

# **UNIVERSIDAD NACIONAL DE INGENIERÍA**

**Facultad de Ciencias**

**Escuela Profesional de Química**



## **INFORME DE COMPETENCIA PROFESIONAL PARA OPTAR EL TÍTULO DE LICENCIADO EN QUÍMICA**

**" *TILLANDSIAS* COMO BIOINDICADORES DE  
HIDROCARBUROS POLICICLICOS AROMÁTICOS"**

**Presentado por:**

**JOEL ANGEL CUADRADO DÁVALOS**

**Asesor:**

**Lic. Ily Maza Mejia**

**Lima, Perú**

**2011**

# **"TILLANDSIAS COMO BIOINDICADORES DE HIDROCARBUROS POLICICLICOS AROMÁTICOS"**

<b>INDICE</b>	2
<b>GLOSARIO</b>	4
<b>INTRODUCCIÓN</b>	6
<b>RESUMEN</b>	7
<b>OBJETIVOS</b>	9
<b>CAPÍTULO I: CARACTERÍSTICAS DE LA CONTAMINACIÓN DEL AIRE</b>	9
1.1 CALIDAD DE AIRE E IMPORTANCIA DE UNA ATMÓSFERA LIMPIA	9
1.2 CONTAMINACIÓN DEL AIRE	9
1.3 FUENTES DE CONTAMINACIÓN DE AIRE	11
1.3.1 FUENTES NATURALES	11
1.3.2 FUENTES ANTROPOGÉNICAS	11
1.4 EFECTOS DE LA CONTAMINACIÓN DE AIRE	12
1.5 NORMAS AMBIENTALES	14
<b>CAPÍTULO II: HIDROCARBUROS POLICICLICOS AROMÁTICOS (PAHs)</b>	15
2.1 ANTECEDENTES, ESTRUCTURA Y COMPORTAMIENTO	15
2.2 ORIGEN Y FORMACIÓN DE PAHs	17
2.3 TOXICIDAD DE LOS PAHs	19
2.4 IMPORTANCIA DEL DESTINO Y DE LAS PROPIEDADES DE TRANSPORTE	21
2.5 ANÁLISIS DE LOS PAHs	25
<b>CAPÍTULO III: MONITOREOS AMBIENTALES</b>	26
3.1 MONITOREO INSTRUMENTALES	26
3.1.1 MÉTODOS DE MONITOREO PASIVO	28
3.1.2 MÉTODOS DE MONITOREO ACTIVO	29

3.2	MONITOREOS BIOLÓGICOS	29
3.2.1	ASPECTOS CUALITATIVOS	30
3.2.2	ASPECTOS CUANTITATIVOS	31
3.2.3	MÉTODOS DE MONITOREO PASIVO	32
A.	PLANTAS SILVESTRES	32
B.	PLANTAS CULTIVADAS	33
C.	PLANTAS DE BOSQUES	33
3.2.4	MÉTODOS DE MONITOREO ACTIVO	34
<b>CAPÍTULO IV: BIOINDICADORES</b>		36
4.1	BIOINDICADORES	36
4.2	BIOMARCADORES	37
4.3	BIOACUMULADORES	38
4.4	BIOMONITORES	38
4.5	VENTAJAS DE LOS BIOINDICADORES	38
4.6	ALGUNOS BIOINDICADORES ESTUDIADOS	40
<b>CAPÍTULO V: TILLANDSIAS COMO BIOINDICADORES AMBIENTALES</b>		49
5.1	CARACTERÍSTICAS	49
5.2	CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA	51
5.3	PRIMEROS USOS DE <i>TILLANDSIAS</i> : BIOINDICADORES DE METALES PESADOS	57
5.4	TILLANDSIAS COMO BIOINDICADORES DE PAHs	62
<b>CAPÍTULO VI: CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES</b>		72
6.1	CONCLUSIONES	73
6.2	RECOMENDACIONES	73
<b>REFERENCIA BIBLIOGRÁFICA</b>		74

## GLOSARIO

### - Enfisema

Se define en términos anatomopatológicos por el agrandamiento permanente de los espacios aéreos distales a los bronquiolos respiratorios, con destrucción de la pared alveolar, con o sin fibrosis manifiesta. Es una enfermedad crónica comprendida junto con la bronquitis crónica en la enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC). El nombre viene del griego emphysema que significa "soplar el aire" o "insuflar".

El consumo de cigarrillos es la causa más común del enfisema. Se piensa que en los pulmones existe un equilibrio entre la síntesis y la degradación de elastina, un componente de la pared de los alveolos fundamental para mantener las propiedades elásticas del pulmón. El enfisema aparece cuando se produce un desequilibrio, bien porque aumenta la capacidad elastolítica o porque disminuye la actividad antielastolítica. Se cree que el humo del tabaco y otros contaminantes provocan la liberación de productos químicos (fundamentalmente oxidantes) que dañan las paredes de los alvéolos. El daño empeora con el paso del tiempo. Las personas que padecen esta enfermedad tienen alvéolos pulmonares que son incapaces de llenarse con aire fresco, lo cual afecta el suministro de oxígeno al cuerpo.

### - Creosota

Es un compuesto químico derivado del fraccionamiento de alquitranes procedentes de la destilación de carbones grasos (hulla) preferentemente a temperaturas comprendidas entre 900 y 1200°C. El fraccionamiento mencionado se realiza entre 180 °C y 400 °C. La norma IRAM 9512 la define así: "Producto que consiste en una mezcla de compuestos destilados del alquitrán de hulla, libre de cualquier mezcla de aceite de petróleo o de aceites no derivados del alquitrán de hulla". Fue descubierta y patentada por John Berthell en Inglaterra en 1838. La composición es muy variada en función de las distintas utilidades. La principal propiedad son sus cualidades biocidas para los agentes causantes del deterioro de la madera, la cual se protege impregnándola con el producto mediante proceso que habitualmente se realiza en un autoclave y que se denomina creosotado.

- Bioindicación

Bioindicación es el uso de organismos indicadores apropiados (bioindicadores), que permiten una evaluación cualitativa y cuantitativa del efecto antropogénico y natural en el medio ambiente. Es el resultado de inspecciones basadas en un simple set de datos o conducidos en intervalos esporádicos de tiempo.

- Biomonitorio

Son evaluaciones cuantitativas y semicuantitativas (del daño observado o del contenido del químico) que están basadas en observaciones continuas y semicontinuas en una red espacial y temporal.

- Bioindicador

Son organismos o comunidades de organismos que reaccionan con influencias en el medio ambiente cambiando sus funciones vitales y/o composición química. Su presencia o ausencia en la comunidad biótica es características por influencia del medio ambiente. Son indicadores reactivos (sensibles), los que reaccionan con síntomas específicos; e indicadores acumuladores, los que acumulan sustancias mayormente sin el desarrollo visible de daño. Estas cantidades de sustancias acumuladas pueden ser medidas.

- Monitoreo ambiental

Es una observación sistemática y repetida de los parámetros de un medio ambiente vivo e inanimado de acuerdo a reglas predeterminadas.

El monitoreo trata sectores de ambientes inanimados, Ej. Ruido, corrosión, concentraciones de contaminantes en aire y agua. El biomonitorio verifica las condiciones de un medio ambiente vivo sobre ciertos periodos de tiempo con la ayuda de indicadores.

Hay dos clases de métodos, biomonitorio pasivo y activo. Biomonitorio pasivo estudia la influencia en bioindicadores en si hábitat natural de crecimiento mientras que para el monitoreo activo material biológico estandarizado es expuesto bajo condiciones definidas.

## INTRODUCCIÓN<sup>1</sup>

Las ciudades son por su naturaleza, concentraciones de seres humanos, materiales y actividades y por esto exhiben tanto los niveles más altos de contaminación como los niveles más grandes de impacto ambiental. Con el aumento de las actividades antropogénicas, las cantidades de contaminantes en el aire que han sido emitidas también aumentan. Estas afectan humanos, animales y plantas de manera directa e indirecta después de ingresar a cuerpos de agua, suelo y cosechas de alimentos.

De tal forma que los contaminantes más comunes dentro de las ciudades son el dióxido de azufre (SO<sub>2</sub>), óxidos de nitrógenos (NO<sub>x</sub>), ozono, partículas en suspensión, metales pesados y compuestos químicos orgánicos, como el benceno y los hidrocarburos aromáticos policíclicos<sup>2</sup>.

Las plantas, además de otros organismos, responden de diferentes maneras a estímulos externos como contaminantes atmosféricos. Pueden servir como indicadores de la actividad biológica de los contaminantes atmosféricos porque no solo son sensibles, pero también proveen respuestas características a contaminantes atmosféricos frecuentes.

Los efectos de los contaminantes atmosféricos en organismos vivos se presentan al final de la cadena de eventos: emisión – dispersión – contaminación atmosférica – efecto. Sin emisión o contaminación atmosférica no hay efectos.

Una estrategia de control de contaminación atmosférica requiere aparte de los dos pilares de medición de la emisión y medición del contaminante atmosférico; un tercer pilar de estudio de efectos.

Lamentablemente en el País, son pocas las instituciones privadas y mucho menos las públicas las que se dedican a la implementación de métodos de biomonitoreo pasivo y activo. En el presente trabajo se intenta hacer una descripción de dichos métodos y evaluar su aplicación para determinar concentraciones de hidrocarburos policíclicos aromáticos.

## RESUMEN

El presente trabajo muestra una recopilación de información de los métodos de medición biológica para determinar los grados y tipos de contaminación principalmente atmosféricos, enfocándose en plantas aéreas utilizadas como bioindicadores, como las *Tillandsias*, caracterizada por su gran abundancia y su alta persistencia a medios agresivos. Su aplicación como bioindicador de la contaminación de metales pesados en aire está ampliamente demostrada; para el presente trabajo se estudia su aplicación como bioindicador de hidrocarburos policíclicos aromáticos (PAHs) basándonos en estudios ya realizados por otros autores<sup>3</sup> y las características lipofílicas de estos contaminantes.

## OBJETIVOS

### OBJETIVOS GENERALES:

- Proporcionar información de los fundamentos y conceptos importantes de los diferentes métodos de monitoreo ambiental.
- Mencionar las aplicaciones, características, ventajas y desventajas del uso de bioindicadores para determinar el grado de contaminación en un ecosistema.

### OBJETIVO ESPECÍFICO:

- Mostrar la utilidad de las *Tillandsias* como bioindicadores de PAHs en monitoreo atmosférico.



## CAPITULO I

### CARACTERÍSTICAS DE LA CONTAMINACIÓN DEL AIRE

#### 1.1 CALIDAD DE AIRE E IMPORTANCIA DE UNA ATMÓSFERA LIMPIA<sup>4,5</sup>

La atmósfera se limpia ella misma por acción natural mediante la lluvia y el viento. Cuando este proceso natural no sea capaz de ejercer estas funciones debido a altas concentraciones de contaminantes en la atmósfera se entiende que existen problemas de contaminación de aire.

La calidad del aire está íntimamente relacionada con la naturaleza de los contaminantes y los puntos específicos desde donde se emiten dichos contaminantes. La calidad del aire puede medirse por instrumentos altamente especializados o puede estimarse basándose en información que se obtiene a través de inventarios de emisiones.

El aire se considera el elemento más indispensable para la sobre vivencia del hombre, los animales y la vegetación. El hombre y los animales pueden sobrevivir sin alimentos cinco semanas o más, pero sin aire éstos pueden fallecer a los cinco minutos. El ser humano respira 22,000 veces al día aproximadamente, inhalando durante ese periodo alrededor de 35 libras de aire; no obstante, el hombre en su búsqueda de una vida más cómoda y agradable ha contaminado a la atmósfera a través de sus actividades, sin tomar las medidas preventivas y de control necesarias para evitar la contaminación.

#### 1.2 CONTAMINACIÓN DEL AIRE<sup>6</sup>

La contaminación atmosférica se define como la presencia en la atmósfera comunal de uno o más contaminantes o combinaciones de éstos en cantidades y duraciones tales que puedan afectar a los seres humanos, los animales, la vegetación o que interfieran irrazonablemente con el libre disfrute de la vida y la propiedad.

Es en la capa inferior de la atmósfera, la troposfera donde se transportan y diluyen los contaminantes.

La capa inferior está compuesta de seis millas de espesor y comprende aproximadamente el setenta por ciento (70%) del total de la masa de aire.

En la capa inferior de la atmósfera operan factores como temperatura, lluvias, topografía, vientos y radiación solar, los cuales establecen los patrones y razones de ventilación del globo terráqueo y a la vez el nivel de contaminación de la atmósfera.

Es importante señalar que con anterioridad a que el hombre comenzara el desarrollo industrial y agrícola existente, la atmósfera nunca estuvo absolutamente limpia. Desde antes, el aire arrastraba polvos orgánicos, materia particulada (generada por volcanes activos y por la erosión del viento), núcleos de sal del mar, metano generado por los pantanos, polen y bacterias. La presencia de estas sustancias en la atmósfera causaba desde ya cierto grado de contaminación.

Los contaminantes de aire se clasifican en primarios y secundarios dependiendo de su origen. Los contaminantes primarios son aquellos que se encuentran en la atmósfera en forma idéntica a como fueron emitidos, es decir, que no han sufrido ninguna alteración fundamental en su estructura molecular original. Estos afectan la salud de los seres humanos y son generados directamente de su origen en forma de gas, líquido o sólido. Los contaminantes secundarios son producto de reacciones químicas ocurridas en la atmósfera entre contaminantes primarios.

Los límites de concentraciones establecidos por reglamentación se conocen como límites primarios y límites secundarios. Los límites primarios están dirigidos a proteger la salud de los seres humanos y los secundarios al libre disfrute de la vida y la propiedad.

La Junta de Calidad Ambiental en cooperación con la Agencia de Protección Ambiental (EPA) ha identificado seis clases de contaminantes principales que afectan sustancialmente la atmósfera y para los cuales se han establecido concentraciones máximas permisibles. Estos son: materia particulada, dióxido de azufre, monóxido de carbono, hidrocarburos, los óxidos de nitrógeno y plomo.

### 1.3 FUENTES DE CONTAMINACIÓN DE AIRE<sup>5</sup>

La demanda de nuestra sociedad por obtener una vida más placentera, de abundancia y comodidad es responsable del grado de contaminación atmosférica prevaleciente.

Las demandas de empleo, mayores automóviles y carreteras, utensilios eléctricos, recreación, educación, las exigencias de actividades sociales, productos de consumo y el uso indiscriminado de nuestros recursos naturales han sido los principales causantes del desequilibrio ambiental que nos aqueja hoy día.

#### 1.3.1 FUENTES NATURALES<sup>4</sup>:

Las siguientes actividades pueden considerarse fuentes naturales de contaminación ambiental.

- Fuegos forestales
- Actividad volcánica
- Polvo fugitivo levantado por el viento
- Descomposición biológica
- Salitre proveniente del agua salada o del mar
- Polen de las flores
- Radiación solar y cósmica
- Ozono producido por descargas eléctricas

#### 1.3.2 FUENTES ANTROPOGÉNICAS<sup>5</sup>

Las fuentes antropogénicas de contaminación de aire son aquellas producidas por el hombre. Estas son consideradas más peligrosas que las naturales. Estas pueden dividirse a su vez en fuentes móviles y fuentes estacionarias o fijas.

- Fuentes móviles:

Las fuentes móviles de contaminación de aire mayormente están relacionadas con la transportación, a saber: vehículos de motor, aviones, barcos

- Fuentes estacionarias o fijas:

Las fuentes fijas o estacionarias provienen en su mayoría de actividades industriales o agrícolas.

Algunos ejemplos son:

- Plantas de producción de energía eléctrica
- Industrias en general
- Calentadores, incineradores y calderas
- Quema de desperdicios a campo abierto
- Actividades de construcción de edificios y carreteras
- Actividades agrícolas
- Actividades mineras



**Figura 1.1** Representación de las fuentes de contaminación

*Fuente: Agency for toxic substances & Disease Registry<sup>7</sup>*

#### 1.4 EFECTOS DE LA CONTAMINACIÓN DE AIRE<sup>5</sup>

Existe una relación directa entre el nivel de degradación de la atmósfera y el deterioro de la salud pública. La contaminación de aire está íntimamente relacionada con enfermedades respiratorias, tales como bronquitis, cáncer del pulmón, enfisema y otras. Además, la contaminación de aire produce efectos adversos sobre la agricultura y los ecosistemas, generando corrosión en los materiales y ocasionando daños a la propiedad privada.

Estudios rigurosos demuestran que la exposición del cuerpo humano a ciertas concentraciones de contaminantes puede causar alteraciones fisiológicas que anteceden a enfermedades definitivas.

Un ejemplo de un incidente de exposición a altas concentraciones de dióxido de azufre ocurrió en Londres, Inglaterra, en el año 1952, cuando se combinaron varios factores como la existencia de una densa neblina, intensa actividad industrial basada en el uso del carbón de piedra y una inversión térmica que impidió la salida de este gas a la alta atmósfera por lo cual se registraron 4,000 muertes en 5 días y hubo un aumento de 48% en ingresos de pacientes en hospitales.

Los agentes contaminantes en grandes concentraciones alteran adversamente los mecanismos de defensa pulmonares, afectando el sistema de cilios del epitelio pulmonar y causando irritación, inflamación y erosión del epitelio. Los cambios inflamatorios producidos por los contaminantes causan el desarrollo de espasmos bronquiales severos con marcadas dificultades respiratorias, muertes por asfixia, edemas pulmonares, agravación de síntomas cardíacos, asma severa y otras alteraciones del sistema respiratorio.

La contaminación ambiental es un problema que se ha venido agravando en las últimas décadas en el Perú. Sin embargo, en la práctica, es poco lo que se ha hecho para reducir dicha contaminación a niveles aceptables o permitidos.

El uso de los bioindicadores para medir los efectos de la contaminación atmosférica es un pilar en la gestión de la calidad del aire en todo el mundo, por su utilización de organismos vivos para estimar el riesgo de la contaminación ambiental para los ecosistemas y la salud humana.

Los variados métodos de bioindicación, biomonitoreo y bioensayos en laboratorio han sido desarrollados en las últimas décadas entrando como herramienta rutinaria de diagnóstico, monitoreo y gestión de las entidades ambientales.

Por eso es necesario difundir la información acerca de los conceptos y fundamentos de las técnicas de medición biológica para determinar los efectos de contaminantes atmosféricos. Y principalmente conocer la importancia de estas técnicas para estimar el creciente riesgo que tienen los ecosistemas y la salud humana con la contaminación atmosférica.

## 1.5 NORMAS AMBIENTALES<sup>8</sup>

A principios de la presente década se emitieron en el país dos normas legales substanciales cuyo objetivo principal es controlar los niveles de los contaminantes. A pesar de ello, hasta la fecha, dichas normas no logran el real efecto para el que fueron dictaminadas: reducir la contaminación.

En efecto, en el año 2001 se aprobó el Reglamento de Estándares Nacionales de Calidad Ambiental del Aire mediante el Decreto Supremo 074-2001-PCM.

En él se restringe los contaminantes Dióxido de Azufre, Dióxido de Nitrógeno, Ozono, PM10 y PM2,5. Esta norma tiene como objetivo controlar la contaminación crónica, es decir, la que ocurre por espacios de tiempo prolongados y sostenidos.

En efecto en el artículo 18 del D.S. se contempla un Plan de Acción de Mejoramiento de la Calidad del Aire considerará expresamente el plazo que la zona requerirá para alcanzar estándares primarios de calidad del aire contenidos en su anexo 1 o de ser el caso los valores contenidos en el anexo 2, así como las acciones y estrategias que permitan cumplir con dicho plazo.

## CAPÍTULO II

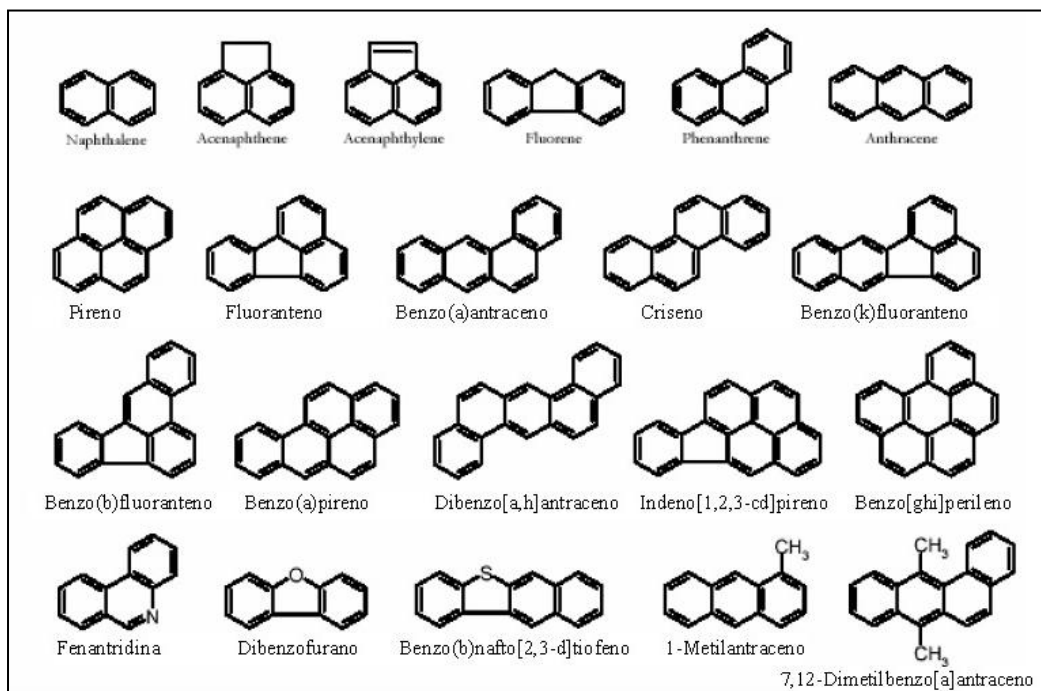
### HIDROCARBUROS POLICICLICOS AROMÁTICOS (PAHS)<sup>9</sup>

#### 2.1 ANTECEDENTES, ESTRUCTURA Y COMPORTAMIENTO

Los Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos (PAHs) han estado presentes en el medioambiente desde los inicios de la vida del hombre, ya que son compuestos naturales. Sin embargo, el crecimiento industrial ha supuesto un aumento de gran número de contaminantes en el entorno natural, entre ellos los PAHs. El estudio científico de los PAHs y sus efectos comenzó en 1775, al atribuirse el cáncer padecido por los limpiadores de chimeneas a la exposición al hollín y la ceniza que suponía su actividad. Investigaciones posteriores sugirieron que los agentes causantes del cáncer eran los PAHs contenidos en el hollín. A lo largo de los años 30 se demostró que algunos de los PAHs presentaban un fuerte potencial cancerígeno, mientras se iniciaba el estudio de propiedades similares en otros.

La familia de los PAHs es un grupo de hidrocarburos que consisten en moléculas que contienen dos o más anillos aromáticos de 6 carbonos fusionados a través de dos o más átomos de carbono (Figura 2.1), pero algunos de ellos contienen también anillos de cinco carbonos (como el acenaftileno y el fluoranteno). Hay que tener en cuenta también la existencia de PAHs basados en estas estructuras y que contienen grupos alquilo, así como compuestos cercanos a esta familia y que contienen átomos de oxígeno, azufre o nitrógeno.

Los PAHs se encuentran habitualmente en estado sólido, confiriéndoles su estructura de anillos aromáticos conjugados una particular resistencia a agentes químicos y otro tipo de ataques. La solubilidad en agua decrece al ir aumentando el peso molecular y el tamaño de la molécula, con el consiguiente aumento del carácter lipofílico. Los PAHs identificados por su significación medioambiental, presentan todos ellos carácter lipofílico, y son por ello potencialmente bioacumulados y concentrados en sedimentos y suelos tanto más cuanto mayor sea su persistencia en cada medio.



**Figura 2.1** Estructuras de los 16PAHs considerados como prioritarios por la US EPA así como algunos PAHs alquilados y heterocíclicos.

*Fuentes bibliográfica: Lundstedt, S.; 2003 <sup>10</sup>*

Su presencia en el ambiente puede deberse a diversas fuentes, tanto naturales como antropogénicas. Generalmente, los PAHs son producidos por combustión que puede ser natural (incendios forestales) o antropogénicas (combustión en automóviles) y fuentes estacionarias. Algunos de los PAHs son de fabricación específica, como el naftaleno empleado como insecticida, pero su producción está en descenso al ser sustituido por compuestos clorados.

Los PAHs pueden incorporarse al organismo por ingestión, inhalación o adsorción dérmica. Como consecuencia de su baja solubilidad en agua y elevada solubilidad en sustancias de naturaleza lipídica, se acumulan en los organismos y en la materia orgánica de partículas y sedimentos, pudiendo permanecer así largos periodos de tiempo, garantizando su biodisponibilidad.

La lentitud con que son degradados estos compuestos provoca su acumulación en plantas, peces e invertebrados acuáticos y terrestres, incorporándose a la cadena alimenticia. Esta diferencia de persistencia de los distintos compuestos es la que va a decidir sobre la mayor o menor capacidad de bioacumulación de cada uno de ellos.



Como regla general, la persistencia del compuesto aumenta, al aumentar el tamaño de la molécula. Por ejemplo, la persistencia relativamente baja del naftaleno y de otros compuestos de peso molecular bajo indica su escasa capacidad de bioacumulación. Por otro lado, los compuestos de mayor peso molecular (por ejemplo: el benzo(a)pireno) son altamente persistentes y por tanto bioacumulables.

## 2.2 ORIGEN Y FORMACIÓN DE PAHS

Los PAHs pueden aparecer en el medio de varias maneras: mediante pirólisis de alta temperatura de materia orgánica, mediante diagénesis a temperatura baja o moderada de la materia orgánica sedimentaria dando lugar a los combustibles fósiles y mediante la biosíntesis directa originada por microbios y plantas.

### *a) Pirólisis*

La mayor parte de los PAHs presentes en el medio se forman durante la combustión incompleta de la materia orgánica a altas temperaturas. Muchas actividades domésticas e industriales implican la pirosíntesis de los PAHs. Los PAHs resultantes pueden liberarse al medio en forma de partículas en el aire o en subproductos líquidos o sólidos resultantes del proceso pirolítico.

### *b) Combustibles Fósiles*

Los hidrocarburos suelen representar más del 75% en peso de un petróleo. En el carbón puede haber hasta un 75 % del carbono en forma aromática y dominan los compuestos con anillos de seis carbonos.

### *c) Biosíntesis*

Los organismos pueden sintetizar muchas moléculas orgánicas que contienen anillos bencénicos unidos, pero muchos de estos compuestos no son verdaderos PAHs dado que tienen otros sustituyentes. El problema es que muchos de estos compuestos pueden reducirse fácilmente para dar lugar a sus PAHs correspondientes.

Existe una gran variedad de fuentes naturales de PAHs, entre ellas principalmente los incendios forestales y la actividad volcánica.

La aportación de estos focos es difícil de estimar, debido a la naturaleza esporádica de los mismos. Las principales fuentes antropogénicas de mayor contribución a la presencia de PAHs en el entorno son en orden decreciente de importancia: procesos industriales, calefacciones domésticas, fuentes móviles de emisión (transportes), incineradoras y plantas de generación eléctrica.

Dentro de las fuentes antropogénicas cabe destacar el consumo de tabaco que, si bien es insignificante como fuente en general, es de gran importancia como fuente de exposición directa de fumadores y de los cercanos a éstos. El cáncer inducido por el tabaco no es únicamente efecto de la exposición a la nicotina, aunque ésta sea tóxica, sino de la exposición a PAHs producidos por la combustión del tabaco.

Una completa combustión de materia orgánica daría como resultado la obtención de dióxido de carbono y agua. Esto tendría lugar en condiciones de alta temperatura y de suficiente oxígeno. Sin embargo, en la mayoría de las ocasiones el oxígeno no está en las cantidades necesarias como para garantizar esta reacción de modo totalmente eficaz, y como consecuencia algunos fragmentos orgánicos reaccionarán con otros cercanos pudiéndose formar una gran variedad de PAHs, dependiendo de las condiciones que existan en ese momento.

Por ejemplo, la formación de PAHs se verá más favorecida cuanto menor sea la disponibilidad de oxígeno en el ambiente para completar la combustión.

La cantidad de PAHs va a depender también de la temperatura a la cual se lleve a cabo la combustión y de la naturaleza del material orgánico que sufra dicha reacción

Durante la formación geológica de los carburantes fósiles, los PAHs se forman a través de diferentes procesos. La formación de carbón y petróleo se lleva a cabo por ruptura de la materia orgánica provocada por presión a temperaturas moderadas.

Bajo estos condicionantes, el mecanismo de formación de los PAHs es similar al descrito en las combustiones, pero las transformaciones ocurren en proporciones mucho menores como consecuencia de las bajas temperaturas.

De esta forma, en el empleo de combustibles fósiles, de estos PAHs generados durante la formación del petróleo y el carbón algunos son liberados a la atmósfera sin experimentar cambios, otros son transformados durante la reacción de combustión en otros PAHs, y por último son también liberados los PAHs que se generan como consecuencia de la propia combustión.

### 2.3 TOXICIDAD DE LOS PAHs<sup>7</sup>

La principal característica que presentan estos compuestos sobre la salud, es su capacidad para inducir la formación de cáncer en los organismos expuestos.

Ciertos PAHs tienen una fuerte actividad carcinogénica, particularmente el benzo(a)antraceno en animales y el benzo(a)pireno en humanos. Con otros, sin embargo, no existe tal evidencia y por ello no están clasificados. Es importante señalar la consideración que se tiene de que todos los PAHs en general, son sospechosos de ser carcinogénicos en un grado u otro, aunque el nivel sea muy bajo.

El proceso de inducción de cáncer en mamíferos producido por los PAHs, involucra un grupo de enzimas que son capaces de convertir los compuestos xenobióticos lipofílicos (incluidos los PAHs) en productos solubles en agua. El proceso de transformación de compuesto lipofílico a compuesto soluble en agua supone la inserción de un átomo de oxígeno en la estructura del compuesto en forma de epóxido, con la consiguiente hidrólisis que lo transforma en diol. Esta es la forma en que los PAHs son capaces de unirse a zonas de moléculas como DNA o hemoglobina, y tienen capacidad de causar la formación de un tumor. Hay que tener en cuenta, que esta última reacción de transformación puede llevar más o menos tiempo, y que es un mecanismo que no se conoce con profundidad.

Por ejemplo: los efectos tóxicos que tienen los PAHs sobre los organismos acuáticos pueden reflejarse en función de la LC<sub>50</sub> (concentración de tóxico que resulta letal para el 50% de la población expuesta) (véase Tabla 2.1). Está comprobado que la toxicidad aumenta al aumentar el peso molecular y el carácter lipofílico del compuesto, y que los organismos acuáticos son los más afectados.

Un hecho adicional comprobado es que la radiación solar eleva significativamente la toxicidad en organismos acuáticos. Se cree que es debido a la fotoactivación de las moléculas de PAHs presentes, y que no existe metabolismo o forma de degradación de los mismos.

**Tabla 2.1** Efectos tóxicos de los PAHs sobre organismos acuáticos

PAH	ORGANISMO	LC <sub>50</sub> (96 hr) (mg/L)
Naftaleno	Peces	0,1-0,8
	Crustáceos	1,0-2,4
Acenafteno	Peces	0,6-3,0
Fenantreno	Peces	0,04-0,6
Benzo(a)pireno	Peces	<0,024

*Fuente: García Martínez*

El benzo(a)pireno es el hidrocarburo aromático policíclico más estudiado y dado que es representativo de los efectos de los compuestos de este grupo, se acostumbra expresar los impactos ocasionados por los PAHs en términos de equivalencia con el benzo(a)pireno. Si bien el benzo(a)pireno es un contaminante atmosférico con efecto carcinógeno, apenas sí existen hasta el presente valores límites y estándares ambientales.

Debido a que el benzo(a)pireno pasa al cuerpo humano desde diferentes fuentes, es imprescindible mantener los alimentos y el agua potable libres de esta sustancia. La toxicidad aguda de los hidrocarburos aromáticos con respecto a los organismos acuáticos se incrementa a medida que aumenta el peso molecular, aunque la relación no es absoluta. Los PAHs son extremadamente tóxicos para los organismos acuáticos en concentraciones de 0,2-10 ppm. A concentraciones mayores, la mayor parte de los PAHs son extremadamente tóxicos para plantas acuáticas.

#### ***Efectos Sub-letales: Bacterias, Plantas y Animales***

Los PAHs pueden tanto estimular como inhibir el crecimiento y la división celular en las bacterias y plantas acuáticas. El efecto de la mayor parte de los PAHs es inhibitorio. La toxicidad y la inhibición aumentan a medida que aumenta el peso molecular.

Muchos PAHs causan un incremento en el coste metabólico de la osmoregulación en las larvas u organismos, por lo que hay menos energía disponible para el crecimiento. Los PAHs también reducen la esperanza de vida del organismo y el tamaño de la progenie. La principal forma de toxicidad de los PAHs, especialmente de los de menor peso molecular, es a través de la interferencia entre la membrana de la función celular y la membrana de los sistemas enzimáticos asociados.

La principal razón de preocupación por la presencia de los PAHs en el medio es el hecho de que algunos de ellos pueden causar cáncer en los mamíferos, incluyendo a los seres humanos. La carcinogenicidad varía mucho dentro de los PAHs conocidos como carcinogénicos. Los PAHs por sí mismos no son carcinogénicos, se requiere una activación metabólica de los metabolitos reactivos electrofílicos.

Muchos animales acuáticos tienen los sistemas de enzimas necesarios para la activación de los PAHs. Las distintas especies de organismos varían mucho en cuanto a su sensibilidad a la carcinogenicidad inducida por los PAHs. Un paso crítico en la carcinogénesis de los PAHs en los mamíferos parece ser el enlace covalente de los PAHs metabólicamente activados a los residuos nucleofílicos, en las células de las macromoléculas, especialmente en el ADN.

El movimiento de los PAHs en el medio depende de las propiedades de éstos: de su solubilidad en agua, de la presión de vapor, de su peso molecular, como de fácil se disuelven en agua y como de fácil se evaporan en el aire. Generalmente los PAHs no se disuelven fácilmente en agua, debido a su baja solubilidad y naturaleza hidrofóbica, los PAHs tienden a asociarse principalmente con materiales orgánicos e inorgánicos en suspensión y en sedimentos.

#### 2.4 IMPORTANCIA DEL DESTINO Y DE LAS PROPIEDADES DE TRANSPORTE DE LOS PAHS<sup>8,9</sup>

La presencia de estos PAHs en los sedimentos, los suelos, las aguas y el aire, ha supuesto, durante las últimas tres décadas, un tema de preocupación por el medioambiente.

Muchos de estos PAHs pueden ser degradados mediante bacterias y microorganismos del suelo, pero, debido a su baja solubilidad y su fuerte adsorción, esta biodegradación en suelos es bastante limitada.

Incluso en casos con compuestos de 5 ó 6 anillos sólo pueden degradarse parcialmente en procesos de cometabolismo (proceso por el que un compuesto orgánico es metabolizado o transformado, pero no utilizado como sustrato de crecimiento para los microorganismos). Además de la biodegradación, puede considerarse también la degradación por el efecto de agentes ambientales. Cuanto mayor sea el número de anillos en los PAHs, más difícil será esta degradación.

Las concentraciones más elevadas de PAHs en el aire son principalmente debidas al humo del tabaco y de los motores de combustión de gasolina o diesel, y a la combustión de madera y de carbón, en los que la combustión no ha sido completa.

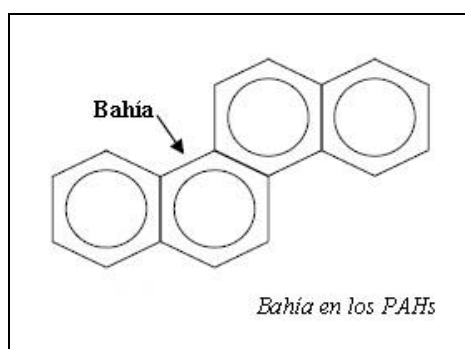
Una de las formas de producción de los PAHs por el hombre, es mediante la combustión incompleta de la materia que contiene carbono. Aquellos PAHs que incluyen como muchos 4 anillos bencénicos, suelen mantenerse en forma gaseosa al ser liberados con los gases de combustión. Normalmente, después de pasar menos de un día en la atmósfera, estos compuestos se degradan por fotólisis. Mediante una secuencia de reacciones de radicales libres, que comienzan mediante la adición del radical  $\text{OH}\cdot$  a un enlace doble.

Los PAHs de más de 4 anillos no suelen mantenerse en el aire como moléculas gaseosas, sino que, debido a su mayor tamaño y su baja presión de vapor, son adsorbidos por otras partículas, depositándose o bien manteniéndose en suspensión, lo cual supone una posible penetración en los pulmones a través de la respiración. Un PAH carcinogénico conocido desde hace ya bastante tiempo, el benzo(a)pireno, tiene, como fuente más importante, la combustión incompleta de carbón que se suele dar, por ejemplo, en calderas para calefacción doméstica.

Los Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos también pueden suponer una contaminación importante de las aguas, normalmente al entrar éstas en contacto con productos derivados del carbón (como puede ser, por ejemplo, la creosota).

Así, las aguas de lixiviado de las pilas de carbón tienen concentraciones apreciables de compuestos orgánicos, incluyendo PAHs. En general, los PAHs son compuestos carcinogénicos, tanto más cuando más hidrógenos sean sustituidos por grupos metilo, y más aún al ser sustituidos por el grupo  $-\text{NO}_2$ .

Los PAHs más carcinogénicos son aquellos que presentan la denominada “bahía” (Figura 2.2), ya que ésta proporciona un alto grado de reactividad bioquímica.



**Figura 2.2** Estructura de PAHs carcinógenos

*Fuente: García Martínez*

Es muy importante entender el comportamiento de estos compuestos para saber dónde los podemos encontrar y los distintos mecanismos que se pueden utilizar para disminuir sus concentraciones. El comportamiento de los PAHs en el medio varía en función del peso molecular de los mismos sobre todo en lo que respecta a su solubilidad (en general baja en todos ellos) y, por lo tanto, a su movilidad.

Las concentraciones de PAHs encontradas en suelos cercanos a un núcleo urbano o a un área industrializada son algunas veces hasta dos órdenes de magnitud superiores a las que encontramos en áreas menos desarrolladas (que proceden de incendios forestales y de contaminación atmosférica).

Una vez que se liberan en el medio, los PAHs pueden repartirse entre el aire, el agua, el suelo o los sedimentos. Estos contaminantes ubicuos pueden encontrarse en niveles significativos en el agua potable, en la comida y en el aire que respiramos. Una vez que son asimilados por las plantas o por peces, los PAHs pueden pasar a la cadena alimenticia y ser consumidos por los humanos.

Aunque se han encontrado concentraciones significativas de PAHs en muchos alimentos comunes, los niveles más altos se han encontrado en lechugas, espinacas, hojas de té y tabaco, debido a la contaminación atmosférica. Se sospecha que niveles altos de PAHs en carne y pescado ahumados aumentan el riesgo de cáncer. Los estudios epidemiológicos muestran una correlación entre un aumento de mortalidad en humanos que desarrollan cáncer de pulmón y la exposición a las emisiones de hornos de coque, emisiones de alquitrán y humo de los cigarrillos.

Todos los vapores anteriormente indicados contienen benzo(a)pireno, benzo(a)antraceno, benzo(b)fluoranteno, dibenzo(a,h)antraceno y criseno, así como otros PAHs potencialmente carcinogénicos que son promotores e iniciadores de tumores.

Durante su estancia en el medio, los PAHs pueden sufrir transformaciones químicas y fotoquímicas, lo que da lugar a otros productos que pueden ser más o menos inertes que los productos originales. El destino medioambiental de los PAHs depende en gran medida de los medios a los que se encuentran expuestos. Por lo tanto, su tasa de transformación (con y sin luz) en el aire, agua y suelo puede variar dado que cada medio influye en las propiedades físicas de los PAHs de manera diferente. Por lo tanto es muy importante una recopilación de parámetros físicos y químicos para el estudio de la reacción de los PAHs en estos medios (Tabla 2.2).

**Tabla 2.2** Propiedades físicas y químicas de algunos hidrocarburos aromáticos

PAH	Número de Anillos	Solubilidad en agua (mg/L)	Presión de vapor (torr a 20°C)	Log del Coeficiente de Partición octanol-agua (log $K_{ow}$ )	Punto de fusión (°C) / Punto de Ebullición (°C)
Naftaleno	2	30	$4,92 \times 10^{-2}$	3,37	80/218
A cenafteno	3	3,47	$2,0 \times 10^{-2}$	4,33	96/279
A cenaftileno	3	3,93	$2,9 \times 10^{-2}$	4,07	92/265
Antraceno	3	0,07	$1,96 \times 10^{-4}$	4,45	216/340
Fenantreno	3	1,29	$6,8 \times 10^{-4}$	4,46	101/340
Fluoreno	3	1,98	$1,3 \times 10^{-2}$	4,18	116/293
Fluoranteno	4	0,26	$6,0 \times 10^{-6}$	5,33	111/--
Benzo(a)antraceno	4	0,014	$5,0 \times 10^{-9}$	5,61	158/400
Criseno	4	0,002	$6,3 \times 10^{-7}$	5,61	255/448
Pireno	4	0,14	$6,85 \times 10^{-7}$	5,32	149/360
Benzo(a)pireno	5	0,0038	$5,0 \times 10^{-7}$	6,04	179/496
Benzo(b)fluoranteno	4	0,0012	$5,0 \times 10^{-7}$	6,57	167/--
Benzo(k)fluoranteno	4	0,00055	$5,0 \times 10^{-7}$	6,84	217/480
Dibenzo(a,h)-antraceno	4	0,0005	$1,0 \times 10^{-10}$	5,97	262/--
Benzo(ghi)perileno	6	0,00026	$1,0 \times 10^{-10}$	7,23	222/--
Indeno(1,2,3-cd)-pireno	6	0,062	$1,0 \times 10^{-10}$	7,66	



## 2.5 ANÁLISIS DE LOS PAHs

La técnica empleada habitualmente es la cromatografía líquida de alta resolución (HPLC), que permite la separación y cuantificación de los compuestos representativos del grupo de PAHs (fluoranteno, benzofluoranteno, benzoperileno entre otros).

Las muestras pueden analizarse según normas obtenidas de la oficina de residuos sólidos de la US-EPA (Office of Solid Waste)<sup>11</sup> y de ellas fundamentalmente seguirse dos normas para la parte del tratamiento de muestra:

EPA Method 3540C – Soxhlet Extraction: Extracción con Soxhlet

EPA Method 3630C – Silica Gel Cleanup: Fraccionamiento del extracto.

En cuanto a muestras líquidas se pueden extraer también siguiendo la normativa EPA y, en este caso la extracción puede realizarse mediante la técnica de extracción en fase sólida (SPE).

En el caso de la fotodegradación del naftaleno se recomienda la técnica de espectrofotometría de ultravioleta para cuantificar cómo se va degradando el mismo y la técnica de cromatografía de gases-espectrometría de masas para detectar los productos de fotodegradación.

Se han desarrollado numerosos métodos para la investigación de las cantidades de PAHs contenidos en los sedimentos marinos de ciertas zonas del planeta donde se han encontrado niveles relativamente elevados de los mismos, como consecuencia principalmente de la contaminación por petróleo y sus derivados. De igual modo, la determinación de los contenidos de PAHs en distintos tipos de alimentos (leche, queso, pescado, vegetales etc.) se ha llevado a cabo mediante diversas técnicas analíticas.

En estos métodos, la investigación se centra sobre todo en la optimización de los métodos de extracción de los contaminantes de la matriz que los contiene. La cromatografía en capa fina, cromatografía de gases-espectrometría de masas, HPLC fluorescencia, son entre otras las técnicas que se emplean en la determinación de PAHs.

## CAPÍTULO III

### MONITOREOS AMBIENTALES

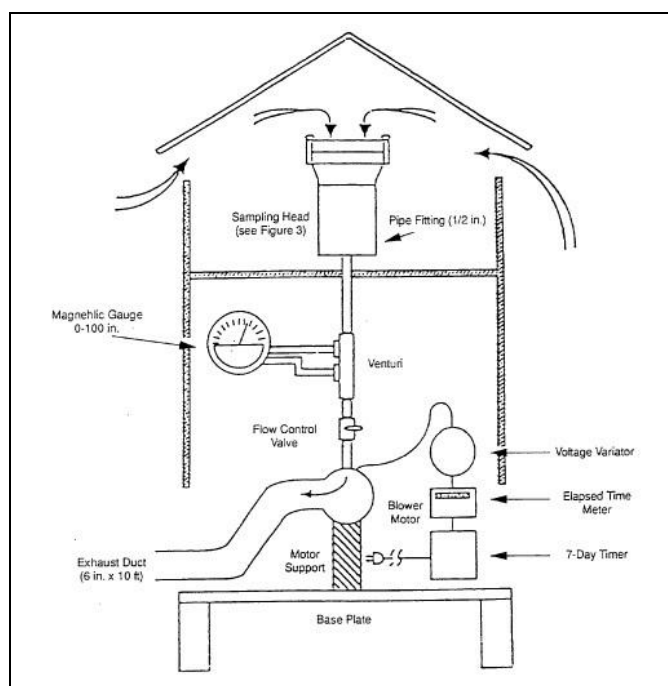
#### 3.1 MONITOREO INSTRUMENTALES<sup>12</sup>

Por lo general, se toma como referencia la norma EPA/625/R-96/010b Compendium Method TO-13A el cual describe el uso de equipos de monitoreo continuo de aire. Se utiliza equipos de Alto volumen (Figura 3.1). Capaz de extraer el aire ambiente a través del filtro / cartucho absorbente con un caudal de aproximadamente 8 pies cúbicos estándar por minuto ( $0.225 \text{ std m}^3/\text{min}$ ) para obtener un volumen total de la muestra de más de  $300 \text{ m}^3$  durante un período de 24 horas.

Recientes estudios de la EPA han concluido que el volumen de muestra de menos de  $300 \text{ m}^3$  llega a recolectar suficientes hidrocarburos aromáticos policíclicos en el filtro de espuma de poliuretano para la cuantificación. El usuario será el responsable de investigar el volumen apropiado de la muestra para cumplir los objetivos específicos del proyecto de calidad de datos.

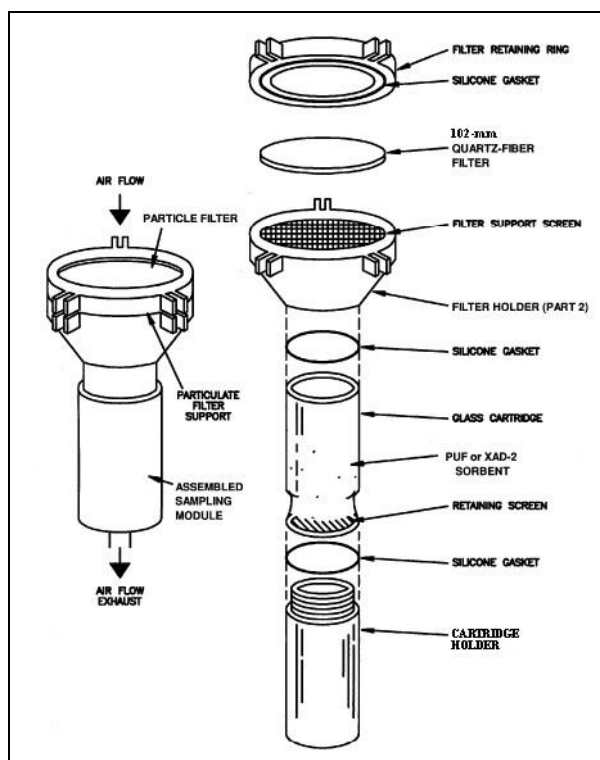
El módulo de muestreo (Figura 3.2) presenta un soporte del filtro de metal capaz de almacenar un filtro de partículas circular de 102mm apoyada por una malla de acero 16 inoxidable de pantalla y unida a un cilindro de metal capaz de mantener un diámetro exterior de 65 mm (60 mm de diámetro) x 125 mm con cartucho de vidrio de borosilicato absorbentes que contienen espuma de poliuretano o de XAD-2 ®.

El soporte del filtro está equipado con juntas de sellado inerte (por ejemplo, politetrafluoroetileno) colocados a ambos lados del filtro. Del mismo modo, las juntas inerte, flexible (por ejemplo, de goma de silicona) se utilizan para proporcionar un sello hermético en cada extremo del cartucho de vidrio absorbente. El cartucho de vidrio absorbente tiene un espacio de 20 mm desde el extremo inferior para proporcionar un apoyo a una de 16 mallas de acero inoxidable de la pantalla que contiene el absorbente.



**Figura 3.1** Típico sistema muestreador de alto volumen para PAHs

*Fuente: Compendium Method TO-13A*



**Figura 3.2** Típico sistema portador de absorbente de muestreador de alto volumen para PAHs.

*Fuente: Compendium Method TO-13A*



**Figura 3.3** Equipos de muestreo Hi Vol PM10 (izquierda) y PTS (derecha)

### 3.1.1 MÉTODOS DE MONITOREO PASIVO

Ofrecen un método simple y eficaz en función de los costos para realizar el sondeo de la calidad del aire en un área determinada. A través de la difusión molecular a un material absorbente para contaminantes específicos, se recoge una muestra integrada durante un determinado periodo (que generalmente varía entre una semana y un mes).

Los bajos costos por unidad permiten muestrear en varios puntos del área de interés, lo cual sirve para identificar los lugares críticos donde hay una alta concentración de contaminantes, como las vías principales o las fuentes de emisión, y donde se deben realizar estudios más detallados.

Para aprovechar al máximo esta técnica, se debe contar con un diseño cuidadoso del estudio y vigilar los procedimientos de aseguramiento y control de la calidad seguidos en el laboratorio durante el análisis de la muestra.

### 3.1.2 MÉTODOS DE MONITOREO ACTIVO

Las muestras de contaminantes se recolectan por medios físicos o químicos para su posterior análisis en el laboratorio. Por lo general, se bombea un volumen conocido de aire a través de un colector –como un filtro (muestreador activo manual) o una solución química (muestreador activo automático)- durante un determinado periodo y luego se retira para el análisis.

Hay una larga historia de mediciones con muestreadores en muchas partes del mundo, lo que provee datos valiosos de línea de base para análisis de tendencias y comparaciones.

Los sistemas de muestreo (para gases), el acondicionamiento de muestras, los sistemas de ponderación para el material particulado (MP) y los procedimientos de laboratorio son factores clave que influyen en la calidad de los datos finales.

### 3.2 MONITOREOS BIOLÓGICOS<sup>13</sup>

El biomonitoreo es un conjunto de técnicas basadas en la reacción y sensibilidad de distintos organismos vivos a diversas sustancias contaminantes presentes en el ambiente. Es decir, es la evaluación de los efectos deletéreos de una sustancia tóxica sobre ciertos organismos. Así, la toxicidad de un compuesto se mide a través de diferentes parámetros biológicos, como las alteraciones en el desarrollo y en funciones vitales, entre otros parámetros.

La evaluación de contaminación por biomonitoreo puede realizarse de dos modos:

- Mediante el estudio de los efectos sobre los organismos indicadores preexistentes en el ecosistema de interés,

- Mediante la toma de muestras del ambiente de interés y el análisis en el laboratorio de la presencia de contaminantes sobre organismos indicadores modelo.

Estos índices biológicos pueden dar información no sólo de las condiciones momentáneas, sino también de lo sucedido en momentos previos a la toma de las muestras. Junto con la medición de parámetros físicos y químicos, el biomonitorio permite evaluar el impacto que la actividad humana tiene en el medio ambiente, ya sea en ecosistemas abiertos como en efluentes industriales o cloacales.

### 3.2.1 ASPECTOS CUALITATIVOS

Un estímulo medio ambiental así como un estímulo provisto por contaminantes atmosféricos puede causar reacciones en los organismos y puede conllevar a varios cambios. Los efectos están definidos como toda clase de reacciones de los organismos de plantas a los contaminantes atmosféricos. Un cambio en la composición química, así como el cambio en la concentración de una sustancia nociva en plantas es también considerado un efecto (aspecto cualitativo a evaluar).

Las plantas que crecen silvestremente son apropiadas para estudios de los efectos así como lo son todas las especies y variedades de plantas cultivadas.

Todas las reacciones metabólicas así como los cambios relacionados a la composición de las sustancias de las plantas, desarrollo, apariencia y producción pueden ser medidos. En la Tabla 3.1 a continuación se mencionan criterios para la determinación de los efectos de los contaminantes atmosféricos en plantas.

Las plantas que exhiben síntomas de heridas cuando son expuestas a concentraciones fitotóxicas de contaminantes, o a una mezcla de contaminantes, son generalmente clasificadas como indicadores biológicos o bioindicadores.

Bioindicadores son ahora usados por investigadores desde muchos campos científicos. Aunque el biomonitoreo es una herramienta muy importante en gestión ambiental, los resultados de algunos estudios son descriptivos y no pueden contemplar las demandas de la legislación y de la preocupación pública de la seguridad ambiental.

**Tabla 3.1** Efectos de los contaminantes atmosféricos sobre las especies biológicas.

Tejido / órgano	Concentración intercelular de sustancias, cambios en la actividad fotosintética, respiración y transpiración, cambios en el crecimiento y desarrollo, cambios de color, mutación de tejido/órgano, desarrollo de cáncer, necrosis, pérdida de órganos en la planta.
Organismo	Concentración intercelular de sustancias, cambios en el crecimiento y desarrollo, aumento de susceptibilidad a la influencia biótica y abiótica, alteración en la reproducción, cambios en la competitividad, reducción del rendimiento y calidad, mutación y muerte.
Ecosistema	Cambios en el tamaño de la población, variación en la composición de especies (disminución de la diversidad en las especies, aparición de nuevas especies), influencia en la sucesión, cambios en la estructura de comunidades bióticas, cambios primarios afectados, cambios en flujo y ciclo de sustancias, alteración de la productividad del ecosistema.

### 3.2.2 ASPECTOS CUANTITATIVOS

Biomonitoreo y metodologías fisicoquímicas deben ser utilizados conjuntamente, de manera complementaria, para evaluar efectos bioacumulativos de concentraciones medidas con precisión de contaminantes atmosféricos.

En años recientes, la idoneidad de numerosas especies de plantas como bioindicadores de rastreo de contaminantes atmosféricos ha sido evaluada mediante fumigación en laboratorio y experimentos con polvos. Sin embargo, en el campo, estas especies son expuestas a varios factores ambientales y a diferentes combinaciones de contaminantes, bajo condiciones que no pueden ser reproducidas en laboratorio.

Por esto, algunas plantas pueden ser apropiadas como biomonitores pero solamente bajo condiciones controladas, mientras que otras pueden ser útiles en el campo.

### 3.2.3 MÉTODOS DE MONITOREO PASIVO

El estudio de plantas en su lugar de crecimiento debe proveer información de la relación entre un determinado efecto y su causa.

Debido a la alta complejidad de plantas y un amplio espectro de reacciones entre ellos, aproximaciones metódicas especiales necesitan ser seleccionadas para obtener esta información.

Procedimiento en lugares naturales de crecimiento son divididos entre:

- Estudios del crecimiento de plantas a campo abierto o
- Crecimiento en cámaras abiertas en la parte superior.

Los estudios “in situ” pueden ser de duración corta o continua.

#### A. Plantas Silvestres:

Los estudios de plantas silvestres tienen la intención de proveer información de cambios en la vegetación natural y dan pruebas de su relación con contaminantes atmosféricos en caso de una exposición a contaminación atmosférica.

Los métodos biológicos que estudian plantas silvestres pueden ser divididos en dos grupos:

- *Estudios de especies de plantas:* Solamente una especie es el objeto de estudio.
- *Estudios de comunidades de plantas:* En este caso varias especies son seleccionadas o una comunidad de plantas son estudiadas.



## B. Plantas Cultivadas:

Los beneficios económicos y ecológicos de plantas cultivadas difieren ampliamente entre una variedad de tipos que varían desde monocultivos no naturales a rotación agrícola de cosechas; caracterizadas por baja diversidad de especies o menor uso natural de suelo.

Los efectos de contaminantes atmosféricos en plantas cultivadas pueden ser de importancia económica por:

- Reducción de rendimiento
- Disminución en la calidad de cultivos (calidad interna y externa, componentes valiosos).
- Enriquecimiento de sustancias tóxicas (a humanos, animales y plantas) en cultivos.

La susceptibilidad de plantas cultivadas a contaminantes atmosféricos es influenciada por prácticas agrícolas y es inherente a factores como son:

- Fertilización y fertilidad de suelos
- Enfermedades parasitarias e infiltración de insectos
- Entrada de sustancias con fertilizantes y basura
- Tratamiento con pesticidas
- Tratamiento de suelos

Estos factores tienen que ser tomados en cuenta cuando se realiza una evaluación de los efectos y de la consecuencia económica causada por contaminantes atmosféricos.

## C. Plantas de Bosques:

Los efectos de contaminantes atmosféricos en las plantas de bosques pueden ser de una importancia económica por:

- Reducción en la calidad de madera debido a un muy rápido crecimiento causado por el ingreso de altas cantidades de nitrógeno.
- Baja producción debido a acidificación y erosión del suelo.
- Baja producción debido a la alteración de la fotosíntesis por contaminantes.

Importancia de la función ecológica por:

- Disminución en la capacidad de almacenar agua
- Reducción de la producción de oxígeno
- Limitación del consumo de dióxido de carbono
- Reducción en la eficiencia como filtro de polvos
- Reducción en la protección de ruido al mínimo debido a una pérdida en la estructura estratificada del bosque.
- Devastación de perfiles de suelo debido a remociones así también como a cambios en la vegetación.
- Pérdida de la vitalidad de las plantas
- Reducción de la diversidad en el ecosistema bosque
- Reducción de la calidad de agua subterránea debido a una entrada mayor y a una disminución de capacidad filtrante.

La susceptibilidad de plantas cultivadas a contaminantes atmosféricos también está determinada por factores inherentes como son:

- Factores de manejo forestal (reforestación, caída de árboles, doblado de árboles, etc.)
- Suministro de nutriente desde el suelo y aplicación de cal en suelo.
- Infiltración de enfermedades parasitarias, hongos e insectos.

Los mencionados factores pueden presentar los mismos daños para algunas causas como los contaminantes atmosféricos.

#### 3.2.4 MÉTODOS DE MONITOREO ACTIVO

Estos métodos limitan el número de factores influentes para que el efecto de los contaminantes atmosféricos en plantas pueda ser determinado con seguridad.

Los métodos de exposición logran esto mediante estandarización de todo lo relacionado con el crecimiento de la planta (uso de plantas genéticamente homogéneas, sustrato estandarizado, estandarización de siembra y suministro de nutrientes y agua) así como la exposición misma (equipo de exposición, tiempo y duración de la exposición).

A continuación en la Tabla 3.2 se muestran posibles efectos de los bioindicadores por acción de contaminantes.

**Tabla 3.2** Efectos de los contaminantes sobre los bioindicadores

Bioindicadores	Contaminantes atmosféricos	Efectos
Pasto estandarizado	Metales, compuestos orgánicos clorados, HPA, flúor, azufre, cloro, dioxinas y furanos	Acumulación de sustancias
Picea clonada	Metales, compuestos orgánicos clorados, HPA, flúor, azufre, cloro.	Acumulación de la sustancia y daño en las hojas
Liquen	Gases y sustancias particuladas, metales, HPA, PCB, Clorobenceno.	Acumulación de la sustancia y daño en los tallos
Plantas de tabaco	Ozono	Daño en hojas
Ortiga pequeña	Ozono	Daño en hojas
Arbusto de alubia	Ozono, óxidos de nitrógeno, dióxidos de azufre	Daño en hojas
Gladiolos	HAPs, compuestos orgánicos clorados, metales	Acumulación de sustancias
Trébol blanco	Ozono	Daño en hojas

## CAPÍTULO IV

### BIOINDICADORES

#### 4.1 BIOINDICADORES <sup>13,14</sup>

En concepto, los métodos bioindicativos son usados para la determinación de efectos en plantas y se esfuerzan por determinar si son causados por contaminantes atmosféricos. Los resultados de estos métodos pueden ser usados como evidencia para identificar contaminantes locales o regionales y para la medición de la red de efectos.

Un bioindicador ideal debe tener amplia distribución geográfica, ser de fácil muestreo, sensible/semisensible o vivir en un territorio restringido, y ser bien conocido a nivel bioquímico y fisiológico. Un ejemplo: los crustáceos se usan como bioindicadores por su gran plasticidad ecológica, capacidad de alterar sus funciones fisiológicas y bioquímicas para sobrevivir en presencia de contaminantes y amplia distribución. Además, depuran y eliminan los metales pesados acumulados en sus tejidos, en la siguiente tabla 4.1 se mencionan algunos objetivos y aplicaciones de métodos biológicos.

**Tabla 4.1**

Objetivos	<ul style="list-style-type: none"><li>- Monitoreo y evaluación de contaminación atmosférica (espacial y temporal)</li><li>- Recolección de evidencia de alteraciones en ecosistemas.</li><li>- Suministro de información para modelar y predecir efectos.</li></ul>
Aplicaciones	<ul style="list-style-type: none"><li>- Decisión administrativa</li><li>- Evaluación de impacto ambiental</li><li>- Proveen evidencia en casos de valores umbrales no logrados</li><li>- Monitoreo de plantas industriales y fuentes de emisión</li><li>- Medición de efectos y planes de control de contaminación atmosférica</li><li>- Verificación del éxito de las medidas de reducción de emisiones</li><li>- Monitoreo ecológico a largo plazo</li><li>- Observación ecológica del medio ambiente</li><li>- Identificar contaminantes que no cumplen con límites de emisión</li><li>- Proyecciones.</li></ul>

## 4.2 BIOMARCADORES

Los biomarcadores son parámetros cuya alteración indica la exposición de los bioindicadores a contaminantes, sus efectos biológicos o los riesgos para los ecosistemas. Los biomarcadores funcionan a distintos niveles: molecular, celular, histológico, organismo, población, de comunidad o ecosistema. Los moleculares son alertas tempranas, pues se alteran antes que los ecosistemas sufran daños irreversibles. Aquellos a nivel de población, comunidad o ecosistema tienen mayor relevancia toxicológica, pero responden de forma más lenta.

Un biomarcador debe ser específico para un compuesto o tipo de compuestos, detectable en pequeñas cantidades de muestras, medible por técnica barata, sencilla y reproducible, asociado a una exposición anterior, predictivo para un estado de alteración reversible.

La mayoría de los biomarcadores son inespecíficos, como las monooxigenasas que se inducen por muchos compuestos, aunque la  $\delta$ -aminolevulinato deshidratasa se inhibe por Pb. Los inconvenientes derivados de los falsos resultados positivos se evitan usando una batería de biomarcadores cuyos resultados se complementan para explicar una respuesta integrada a episodios de estrés ambiental.

Por su significado los biomarcadores se clasifican en tres tipos:

- i) ***de exposición*** que indican la presencia de contaminantes, metabolitos derivados de su biotransformación o productos de su reacción con biomoléculas;
- ii) ***de efecto*** que muestran cambios bioquímicos tras la exposición, y
- iii) ***de predicción de riesgos*** que predicen la posibilidad de una alteración grave a nivel de población, comunidad o ecosistema. La estacionalidad de los procesos fisiológicos (reproducción, desarrollo, etc.) y factores ambientales (nutrientes, temperatura, etc.) condiciona sus respuestas. Para minimizarlo y facilitar la interpretación de los datos, los programas de biomonitorización deben realizarse en distintas épocas del año y/o usar organismos control o referencia en cada estación.

### 4.3 BIOACUMULADORES

Son los organismos que acumulan sustancias particulares dentro de sus tejidos, cuyas concentraciones se determinan mediante métodos químicos.

En los estudios de bioacumulación se ha usado una gran variedad de plantas y hongos. Por ejemplo, se utilizan bolsas llenas de musgo como acumuladores de metales pesados. Los líquenes y hongos también se han empleado para este fin, y por ejemplo en estudios del impacto de la nube radioactiva de Chernobyl, analizando el Cesio que contenían.

Plantas como el Rye grass y algunas variedades de col acumulan sustancias contaminantes como metales pesados, hidrocarburos aromáticos y diversas sustancias volátiles orgánicas. Analizando el contenido de estas sustancias o elementos en sus hojas podemos conocer los niveles de contaminación en la zona

### 4.4 BIOMONITORES

Organismos, partes de organismos o una comunidad de ellos que permiten “cuantificar” la calidad atmosférica mediante comparación de rangos o en relación a un nivel considerado de “background”. Su comportamiento muestra una relación lineal en términos dosis-respuesta ya sea con la concentración de un polutante en el aire, con la combinación de ellos y/o con el tiempo de exposición. La respuesta en forma de una reacción específica o la acumulación de ciertos contaminantes, idealmente debe ser fácilmente medible, con una metodología de bajo costo y debe diferenciarse de reacciones sobre factores.

### 4.5 VENTAJAS DE LOS BIOINDICADORES <sup>15</sup>

Una amplia variedad de métodos está disponible para la medición de contaminantes en el aire, con una amplia variación en costos y precisión. Los métodos de monitoreo específicos deben ser seleccionados tomando en consideración los objetivos del programa de monitoreo y el presupuesto disponible.

De las ventajas en su aplicación podemos decir que con frecuencia la concentración de contaminantes en el bioindicador es mayor cuando aumenta en el sistema que es monitoreado. Es decir, puede facilitar la exactitud del muestreo y análisis, cuando existen dificultades por otros métodos debido a los muy bajos niveles de contaminantes presentes en la atmósfera a nivel de trazas.

- i) Abundancia en el área de interés, independientemente de las condiciones locales;
- ii) Disponibilidad para muestreo en todas las estaciones;
- iii) Tolerancia a los agentes contaminantes en los niveles relevantes;
- iv) Respuesta a las concentraciones que se presumen serán monitoreadas;
- v) Acumulación del elemento independiente de condiciones locales con excepción de los niveles de los elementos monitoreados;
- vi) Representar un promedio concluido en un período conveniente;
- vii) Ausencia de captación apreciable del elemento de fuentes con excepción de la atmósfera;
- viii) Concentraciones bajas de fondo;
- ix) Preparación fácil del muestreo y de la muestra;
- x) Acumulación del elemento a niveles de concentración accesibles por técnicas analíticas rutinarias.

Muchas especies animales y vegetales pueden utilizarse para la vigilancia de la contaminación del aire, ya que pueden satisfacer la mayor parte de los requisitos anteriores. Especies animales y/o tejidos suelen reflejar cambios complejos del medio ambiente, el aire, el agua, la contaminación del suelo, y la ingesta de elemento de su dieta, por lo que su uso para el estudio de contaminación del aire puede ser difícil de interpretar.

No obstante, algunos de ellos eran muy populares en ciertos períodos, como el análisis de un cabello humano y/o animal. Ciertas especies de plantas parecen ser especialmente adecuado para indicar la contaminación del aire elemental y por lo tanto las ventajas de su posible uso como bioindicadores para estudios de contaminación del aire será el tema del presente informe propuesto.

#### 4.6 ALGUNOS BIOINDICADORES ESTUDIADOS

- ***Biomonitoreo de PCBs en la calidad de agua***<sup>16</sup>:

En los mares del norte de Europa se notó concentraciones de bifenilos policlorados (PCB) en la grasa de las delfines hembras, *Delphinus delphis* (Figura 4.1) y las marsopas comunes, *Phocoena phocoena* (Figura 4.2), de la costa atlántica de Europa eran con frecuencia por encima del umbral en el que los efectos sobre la reproducción era de esperar, en el 40% y 47% de los casos, respectivamente.



**Figura 4.1** *Delphinus delphis*

*Fuente: SailingIssues*<sup>17</sup>



**Figura 4.2** *Phocoena phocoena*

*Fuente: Whale watching in the Arctic*<sup>18</sup>



Esta cifra ascendió al 74% para las marsopas del Mar del Norte meridional. Las concentraciones de PCB fueron también altas en los peces de la zona sur del Mar del Norte. La tasa de embarazo promedio registrado en marsopas (42%) en el área de estudio fue menor que en el Atlántico occidental, pero que en el delfín común (25%) fue similar a la de la población del Atlántico occidental.

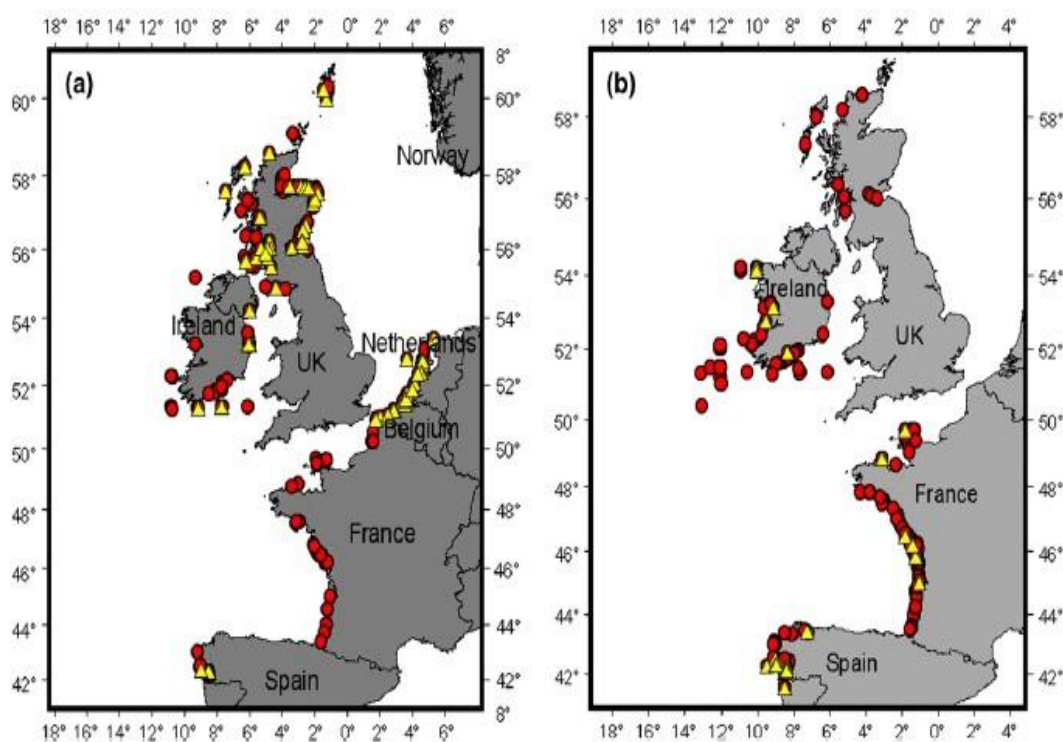
Las marsopas que murieron de enfermedad o infección parasitaria tenían mayores concentraciones de los contaminantes orgánicos persistentes (COP) de los animales que mueren por otras causas. Algunos de los delfines comunes muestra había muerto de una enfermedad o infección parasitaria. Perfiles de COP en común grasa delfines estaban relacionados con la historia de la alimentación individual mientras que los delfines estaban más fuertemente relacionados con la enfermedad. En las marsopas, el más alto de la grasa concentraciones de PCB fue registrado de animales muestreados en el sur de costas del Mar del Norte.

Los resultados del presente estudio indican que una alta proporción de marsopas varadas en las costas de los Países Bajos y Bélgica sufrió de enfermedades potencialmente mortales. La neumonía representó un mayor porcentaje (49%) de las muertes de marsopas varadas en las costas francesas de Bélgica y el norte, en comparación con la costa escocesa, donde la neumonía el 11% de las muertes conocidas y en Inglaterra y Gales, donde el 15% de las muertes de la marsopa común fueron atribuidas a neumonía. Además, emaciación grave (adelgazamiento patológico) fue la condición más común que se encuentra en 33 de 55 marsopas examinados desde las costas francesas de Bélgica y el norte.

Las altas concentraciones de PCB se cree que aumenta la susceptibilidad a la enfermedad y también pueden estar asociados con mayores cargas parasitarias. Sólo una pequeña proporción de muestras de delfines comunes habían muerto por causas patológicas y no se encontró asociación entre las concentraciones de PCB y la causa de la muerte. Lo ideal sería que el análisis debe repetirse una vez a la muestra más grande de animales que murieron de causas patológicas está disponible.

En contraste, casi la mitad de los delfines para los que se determinó la causa de muerte había muerto por causas patológicas, y estos animales tenían concentraciones significativamente más altas de todas las clases de COP que los animales que mueren por otras causas. Ellos también tenían mayores concentraciones de Zn en el hígado, que puede ser indicativo de mala salud. De hecho, es bien sabido que la infección está asociada con la redistribución de Zn en los seres humanos, y, en particular, las altas concentraciones en aumento de hígado como resultado de la síntesis de proteínas de fase aguda. Aunque no hubo al parecer una fuerte relación entre el perfil general de COP y la concentración de Zn en las marsopas, las relaciones con las concentraciones se han sumado para clases individuales COP débil.

En la siguiente gráfica se puede apreciar un mapa del Mar del Norte en donde se ubican las zonas de muestreo.



**Figura 4.3** Ubicaciones de muestreo para (a) marsopas y (b) delfín común.

Los círculos indican la ubicación de los animales varados. Los triángulos indican las mujeres en buenas condiciones que se tomaron muestras de las concentraciones de COP grasa.

*Fuente: G.J. Pierce, M.B. Santos*

- ***Biomonitoreo de contaminantes PAHs en la calidad de aire***<sup>19</sup>:

En Italia, año 2007, las hojas de *Quercus ilex* L. (Figura 4.4) se muestrearon cuatro veces en un año en seis centros urbanos y un área remota con el fin de determinar los elementos traza y la acumulación de PAHs a través del análisis simultáneo de las hojas y el agua sucia lavada.



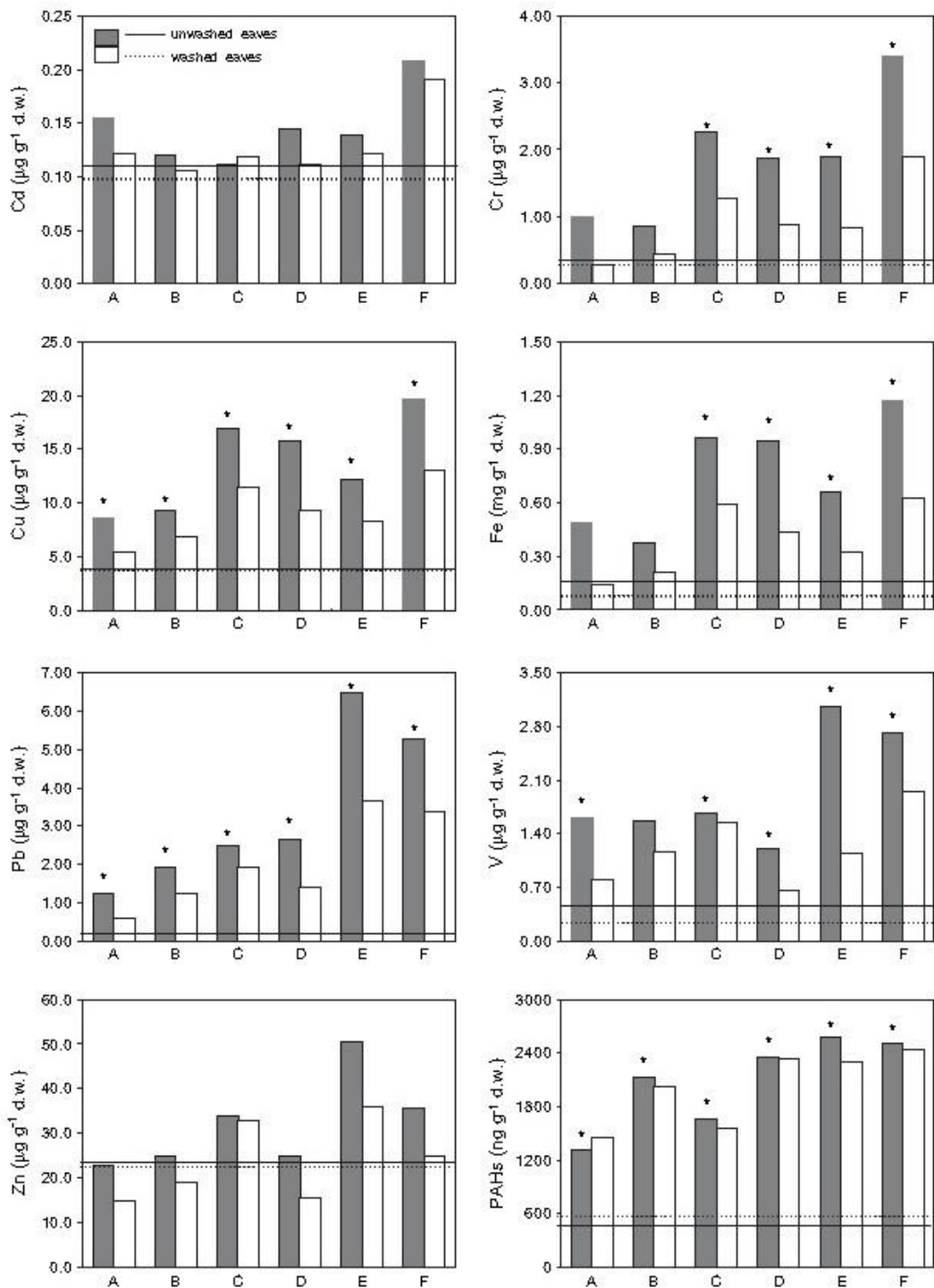
**Figura 4.4** *Quercus ilex* L

*Fuente: Arboles Ornamentales*<sup>20</sup>

Tanto las hojas lavadas y no lavadas mostró la mayor cantidad de elementos traza y PAHs en el área urbana.

Las hojas lavadas mostraron mayores diferencias entre áreas urbanas y remotas y entre los núcleos urbanos de hojas lavadas de elementos traza y las concentraciones de PAHs.

El agua de lavado resultó en una disminución significativa de las concentraciones de la hoja de Cr, Cu, Fe, Pb, V y Zn. Por el contrario, las concentraciones de Cd y el total de PAHs no mostró diferencias entre las hojas lavadas y no lavadas (Gráfica 4.1).



**Gráfica 4.1** Perfil concentración de elementos y las concentraciones medias de PAH en hojas lavadas y sin lavar de *Quercus ilex*, en los sitios urbanos (A → F) y el sitio remoto (la línea). el asterisco indica diferencias significativas en las concentraciones de la hoja sin lavar entre los centros urbanos y remoto.

Fuente: De Nicola, F., Maisto, G.,

#### 4.6.1 HONGOS:

La estructura productora de esporas de muchas especies de basidiomicetos (Ej. Setas, seta venenosa, etc.) pueden acumular elementos traza a niveles 10 a 100 veces más altos que aquellos en el sub estrato.

Los análisis de algunas especies de hongos son indispensables cuando se evalúa transferencia de metales tóxicos y radiocontaminantes a consumidores, especialmente en áreas donde estos hongos son un componente importante en la dieta humana.

Las setas teniendo su micelo en la capa superficial del suelo pueden ser útiles para estimar la entrada de elementos traza desde las deposiciones atmosféricas.

Sin embargo, hay muchos impedimentos para usar a los hongos como biomonitores. Estos incluyen la temporada y la disponibilidad impredecible de muestras, la falta de estandarización de procedimientos para su muestreo, el poco conocimiento de factores ecológicos involucrados en el consumo del metal por el micelo.

#### 4.6.2 LÍQUENES:

Estos organismos simbióticos están compuestos de hongos y alga verde o cianobacterias y tiene muchas características que cumplen con los requerimientos para un indicador sensible ideal para SO<sub>2</sub> y otros contaminantes atmosféricos gaseosos.

Muchas especies tolerantes a tóxicos pueden acumular elementos traza mucha más allá de sus supuestas necesidades fisiológicas y son ampliamente usados como biomonitores acumulativos.

Como los musgos, los líquenes carecen de estructuras selectivas y/o protectoras en contra de los contaminantes atmosféricos, su agua y nutrientes provienen de la atmosfera y no tienen mecanismos de excreción.

Además los líquenes tienen una amplia distribución geográfica, son fotosintéticamente activos a través de los años y tienen un muy lento crecimiento y un largo ciclo de vida (décadas).

En un pequeño tallo ellos pueden acumular concentraciones altas y fácilmente detectables de elementos traza contenidos en el aire y otros contaminantes persistentes.

Líquenes han sido usados como biomonitores sensibles y acumulativos, ambos en monitoreo pasivo y activo. Sin embargo, el último enfoque es complicado por el hecho de que los líquenes no pueden crecer en condiciones de laboratorio, haciendo imposible exponer material genéticamente uniforme en condiciones estandarizadas.

La sensibilidad de los líquenes a contaminantes atmosféricos fitotóxicos puede ser una desventaja para el monitoreo pasivo de elementos traza en áreas urbanas e industriales, ya que en ambiente contaminados estos pueden mostrar una reducción en la velocidad de fotosíntesis, de respiración y fertilidad, cambios morfológicos y una disminución aguda en el número de especies presentes.

Sin embargo la muy lenta velocidad de crecimiento y el largo ciclo de vida de los líquenes proporcionan una bioconcentración de elementos traza en el tallo fácilmente detectables con procedimientos analíticos comunes, la edad de diferentes partes del tallo no pueden ser identificadas, haciendo difícil la evaluación de la velocidad de acumulación de contaminantes o hacer el uso de líquenes para estudios retrospectivos de contaminación atmosférica.

#### 4.6.3 MUSGOS:

Así como los líquenes, los musgos tienen una amplia distribución geográfica y están disponibles en todas las estaciones. Muchas especies son ectohídricos (Por ejemplo: no tiene un sistema de conducción interna), desprovisto de raíces y cutícula y dependen en gran parte de deposiciones atmosféricas para su metabolismo.

Los musgos han sido usados como bioindicadores sensibles de  $\text{SO}_2$  y otros gases contaminantes, pero técnicas para estudiar heridas en especies simples, el desarrollo de mapas de distribución de flora y la evaluación de índices de pureza atmosférica con líquenes es mejor desarrollada y optimizada.

En biomonitorio acumulativo, líquenes tienen la ventaja de mayor tiempo de vida y pueden acumular altas concentraciones de algunos elementos solubles.

En contraste, la edad de algunas especies de musgos pueden ser identificadas y existe una ventaja en la acumulación del elemento en sus partes verdes que reflejan deposiciones atmosféricas recientes.

Musgos también tienen un mayor ratio superficie – masa que proporciona una morfología ideal para el atrapamiento de partículas suspendidas en el aire, y muchas especies también son abundantes en áreas altamente antropógenas, donde una desertificación de líquenes pudiera ocurrir.

Debido a su habilidad de sobrevivir y acumular eficientemente aerosoles provenientes del tráfico, fábricas, minería y actividades de fundición, los musgos están entre los más apropiados biomonitores en ambientes contaminados.

Sin embargo, en áreas remotas y en ecosistemas con baja velocidad de deposición de elementos traza, muchas partículas depositadas en musgos son simplemente tierra y polvo de roca levantada por el viento, salpicaduras de lluvia o actividades de animales.

Por lo tanto, para una evaluación confiable de deposiciones atmosféricas, la contribución de tierra a la concentración total de elementos medidos en musgos debería ser considerada. Los musgos pueden ser cultivados en laboratorio y su fisiología es mejor conocida que la de los líquenes.

Por lo tanto, la exposición de una bolsa de musgo es uno de los mejores procedimientos estandarizados para biomonitores activo de elementos traza.

#### 4.6.4 PLANTAS VASCULARES

La acumulación de elementos traza en plantas vasculares es debido al consumo a través de las raíces y hojas, y a la intercepción y deposición de los elementos del aire en la superficie de las plantas.

Por lo tanto, la diferenciación entre elementos del aire y elementos del suelo resulta difícil en plantas vasculares, debido a que el consumo de elementos traza desde el suelo y su cambio de ubicación es a través de un sistema de conducción bien desarrollado.

Pastos y hojas de plantas son ampliamente usadas para monitorear la contaminación de elementos traza en suelo así como deposiciones atmosféricas.

Plantas vasculares son los interceptores más importantes de aerosoles en ecosistemas terrestres y son importantes como comida para humanos y otros animales.

Plantas vasculares tiene muchas ventajas sobre musgos y líquenes:

- Sus características eco-fisiológicas son mejor conocidas
- Una determinación de especies no requiere usualmente conocimiento especializado.
- Algunas especies tienen una amplia distribución geográfica en ambos hemisferios, debido a influencias antropogénicas.
- Pueden aparecer en los lados de carreteras y en la mayoría de las áreas urbanas e industriales.
- Material de uniformidad genética puede ser fácilmente cultivada y reproducida para monitoreo activo.
- Tejidos muertos son importantes en ciclos bioquímicos de elementos traza y deberían ser incluidos en protocolos de muestreo.

Por ejemplo, las coníferas (*Pinus sylvestris*, *Picea abies*) aparecen en regiones templadas o boreales y sus hojas de diferentes edades pueden ser muestreadas en todas las estaciones.

Como algunas veces el muestreo no puede ser realizado en todas las estaciones, plantas con hojas gruesas o delgadas, como son *Fagus Sylvatica*, *Ailanthus altissima*, *Robinia pseudoacacia* y *Populus nigra itálica*, pueden ser usadas también como biomonitores.



## CAPÍTULO V

### TILLANDSIAS COMO BIOINDICADORES

Las especies de *Tillandsia* son epifitas, es decir, en la naturaleza crecen normalmente sobre otras plantas, sin ser parásitos, generalmente en árboles. Pero también hay especies que son litofitas (sobre rocas, techos, líneas de teléfono, etc.). Pocas especies crecen directamente en la tierra. Entre estas plantas se pueden citar a las barbas de palo (*Tillandsia asneoides*) que parecen líquenes que cuelgan. El género se puede dividir entre variedades "verdes" y variedades "grises".

Las especies verdes requieren un clima templado-lluvioso y crecen por lo general en la sombra, ya sea en la tierra o sobre árboles en el sotobosque. Las variedades verdes carecen de tricomas.

#### 5.1 CARACTERÍSTICAS<sup>21</sup>

Las *Tillandsias* son plantas que se nutren por las hojas. Sus requerimientos de agua y nutrientes son mínimos. Todas sus necesidades las obtiene literalmente del aire. Las hojas están cubiertas por tricomas, unas células adaptadas que les permiten absorber el agua y nutrientes. Sus raíces no tienen capacidad de absorción sólo sirven para fijarse a un soporte.

Entre todos los géneros, *Tillandsia* tiene el mayor número de especies y la mayor extensión geográfica; pero no tanto como la Puya (Puya de Raimondi) sino que termina en los 4000m, puede ser de vida terrestre o de vida epífita; una misma especie puede variar respecto a eso.

Algunas *Tillandsias* del desierto, las cuales viven en arenales o rocas, resisten tanto a la escasez de agua como ciertos líquenes y se mantienen exclusiva o principalmente con la poca agua de rocío que sus hojas reciben; tienen una exposición total de la superficie foliar y poseen una gran cantidad de escamas absorbentes de propiedades muy útiles en tales circunstancias; así prevalecen las especies de hojas angostas y grises (color debido a

las escamas) por ejemplo: *Tillandsia tectorum*, *aurea*, *aureo-brunnea*, *paleacea*, *straminea*, *capillaris recurvata*.

Sin embargo otras *Tillandsias* viven en zonas lluviosas. Aquí predominan los tipos de hojas anchas y poco escamosas, las que se juntan unas con otras, formando un recipiente de agua, por ejemplo: *Tillandsia rubra*, *Wangerini*, *fuscoguttata*, *Schimperiana*, *complanata*, *maculata*, *tetrantha*.

La familia de las Bromeliáceas tiene unos 50 géneros con 1500 especies, presentándose expresamente en la zona tropical y subtropical de América. En Perú hay 69 especies descritas.

En el Perú en niveles bajos, medios y altos, las Bromeliáceas desempeñan el papel de plantas fisiológicamente importantes.

- Costa Sur y Centro del Perú.

A la mayor acumulación de individuos llega el género *Tillandsia* en ciertas partes de la Costa Sur (Yungay, Cañete y Centro) y de las vertientes occidentales (niveles bajos del Sur). Allí, *Tillandsias* grises se reúnen formando vastas asociaciones propias. Sus raíces, escasas y cortas, son meros órganos de fijación.

- El valle del Mantaro.

En la desembocadura del río San Bernardo el valle del Mantaro da fin a su parte interandina.

El fondo del valle y la parte inferior de sus paredes comprende.

- a) Desde la Puna (encima de La Oroya) hasta Ingahuasi.- Altura del fondo: 3900-3 150 m.  
Encontramos la vegetación de las rocas: *Tillandsias* grises y de hojas angostas, por.ej. *T. capillaris*.

- b) Desde Ingahuasi hasta algo debajo de Tablachaca.- Altura del fondo: 2700 - 3 150m.

Al disminuir la altura sobre el nivel del mar aumenta la periodicidad de la vegetación. También se hallan *Cereus* de troncos columnares y *Fourcroya*. Sobre sus ramas viven *Tillandsia usneoides*; sobre las rocas crecen esta y otras *Tillandsias*, distintas por sus hojas anchas y no grises sino verdes.

- c) Desde Tablachaca hasta la desembocadura del río San Bernardo. Altura del fondo: 2700-1 100 m. Acá viven también *Tillandsia usneoides* y otras *Tillandsias* grises como epífitos.

- El valle de Tarma

Piso superior, Altura: 3300-3800 m.

Vegetación de las rocas: *Tillandsia oroyensis*, *Tillandsia nana*, *Tillandsia capillaris*, *Tillandsia usneoides*.

- América tropical, subtropical y otros.

Asimismo *Tillandsia usneoides* es común en lugares húmedos en América tropical y subtropical. Se encuentra esta planta en los fardos funerarios pertenecientes a la cultura Chancay; y *Tillandsia capillaris* es común en el norte de Chile, en el altiplano de Anca (unos 3600 m de altitud).

## 5.2 CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA

Dentro de las *tillandsias* más utilizadas como bioindicadores son las *tillandsias usnoideas* y *capillaris* debido a ciertas características, a continuación detallamos la clasificación taxonómica de estas dos especies más importantes.

### ***TILLANDSIA USNEOIDES***

- *Taxonomía*

Rama: CORMOFITAS;

Grupo: FANEROGAMAS;

División: ANGIOSPERMAS;

Clase: MONOCOTILEDONEAS (Liliopsida);

Subclase: LILIIDAE;

Orden: BROMELIALES;

Familia: BROMELLACEAE;  
Subfamilia: TILLANDSIOIDEAE;  
Género: TILLANDSIA;  
Especie: USNEOIDES.

- Nombre científico

*Tillandsia usneoides*

- Nombre común:

En Perú Barba de capuchino, cacha suncja (barba de la roca), **Ruiz:** cotataura, millmahina, saccropa; inti suncja(barba del sol), salvaje, salvajina, ucushpa hueclan; Sach'a Sunkha, Qaway-llu y millmachina; huabrasco, incahuasso; barba de piedra, salvina ; barbas de viejo; barbasco, huayhuazo, huachuacsu~z ahopra; barba de velho, cacahuinto, inti incja, millmahina, puca huele, timu; melena; cacha-suncja, saccropa, kakka wikkontoy, kakka sunkja, kala sunkha, barba de palo, pasto de cerro, pashte, musgo, tzin-i, bap pannyol. Salvajina-ccacca-suncja (Barba de la roca); musgo español.

- *Habitat*

*Tillandsia usneoides* es siempre epífita y muy común en todo el Perú. Alcanza hasta 8 metros. Crece en Kututo (Sto. Tomás), Chumbivilcas, Cusco, 3200 msnm. También se le ubica desde el sur de los EE.UU. hasta la parte central de Argentina y Chile.

- *Características*

Es una planta herbácea colgando de los árboles en hebras ramificadas de hasta 8 m, sin raíces; hojas dísticas, de 25-50 mm, densamente cubiertas de escamitas grises o pardas; escapo casi nulo; inflorescencia reducida. a una sola' flor terminal, bráctea floral aovada, apiculada, flor subsentada, sépalos apdos, de 7 mm, pétalos agudos u obtusos, de 9-11 mm, de color verde pálido o azul; cápsula de hasta 25 mm, cilíndrica (Figura 5.1).



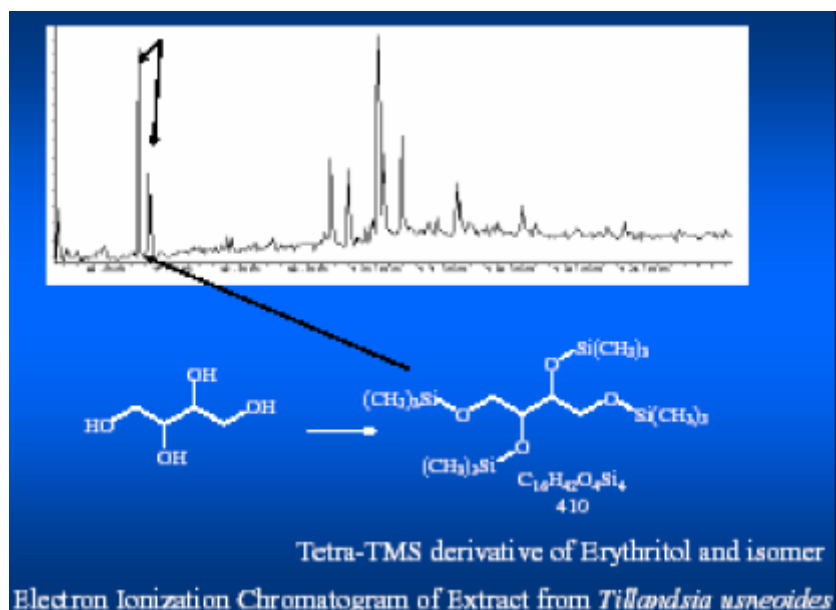
**Figura 5.1** Tillandsia Usneoides

*Fuente: Cal's Plant of the Week*<sup>22</sup>

La gran mayoría de las especies presentan los escapos con la epidermis e hipodermis de células espesadas y los manojos vasculares colaterales envueltos total o parcialmente por fibras. La presencia de células con las paredes espesadas, de hipodermis, de idioblasto con rafidos, mucílago y cauces de aire constituyen las características adaptativas al hábito epifítico. Los tipos de espesamiento de las células epidérmicas, de hipodermis, y del periciclo, la distribución de los manojos vasculares, y la presencia de manojos vasculares compuestos hacen posible separar las especies dentro del género.

- *Técnicas de identificación de especies entre usneoides y capillaris*<sup>9</sup>

El extracto acetónico de *Tillandsia usneoides* se caracterizó por cromatografía de gases con espectrometría de masa. Esto implicó el uso de derivar los agentes en orden para capsular los grupos polares de OH (oxidrilos) y permitir que la cromatografía de gas sea utilizada para separar los componentes.



**Figura 5.2** Cromatograma de Ionización de electrones del extracto de *Tillandsias usneoides*

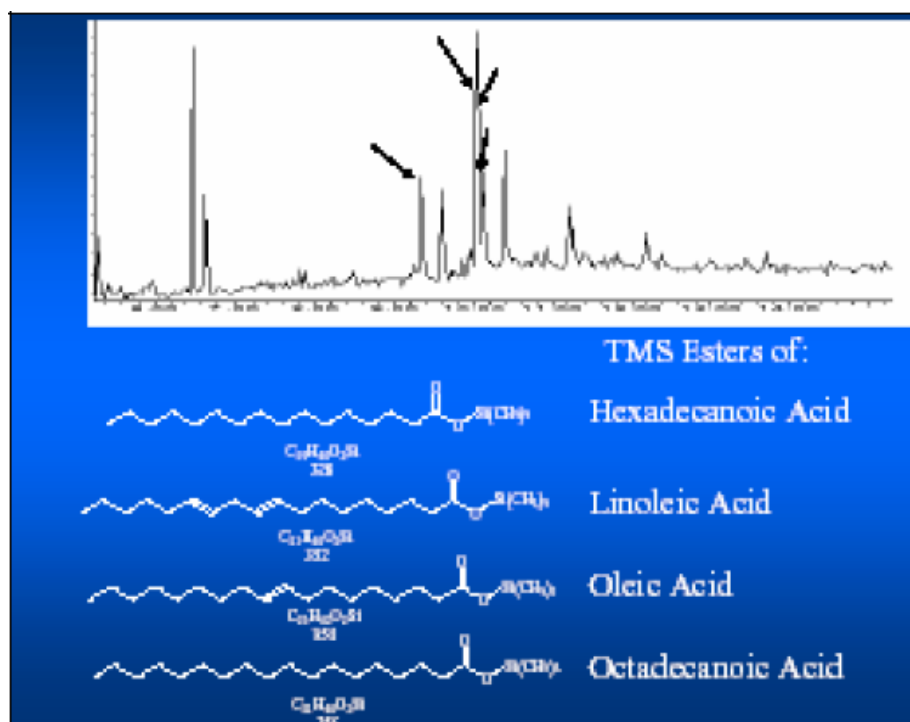
Fuente: Sánchez de Van Oordt, Zoila

La espectrometría de masa de la ionización del electrón fue usada para obtener patrones de fragmentación y comparación con la masa espectral teórica.

El uso del gas isobutano como el reactivo para la espectrometría de masa de la ionización química permitió la determinación inequívoca de los pesos moleculares de los componentes. Entre los componentes identificados estaban: un tetra alcohol, erythritol, una serie de ácidos (Figura 5.3), por ejemplo: ácido hexadecanoico, ácido oléico, ácido linoléico, etc., y una serie de parafinas de la cadena recta de C21 a C25.

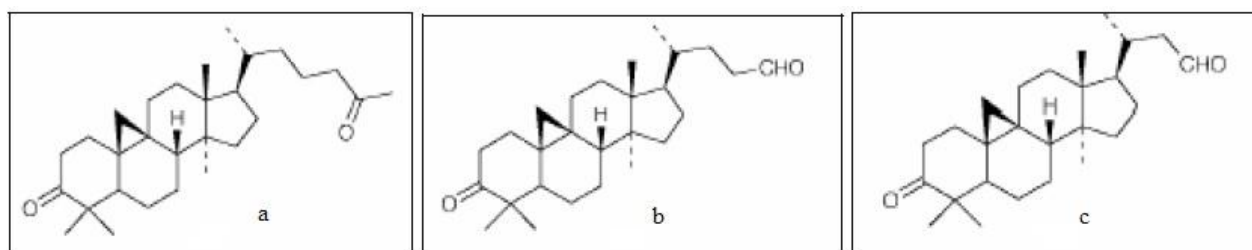
- *Componentes bioquímicos*

La planta de *T. usneoides* contiene: 46% de celulosa; 15.700 de pentosanos, 5.5% de ceniza con mucho ácido silícico, taninos, cera, una glicoflavona y un ácido resinoso aromático. La *Tillandsia* contiene una resina blanca que es la curnarina con propiedades antivirales. La espectrometría de masa total de la ionización química permitió la determinación inequívoca de los pesos moleculares de los componentes. Entre los componentes identificados estaban: un tetra alcohol, erythritol, una serie de ácidos, por ejemplo: ácido hexadecanoico, ácido octadecanoico, ácido linoléico, ácido oléico, etc., y una serie de parafinas de la cadena recta de C21 a C25.



**Figura 5.3** Cromatograma de Ionización Electrónica mostrando los ácidos contenidos.

*Fuente: Sánchez de Van Oordt, Zoila*



**Figuras 5.4** Algunos norcicloartanos

*Fuente: Sánchez de Van Oordt, Zoila*

A partir del extracto de *Tillandsia usneoides* se aislaron veintiséis cicloartanos de los cuales diez presentaban estructura particular. Algunos de ellos son: norcicloartanos: 27-norcicloartane-3,25-diona (Figura 5.4a); 25,26,27-trisnor-3-oxocicloartan-24-al (Figura 5.4b); y 24,25,26,27-tetranor 3-oxocicloartan-33-al (Figura 5.4c). Cicloart-23-ene-3-beta, 25-diol - un nuevo ciclopropano conteniendo triterpeno.

Asimismo se aislaron cuatro componentes aparentemente bioactivos que fueron identificados como el ácido cítrico, ácido succínico, ácido 3-hidroxi-3-metilglutárico (*HMG*), y 3,6,3',5'-tetrametoxi-5,7,4'-trihidroxi-flavona-7-O-beta-D-glucosido. También fue aislada la timidina libre (pyrimidine nucleoside). La timidina es importante porque está involucrada en la biosíntesis del ADN y la preservación y transferencia de información genética.

### ***TILLANDSIA CAPILLARIS***

- *Taxonomía*

Rama: CORMOFITAS;

Grupo: FANEROGAMAS;

División: ANGIOSPERMAS;

Clase: MONOCOTILEDONEAS (Liliopsida);

Subclase: LILIIDAE;

Orden: BROMELIALES;

Familia: BROMELIACEAE;

Subfamilia: TILLANDSIOIDEAE;

Género: TILLANDSIA;

Especie: CAPILLARIS



**Figura 5.5** Tillandsia Capillaris

Fuente: *Flora y fauna de la región del Cusco*<sup>23</sup>



- *Nombre científico*  
Tillandsia capillaris R. & P.f. capillaris.
- *Nombre común*  
Huachacso, huayhuaco, huaysco; huayaco, qaqa sunkha, fósforo fósforo; clavel del aire.
- *Habitat*  
Tillandsia capillaris crece desde los 900 hasta los 4000 msnm. En Bolivia, es superior a los 4000 msnm. Se extiende en todas las altitudes del Ecuador, Perú, Argentina, Norte de Chile (Arica). La planta soporta en estas alturas la nieve, la escarcha, la diferencia de la temperatura entre día y noche, presentando características especiales.

En el valle de Tarma, Perú (Piso superior, Altura: 3300-3800msnm) se encuentra vegetación en las rocas: *Tillandsia capillaris*, también en Huanuco, Lima, Junín, Cusco, Arequipa y Puno.

### 5.3 PRIMEROS USOS DE *TILLANDSIAS*: BIOINDICADORES DE METALES PESADOS.<sup>9</sup>

La *Tillandsia usneoides* y muchas otras especies en este género debido a su naturaleza atmósfero-epifítica se considera hace mucho como potenciales bioacumuladores indicadores y monitores de elementos aerotransportados. Estos estudios relacionados relacionan la proximidad de aerosol, por ejemplo el océano, los caminos, las minas, polvo de plantas industriales, y los centros urbanos.

La *Tillandsia capillaris*, debido a su naturaleza atmósfero-epifítica se considera como bioacumuladora, indicadora de los niveles de contaminación ambiental y monitorea de elementos aerotransportados.

Los estudios cualitativos del aire han mostrado esas variaciones geográficas en las concentraciones de minerales en las *Tillandsias* relacionándolo con la proximidad

de las fuentes de aerosol, por ejemplo el océano, los caminos, las minas, polvo de plantas, los centros urbanos y otros.

Generalmente son las especies vegetales que presentan parámetros medibles en respuesta a la cantidad de metales pesados en el aire.

Se trata de una técnica relativamente barata en comparación con otras técnicas de monitoreo de uso común. Los científicos han llegado a la conclusión de que algunos metales pesados como el níquel, el zinc y el cobre se encuentran en el ambiente a causa de la actividad industrial y al uso de pesticidas en agricultura. El análisis del aire se ha llevado a cabo en Argentina en la parte central del país. El área se subdividió en celdas y se tomaron muestras de *Tillandsia capillaris* en cada punto de intersección.

Los investigadores determinaron los contenidos de cobre, cobalto, hierro, níquel, manganeso, plomo y zinc acumulados en las plantas mediante espectrometría de absorción atómica. Los parámetros químicos y fisiológicos de las plantas fueron también recogidos para poder detectar el daño causado en las hojas.

De este modo se obtuvieron patrones geográficos de distribución para los diferentes metales pesados que reflejaban la contribución del hombre y de las fuentes naturales a su emisión. Después de analizar todos los datos, los científicos argentinos dedujeron que el hierro, el manganeso y el cobalto encontrados en el aire tienen su origen en el suelo.

Los valores más elevados de plomo se encontraron en las zonas montañosas y pueden ser atribuidos a su presencia en el granito de las rocas. El hombre, sin embargo, es el responsable de la presencia de níquel, el zinc y el cobre. Mientras el níquel presenta las mayores concentraciones en las zonas industriales, el zinc se encuentra principalmente en las áreas de mayor desarrollo de la agricultura. Lo mismo pasa con el cobre, cuyo origen se puede atribuir al uso de pesticidas.

La ciudad de Córdoba y una zona agrícola más al sureste son, según el estudio, las zonas con mayor concentración de metales pesados en el aire.

**Tabla.5.1** Tabla de Posibles fuentes de metales pesados y sus elementos marcados.

Posibles Fuentes de Metales Pesados (20)	Elementos marcados
Polvo del suelo	O, Al, Si, K, Ca, Ti, Mn, Fe, Sc
Combustión del carbón	H, C, N, O, Na, Al, Si, P, S, K, Ca, Fe, Mn
Motores de vehículos	H, C, N, O, Na, Al, Si, S, Cl, Fe, Zn, Br, Pb, Mn
Construcción/Cemento	Ca, Fe, S, Sc
Humo	H, C, N, O, Cl, K, Ca
Brisa del Mar	Na, S, Cl, K, Ca
Base de Fundición Metálica	Cd, Pb, Sb, Zn, As
Incinerador de Hospital	Ag, Cd, Cl, Cr, Sb, Zn
Fundición de hierro/de acero	Co, Cr, Fe, Mn
Incinerador de basura	Se, Zn, I, Cl, Ag, Cr
Incinerador de Aguas residuales	Ag, Cr, Zn, Ti, Pb
Industria	H, C, N, O, P, S, V, Cr, Cu, Pb
Combustión de petróleo	S, V, Ni, In, Se

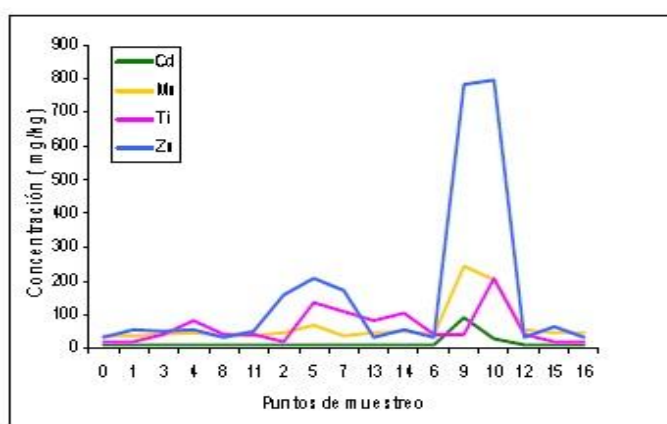
A continuación se presenta algunas investigaciones donde se usa *Tillandsias* como bioindicadores de metales pesados:

- ***Biomonitoreo de metales pesados en el aire de Lima Metropolitana***<sup>24</sup>

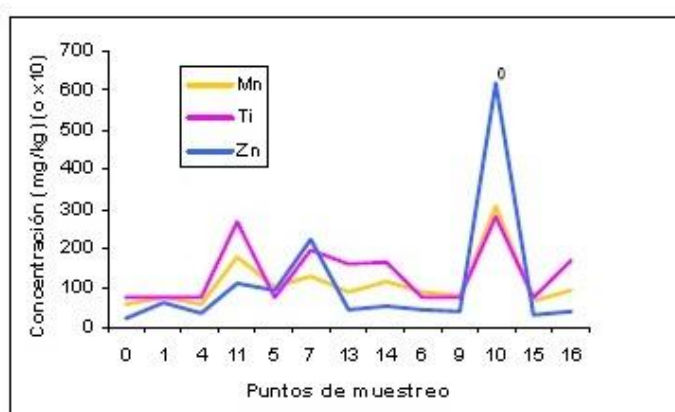
En 2008 se evaluó la contaminación en la ciudad de Lima Metropolitana para ello se realizó un biomonitoreo utilizando el líquen *Usnea sp* y la *Tillandsia capillaris*. Ambos bioindicadores fueron recogidos de una zona no contaminada y expuestos por tres meses en diferentes distritos de la ciudad, luego fueron recogidos, preparados y analizados utilizando la técnica de activación neutrónica. Los resultados obtenidos mostraron contaminación significativa en algunas zonas de la ciudad procedente de la actividad industrial y de las emisiones vehiculares.

De dicho estudio se obtuvieron varias figuras en donde se nota la mayor presencia de determinado metal en los puntos de monitoreo declarados por el Programa Nacional de Vigilancia de la Calidad de Aire, dichos valores fueron registrados tanto para la *Tillandsia Capillarris* y por el líquen *Usnea sp.*

Así por ejemplo, en las gráficas 5.1 y 5.2 puede notarse la mayor presencia del elemento Zn en el punto 10, ubicado al Este de la ciudad de Lima y que es la zona próxima a la Refinería de Zinc de Cajamarquilla, como también se notó la presencia de Cd en el líquen.



**Gráfica 5.1** Resultados de Cd, Mn, Ti y Zn en líquen *Usnea sp*



**Gráfica 5.2** Resultados de Mn, Ti y Zn en *Tillandsia capillaris*

- **Biomonitoreo de Pb en aire**<sup>14</sup>:

Año 2001, en Paraguay, se utilizó *Tillandsia spp.* (clavel del aire) y la técnica de Fluorescencia de Rayos X para las mediciones, conjuntamente con la aplicación de herramientas estadísticas adecuadas, ya que para la caracterización de trazas de elementos que se encuentran en material particulado, permiten la determinación simultánea de Pb y otros elementos de interés y el establecimiento de correlaciones significativas, aplicables a estudios ambientales.

Con los datos obtenidos se realiza la interpolación y correspondiente extrapolación, con el objetivo de caracterizar espacialmente la concentración de Plomo en Asunción.

- ***Biomonitoreo de metales en calidad de aire***<sup>25</sup>:

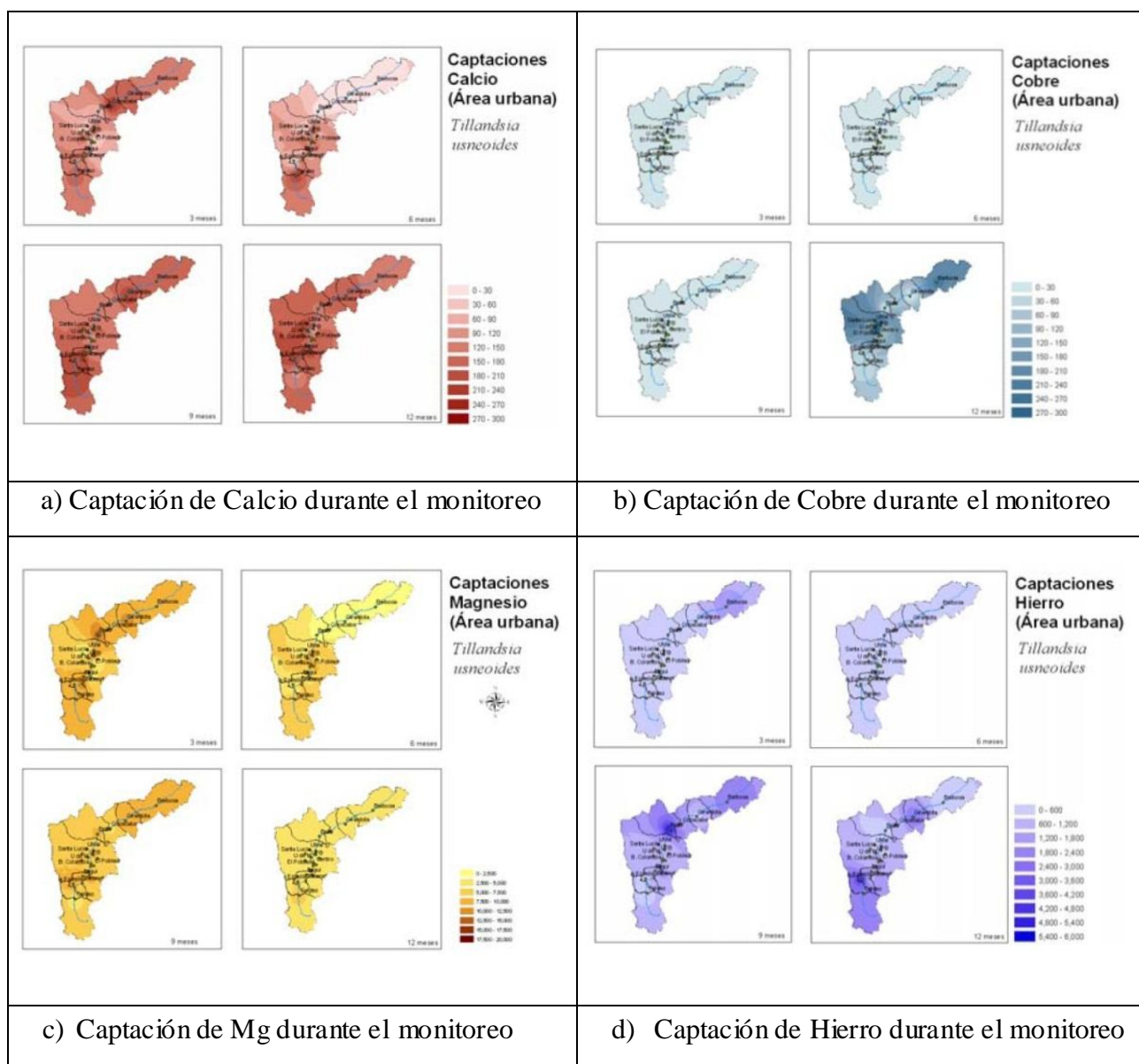
En Colombia, año 2008, en el valle de Aburra se empleó el pseudoliquen *Tillandsia usneoides* como bioindicador de la calidad del aire. La planta fue ubicada en las 20 estaciones de monitoreo de la red de calidad de aire y se cuantificaron las concentraciones de los metales magnesio, cobre, hierro y calcio. Las zonas con mayor concentración de metales pesados fueron estaciones ubicadas en el sur de la zona evaluada y que son menores en tiempo de vacaciones junio y diciembre.

En general, las captaciones fluctuaron así:

2.6 -1427.5 µg Cu/g planta, 2.7-5637.6 µg Fe/g planta, 40.1-296.9 µg Ca/g planta y 3206.6- 20876.4 µg Mg/g planta (Figura 5.6).

Las correlaciones de las captaciones de los metales pesados con la dirección de los vientos aunque no se lograron determinar para cada estación del biomonitoreo, se observa la influencia de los vientos y sus direcciones en las estaciones ubicadas hacia el sur, donde estos son predominantes.

**Figura 5.6** Variación de las concentraciones de metales en el Valle de Aburra



#### 5.4 TILLANDSIAS COMO BIOINDICADORES DE PAHs<sup>3, 26, 27</sup>

La acumulación de hidrocarburos aromáticos policíclicos (PAHs) en *Tillandsias Capillaris* Ruiz & Pav de la forma *Capillaris* y traza de elementos en *T. Capillaris* y *Lolium multiflorum* (LAM) fue evaluado en la ciudad de Stuttgart, Alemania. Fueron investigados también varios sitios (urbanos, suburbanos y rurales) clasificados de acuerdo al tipo y la intensidad del tráfico vehicular. En estos sitios, las plantas de *T. capillaris* y los cultivos estandarizados de *L. multiflorum* fueron expuestos al aire ambiental. Se determinaron concentraciones

foliares de PAHs (16 contaminantes prioritarios de acuerdo con la US-EPA) y de los elementos traza: Br, Co, Cu, Fe, Mn, Ni, Pb y Zn.

Los cultivos estandarizados de la especie gramínea *Lolium multiflorum* ssp. *italicum* cv. Lema es uno de los bioindicadores más usados para la detección de acumulación de traza de elementos, sulfuros, fluoruros y contaminantes orgánicos en centros urbanos en Europa ya que proporciona información segura del cambio medioambiental causado por la actividad humana en un corto tiempo.

Una cantidad determinada de *T. Capillaris* y *Lolium multiflorum* ssp. *italicum* cv. Lema fueron llevados a los sitios predeterminados y expuestos por 24 días. Después del periodo de exposición, las plantas *T. Capillaris* fueron colectadas y almacenadas a -80°C, luego fueron secadas a 60°C para su posterior análisis; mientras que el *Lolium multiflorum* fueron cosechados, cortados con cuidado y colocados en una caja refrigerante, luego se secaron a 60°C por 48 horas para su análisis.

La determinación de los 16 principales contaminantes PAHs se llevó a cabo de acuerdo a lo definido por US-EPA. El procedimiento de extracción fue realizado colocando el material homogenizado (*T. Capillaris* o *Lolium multiflorum*) junto con una alícuota de solución estándar interna y mezclada con agua, acetona y éter de petróleo (1:2:1 v/v) usando 80g de NaCl.

El extracto fue homogenizado y luego la fase orgánica sobrenadante fue secada con sulfato de sodio, filtrado y concentrado hasta 0,5mL en un evaporador rotatorio con un baño termostato a 40°C máximo.

Luego, las muestras fueron limpiadas usando cromatografía con permeación en gel (GPC). Para este objetivo, los solventes restantes fueron evaporados con un suave flujo de nitrógeno. Después el residuo se eluyó con 10mL de ciclohexano/etilacetato (1:1 v/v), y 5mL del eluyente aplicado para el GPC.

Las determinaciones cualitativas y cuantitativas fueron llevados a cabo por medio de cromatografía de gases equipada con un sistema refrigerante y acoplado a un espectrómetro de masas. El espectrómetro de masas fue operado en modo EI, la detección fue realizada en modo control de iones específicos (SIM). Los iones específicos y el tiempo de permanencia están reportados en la Tabla 5.2.

**Tabla 5.2** Lista de los componentes PAH, cuantificación e iones de confirmación y tiempo de permanencia.

PAH component	Quantification ion	Confirmation ions	Dwell time
Naphthalene	128	129, 126	15
Acenaphthylene	152	153, 151	10
<u>D<sub>10</sub>- Acenaphthene</u>	<u>164</u>	<u>162, 160</u>	<u>10</u>
Acenaphthene	154	155, 150	10
Fluorene	166	165, 163	15
<u>D<sub>10</sub>- Phenanthrene</u>	<u>188</u>	<u>189, 187</u>	<u>10</u>
Phenanthrene	178	179, 176	10
Anthracene	178	179, 176	10
Fluoranthene	202	203, 200	15
Pyrene	202	203, 200	15
Benz( <i>a</i> )anthracene	228	229, 226	25
Chrysene	228	229, 226	25
Triphenylene	228	229, 226	25
Benzo( <i>b</i> )fluoranthene	252	253, 250	25
Benzo( <i>k</i> )fluoranthene	252	253, 250	25
<u>D<sub>12</sub>- Benzo(<i>a</i>)pyrene</u>	<u>264</u>	<u>265, 260</u>	<u>10</u>
Benzo( <i>a</i> )pyrene	252	253, 250	10
Indeno(1.2.3- <i>cd</i> )pyrene	276	279, 274	10
Dibenz( <i>a,h</i> )anthracene	278	279, 274	10
Benzo( <i>ghi</i> )perylene	276	277, 274	15

Se realizó un análisis de un solo sentido de varianza (ANOVA) para el PM10, PAHs y traza de elementos fue llevado a cabo considerando los niveles de tráfico vehicular (alto, moderado y bajo).

El alto coeficiente de correlación de Pearson (PCC) entre la mayoría de los hidrocarburos y las PM10 indica que la *T. capillaris* es eficiente en la acumulación de estos compuestos de la contaminación de partículas y por lo tanto, puede considerarse como un bioindicador conveniente para partículas que puedan



**Tabla 5.3** Resultado y tratamiento estadístico para los valores obtenidos de PM10 y los 16 PAHs

Variables	Vehicular traffic			ANOVA
	High	Moderate	Low	
PM <sub>10</sub>	24.7 ± 7.47 a	20.6 ± 0.44 ab	15.3 ± 4.89 b	*
Naphthalene	1.86 ± 0.88	2.52 ± 2.15	0.47 ± 0.28	ns
Acenaphthylene	11.9 ± 2.15 a	5.96 ± 2.18 b	3.93 ± 0.79 b	**
Acenaphthene	67.9 ± 25.4 a	29.9 ± 15.0 ab	18.6 ± 10.1 b	*
Fluorene	50.2 ± 17.4 a	20.9 ± 6.15 b	8.48 ± 4.30 b	**
Phenanthrene	595 ± 293 a	263 ± 122 ab	98.6 ± 29.5 b	*
Anthracene	21.8 ± 5.80 a	10.2 ± 4.43 b	6.25 ± 1.57 b	**
Fluoranthene	614 ± 149 a	335 ± 258 ab	128 ± 43.5 b	*
Pyrene	311 ± 47.0 a	154 ± 107 ab	58.2 ± 17.9 b	*
Benz(a)anthracene	29.8 ± 11.2 a	12.5 ± 5.10 b	6.59 ± 0.80 b	*
Triphenylene + Chrysene	199 ± 81.2 a	91.2 ± 34.1 ab	52.4 ± 11.4 b	*
Benzo(b)fluoranthene	50.8 ± 15.6 a	22.5 ± 6.36 b	16.4 ± 1.63 b	**
Benzo(k)fluoranthene	16.6 ± 2.14 a	9.33 ± 2.82 b	9.03 ± 3.29 b	*
Benzo(a)pyrene	22.4 ± 8.58 a	10.8 ± 4.36 ab	7.38 ± 2.37 b	*
Indeno(1,2,3-cd)pyrene	12.7 ± 6.27	6.49 ± 4.63	nd	–
Dibenz(a,h)anthracene	10.3 ± 1.08	nd	nd	–
Benzo(ghi)perylene	65.2 ± 8.11 a	36.3 ± 21.0 ab	8.36 ± 3.69 b	**

ANOVA between levels of vehicular traffic. Significantly different means at  $p < 0.05$  within one row are indicated by different letters. nd. Not detected, ns. Not significant.

\*  $p < 0.05$ ,  
\*\*  $p < 0.01$ .

La Tabla 5.3 muestra los valores medios, desviación estándar y los resultados de análisis de varianza de las concentraciones de PM10 medidos en las estaciones de monitoreo automatizado y PAHs medidas en *T. Capillaris* para diferentes niveles de tráfico vehicular. Los valores más altos de PM10 y la mayoría de los PAHs correspondieron a zonas con tráfico de vehículos alta o moderada. Los resultados de otros estudios también mostraron que el tráfico era el principal determinante de las concentraciones de partículas y de hidrocarburos aromáticos policíclicos en el aire urbano.

Los resultados obtenidos en este estudio en relación con los tres niveles del tráfico vehicular en la ciudad de Stuttgart reveló que la mayor concentración de PM10 (sistema de medición instrumental), hidrocarburos aromáticos policíclicos y elementos traza (acumulado por bioindicadores) se relacionaron a las zonas urbanas con tráfico vehicular.

También podemos considerar los resultados de una experiencia de control biológico con dos especies de tillandias (*Tillandsia caput-medusae* y *T. bulbosa*),

para el biomonitorio de hidrocarburos aromáticos policíclicos (PAHs) en la atmósfera de Florencia, Italia (entre 1998 y 1999). Para ello dicha investigación se basó a un estudio previo en 1997 hecho en San José de Costa Rica donde se utilizó estas especies para el biomonitorio de metales traza.

En esta investigación se consideró a la *Tillandsia* por ser resistente al clima de Florencia, para ello se utilizaron 62 plantas ubicadas a unos 40 ó 90 cm del suelo y fueron expuestas a una vía con tráfico vehicular continuo. En esta investigación también se consideró el realizar un comparativo con el muestreo realizado por equipo PM10 de ARPAT (Agency for Environmental Protection of Tuscany).

Para el análisis químico, 30 gramos de la planta fueron extraídos en acetona por un día, luego de este tiempo el extracto se redujo hasta obtener un residuo acuoso. El residuo es extraído con pentano por cuatro veces, para luego juntar las cuatro partes extraídas y agregar el dimetilsulfóxido, y luego extraer con ciclohexano. La fracción de ciclohexano se lava con agua, se seca con sulfato de sodio y se filtra en celulosa. Esta solución obtenida se purifica por cromatografía en capa fina. El extracto se seca y se disuelve en ciclohexano, tomándose por último un microlitro de esta solución para inyectarla al sistema GC/SM.

Para el análisis cuantitativo fueron usados también estándares internos: o-terfenil y trifenilbenceno. La recuperación de PAH fue calculada por adición a cada una de las muestras de la planta una cantidad conocida de PAH deuterado justo antes de la etapa de molienda y la medición de la cantidad final de los compuestos deuterados se recuperó después del análisis de la muestra de la muestra de trabajo.

Además se realizaron análisis SEM y análisis estadístico calculando el coeficiente de correlación de Pearson (PCC) para observar el grado en el cual los datos de cada PAH esta linealmente correlacionado con la cantidad total de PAHs, también fue calculado este coeficiente entre las variables PM10 y el total de PAHs.

El análisis en las muestra de *T. caput-medusae* y *T. bulbosa* con GC/MS produjo los resultados resumidos, respectivamente en las tablas 5.4 y 5.5

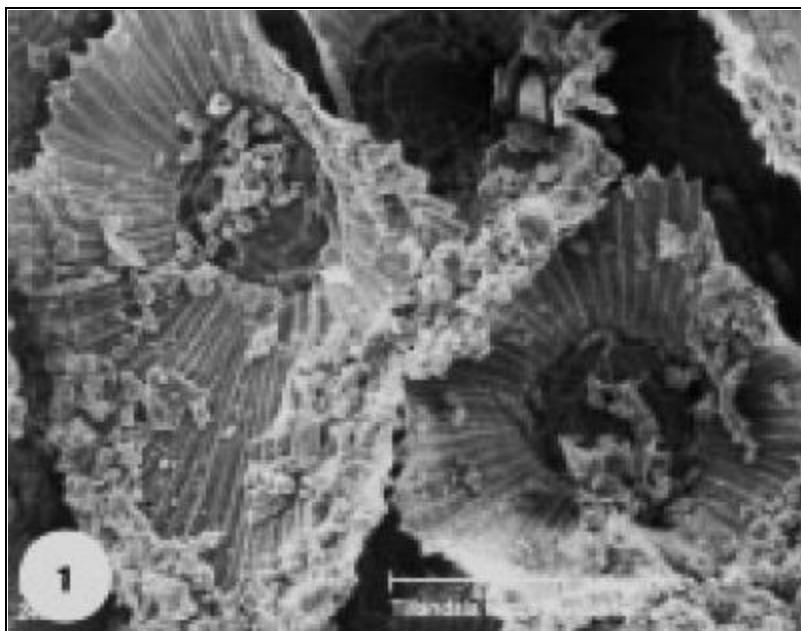
**Tabla 5.4** Valores de PAHs en *T. caput-medusae*. Datos de cada PAH individual y la cantidad total

PAH (ng/g)	Jul. 98	Sept. 98	Oct. 98	Nov. 98	Dec. 98	Jan. 99
Acenaphthylene	0.36	6.69	1.36	3.52	8.51	23.44
Acenaphthene	0.23	8.08	6.72	1.78	-	53.59
Fluorene	2.67	15.65	5.38	2.41	5.33	4.00
Anthracene	8.24	6.30	3.55	6.45	15.29	6.94
Benzo(a)anthracene	1.27	7.13	10.72	13.42	29.62	24.45
Chrysene	21.80	7.71	8.87	14.23	31.18	34.94
Benzo(d,j,k)fluoranthene	-	4.49	2.77	2.62	10.61	21.08
Benzo(a)pyrene	-	4.37	4.59	3.24	9.81	8.26
Indeno(1,2,3-cd)pyrene	-	6.87	4.24	-	27.67	33.23
Dibenzo(a,h)anthracene	-	8.92	4.33	-	34.76	-
Benzo(j,h,i)perylene	-	4.37	2.95	5.19	16.53	28.23
Dibenzo(ah,ai,al)pyrene	0.12	4.91	0.55	-	-	-
Total PAHs	34.69	85.49	56.04	52.85	189.32	238.18

**Tabla 5.5** Valores de PAHs en *T. bulbosa*. Datos de cada PAH individual y la cantidad total

PAH (ng/g)	Jul. 98	Sept. 98	Oct. 98	Nov. 98	Dec. 98	Jan. 99
Acenaphthylene	-	-	-	2.14	3.21	55.12
Acenaphthene	-	-	-	-	55.23	53.87
Fluorene	0.31	-	21.47	9.71	6.41	112.11
Anthracene	2.18	1.16	13.95	13.52	7.26	13.99
Benzo(a)anthracene	-	11.55	9.70	31.57	29.03	10.75
Chrysene	-	16.77	13.00	31.99	31.68	18.54
Benzo(d,j,k)fluoranthene	9.71	15.32	54.44	10.66	14.64	8.77
Benzo(a)pyrene	-	12.29	24.05	17.60	11.67	35.04
Indeno(1,2,3-cd)pyrene	-	4.44	5.36	10.79	-	12.35
Dibenzo(a,h)anthracene	4.75	21.99	-	68.64	-	-
Benzo(j,h,i)perylene	-	7.86	8.51	11.40	7.38	9.23
Dibenzo(ah,ai,al)pyrene	-	-	-	8.97	7.27	-
Total PAHs	16.95	91.38	149.84	144.66	173.79	329.79

Las imágenes SEM obtenidas indican la capacidad de la *Tillandsia* de retener partículas en la superficie de sus hojas. La acumulación de partículas en los tricomas fue evidente (Figura 5.7). Las partículas aparecen también en las estomas (Figura 5.8).



**Figura 5.7** Imagen SEM: Acumulación de partículas en los tricomas epidérmicos de *T. caput-medusae*.



**Figura 5.8** Imagen SEM: Partículas en los estomas de *T. caput-medusae*.

La presencia de partículas en las estomas es una indicación de la posibilidad de que las partículas pueden llegar a los tejidos internos de la planta. Aquí, los contaminantes pueden acumularse o sufrir metabolismo.

El uso del PCC entre el total de PAHs y PM10 dio como resultado el valor de 0,51 para *T. caput-medusae* y 0,78 para *T. bulbosa*. En la tabla 5.6 se muestran, para las dos especies, los valores de PCC entre cada PAH y la cantidad total de PAHs. Mientras que, la tabla 5.7 muestra, para las dos especies, los valores de PCC entre cada PAH y los datos de PM10.

**Tabla 5.6** Valores de PCC entre cada PAH y el total de PAHs.

	<i>T. caput-medusae</i>	<i>T. bulbosa</i>
Acenaphthylene	0.91	0.86
Acenaphthene	0.71	0.74
Fluorene	-0.03	0.89
Anthracene	0.48	0.70
Benzo(a)anthracene	0.87	0.26
Chrysene	0.81	0.45
Benzo(b,j,k)fluoranthene	0.97	-0.05
Benzo(a)pyrene	0.89	0.91
Indeno(1,2,3-cd)pyrene	0.99	0.69
Dibenzo(a,h)anthracene	0.41	-0.17
Benzo(j,h,i)perylene	0.98	0.63
Dibenzo(ah,ai,al)pyrene	-0.19	0.05

**Tabla 5.7** Valores de PCC entre cada PAH y los datos de PM10.

	<i>T. caput-medusae</i>	<i>T. bulbosa</i>
Acenaphthylene	0.71	0.88
Acenaphthene	0.85	0.44
Fluorene	-0.56	0.92
Anthracene	-0.25	0.71
Benzo(a)anthracene	0.36	-0.11
Chrysene	0.56	0.00
Benzo(b,j,k)fluoranthene	0.67	-0.12
Benzo(a)pyrene	0.24	0.76
Indeno(1,2,3-cd)pyrene	0.47	0.74
Dibenzo(a,h)anthracene	-0.47	-0.10
Benzo(j,h,i)perylene	0.67	0.27
Dibenzo(ah,ai,al)pyrene	-0.56	-0.14

El PCC entre el total de hidrocarburos aromáticos policíclicos (en *Tillandsias*) y PM10 (instrumentalmente detectado en el aire), indica que la *T. bulbosa* (PCC = 0,78) proporciona mejores resultados desde el punto de vista de comparación con los datos instrumentales, con respecto a *T. caput-medusae* (PCC = 0,51). Por lo tanto, *T. bulbosa* se puede considerar más eficaz en la interceptación de los contaminantes orgánicos.

La *T. bulbosa* ha demostrado ser más eficiente en la interceptación de PAHs, aunque esta especie tiene menos desarrollados los tricomas que la *T. caput-medusae*. Este resultado se relaciona con dos aspectos morfológicos: la forma de la hoja en la *T. bulbosa* es como un sistema cerrado de tuberías de agua que hace que la hoja actúe como un delgado canal en el cual el agua fluye con dificultad. Por lo tanto no se puede lavar tan fácilmente la hoja. El otro aspecto consiste en la capa más gruesa de cutina en la *T. bulbosa*. Así la cutina que es un sustancia hidrofóbica, actúa como un disolvente para los compuestos PAH.

Por otra parte, en Mezquital Valley (MV) - México, se hizo una investigación para determinar la distribución de contaminantes atmosféricos, entre ellos los PAHs usando como bioindicados *Tillandsia Recurvata*.

La tabla 5.8 resume la concentración regional y la variabilidad de los PAH en el biomonitor. La suma de los PAH cuantificados por lugar oscilan entre 143 y 2568ng/g con una media y mediana igual a 572 y 439ng/g respectivamente, lo que indica una distribución de datos sesgada a la derecha.

La variabilidad regional de los PAHs depende del compuesto, que va del 58% (ACY) a 165% (FLN). Los PAHs con peso molecular medio (MMW: PHE, ANT, FLT, PYR, BaA y CHR) constituye el grupo más grande, lo que representa el 64,5% del total de los PAHs medidos. La concentración de los PAHs de bajo peso molecular (LMW: PAN, ACY, ACE y FLN) constituyó el 28,1% y de alto peso molecular (HMW: BbF, BkF, BaP, BghiP y IcdP) sólo el 7,3%.

La cantidad relativamente baja de los PAHs peligrosos (grupo HMW) se puede atribuir a la mayor fotodegradación reforzada por las tasas de alta irradiación solar recibida en esta región tropical semiárido y la protección escasa del mismo proporcionado por la vegetación local muy abierta.

**Tabla 5.8** Concentraciones regionales de PAH (ng/g) en *T. recurvata*.

HAP	N	n	Mean	Median	Range	CV (%)
NAP	141	49	82.3	49.6	6.0–607	122.8
ACY	85	40	88.6	78.8	10.2–292	61.9
ACE	51	32	19.6	13.4	1.1–87.0	95.6
FLN	129	50	37.6	21.4	7.2–386	134.6
PHE	150	50	136	114	9.9–624	60.3
ANT	92	42	9.0	7.1	1.7–27.0	63.0
FLT	150	50	192	72.2	19.3–1674	164.9
PYR	148	50	25.9	22.1	0.03–158	88.0
BaA	2	2	12.8	12.8	0.2–25.4	139.7
CHR	127	49	22.5	18.2	1.9–92.9	72.6
BbF	75	40	18.3	13.2	0.1–131	118.0
BkF	2	2	13.5	13.5	1.7–25.3	123.6
BaP	12	9	41.7	39.9	2.4–87.6	58.2
BghiP	112	48	28.1	22.5	4.0–134	73.7
IcdP	2	2	67.0	67.0	22.2–112	94.4
LMW	150	50	164	128	12.4–738	81.2
MMW	150	50	376	261	74.1–2131	96.8
HMW	122	50	42.5	32.8	0.1–250	85.0
ΣHAPs	150	50	572	439	142.6–2568	76.7

N, number of samples; n, number of sampling sites with quantifiable amount of PAH; CV, coefficient of variation.

En la tabla 5.9 se comparan las medias totales de PAH en *T. recurvata* en MV con otros estudios de biomonitorio con *Tillandsias*. Las comparaciones, sin embargo, están limitadas por varios factores que afectan la suma total de PAH de cada estudio, por ejemplo, el número y el tipo de compuestos medidos, la capacidad del biomonitor de captar y retener, y aspectos de diseño del control biológico, por ejemplo, el número y tipo de sitios de muestreo, la duración de la exposición y la estrategia de muestreo.

**Tabla 5.9** Concentración media de PAH (ng/g) en *T. recurvata* en Mezquita Valley (MV) y *Tillandsias* en otros países (OT). Valores entre paréntesis son la relación MV:OT.

HAPs	MV	Mexico City <sup>1</sup>	Sao Paulo, Brazil <sup>2</sup>		Florence, Italy <sup>3</sup>	
			Polluted sites	Unpolluted sites	<i>T. caput-medusae</i>	<i>T. bulbosa</i>
NAP	82.3		70.7 (1.2)	11.4 (7.2)		
ACY	88.6	8.3 (10.7)	10.2 (8.7)	1.4 (63.3)	23.4 (3.8)	55.1 (1.6)
ACE	19.6	1.7(11.5)	13.7 (1.4)	8.6 (2.3)	53.6 (0.4)	53.9 (0.4)
FLN	37.6		24.6 (1.5)	9.5 (4.0)	4.0 (9.4)	112.1 (0.3)
PHE	136	15.8 (8.6)	198.2 (0.7)	18.6 (7.3)		
ANT	9.0	2.39 (3.8)	23.3 (0.4)	1.5 (6.0)	6.9 (1.3)	14.0 (0.6)
FLT	192	66.9 (2.9)	211.5 (0.9)	20.1 (9.6)		
PYR	25.9	118 (0.2)	145.1 (0.2)	14.2 (1.8)		
BaA	12.8	11.6 (1.1)	41.9 (0.3)	3.9 (3.3)	24.5 (0.5)	10.8 (1.2)
CHR	22.5	49.8 (0.5)	119.4 (0.2)	18.3 (1.2)	34.9 (0.6)	18.5 (1.2)
Bb+kF	31.8	47.2 (0.7)	111.6 (0.3)	15.9 (2.0)		
BaP	41.7	9.2 (4.5)	72.7 (0.6)	4.0 (10.4)	8.26 (5.0)	35.0 (1.2)
BghiP	28.1	39.7 (0.7)	29.3 (1.0)	5.0 (5.6)	28.2 (1.0)	
IdcP	67.0	28.2 (2.4)	31.1 (2.2)	3.9 (17.2)	33.2 (2.0)	12.4 (5.4)
ΣPAH	572	563 (1.0)	1067 (0.5)	138 (4.1)	238 (2.4)	330 (1.7)



## CAPITULO VI

### CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

#### 6.1. CONCLUSIONES

- Se han determinado las diferencias entre bioindicadores, bioacumuladores, biomonitores y bioacumuladores resaltando la importancia de cada uno en un estudio ambiental.
- Si bien la medición de contaminantes por métodos físico-químicos es muy importante, estos métodos no permiten obtener conclusiones acerca de los efectos que tienen diferentes concentraciones de contaminantes en los seres vivos.
- Se verifica a través de estudios bibliográficos la aplicación de las tillandsias como bioindicadores de metales pesados de acuerdo a las propiedades y características de la misma.
- A través de estudios bibliográficos se determinó la posibilidad de aplicar las tillandsias capillaris como bioindicador de Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos (PAHs), debido a la lipofilicidad de estos contaminantes y a las características de biocumuladoras de las tillandsias.

#### 6.2. RECOMENDACIONES

Los resultados de la aplicación de estas técnicas nos dan una pauta para iniciar medidas de prevención en los lugares que resulten contaminados de manera considerable.

Estudios similares en otras ciudades del mundo como Stuttgart sobre el uso de tillandsias capillaris, demuestran su gran utilidad como biomonitor de Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos (PAHs). Lima al ser una ciudad industrializada necesitaría de biomonitoreos de estas características con las que puedan determinarse contaminación en el aire, utilizando las estaciones de monitoreo de la calidad de aire propuestas actualmente por DIGESA.

## REFERENCIA BIBLIOGRAFIA

[1] Anze, Rafael; “Bioindicadores en la detección de la contaminación atmosférica en Bolivia”; *Universidad Mayor de San Andrés; La Paz, páginas 54 al 57; 2007.*

[www.bvsde.paho.org/bvsacd/cd65/redesma0103.pdf](http://www.bvsde.paho.org/bvsacd/cd65/redesma0103.pdf)

[2] Anze, Rafael; “Tesis de Maestría: Propuesta para la implementación de una red de biomonitoreo para contaminación atmosférica en la ciudad de La Paz”; *Universidad Mayor de San Andrés; La Paz: página. 193; 1996.*

[3] Rodriguez, J.H., Pignata, M.L., Fangmeier, A., Klumpp, A.; “Accumulation of polycyclic aromatic hydrocarbons and trace elements in the bioindicator plants *Tillandsia capillaris* and *Lolium multiflorum* exposed at PM10 monitoring stations in Stuttgart (Germany)”. *Chemosphere 80 (2010) 208–215*

[4] “La atmósfera de la tierra”. Pontificia Universidad Católica de Puerto Rico. Departamento de Química. Ciencias físicas 117.

[www.pucpr.edu/.../La%20atmosfera%20de%20la%20tierra.doc](http://www.pucpr.edu/.../La%20atmosfera%20de%20la%20tierra.doc)

[5] “Contaminación del aire”. 40-034. Revisado en mayo 2003.

<http://www2.pr.gov/agencias/jca/areasprogramaticas/Biblioteca/Documents/contaminacionAire.pdf>

[6] Etze, Ruth; “Contaminación del aire; Regional Disaster Information Center Latin America and the Caribbean”; 2000; páginas 337 al 341.

[www.crid.or.cr/digitalizacion/pdf/spa/doc12849/doc12849.pdf](http://www.crid.or.cr/digitalizacion/pdf/spa/doc12849/doc12849.pdf)

[7] El aire: ¿Cómo me perjudica la contaminación atmosférica? *Agency for toxic substances & Disease.*

[www.atsdr.cdc.gov/es/general/aire/perjuicio\\_salud.html](http://www.atsdr.cdc.gov/es/general/aire/perjuicio_salud.html)

[8] DECRETO SUPREMO N° 074-2001-PCM REGLAMENTO DE ESTANDARES NACIONALES DE CALIDAD AMBIENTAL DEL AIRE

[www.minam.gob.pe/dmdocuments/d.s\\_074-2001-pcm\\_eca\\_para\\_aire.pdf](http://www.minam.gob.pe/dmdocuments/d.s_074-2001-pcm_eca_para_aire.pdf)

[9] García Martínez, María Jesús; Tesis para Doctorado: “Los hidrocarburos policíclicos aromáticos asociados a combustibles fósiles. caracterización, análisis y remediación”; *Escuela Técnica Superior de Ingenieros de Minas*; 2005.

<http://oa.upm.es/400/>

[10] Lundstedt, S.; “Analysis of PAHs and their transformation products in contaminated soil and remedial processes”. *Department of Chemistry. Environmental Chemistry. Umeå University. Sweden, 2003.*

[umu.diva-portal.org/smash/get/diva2:143820/FULLTEXT01.pdf](http://umu.diva-portal.org/smash/get/diva2:143820/FULLTEXT01.pdf)

[11] U.S. Environmental Protection Agency: Wastes

<http://www.epa.gov/osw/>

[12] Compendium of Methods for the Determination of Toxic Organic Compounds in Ambient Air. Determination of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs) in Ambient Air Using Gas Chromatography/Mass Spectrometry (GC/MS)

<http://www.epa.gov/ttn/amtic/files/ambient/airtox/to-13arr.pdf>

[13] Fernández Núñez, Ingrid Rosalía; “Monografía para Diplomado: Técnicas de medición biológica para la determinación y evaluación de efectos de contaminantes del aire en plantas”; *Universidad Autónoma del Beni*; 2010

<http://es.scribd.com/doc/57487274/MONOGRAFIA-DIGAM-2009-IFN>.

[14] “Biomonitoreo: Caracterización espacial de la concentración de plomo en Asunción”; 2001. *Instituto Brasileiro de Informação em Ciência e Tecnologia*

<http://recyt.ibict.br/files/premiomercosul/2000pa/documentocompleto.pdf>

[15] Kucera, J.; “Biological Monitors of Air Pollution”; *Czech Ecological Institute; NAA Laboratory, Praga*; 1993; páginas 265 al 267.

[www.iaea.org/inis/collection/NCLCollectionStore/\\_Public/25/054/25054388.pdf](http://www.iaea.org/inis/collection/NCLCollectionStore/_Public/25/054/25054388.pdf)

[16] G.J. Pierce, M.B. Santos, S. Murphy, J.P. Boon, etc.; “Bioaccumulation of persistent organic pollutants in female common dolphins (*Delphinus delphis*) and harbour porpoises (*Phocoena phocoena*) from western European seas: Geographical trends, causal factors and effects on reproduction and mortality”; *Elsevier*; 2008; páginas 401 al 414.

[17] SailingIssue : <http://www.sailingissues.com/dolphins/common-dolphin3.html>

[18] Whale watching in the Arctic: Harbour Porpoise (*Phocoena phocoena*)  
[http://www.ngo.grida.no/wwfap/whalewatching/whales\\_porpoises\\_harbour.shtml](http://www.ngo.grida.no/wwfap/whalewatching/whales_porpoises_harbour.shtml)

[19] De Nicola, F., Maisto, G., Prati, M.V.; Alfani, A.; “Leaf accumulation of trace elements and polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in *Quercus ilex* L.”; *Elsevier*, 2008; páginas 376 al 383.

<http://arbolespain.blogspot.com/2009/10/quercus-ilex-l-encina.html>

[20] Arboles Ornamentales: <http://www.arbolesornamentales.es/Quercusilex.htm>

[21] Sánchez de Van Oordt, Zoila; “Estudio bibliográfico de Tillandsias”; *Exposición para el III Congreso Internacional de Científicos Peruanos*; 2005; páginas 2 al 22.

<http://www.fitoica.com/Biblioteca/Libros/PlantasMedicinales/E010.pdf>

[22] Cal's Plant of the Week:

<http://www.plantoftheweek.org/week056.shtml>

[23] La Microcuenca del Río Kachimayu: Flora y fauna de la región del Cusco

[http://zamboalandia.com/papers/puklla1/reg\\_bot\\_hierbas.html](http://zamboalandia.com/papers/puklla1/reg_bot_hierbas.html)

[24] Bedregal, P., Mendoza, P., Ubillús M., Torres, B., Hurtado, J., Maza, I., Espinoza, R.; “el uso de *Usena* sp. y *Tillandsia capillaris*, como biomonitores de la contaminación ambiental en la ciudad de lima”; 2008.

[25] Ramírez, Margarita. Oviedo, Juan, Salazar, Silvio, Giraldo, William.; “Biomonitoreo de metales pesados empleando herramientas del sig en el valle del Aburra”; *Revista Investigaciones Aplicadas No. 3*; 2008.

<http://revistas.upb.edu.co/index.php/investigacionesaplicadas/article/viewFile/143/117>

[26] Luigi Brighigna, Luigi; Alessio Papini, Alessio; Mosti, Stefano; “The use of tropical bromeliads (*Tillandsia* spp.) for monitoring atmospheric pollution in the town of Florence, Italy”. *Rev. Biol. Trop.* 50(2): 577-584, 2002

[27] A. Zambrano García, C. Medina Coyotzin, A. Rojas Amaro, D. López Veneroni1, L. Chang Martínez, and G. Sosa Iglesias. “Distribution and sources of bioaccumulative air pollutants at Mezquital Valley, Mexico, as reflected by the atmospheric plant *Tillandsia recurvata* L.” *Atmos. Chem. Phys.*, 9, 6479–6494, 2009