



DETERMINATION OF VOLATILE ORGANIC COMPOUNDS IN AN ATMOSPHERE RURAL BIOGENIC (NATURAL PARK VALDEREJO)

DETERMINACIÓN DE COMPUESTOS ORGÁNICOS VOLÁTILES BIÓGENICOS EN UNA ATMOSFERA RURAL (PARQUE NATURAL DE VALDEREJO)

*J. D. Ramón.**

Doctorando. Jarol Derley Ramón V. Investigador.
Dpto. Ingeniería Química y del Medio Ambiente. ETS de
Ingeniería de Bilbao. UPV-EHU.
C/ Alameda de Urquijo s/n 48013 Bilbao
Tel. +34-946017297 Fax: +34-946014179
jramon002@ikasle.ehu.es

Resumen

El conocimiento sobre la composición de compuestos orgánicos volátiles en zonas rurales es mínimo en comparación con zonas urbanas o industriales. Su determinación es un tema de actualidad, dada la elevada emisión potencial de compuestos biogénicos y la escasez de fuentes locales de compuestos antropogénicos en dichas zonas, siendo además, muchos de ellos tóxicos y carcinogénicos.

Las parafinas son los compuestos mayoritarios en este entorno, seguido de las olefinas, mostrando más de 30 compuestos su mínimo y media por debajo del límite de detección del equipo analítico, característico en una zona de fondo rural. Durante este periodo las concentraciones de los compuestos antropogénicos han disminuido debido al descenso de la actividad industrial en los alrededores. Sin embargo, ciertas incidencias con concentraciones algo más altas de lo habitual reflejan la importancia del tráfico local, la intervención del hombre y fenómenos de transporte atmosférico como masas de aire contaminado.

Las concentraciones de los compuestos orgánicos biogénicos han permanecido constantes a lo largo de los años, siendo los monoterpenos los más abundantes en Valderejo para verano (mayo-agosto). Los monoterpenos eluyen en 3 señales cromatográficas cuyo origen radica en la reacción que sufren los mismos a las altas temperaturas dentro del sistema. La identificación correcta se realizó con el apoyo de un sistema de CG-MS cromatógrafo de gases con espectrofotómetro de masas, instalada en la ETSI de Bilbao, usando como herramientas el espectro de masas y el índice de retención de cada compuesto individual.

Palabras Clave:

COV; monoterpenos; identificación; factor de respuesta; eventos.





1. INTRODUCCIÓN

La determinación de Compuestos Orgánicos Volátiles (COV) en aire ambiente ha ido adquiriendo una gran relevancia en los últimos años debido, principalmente a la participación de estos compuestos en las reacciones químicas atmosféricas que dan lugar a la formación de ozono troposférico y oxidantes fotoquímicos (USEPA, 2009). El descubrimiento de los contaminantes secundarios y la creciente evidencia de la persistencia y extensión de los problemas de contaminación fotoquímica que afecta a muchas ciudades y áreas rurales del mundo, han modificado las estrategias tradicionales de gestión de la calidad del aire.

La comunidad científica ha realizado en los últimos años un gran esfuerzo para profundizar en el conocimiento acerca de la evolución de COV específicos en la atmósfera, ya que además de ser precursores de ozono y muchos de ellos tóxicos, son precursores de partículas atmosféricas, especialmente de la fracción fina, y algunos contribuyen al efecto invernadero y al cambio climático (Liakakou et al., 2009).

El comportamiento de los COV en aire ambiente es un tema de actualidad debido a que muchos de ellos se encuentran presentes en la lista de tóxicos atmosféricos, como los BTEX, es decir, benceno, tolueno, etilbenceno y xilenos (USEPA, 1990).

La concentración de COV en el aire ambiente es resultado de tres procesos: su emisión, procesos de eliminación y formación de lo mismo (principalmente por el radical OH durante el día y el radical NO₃ durante la noche) y los procesos de mezcla o dispersión, los cuales permiten el transporte a gran escala de estos

contaminantes atmosféricos, especialmente aquellos que tiene tiempos de vida mas largos.

Las fuentes de emisión de COV son tanto antropogénicas como biogénicas. Dentro de las fuentes antropogénicas destacan: la emisión por parte de vehículos, el uso de disolventes, la industria y el gas natural. En la zona de estudio que sería el parque natural de Valderejo adquieren gran importancia los compuestos orgánicos volátiles biogénicos (COVB), isoprenos y monoterpenos principalmente por la estructura de almacenamiento de las plantas (tallos, hojas, resinas, etc) de árboles de hoja perenne como *Quercus ilex* y *Pinus sylvestris*, además de árboles de hoja caduca, como *Fagus sylvatica*, considerada en principio como una especie no emisora de monoterpenos, aunque si de isopreno (Calfapietra et al., 2009). La emisión de los monoterpenos por parte de la vegetación es su principal origen (Sauvage et al., 2009), permitiéndole contar con una defensa contra herbívoros y patógenos y a su vez atraer a insectos polinizadores. En cambio, con la emisión de isopreno las plantas adquieren protección térmica foliar (Fowler et al., 2009).

Los datos aquí presentados son una serie de estudios con patrones de compuestos biogénicos, que van desde agosto de 2009 hasta marzo de 2013, se han centrado en la identificación y cuantificación de COVB (isoprenos y monoterpenos) debido a su abundancia en zonas rurales y a la importancia que adquieren en la formación de O₃ troposférico. El conocimiento sobre la composición de COV en zonas rurales es mínimo en comparación con zonas urbanas o industriales. (Navazo et al., 2008).



MARCO TEÓRICO

Una importante fracción del carbono reactivo que entra en la atmósfera lo hace en forma de Compuestos Orgánicos Volátiles (COV), término que agrupa todas aquellas sustancias de base carbono presentes en la atmósfera, que tengan una presión de vapor superior a 0,01 kPa a una temperatura de 293,15 K, exceptuando el metano, que por sus especiales características es tratado aparte. Los COV están constituidos por una mezcla compleja de compuestos de bajo peso molecular, con un número de átomos de carbono normalmente comprendido entre 2 y 12. Además de carbono, los COV contienen elementos como hidrógeno, oxígeno, flúor, cloro, bromo, azufre, fósforo, silicio o nitrógeno.

El término hidrocarburos no metánicos (HCNM), también denominado hidrocarburos ligeros, comprende la fracción de los COV que contiene sólo carbono e hidrógeno en su composición y la constituyen la mayor parte de las emisiones antropogénicas de COV, es decir, aquellas emisiones que no se generan de forma natural, como pueden ser las generadas por el tráfico, las actividades urbanas, industriales, agrícola-ganaderas, etc. A la hora de cuantificar los precursores de ozono el término más utilizado es HCNM.

Entre los COV cuya presencia se ha documentado en la atmósfera se encuentran alcanos, alquenos, alquinos, aldehídos, cetonas, isopreno, monoterpenos, hidrocarburos aromáticos monocíclicos (principalmente los BTEX: benceno, tolueno, etilbenceno y xilenos) y derivados alquilados y clorados de toxicidad conocida.

Los COVB son muy importante debido, a su alta reactividad con los radicales OH, el ozono y radicales nitrato, por lo tanto

participan en la formación de de smog fotoquímico y además favorecen a la formación de partículas finas y otros oxidantes en la atmosfera (Liakakou et al., 2009). Los compuestos menos reactivos serian el α -pineno junto con el β -pineno, dependiendo de si reaccionan con el radical hidroxilo (OH), ozono o radical nitrato (NO_x). El compuesto más reactivo, es decir, aquel con un tiempo de vida más corto, es el limoneno, seguido del Δ^3 -careno (Atkinson, R. 2003; Saxton, J. 2007). El único compuesto biogénico oxigenado sería el 1,8-cienol. Las estructuras químicas de los 5 compuestos biogénicos (figura 1).

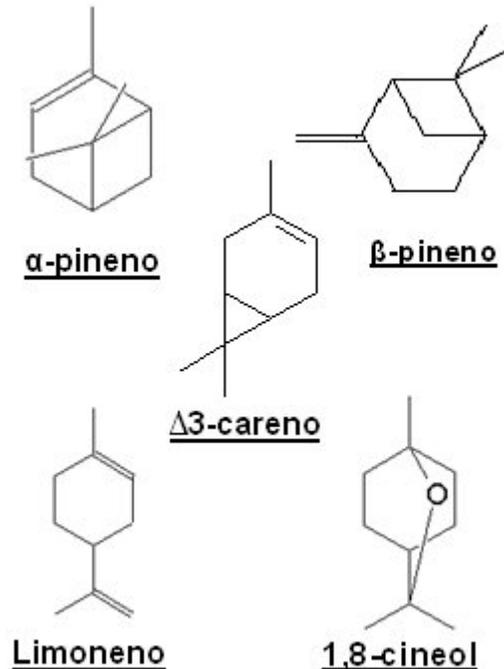


Figura 1. Estructura química de los compuestos biogénicos.

En la atmósfera, los COV junto a los óxidos de nitrógeno (NO_x), óxidos de azufre (SO_x) y otros compuestos de azufre reducido, experimentan una serie compleja de reacciones químicas y transformaciones físicas en las que toma también parte la activa radiación solar y que conducen a la



formación de ozono y otros oxidantes fotoquímicos a escala urbana, regional, continental e incluso a escala global.

Entorno

Valderejo fue declarado Parque Natural, por Decreto, el 14 de enero de 1992 (figura 2). Se localiza en el extremo occidental de Álava (España) con una extensión de unas 3500 ha y se encuentra alejado entre 65-70 km como mínimo de los principales núcleos urbanos de la zona. Es un magnífico ejemplo de anticiclón desventrado por la erosión, con cotas entre los 900 m de altitud (fondo del valle) y 1040-1235 m de los montes (crestones calizos) circundantes. En este valle se localizan cuatro pueblos: Lahoz (6 habitantes), Lalastra (22 habitantes), Villamardones y Ribera (estos dos últimos deshabitados).



Figura 2. Localización geográfica de la zona de muestreo

La topografía local y la altitud de Valderejo esta muy relacionada con el clima por ser una zona montañosa bastante elevada. Destacar la baja temperatura media anual de 11.2°C, así como la media mensual del mes mas frío, 3.6°C.

En este parque cuenta con una amplia variedad de ecosistemas, destacando tres grandes biotopos: las cumbres rocosas, las laderas y promontorios con bosques y los fondos de valle con cultivos y prados dan lugar a una gran variedad de formaciones vegetales.

La caseta (figura 1) esta a la intemperie en la que se ha instalado los equipos (a unos 900 m de altitud) se ha situado junta a la medida de contaminantes convencionales existentes desde 1998 y encontrándose en las proximidades del Centro de Interpretación del Parque, en la localidad de Lalastra.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1 Método experimental

Para la identificación y cuantificación de los patrones que contiene los COVB se crea y aplica el método 2010030212.mth, teniendo en cuenta la calibración realizada este mismo día (2 de marzo de 2010, 12 UTC). Esta prueba se ha realizado para meses donde no se emiten monoterpenos para que no se mezclen la muestra on-line con los patrones biogénicos.

La concentración obtenida en el análisis de los patrones se calculará aplicando factores de respuesta teniendo en cuenta el área y la concentración del compuesto de referencia de la calibración que se estaba utilizando en ese momento, es decir, el **benceno** de la calibración, cuya área y concentración son las siguientes: **76205.56 μ V.s** y **3.99 ppbv**.

La cuantificación en base a factores de respuesta, ser realiza, por tanto, de la siguiente ecuación (1).

$$C_x = \frac{A_x}{A_{\text{benceno}}} * C_{\text{benceno}} * \frac{\text{Carbono}_{\text{benceno}}}{\text{Carbono}_x} \quad (1)$$

Siendo x el pico cromatográfico de interés, C la concentración del analito y Carbono_x el número de átomos de carbono efectivos de cada compuesto.



Se han realizado pruebas de identificación y se han realizado con patrones comerciales de α -pineno (98%), β -pineno (99%), limoneno (97%), Δ 3-careno (90%) y 1,8-cineol (99%). La preparación de los patrones se ha realizado con ampollas de vidrio de 1,6L de volumen, aproximadamente, inyectando directamente el patrón puro líquido en la ampolla con la ayuda de jeringas, evitando el uso de metanol como disolvente, el cual interfiere en mediciones previas con los COVB realizadas durante este estudio.

Para ver su comportamiento se realizan mediciones con diferentes concentraciones donde se ha inyectado cada patrón de biogénicos en concentración igual o superior a la esperada en el Parque Natural de Valderejo (>0.60 ppbv para todos los patrones). En la tabla 1 observamos los cálculos para los compuestos biogénicos a excepción del 1,8-cineol donde solo se ha realizado la prueba inyectando un volumen de $40\mu\text{L}$.

Tabla 1. Concentración de los compuestos en la segunda ampolla

Volumen extraído	Concentración de patrones biogénicos tomando 20 min de muestra (ppbv)			
	20 μL	40 μL	70 μL	100 μL
α -pineno	0.66	1.29	2.29	3.22
limoneno	0.79	1.56	2.78	3.90
β -pineno	0.66	1.30	2.32	3.26
Δ 3-careno	0.75	1.48	2.63	3.70
1,8-cineol	---	2.09	---	---

La ampolla de vidrio va conectada al Turbomatrix TD mediante un tubo de teflón, muestreando del interior de la ampolla a un flujo constante de 15 mL min^{-1} , durante 20 min (300 mL). De esta manera, evitamos crear demasiada depresión en el sistema.

2.2 Técnica experimental

En el interior de la estación de medida de COV se sitúa el equipo de medida VOC

Ozone Precursor Analyzer System, de PerkinElmer (figura 3). Este sistema está formado por una unidad de desorción térmica, el TurboMatrix TD, que trabaja de forma desatendida (modo ON-LINE) para la toma, concentración y desorción de la muestra, seguido de un cromatógrafo de gases CLARUS 500, con dos detectores no selectivos de ionización de llama (FID). Para el control de datos cromatográficos, este sistema cuenta con un software TotalChrom. Como los equipos están en Valderejo tomando y analizando muestras continuamente se controla vía remota e interactiva el ordenador donde se almacenan los datos obtenidos, por medio de un programa llamado TeamViewer.

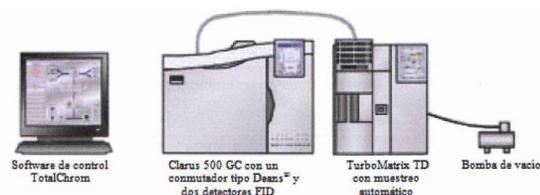


Figura 3. Componentes del sistema analizador de precursores de ozono de PerkinElmer.

Cuando el Turbomatrix toma la muestra de la ampolla de vidrio, esta atraviesa el secador de aire Nafion permeable para la eliminación de humedad y se concentran en una trampa a $-30\text{ }^{\circ}\text{C}$, mediante el sistema Peltier. Posteriormente la trampa se calienta a $325\text{ }^{\circ}\text{C}$ durante 5 min y luego los compuestos se desorben y son llevados al cromatógrafo de gases mediante una línea de transferencia, para su separación y análisis. La separación de los compuestos se realiza por medio de dos columnas cromatográficas equipadas con un conmutador Deans, el cual permite que cada columna cromatográfica trabaje de forma independiente, estas serían:

- **Columna BP-1** (100% dimetilpolisiloxano), con fase estacionaria no polar (50 m x 0,22 mm x



1 μm) para los compuestos pesados ($\text{C}_6\text{-C}_{11}$).

- **Columna PLOT** (Porus-Layer Open-Tubular) $\text{Al}_2\text{O}_3/\text{Na}_2\text{SO}_4$ (50 m x 0,32 mm x 5 μm) para los compuestos más volátiles ($\text{C}_2\text{-C}_5$).

Programa de temperaturas del horno cromatográfico sería el siguiente: 46 °C (15 min), 5 °C/min hasta 170 °C, 15 °C/min hasta 200 °C (6 min) temperatura a la cual se mantiene el horno durante 6 minutos. Con estas condiciones cada análisis se completa en 48.8 min.

El gas portador a utilizar durante el proceso analítico es Helio. Para abastecer la llama (FID) se utiliza hidrógeno y el aire, es utilizado para el secador de Naftion, para los FID, la purga de sistema Peltier de enfriamiento de la trampa y el mantenimiento neumático del sistema.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1 Identificación de monoterpenos mediante CG-FID

Los principales monoterpenos emitidos y los que se encuentran en mayores concentraciones en ecosistemas forestales de Europa son α -pineno, β -pineno y Δ^3 -careno (Fowler et al., 2009), por esta razón se ha elegido, junto con el limoneno y 1,8-cineol para ser caracterizados en esta zona rurales, además el limoneno es un compuesto biogénico más reactivo de todos (Saxton et al., 2007) como podemos observar en la tabla 2.

Los monoterpenos son más reactivos que el isopreno, sobre todo la reacción entre el limoneno y el radical nitrato. Esto implica que las concentraciones medidas de monoterpenos en Valderejo son mucho menores de lo que realmente se ha emitido de los compuestos biogénicos, dada su eficacia de eliminación vía radical.

Tabla 2. Asume Concentraciones de O_3 : $7 \cdot 10^{11}$ molécula cm^{-3} , 24-h. OH: $2.0 \cdot 10^8$ molécula cm^{-3} , 24-h durante el día. NO_3 : $2.5 \cdot 10^8$ molécula cm^{-3} , 24-h durante la noche.

Tiempo de vida atmosférico en base a la reacción (Atkinson et al., 2003.)			
COVB	OH	NO_3	O_3
isopreno	1,4 h	1,6 h	1,3 días
α -pinene	2,6 h	11 min	4,6 h
β -pinene	1,8 h	27 min	1,1 días
Δ^3 -careno	1,6 h	7 min	11 h
limoneno	49 min	6 min	2 h
1,8 cineol (oxigenado)	1 día	1,5 años	>110 días

Otra variable a tener en cuenta además de la reactividad y los tiempos de vida de los compuestos biogénicos, es su volatilidad. En este caso según las fichas de seguridad, los pinenos son los compuestos más volátiles, seguido del careno y por último, el limoneno (compuesto más aceitoso).

Para los pinenos (α -pinene y β -pinene) se observa un cromatograma similar (figura 4), caracterizado por 3 señales que se forman al final de la columna BP-1. Estos picos eluyen a un tiempo de retención de 33.52 min, 34,73 min y 37.60 min respectivamente. Los dos últimos picos cromatográficos son los monoterpenos mientras que el primer pico en principio se identificó como benzaldehído el cual sería producto de degradación, pero durante estos últimos estudios realizados comprobamos que hace parte de la familia de los monoterpenos, por su identificación positiva mediante el CG-MS es de vital importancia.

Por otra parte vemos se observan otros compuestos pesados (tolueno, etilbenceno, m&p-xileno, o-xileno y 1,2,4-timetilbenceno), los cuales provienen del aire ambiente de Valderejo introducido en las ampollas de vidrio, durante la preparación de los patrones.

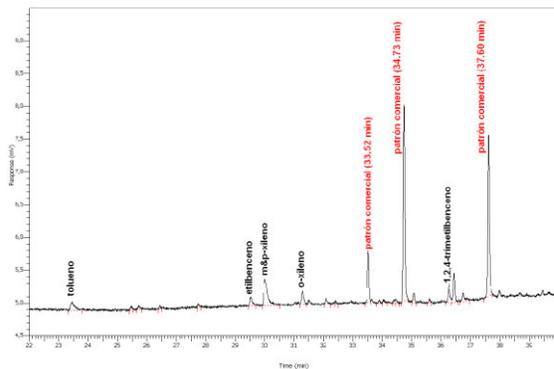


Figura 4. Cromatograma compuestos pesados en la identificación de los pinenos

A su vez, el Δ^3 -careno, limoneno y 1,8-cineol presentan cromatogramas similares, pero muy diferentes al de los pinenos. Como vemos en la figura 5, se caracteriza por la presencia de un único pico cromatográfico eluyente a 37.60 min, el resto de señales son habituales en una muestra de aire ambiente de Valderejo, por lo tanto estos compuestos biogénicos solo forman el segundo pico cromatográfico hasta ahora estudiado. Sin embargo, la respuesta producida por estos patrones biogénicos es menor que el caso de los pinenos, explicando porque el Δ^3 -careno, limoneno son menos volátiles y más reactivos que los pinenos a excepción del 1,8-cineol.

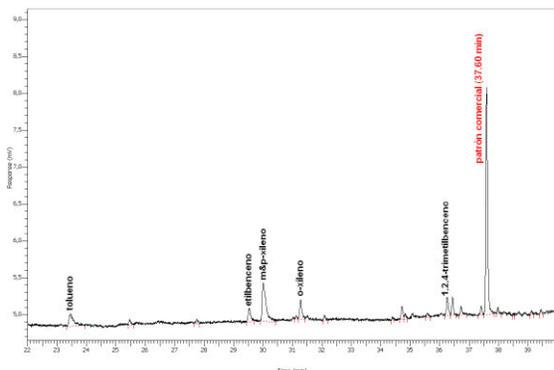


Figura 5. Cromatograma compuestos pesados en la identificación Δ^3 -careno, limoneno y 1,8 cineol

Para la identificación correcta de los picos cromatográficos denominados monoterpenos se estudió muy a fondo, ya que el primero de ellos coeluye junto con el m-etiltolueno, los mismo sucede con el segundo aparece próximo al 1,2,3-trimetilbenceno. Sin embargo dado que estamos en una zona rural, dichos compuestos antropogénicos son monitoreados de forma on-line, incluso inexistente.

Como se ha podido observar, la influencia de los monoterpenos se presenta en el canal de los pesados (columna BP-1), indicándonos 3 señales producidas por los 5 patrones biogénicos comerciales, por lo tanto se realiza su identificación positiva mediante el CG-MS. Para descartar que la formación de estas señales pueden ser producto de degradación, transformación, etc., de los COVB.

2.2 Identificación de monoterpenos mediante CG-MS

Para identificar los compuestos biogénicos se dispone de un cromatógrafo de gases acoplado aun espectrofotómetro de masas Clarus 500 de PerkinElmer, que esta operando en la Escuela Técnica Superior de Ingeniería de Bilbao. El cromatógrafo de gases utiliza una única columna BP-1. Para esta columna, le programamos las mismas condiciones cromatográficas como las temperaturas del horno utilizadas en Valderejo.

Consultando diversos cromatogramas durante un periodo de tiempo prolongado, se observa que la presencia de monoterpenos es mayor en los meses de verano y en las horas nocturnas. Para identificar en el CG-MS partimos de sus tiempos de retención (t_r) en la zona rural (Valderejo), como referencia para facilitar la búsqueda, logrando localizar muchos de los aromáticos en un cromatograma full-Scan.



Con los compuestos más pesados, se localiza aquel correspondiente al pico cromatográfico no identificado, tomando como referencia los compuestos antropogénicos eluyentes anterior y posteriormente. Se observa su espectro de masas individual y se identifica, comparándolo con la librería NIST (Babushok et al., 2007).

Según su relación masa/carga para estos tres picos cromatográficos vemos que para el compuesto eluyente a un tiempo de retención de 34,73 min en el CG-FID, el cual ha resultado difícil identificarle, tras consultar varios cromatogramas y espectros de masas, dicho pico se ha identificado como santolina trieno ($C_{10}H_{16}$) y 2,5,6-trimetil, 1,3,6-heptatreno ($C_{10}H_{16}$) ambos con 10 números de átomos de carbono efectivos para su cuantificación.

Los 2 compuestos con una relación masa/carga característicos de 93/121, donde el santolina trieno, es un alqueno lineal con 3 dobles enlaces ver figura 4, además es un compuesto natural de las esencias volátiles de las flores y el otro compuesto se origina por la reorganización de los monoterpenos a los largo del sistema.

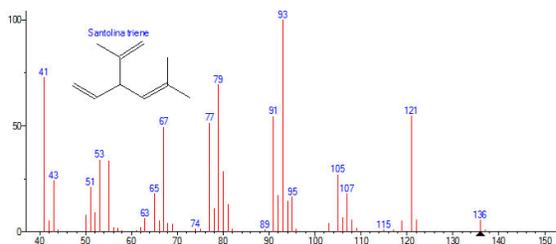


Figura 4. Espectro de masas del compuesto formado a un T.R. 34.73 min en el CG-FID

Para el pico cromatográfico, eluyente a 37.60 minutos en CG-FID, se identifica como o-cimeno ($C_{10}H_{14}$), un anillo aromático con tres dobles enlaces, con el grupo metiletil en la posición 2, tal y como se

muestra en la figura 5, cuya relación masa carga es 119/134, tratándose de un producto de deshidrogenación de los monoterpenos con 10 átomos de carbono efectivos para su cuantificación.

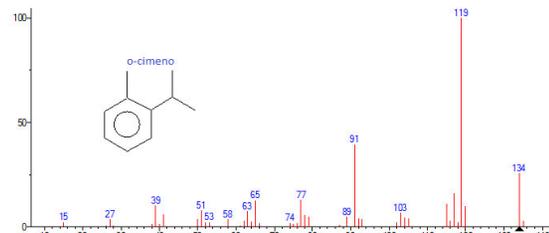


Figura 5. Espectro de masas del compuesto formado a un T.R. 37.60 min en el CG-FID

Para la señal cromatografica que eluye en el tiempo de retención 33.52 min, se ha clasificado en el grupo de los monoterpenos según se espectro de masa.

El hecho de que los monoterpenos se degraden o reorganicen es debido al efecto que ejerce el secador Nafion en estos compuestos biogénicos. Este es uno de los métodos más usado y aconsejado por el EPA para eliminar el agua de muestras aire ambiente, previa su concentración en la trampa fría, ya que puede interferir de manera importante en los procesos de toma de muestra y análisis y en las respuestas del detector (Burns et al., 1983). Sin embargo esta membrana semipermeable de intercambio iónico, causan la pérdida de los COV polares, hasta en un 20-30 % en muestras de aire ambiente (USEPA, 1988). Por ello, provoca la pérdida y reordenamiento de algunos monoterpenos, como los pinenos (Roukos et al., 2009). Lo contrario pasa con el isopreno, el secador de Nafion no tiene ningún efecto.

2.3 Cuantificación de monoterpenos mediante CG-FID

Durante periodos anteriores se han medido los dos picos cromatográficos formados al final de la columna BP- 1. Ver figura 6



donde vemos su evolución horaria relacionándolo con el isopreno, que corresponde a la típica evolución de compuestos biogénicos en una zona rural (Navazo et al., 2006), además por medio de este estudio se han identificado dichos picos cromatográficos, demostrando su origen biogénico.

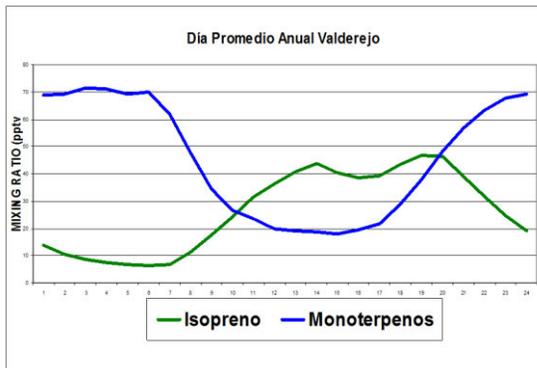


Figura 6. Evolución horaria de COVB

Sin embargo, la EPA afirma que los monoterpenos pueden ser, además de convertidos, eliminados a través Nafion. Es posible que en Valderejo veamos lo mismo, ya que sus concentraciones son menores en comparación con otras zonas rurales (Jordan et., 2009), además estas diferencias pueden ser por las características particulares del lugar, el periodo de muestreo y las distintas condiciones meteorológicas dispersivas.

Con este apartado queremos valorar si las mediciones realizadas en el Parque Natural de Valderejo indican lo que realmente hay en aire ambiente. Para ello con los mismos patrones puros indicados en el apartado anterior, empleando ampollas de vidrio de 1.6 L de capacidad rellenas con aire ambiente de Valderejo y muestreando durante 20 minutos en el CG-FID.

Como ya hemos comprobado que los pinenos dan señal en 3 picos cromatográficos, al contrario que el Δ 3-careno, limoneno y 1,8-cineol, cuyo pico en

común resultan ser el o-cimeno. La linealidad, por tanto, debe ser estudiada en cada uno de sus picos correspondientes.

En la tabla 3, se representa el área obtenida para cada concentración del patrón, y el factor de respuesta calculado mediante la ecuación (2) en el caso del o-cimeno, en cuyo tiempo de retención eluyen los 5 patrones comerciales.

$$FR = \frac{\text{concentración}}{\text{área}} \quad (2)$$

La condición para establecer la linealidad viene determinada en el método 8000b (USEPA, 1996) para cromatografía de gases y cromatografía líquida de alta resolución (HPLC). El factor de respuesta, es decir, la relación existente en la concentración de patrón inyectada y el área registrada, no debe variar en más de un 20% para las distintas concentraciones preparadas (el denominada coeficiente de variación, CV).

En coeficiente de variación se determina según se determina según la ecuación (3) siendo \bar{x} la media del factor de respuesta y SD su desviación estándar. En este caso, la respuesta analítica del patrón es proporcional a su concentración, donde se aplica el factor de respuesta promedio para la cuantificación del mismo, asumiendo linealidad para ese analito.

$$CV = \frac{SD}{\bar{x}} * 100 \quad (3)$$

Los patrones comerciales de Δ 3-careno y limoneno, cuyo pico cromatográfico corresponde al o-cimeno, representa variación elevada en su factor de respuesta de 24% y 38%, respectivamente, esto nos indica que la respuesta no depende de la concentración.



Para los pinenos, que representa 3 picos cromatográficos, tiene comportamiento distinto. En el caso del α -pineno la variación del factor de respuesta es elevada (41%), ocurriendo lo mismo para los 2 picos cromatográficos restantes, mientras que el β -pineno presenta un coeficiente de variación óptimo (8%), siendo adecuado para cualquiera de los 3 picos cromatográficos, siendo el único compuesto posible de identificar.

Además, para los 5 patrones comerciales, la concentración obtenida a partir de las contribuciones de los distintos picos cromatográficos han resultado inferior a la preparada teóricamente, como posible resultado de su eliminación dentro del sistema.

Estos resultados nos pueden estar indicando que el procedimiento llevado a cabo en la preparación de patrones en ampollas de vidrio y su posterior análisis en el equipo no sea correcto. No olvidar que estudiamos compuestos de elevada reactividad y baja volatilidad, por los que se puede producir procesos de absorción en las paredes del recipiente.

Tabla. 3. Resultados obtenidos para el α -cimeno

α -pineno (ppbv)	Área Registrada ($\mu\text{V s}^{-1}$)	Factor Respuesta F.R.	Media C.V.
0.66	293.45	0.0022491	0.0015775 (41%)
1.29	763.45	0.0016897	
2.29	1366.63	0.0016756	
3.22	4629.13	0.0006956	
β -pineno (ppbv)	Área Registrada ($\mu\text{V s}^{-1}$)	Factor Respuesta F.R.	Media C.V.
0.66	2069.30	0.0003189	0.0003094 (8%)
1.30	4240.76	0.0003065	
2.32	8435.72	0.0002750	
3.26	9671.00	0.0003371	
Δ 3-careno (ppbv)	Área Registrada ($\mu\text{V s}^{-1}$)	Factor Respuesta F.R.	Media C.V.
0.75	4079.08	0.0001839	0.0002829 (24%)
1.48	4517.55	0.0003276	
2.63	8307.22	0.0003166	
3.70	11584.54	0.0003194	
limoneno	Área	Factor	Media

(ppbv)	Registrada ($\mu\text{V s}^{-1}$)	Respuesta F.R.	C.V.
0.75	2997.61	0.0002635	0.0005531 (38%)
1.48	2947.84	0.0005292	
2.63	3781.83	0.0007351	
3.70	5697.14	0.0006846	
1,8-cineol (ppbv)	Área Registrada ($\mu\text{V s}^{-1}$)	Factor Respuesta F.R.	Media C.V.
2.09	7944.60	0.0002631	----

Estudios recientes han demostrado que el uso de tubos de acero inoxidable para la desorción de muestras puede reducir la concentración de monoterpenos hasta la mitad de la que realmente hay en aire ambiente (Arnts., 2010).

2.4 Identificación de monoterpenos tomando muestra con tubos adsorbentes de tenax

Realizamos otro estudio donde queremos ver los picos cromatográficos evitando que la muestra pase por el secador de Nafion, donde utilizamos tubos adsorbentes de tenax, los cuales retienen la muestra para ser absorbida por el turbomatrix TD, para su posterior análisis en el cromatografo de gases (C.G), evitando que la muestra sea sometida a altas temperaturas y así se degraden los compuestos biogénicos en la trampa criogénica (Nafion).

Los patrones biogénicos se encuentran en una botella de calibración certificado por la National Physical Laboratory, de los cuales hay 10 compuestos mezclados incluidos 6 BTEX y 4 compuestos biogénicos, como podemos ver la tabla 4.

Tabla. 4. Patrones Certificados Botella COVB.

Species	Amount Fraction (nmol/mol)	Species	Amount Fraction (nmol/mol)
Benzene	2.01 \pm 0.06	o-xylene	2.00 \pm 0.06
Toluene	2.01 \pm 0.06	(+/-)- α -pinene*	1.95 \pm 0.06
Ethylbenzene	2.01 \pm 0.06	+3-carene*	1.96 \pm 0.06
m-xylene	2.01 \pm 0.06	1,8-cineole*	1.96 \pm 0.14
p-xylene	2.01 \pm 0.06	Limonene*	1.98 \pm 0.06

Para realizar las pruebas con tubos tenax se deben acondicionar a 300°C durante 20 min, luego le pasamos el gas que contiene



los patrones biogénicos durante 20 min controlando su caudal (medidor de flujo 30 mL/min), luego se desorbe durante 20 min a 300°C en el turbomatrix para su posterior análisis en el cromatografo de gases (columna BP-1) utilizando las mismas condiciones cromatográficas en Valderejo.

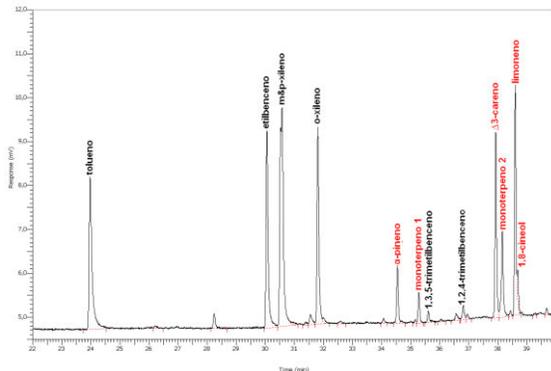


Figura 7. *Cromatograma patrones certificados botella de COVB.*

En la figura 7 se puede apreciar el resultado de una muestra analizada con tubos absorbentes tenax, donde se observan los picos cromatográficos de los patrones certificados que contiene la botella de los COVB. Sus tiempos de retención serían para el α -pinene 34.55 min, el Δ 3-careno 37.93 min, el limoneno 35.60 min y el 1,8-cineol 38.68 min. Además se aprecian los picos cromatográficos de los monoterpenos que estudiamos anteriormente inyectando patrones biogénicos en ampollas los cuales llamamos monoterpeno 1 a 35.28 min y monoterpeno 2 a 38.16 min respectivamente.

Para esta prueba le hacemos un seguimiento y vemos que no es constante lo que nos indica que hay pérdidas en la toma de muestra cuando le pasamos el gas que contiene los patrones COVB aun tubo absorbente tenax, tanto para los 6 compuestos BTX como para los 4 compuestos biogénicos.

4. CONCLUSIONES

Se ha demostrado que los pinenos coeluyen en tres picos cromatográficos separados, que corresponden a compuestos biogénicos como el santolina trieno o 2,5,6-trimetil-1,3,6-heptatrieno (por reorganización del patrón) y o-cimeno (por deshidrogenación del patrón). Además, el Δ 3-careno, limoneno y 1,8-cineol solo responden al tercer pico cromatográfico. En este último encontramos la superposición de la señal producida por los 5 patrones comerciales.

La cuantificación de los monoterpenos, en cambio, no ha resultado adecuada, dado que los factores de respuesta presentan coeficientes de variación que superan 20%, del límite establecido por la EPA. Esto puede indicar que el procedimiento llevado a cabo en la preparación de los patrones en ampollas de vidrio no sea correcto. Es posible la reacción del ozono con los patrones, debido a su alta reactividad, este sería un factor muy importante por lo tanto se debe aislar las ampollas de la luz o pasar el aire ambiente por un filtro de ozono.

Según el estudio con tubos absorbentes de tenax, se identifican los picos cromatográficos para cada patrón de compuesto biogénico pero no se puede cuantificar por muchos factores como tomar la muestra en tubos absorbentes tenax, el tipo de absorbente utilizado, además son muy reactivos y poco volatilidad, etc.

En general con este estudio se han identificado tres picos cromatográficos de origen biogénico muy comunes en nuestra base de datos principalmente nocturno, que representan una evolución horaria, mensual, estacional y anual de los compuestos biogénicos.



5. AGRADECIMIENTOS

Quiero agradecer al personal del Centro del Parque Natural de Valderejo por su amabilidad y facilidad para realizar las medidas de campo; al Departamento de Medio Ambiente, Planificación Territorial, Agricultura y Pesca del Gobierno Vasco por facilitarme el acceso a datos meteorológicos y de calidad del aire; y al Grupo de Investigación Atmosférica de la Escuela Técnica Superior de Ingenieros de Bilbao, por su apoyo y ayuda durante la realización de esta investigación.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- Arnts, R., 2010. Evaluation of absorbent sampling tube materials and Tenax-TA for analysis of volatile biogenic organic compounds. *Atmospheric Environment* 44, 1579-1584.
- Atkinson, R., 2000. Atmospheric chemistry of VOCs and NO_x. *Atmospheric Environment* 34, 2063-2101.
- Atkinson, R., Arey, J., 2003. Gas-phase tropospheric chemistry of biogenic volatile organic compounds: a review. *Atmospheric Environment* 37 Supplement No. 2, S197-S219.
- Babushok, V.I., Linstrom, P.J., Reed, J.J., Zenkevich, I.G., Brown, R.L., Mallard, W.G., Stein, S.E., 2007. Development of a database of gas chromatographic retention properties of organic Journal of Chromatography A 1157, 414-421.
- Badol, C., Borbon, A., Locoge, N., Léonardis, T., Galloo, J.C., 2004. An automated monitoring system for VOC ozone precursors in ambient air: development, implementation and data analysis. *Analytical & Bioanalytical Chemistry* 378, 1815 – 1824.
- Borbon, A., Coddeville, P., Locoge, N., Galloo, J., 2004. Characterising sources and sinks of rural VOC in Eastern France. *Chemosphere* 57, 931 – 942.
- Burns, W.F., Tingey, D.T., Evans, R.C., Bates, E.H., 1983. Problems with a Naftion membrane dryer for drying chromatographic samples. *Journal of Chromatography* 269, 1 - 9.
- Calfapietra, C., Fares, S., Loreto, F., 2009. Volatile organic compounds from Italian vegetation and their interaction with ozone. *Environmental Pollution* 157, 1278 – 1486.
- Cerqueira, M.A., Pio, C.A., Gomes, P.A., Matos, J.S., Nunes, T.V., 2003. Volatile organic compounds in rural atmospheres of central Portugal. *The Science of the Total Environment* 313, 49 – 60.
- Chang, C., Wang, J., Liu, S., Lung, S.C., 2006. Assessment of vehicular and non-vehicular contributions to hydrocarbons using exclusive vehicular indicators. *Atmospheric Environment* 40, 6349 – 6361.
- Decreto 4/1992, de 14 de enero, por el que se declara Parque Natural el área de Valderejo. Boletín oficial del País Vasco. Gobierno Vasco. <http://www.euskadi.net/bopv2/datos/1992/02/9200397a.pdf>
- Derwent, R.G., Davies, T.J., Delaney, M., Dollard, G.J., Field, R.A., Dumitrean, P., Nason, P.D., Jones, B.M.R., Pepler, S.A., 2000. Analysis and interpretation of the continuous hourly monitoring data for C₂ – C₈ hydrocarbons at 12 United Kingdom sites during 1996. *Atmospheric Environment* 34, 297-312.
- Durana, N., Navazo, M., Gémez, M.C., Alonso, L., García, J.A., Ilardia, J.L., Gangoiti, G., Iza, J., 2006. Long term hourly measurement of 62 non-methane hydrocarbons in an urban area: Main results and contribution of non-traffic sources. *Atmospheric Environment* 40, 2860 – 2872.
- Evtugina, M.G., Nunes, T., Alves, C., Marques, M.C., 2009. Photochemical pollution in rural mountainous area in the northeast of Portugal. *Atmospheric Research* 92, 151 – 158.
- Friedrich, R., 2009. Natural and biogenic emissions of environmentally relevant atmospheric trace constituents in Europe. *Atmospheric Environment* 43, 1377 – 1379.
- Gómez, M.C., Durana, N., Navazo, M., Alonso, L., García, J.A., Ilardia, J.L., 2004. Application of validation data tests from an on-line volatile organic compound analyser to the detection of air pollution episodes in urban areas. *Analytica Chimica Acta* 524, 41 – 49.
- Helming, D., 1999. Air analysis by gas chromatography. *Journal of chromatography A* 843, 129 – 146.