cuanto a repetitividad y reproducibilidad. Se evaluó la exactitud y sensibilidad en cuanto a límite de detección y cuantificación.

2.5. Toma de muestras reales

El método se aplicó a muestras reales tomadas del río Cauca en su recorrido por la ciudad de Popayán. Se tomaron muestras de agua de la quebrada Clarete ubicada al nororiente de la ciudad, las cuales fueron dopadas con una mezcla de 1.0 ppm de Fenantreno y 2.0 ppm de Benzo[a]pireno. Posteriormente, fueron sometidas al proceso de SPE, análisis espectrofotométrico y cromatográfico con el fin de observar las interferencias de matriz. Los sitios de muestreo se escogieron aleatoriamente con el fin de observar la eficiencia de los métodos de extracción y análisis espectroscópico y cromatográfico al aplicarlos a una muestra real. El primer sitio (Pisoje Bajo) se encuentra al nororiente de la ciudad, el segundo sitio (Torremolinos) se encuentra al norte y el tercer sitio (Julumito) al suroccidente de la ciudad, con una distancia aproximada entre los puntos de muestreo de 4.273 km entre Pisoje Bajo y Torremolinos, 6.073 km entre Torremolinos y Julumito. El muestreo se realizó en las tres zonas escogidas utilizando frascos ámbar de cuatro litros. Las muestras se tomaron superficialmente a cinco centímetros de profundidad en el centro y las orillas del río. Se tuvo en cuenta la temperatura am-

biente, temperatura del agua, pH y velocidad de flujo del río. Después de la toma de muestras, se almacenaron en neveras de icopor a una temperatura aproximada de 4 °C y sin incidencia de la luz. Las muestras tienen una duración de siete días después del muestreo y de un mes luego de la SPE según normas para muestreo de aguas establecidas por la EPA [14].

3. Resultados y discusión

3.1. Estandarización de la técnica espectroscópica de UV-Vis

En la tabla 1 aparecen las condiciones espectroscópicas óptimas para el análisis de PAH. Un ancho de banda de 2 nm, que permite una mejor definición de la banda espectroscópica, velocidad de barrido de 100 nm/min, la cual es la óptima para el equipo, permite una buena resolución y definición del espectro y una óptima observación de longitudes de onda de máxima absorción. El rango de barrido de 190 a 500 nm cubre todo el espectro ultravioleta y parte del visible, permitiendo obtener el espectro de los PAH en estudio.

Ancho de banda (SLIT)	2 nm
Velocidad de barrido	100 nm/min
Rango de barrido	190 a 500 nm
Camino óptico	10 mm

Tabla 1: Condiciones espectroscópicas óptimas para el análisis de PAH.

En la figura 1 se muestra el espectro de absorción electrónica de la mezcla de los patrones de Fenantreno y Benzo[a]pireno. Se observan los máximos de absorción del Fenantreno (251 nm) y Benzo[a]pireno (296 nm). Sin embargo, el pico de 294 nm del Fenantreno es solapado por el máximo de absorción del Benzo[a]pireno (296 nm). También se observan los picos de 264 y 385 nm del Benzo[a]pireno.

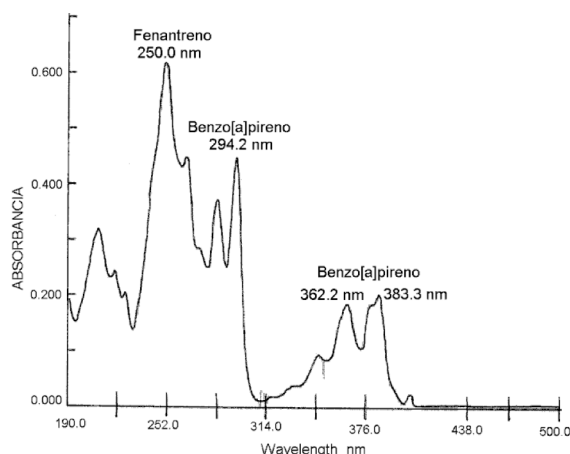


Figura 1. Espectro absorción electrónica de la mezcla de Fen y B[a]P.

3.2. Estandarización de la técnica cromatográfica

El flujo óptimo se determinó mediante la construcción de una curva de Van Deemter, donde se relaciona la altura equivalente del plato teórico, H, determinada experimentalmente versus la velocidad del flujo. A menor H, mayor número de platos teóricos. El flujo al que corresponde una menor altura equivalente de plato teórico es de 0.4 mLmin⁻¹ (H = 5.39 x 10⁻⁴ cm). El número de platos calculado fue de 46382.189 platos teóricos. Para seleccionar la longitud de onda apropiada en el detector ultravioleta, se observaron los espectros ultravioleta de cada uno de los patrones en un barrido de 190 a 500 nm. De acuerdo a esto el máximo de absorción para el Fenantreno es 251 nm y para el Benzo[a]pireno 296 nm. En la longitud de onda de 254 nm se observa una señal un poco mayor para el Fenantreno que para el Benzo[a]pireno. Sin embargo, esta longitud de onda permitió obtener bajos límites de detección y cuantificación. Además, esta longitud de onda es recomendada por varios autores para el análisis de PAH con dos a seis anillos aromáticos, ya que esta, proporciona una mayor intensidad de la señal y permite bajos límites de detección [15–17]. El Fenantreno y el Benzo[a]pireno presentan el efecto de fluorescencia por transiciones electrónicas de los electrones de los dobles enlaces conjugados, los cuales en el transcurso al estado fundamental caen a estados vibracionales corriendo la longitud de onda de emisión (efecto de Stokes). El Fenantreno con tres anillos aromáticos en su estructura, presenta la longitud de onda de excitación a 295 nm y la de emisión a 360 nm. En el caso del Benzo[a]pireno, con cinco anillos aromáticos en su estructura tiene la

longitud de onda de excitación a 305 nm y de emisión a 410 nm debido al aumento en la densidad electrónica. La longitud de onda de excitación de 280 nm y de emisión de 389 nm, permite observar una señal bien definida y buena sensibilidad para el Fenantreno y Benzo[a]pireno. La optimización del porcentaje de acetonitrilo en la fase móvil permitió observar su efecto sobre el factor de capacidad k' , así a mayor porcentaje de acetonitrilo, k' disminuye y viceversa. El k' fue determinado para el Fenantreno y Benzo[a]pireno, donde el tiempo muerto hallado con una solución de 1.0 ppm de dicromato de potasio (el cual no es retenido por la fase estacionaria C18) fue de 3.347 min. De acuerdo a los resultados, el mejor porcentaje de acetonitrilo para la elución isocrática para el Fenantreno es de 80 % de ACN ($k' = 2.874$) y para el Benzo[a]pireno de 90 % ($k' = 3.737$) y 100 % ($k' = 2.096$). La elución isocrática generalmente produce ensanchamiento de banda de los últimos picos, que tienden a ensancharse excesivamente y a concentraciones bajas no podrían diferenciarse de la línea base, además que el tiempo de elución es grande. Por lo tanto fue necesario implementar un sistema de gradiente para no afectar la elución del Benzo[a]pireno

por ser el compuesto más retenido. Las mejores condiciones que se optimizaron para la separación de PAH por HPLC se encuentran en la tabla 2.

Columna	Hypersil ODS C18 (250 mm x 4.0 mm DI), 5.0 mm de tamaño de partícula	
Volumen de inyección	25.0 mL	
Flujo	0.40 mL/min	
Elución	Tiempo (min)	% de ACN
Isocrática	0.15	80
Gradiente lineal	15-30	90
Detección UV	$\lambda = 254$ nm	
Detección FLD	$\lambda_{EX} = 280$ nm, $\lambda_{EM} = 389$ nm	

Tabla 2: Condiciones cromatográficas óptimas para el análisis de PAH

En la figura 2 se muestra el cromatograma con detección ultravioleta para la mezcla de 1.0 ppm de Fenantreno y 2.0 ppm de Benzo[a]pireno a las condiciones cromatográficas óptimas establecidas.

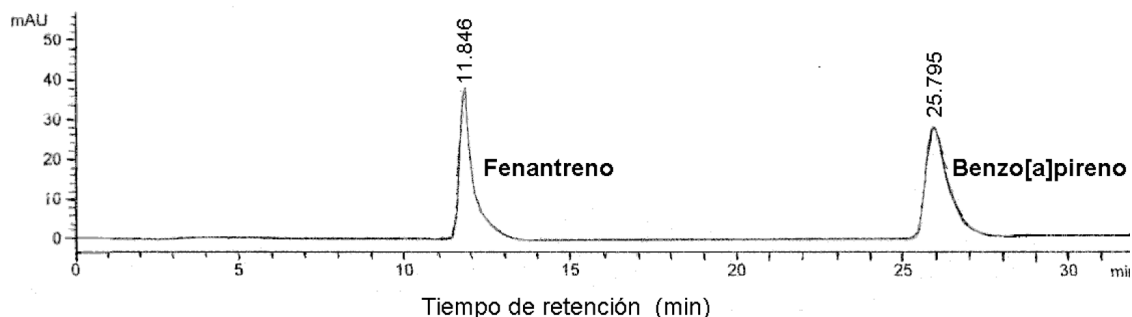


Figura 2. Cromatograma con detección UV de la mezcla Fen y B[a]P a condiciones óptimas de trabajo.

3.3. Validación del método

De acuerdo a las condiciones espectroscópicas establecidas se realizó una curva de 150 a 1050 ppb para Fenantreno y 200 a 1000 ppb para Benzo[a]pireno. Se obtuvieron coeficientes de correlación de 0.9972 y 0.9915 respectivamente. Con la técnica cromatográfica con detección ultravioleta se realizaron dos curvas para cada compuesto. Una curva de 150 a 1050 ppb para Fenantreno y de 200 a 1000 ppb para Benzo[a]pireno. Coeficientes de correlación de 0.997 y 0.997 fueron ob-

tenidos respectivamente. Se realizaron en cromatografía con detección UV curvas para el Fenantreno de 10 a 150 ppb y 10 a 220 ppb para Benzo[a]pireno con coeficientes de correlación de 0.997 y 0.999 respectivamente. Teniendo en cuenta las condiciones cromatográficas se realizaron en cromatografía con detección de fluorescencia dos curvas, una para Fenantreno de 1-10 ppb y para Benzo[a]pireno de 1-10 ppb con coeficientes de correlación de 0.995 y 0.998 respectivamente. Las medidas de absorbancia en el espectrofotómetro UV-Visible y las inyecciones en el cromatógrafo líquido de cada

punto de las curvas de calibración en espectroscopia y cromatografía se hicieron por triplicado. Se pudo observar que los R2 obtenidos para cada curva, presentaron valores próximos a 1, lo que nos indica la bue-

na linealidad correspondiente a la relación absorbancia-concentración y área-concentración. En la figura 3 se pueden ver las curvas de calibración para Fenantreno y Benzo[a]Pireno con detección ultravioleta.

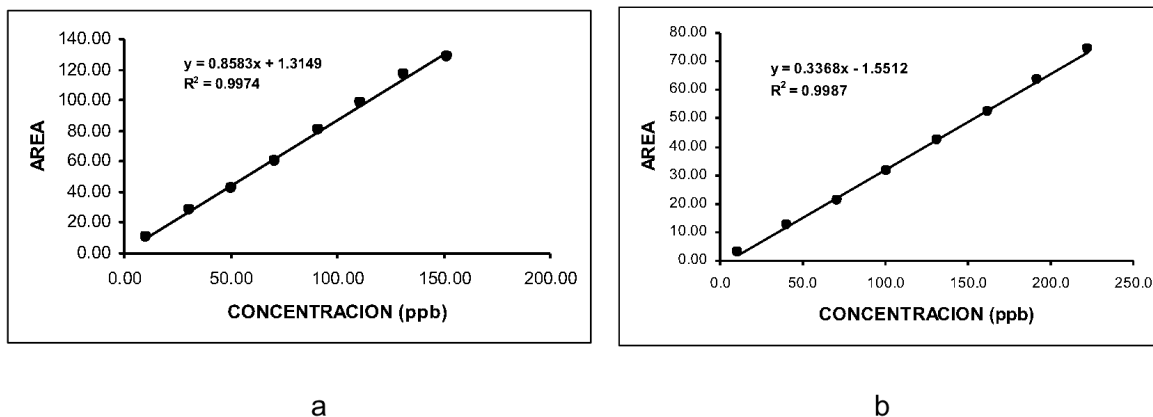


Figura 3. (a) Curva de calibración de Fen de 10-150 ppb en HPLC con detección UV; (b) Curva de calibración de B[a]P 10-220 ppb en HPLC con detección UV.

Para determinar los límites de cuantificación y detección del Fenantreno, se utilizaron los datos de las concentraciones de 1 a 7 ppb y para Benzo[a]pireno se emplearon los datos de concentraciones de 1 a 8 ppb. Se observó un límite de cuantificación en el detector UV para Fenantreno de 0.260 ppb y 1.0 ppb para Benzo[a]pireno. Límites de detección para el Fenantreno y para el Benzo[a]pireno de 0.079 ppb y 0.205 ppb respectivamente. Se inyectaron por triplicado soluciones de 0.1 ppb a 0.8 ppb de Fenantreno y Benzo[a]pireno, los cuales se emplearon para calcular los límites de detección y cuantificación de estos compuestos en el detector de fluorescencia (FLD). Los límites de cuantificación y detección con detección FLD fueron de 0.310 ppb y de 0.093 ppb respectivamente y para el Benzo[a]pireno de 0.104 ppb y 0.031 ppb. Para determinar la precisión del sistema, la repetitividad se realizó observando la absorbancia y áreas obtenidas al medir por triplicado cada concentración en las curvas de trabajo. Para la evaluación de la repetitividad se tuvo en cuenta el coeficiente de variación (RSD), el cual permite determinar el porcentaje de desviación que presentan las tres medidas tomadas. Teniendo en cuenta el RSD en el método de espectroscopia UV-Vis, se observó que este varía en un rango de 0.406 % a 3.390 % aproximadamente. Para el proceso cromatográfico con detección UV el RSD está entre 0.002 % a 3.125 % y entre 0.399 % a 3.950 % para

el método de cromatografía líquida con detección FLD. Según estos resultados y teniendo en cuenta que el criterio de aceptación del coeficiente de variación (%RSD) no debe exceder el 5 % para el análisis Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos, se considera que los métodos espectroscópico y cromatográfico empleados son repetitivos en todo el rango de concentraciones estudiado. La reproducibilidad se realizó determinando el coeficiente de variación de las medidas de absorbancia en el espectrofotómetro y áreas en el cromatógrafo durante tres días consecutivos. La reproducibilidad en espectroscopia ultravioleta para una solución de 550 ppb de Fenantreno y 600 ppb Benzo[a]pireno presentó coeficientes de variación de 0.452 % y 0.870 % respectivamente. En HPLC para el Fenantreno, la reproducibilidad se evaluó en todo el rango de trabajo, con concentraciones de 5, 70 y 550 ppb, en las cuales se observaron coeficientes de variación de 0.917 %; 0.342 % y 0.122 % respectivamente. Para el Benzo[a]pireno, se evaluaron concentraciones de 5, 100 y 600 ppb, en las cuales se obtuvieron coeficientes de variación de 0.919 %; 0.488 % y 0.094 % respectivamente. Los coeficientes de variación tanto en el método espectroscópico como en el cromatográfico fueron menores del 5 %, lo que muestra una buena reproducibilidad de los métodos. La exactitud del sistema se realizó en las curvas de trabajo en espectroscopia ultravioleta y cromatografía líquida con detección

ultravioleta y fluorescente, observando la recuperación de las absorbancias y áreas en cada una de las curvas de trabajo. Para que haya exactitud en el sistema, el t_{obt} debe ser menor al t_{tabla} . El t_{tabla} se tomó teniendo en cuenta el número total de mediciones (absorbancias o áreas); de esta manera el t_{tabla} para ocho grados de libertad y un 95 % de confianza es de 2.306. Se observó que el t_{obt} es menor que el t_{tabla} y por tanto no existen diferencias significativas entre la recuperación media y 100. Para la extracción, la fase C18 usada para la extracción permitió obtener unos excelentes porcentajes de recuperación. Luego de realizar la SPE, la muestra es concentrada en el rotaevaporador a sequedad, posteriormente se afora a tres mililitros con acetonitrilo grado HPLC y se procede con el análisis espectrofotométrico y cromatográfico. La exactitud del sistema de extracción se realizó aplicando la *t* de student en todo el rango de trabajo espectroscópico y cromatográfico, observando las áreas que presentaron concentraciones de 5, 50 y 250 ppb de Fenantreno y 5, 100 y 500 ppb de Benzo[a]pireno, a las cuales se les realizó la medición por triplicado, después de la SPE. Porcentajes de recuperación promedio del Fenantreno de 99.040 y un t_{obt} de 1.598 y para el Benzo[a]pireno un porcentaje de recuperación de 100.20 con un t_{obt} de 0.291. La *t* de student se aplicó a nueve muestras ($n=9$), con un t_{tabla} de 2.306 para ocho grados de libertad y un 95 % de confianza.

3.4. Confirmación espectroscópica y cromatográfica de muestras de agua del río Cauca

Se aplicaron los métodos realizando un muestreo aleatorio de aguas superficiales del río Cauca en el sector de PISOJÉ BAJO, puente de Torremolinos y Julumito. Después del muestreo en cada sector y la SPE de las muestras, se procedió con el análisis espectrofotométrico y cromatográfico.

SITIO DE MUESTREO	CONCENTRACIÓN		CONCENTRACIÓN PAH TOTAL (ppb)
	ENCONTRADA DE FENANTRENO (ppb)	ENCONTRADA DE BENZO[a]PIRENO (ppb)	
PISOJÉ BAJO	178.14	N.D	206.60
JULUMITO	211.89	N.D	803.30
TORREMOLINOS	248.47	13.51	297.47

Tabla 3: Concentración de Fen y B[a]P en tres puntos del río Cauca.

En la tabla 1 aparecen las condiciones espectroscópicas óptimas para el análisis de PAH. Un ancho de banda de 2 nm, que permite una mejor definición de la banda espectroscópica, velocidad de barrido de 100 nm/min,

la cual es la óptima para el equipo, permite una buena resolución y definición del espectro y una óptima observación de longitudes de onda de máxima absorción. El rango de barrido de 190 a 500 nm cubre todo el espectro ultravioleta y parte del visible, permitiendo obtener el espectro de los PAH en estudio.

La mayor concentración de PAH totales, se encontró en el sector de Julumito (0.8033 ppb) debido tal vez a que es el punto final del paso del río Cauca por el municipio de Popayán, después de haber recibido gran cantidad de residuos domésticos y de estaciones de suministro de combustible. Esta concentración se encuentra por debajo del límite permisible de 10 ppb de PAH totales establecido por la OMS y la UNESCO. Sin embargo, en este sector el Benzo[a]pireno no fue detectado por el método. La ausencia o baja concentración de este compuesto puede ser debida en parte a su fotosensibilidad, biodegradación causada por plantas y microorganismos, adsorción a sedimentos y materiales liposolubles y a la bioacumulación [18]. La concentración total de PAH en los sectores de Torremolinos y PISOJÉ BAJO fueron respectivamente de 297.47 ppt y 206.60 ppt, las cuales se encuentran por debajo del límite permisible establecido. En el sector de Torremolinos se encontró una concentración de 0.01352 ppb de Benzo[a]pireno, concentración que está por debajo del límite establecido por la EU de 0.02 ppb de Benzo[a]pireno en aguas superficiales. En este sector se encontró Fenantreno, Benzo[a]pireno y otros posibles PAH, debido a su cercanía a estaciones de servicio de combustible y a que es un sector con un alto grado de flujo vehicular. El sector de PISOJÉ BAJO presentó la concentración total de PAH más baja, por ser un sector no muy expuesto a este tipo de contaminantes y por estar ubicado a la entrada de la ciudad.

4. Conclusiones

La espectroscopia Ultravioleta y la cromatografía líquida de alta resolución con detección ultravioleta y fluorescente son excelentes técnicas analíticas para la determinación cualitativa y cuantitativa de PAH. La espectroscopia ultravioleta proporcionó espectros con bandas características, siendo una gran técnica de análisis rápido de PAH presentes en muestras ambientales. La cromatografía líquida por su alta sensibilidad y selectividad, permitió obtener picos cromatográficos bien resueltos y separados, con bajos límites de detección y cuantificación. Los buenos resultados de linealidad, reproducibilidad, exactitud y precisión del método espectroscópico, cromatográfico y de extracción, permitieron determinar los PAH en aguas del río Cauca, donde se en-

contraron concentraciones significativas de Fenantreno en el sector de Pisojé Bajo, en el sector de Julumito de Fenantreno y de Benzo[a]pireno en el sector de Torremolinos. La concentración total de PAH en las muestras de agua del río Cauca fue de más alta en el sector de Julumito, seguido de Torremolinos y Pisojé Bajo. Las cuales estuvieron por debajo del límite permisible de 10 ppb establecido por organizaciones internacionales como la EU, OMS y la UNESCO.

Agradecimientos

Los autores agradecen al Departamento de Química de la Universidad del Cauca, Popayán-Cauca-Colombia por el apoyo brindado en la realización de este trabajo.

Referencias

- [1] Kurt Straif, Robert Baan, Yann Grosse, Béatrice Secretan, Fatiha El Ghissassi, Vincent Coglianò, WHO International Agency for Research on Cancer Monograph Working Group, et al. Carcinogenicity of polycyclic aromatic hydrocarbons. *The lancet oncology*, 6(12):931–932, 2005.
- [2] Francesc Fàbrega, Montse Marquès, Antoni Ginebreda, Maja Kuzmanovic, Damià Barceló, Marta Schuhmacher, José L Domingo, and Martí Nadal. Integrated risk index of chemical aquatic pollution (iricap): case studies in iberian rivers. *Journal of hazardous materials*, 263:187–196, 2013.
- [3] William Ocampo-Duque, Ronnie Juraske, Vikas Kumar, Martí Nadal, José Luis Domingo, and Marta Schuhmacher. A concurrent neuro-fuzzy inference system for screening the ecological risk in rivers. *Environmental Science and Pollution Research*, 19(4):983–999, 2012.
- [4] Rodrigo Sarria-Villa, William Ocampo-Duque, Martha Páez, and Marta Schuhmacher. Presence of pahs in water and sediments of the colombian cauca river during heavy rain episodes, and implications for risk assessment. *Science of the Total Environment*, 540:455–465, 2016.
- [5] Dietmar Knopp, Martin Seifert, Virpi Väänänen, and Reinhard Niessner. Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in contaminated water and soil samples by immunological and chromatographic methods. *Environmental science & technology*, 34(10):2035–2041, 2000.
- [6] Montse Mari, Roy M Harrison, Marta Schuhmacher, José L Domingo, and Siwatt Pongpiachan. Inferences over the sources and processes affecting polycyclic aromatic hydrocarbons in the atmosphere derived from measured data. *Science of the total environment*, 408(11):2387–2393, 2010.
- [7] Boris Johnson-Restrepo, Jesus Olivero-Verbel, Shijun Lu, Jorge Guette-Fernández, Rosa Baldiris-Avila, Indira O'Byrne-Hoyos, Kenneth M Aldous, Rudolf Addink, and Kurunthachalam Kannan. Polycyclic aromatic hydrocarbons and their hydroxylated metabolites in fish bile and sediments from coastal waters of colombia. *Environmental Pollution*, 151(3):452–459, 2008.
- [8] R. Casanova, C. Celis, and G. Bastidas. Evaluación de los niveles de hidrocarburos aromáticos poli-cíclicos en sedimentos de las principales bahías del pacífico colombiano. *Boletín Científico CCCP*, 15:47–59, 2008.
- [9] Ricardo Barra, Caroline Castillo, and Joao Paulo Machado Torres. Polycyclic aromatic hydrocarbons in the south american environment. In *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology*, pages 1–22. Springer, 2007.
- [10] Homdutt Sharma, VK Jain, and Zahid H Khan. Identification of polycyclic aromatic hydrocarbons (pahs) in suspended particulate matter by synchronous fluorescence spectroscopic technique. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 68(1):43–49, 2007.
- [11] Di Pan, Jianping Wang, Chunyan Chen, Qingyun Cai, Shouzhao Yao, et al. Ultrasonic assisted extraction combined with titanium-plate based solid phase extraction for the analysis of pahs in soil samples by hplc-flid. *Talanta*, 108:117–122, 2013.
- [12] R. Sarria and X. Cerón. Análisis de hidrocarburos aromáticos policíclicos (pah) en muestras ambientales empleando espectroscopia ultravioleta y cromatografía líquida de alta eficiencia (hplc) con detección ultravioleta y de fluorescencia. trabajo de grado en química. universidad del cauca. colombia. 2001.
- [13] JW Hodgeson, WJ Bashe, and TV Baker. Method 550.1 determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in drinking water by liquid-solid extraction and hplc with coupled ultraviolet and fluorescence detection. *Environmental Monitoring Systems Laboratory, Office Of Research and Development, US Environmental Protection Agency, Cincinnati, Ohio*, 45268:1–22, 1990.
- [14] R. Sarria. *Desarrollo de una herramienta para la gestión de la calidad del agua del río Cauca en su paso por el Departamento del Valle basado en sistemas inteligentes*. PhD thesis, Universidad del Valle. Colombia, 2015.
- [15] O. Velásquez, J. Martínez, and J. Lozada. Evaluación de pah en sedimentos y en organismos marinos de la bahía de buenaventura y Málaga por hplc y detección uv. In *Congreso de Química. Química investigación y desarrollo. Medellín. p. QAM12-QAM13.*, 1996.
- [16] Robert M Silverstein, Francis X Webster, David J Kiemle, and David L Bryce. *Spectrometric identification of organic compounds*. John Wiley & Sons, 2014.
- [17] John J Langenfeld, Steven B Hawthorne, and David J Miller. Quantitative analysis of fuel-related hydrocarbons in surface water and wastewater samples by solid-phase microextraction. *Analytical chemistry*, 68(1):144–155, 1996.
- [18] William Ocampo-Duque, Jordi Sierra, Núria Ferré-Huguet, Marta Schuhmacher, and José L Domingo. Estimating the environmental impact of micro-pollutants in the low ebro river (spain): An approach based on screening toxicity with vibrio fischeri. *Chemosphere*, 72(5):715–721, 2008.