

Determinación de Hidrocarburos Policíclicos Aromáticos, utilizando (*Pinus Silvestrys*) como Bioindicador en una zona industrial (Bahía de San Vicente), Chile.

Lorena Gerli¹, Cecilia Rivera², Macarena Osses¹.

1.- Departamento de Química Ambiental, Facultad de Ciencias, Universidad Católica de la Santísima Concepción, Chile.

2.- Departamento de Ciencias y Geografía, Facultad de Ciencias Naturales y Exactas, Universidad de Playa Ancha, Chile.



HAPs

Son un grupo extenso de compuestos orgánicos, (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”

Se caracterizan por ser:

- Bioacumulables
- Viajeros globales
- Contaminantes tóxicos

Fuentes de HAPs:

- Fuentes Naturales
- Fuentes Antropogénicas



Bioindicadores

- Los bioindicadores pueden ser (plantas, microorganismos y animales) utilizados para evaluar u observar el estado de un ecosistema. Los cambios en su diversidad o población pueden reflejar la existencia o el aumento de contaminación o cualquier otro factor que pueda dañar el equilibrio del ecosistema natural.
- Estudios actuales 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 de contaminantes en hoja de árboles perennes como Pino, Romero Silvestre y Abedul, aumenta en zonas Industrializadas y productoras de carbón (Meştrak et al., 2016).

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

- Biogénicos (procesos metabólicos o degradación de materia orgánica)



- Petrogénicos (derivados del petróleo)



- Pirogénicos (combustión incompleta de materia orgánica)





Figura 1. Mapa de Chile.

Área en estudio

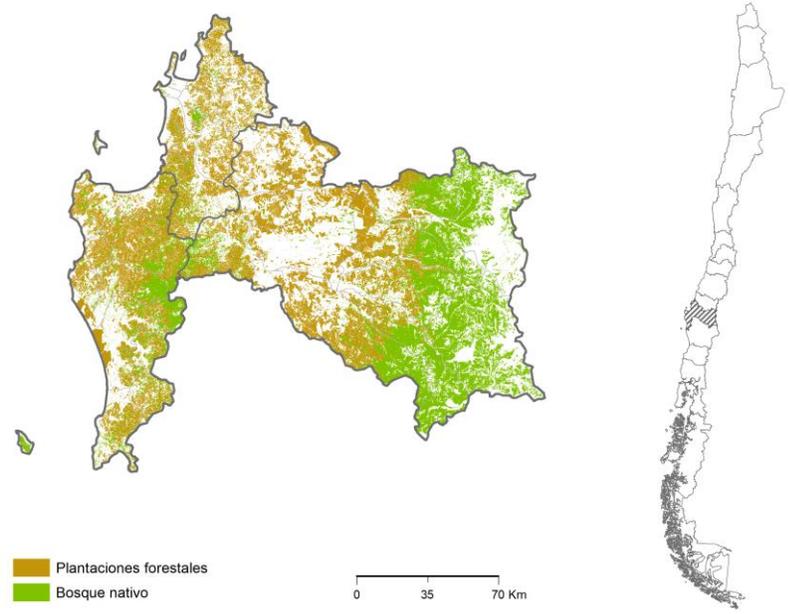


Figura 2. Región del Biobío.

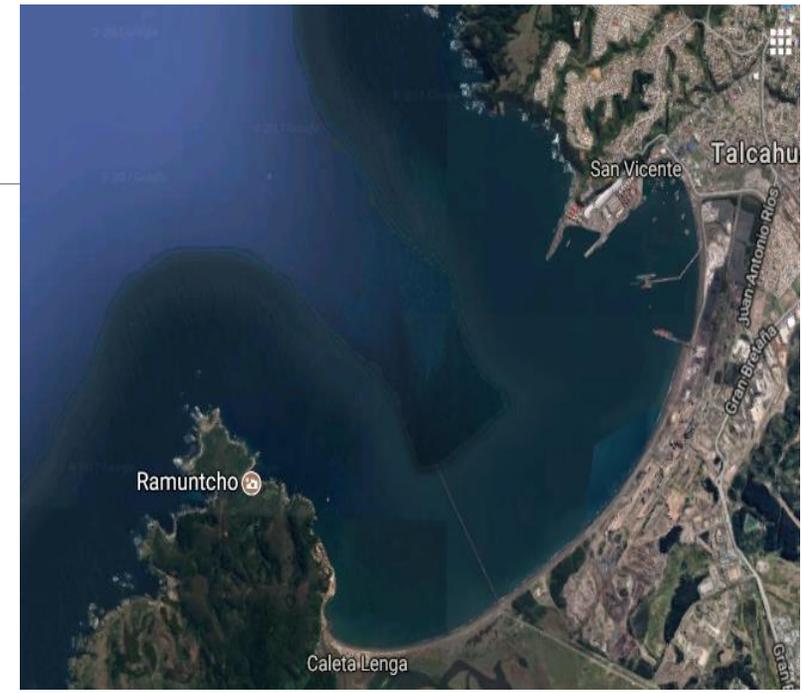


Figura 3. Bahía de San Vicente.



UCSC

Pregunta de Investigación

Diferentes HAPs se encuentran presentes en el núcleo y en hojas de Pino silvestre “Pinus Silvestris”, en una Zona industrial, correspondientes a la Bahía de San Vicente, región del Biobío Chile.

Objetivos



GENERAL

- Determinar la presencia y concentración de HAPs en 4 muestras de Pino, utilizando como bioindicadores (núcleo y hoja), en el área en estudio.

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, 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



Ubicación georreferencial de los puntos de muestreo.

Toma de muestras (núcleo y hojas).



Almacenamiento de muestras (congelador).

Liofilización.



Trituración.

Análisis.





UCSC

- Los núcleos fueron obtenidos a través de un Borer y las hojas por corte simple de las ramas del árbol, luego de la obtención y posterior conservación de muestras fueron sometidas al Liofilizador Operon FDU7012, siendo luego trituradas con un Molino Grinder FM200 a 10.000 rpm.
- Las muestras en duplicado fueron masadas, para ser ingresadas a tubos de vidrio c/tapa rotulados, incorporando a ellos el solvente (Hexano) y sometidas a un baño ultrasónico durante 30 minutos, el cual fue utilizado como método de extracción de los compuestos a determinar en cada una de las matrices.
- Luego los extractos fueron concentrados en Rotavapor Heldolph LABOROTA 4001 hasta obtener 1 a 0,5 mL de cada una de las muestras.
- Luego se realizó un Clean Up, a las muestras para eliminar la humedad dentro de la fase estacionaria.
- Finalmente se concentraron las muestras, a través de una corriente de nitrógeno agregando 200µL del solvente utilizado, estando las muestras listas para ser inyectadas en un cromatógrafo de gases acoplado a un espectrómetro de masas cuadripolar; marca Shimadzu y modelo QP5050A.
- El gas portador fue Helio 5.0, columna HP-5.

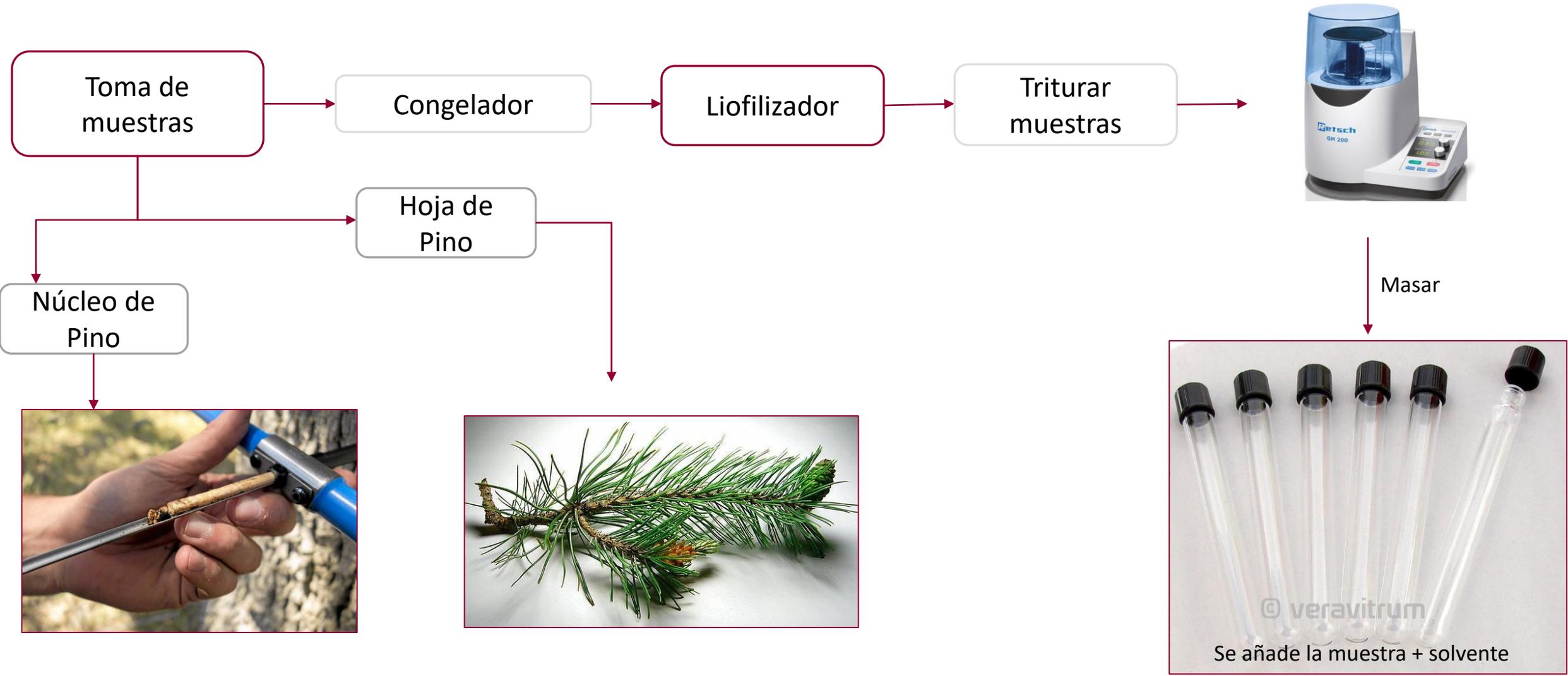


Figura 4. Diagrama de flujo de toma de muestras.

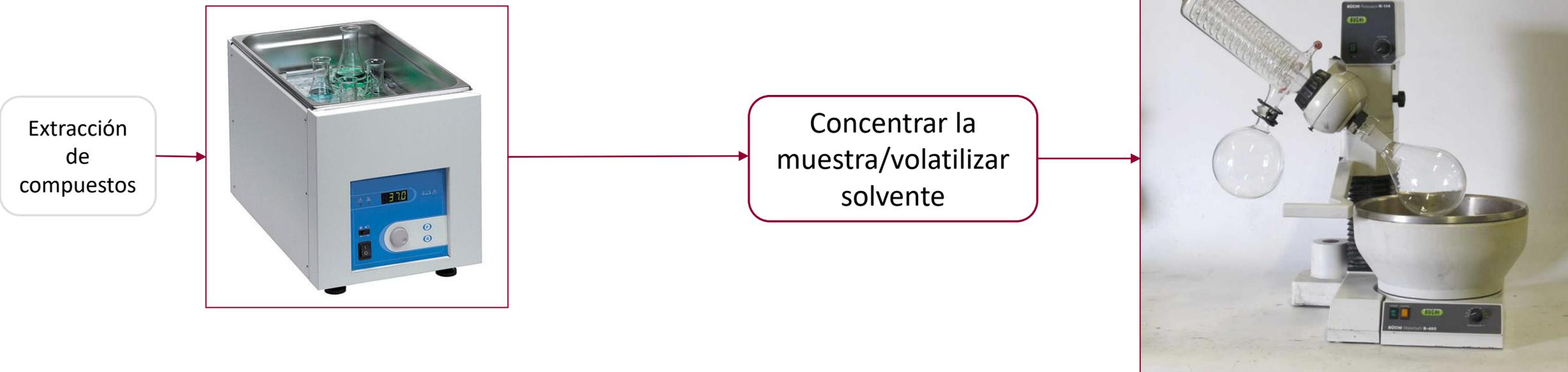
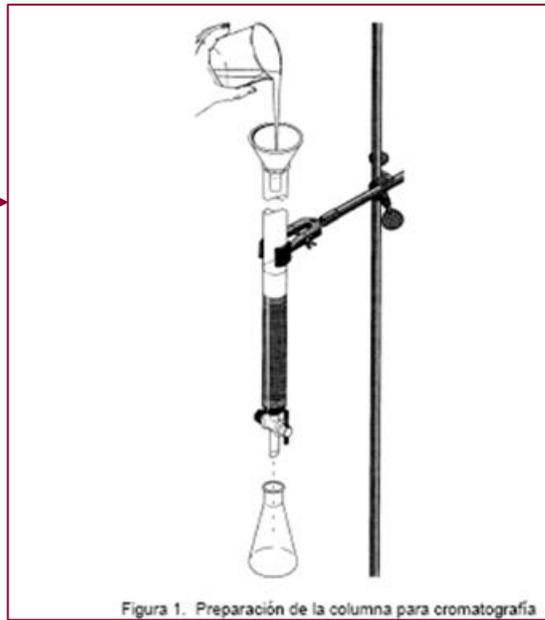


Figura 5. Diagrama de flujo de metodología de análisis.

Clean-up/limpieza o purificación de la muestra

F.E: Silica

F.M: mezcla de DCM:Hexano (1:1)



A 0,5 mL

Concentrar en rotavapor

Extraer muestras lavando con hexano

Concentrar/evaporar solvente



Corriente de nitrógeno

Inyectar en CG-MS

Resultados

- Las muestras fueron inyectadas en un cromatógrafo de gases acoplado a un espectrómetro de masas cuadrupolar; marca Shimadzu y modelo QP5050A.
- Se inyectó un volumen de 1 μL y el volumen final de cada muestra utilizada fue de 200 μL , con un tiempo final de inyección de 42 min.
- Para la validación del método a utilizado, se realizó una curva de calibración previa 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.

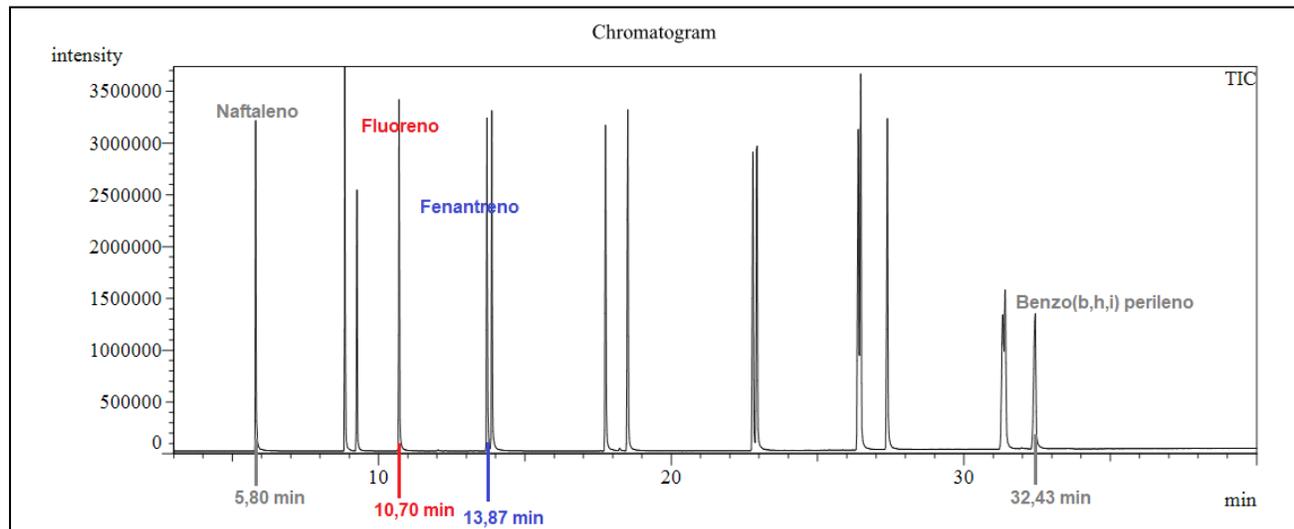


Figura 6. Cromatograma obtenido del estándar que contiene los 16 HAPs. Tiempo de retención frente a intensidad de señal de los compuestos.

- Estudios reportan la eficiencia de la utilización de Pino Silvestre como bioindicador (METRAK et al.2016). Sin embargo, en el presente estudio las hojas fueron las adecuadas para la metodología, reportando 7 diferentes HPAs de hasta 4 anillos de benceno y en altas concentraciones.
- La diferencia existente entre las muestras de hojas y núcleo es la capacidad de retención de los compuestos en estudio, debido a la composición de cada uno de ellos.
- 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 HPAs disminuye a 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 (METRAK et al.2015), a esto se le atribuye la presencia en núcleo 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, de la metodología utilizada.
- En cambio, en las muestras de hojas, por lo general éstas pueden retener HPAs directamente en fase vapor y gaseosa, a través de sus estomas o a través de láminas 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 (RATOLA et al. 2014).

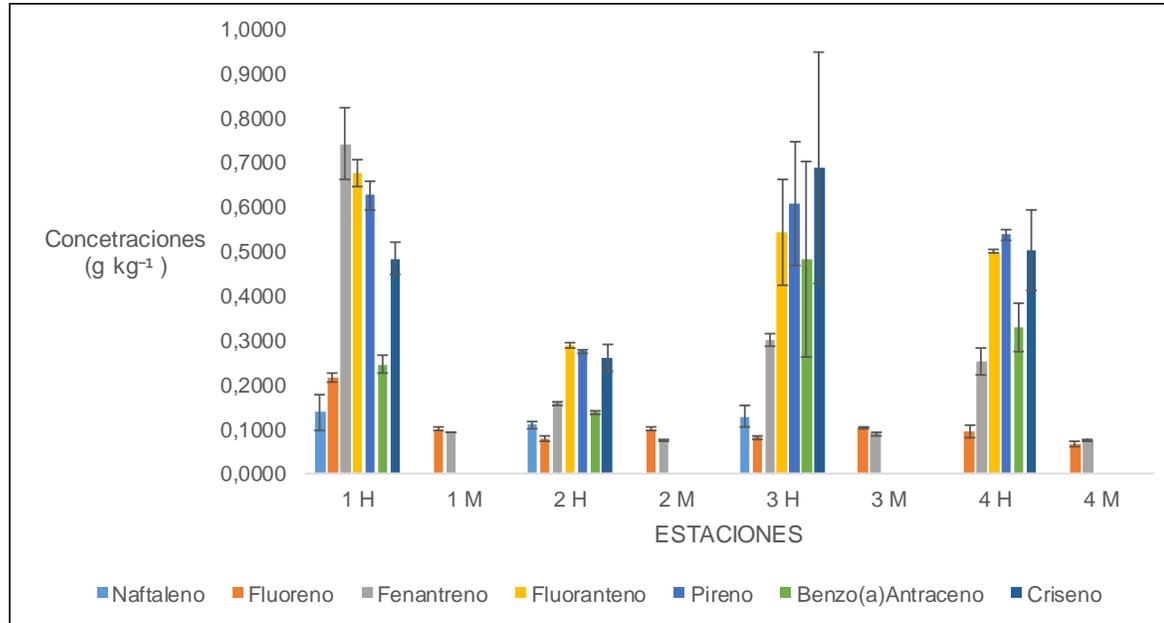


Figura 7. Comparación de la capacidad de retención de HAPs en hoja (H) y madera (M), representado a través concentraciones (g kg⁻¹) vs sus respectivas estaciones.

Tabla 1. 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	ND
Fluoreno	0,215	ND	ND	0,093
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

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.
- Los compuestos de 3 y 4 anillos de benceno, fueron los que predominaron en el estudio de las hojas, principalmente el pireno 21,6%; Fluoranteno 21,2% y Criseno 20,4%.
- Existe menor eficiencia en la técnica para detectar HAPs, en las muestras de núcleo de madera.
- Existe diferencia en la capacidad en retención de HAPs entre el Núcleo de Pino y la Hoja. Las hojas retienen alrededor de 7 HAPs, por que se concluye que es el bioindicador adecuado para la metodología utilizada en el presente estudio.
- Existe diferencia en el origen de los compuestos captados entre ambas partes en estudio, en Hoja de Pino, fueron encontrados contaminantes de origen petrogénicos y pirogénicos en su mayoría, en cambio en madera (núcleo de pino) sólo fueron encontrados HAPs de origen petrogénicos.

Bibliografía

- 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., 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.*
- 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.
- 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.*
- 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.*

UC

Investigación en la UCSC

...s a conocer las diferentes áreas del conocimiento
...as por la comunidad universitaria.

INVESTIGACIÓN UCSC

1650

Publicaciones Scopus (2018-2022)

71

Proyectos FONDECYT (2018-2022)
* Institución Prioritaria





Gracias

*Dra. Lorena Gerli
loregerli@ucsc.cl*