

USO DE ÁRBOLES COMO BIOMONITORES PARA LA CARACTERIZACIÓN DEL MATERIAL PARTICULADO AMBIENTAL DE ORIGEN VEHICULAR

ORELLANO, PABLO^{1,2}; QUARANTA, NANCY^{1,3}; VAROLI, ROMINA¹; PELLEGRINI, MARTÍN¹ Y LANDONI, HERNÁN¹.

1: Grupo de Estudios Ambientales
Facultad Regional San Nicolás - Universidad Tecnológica Nacional
Dirección postal: Colón 332, San Nicolás, Provincia de Buenos Aires, Argentina (2900)
e-mail: porellano@frsn.utn.edu.ar

2: Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET)

3: Comisión de Investigaciones Científicas (CIC) de la Provincia de Buenos Aires

Resumen. *El objetivo de este estudio fue desarrollar y evaluar un procedimiento para el uso de árboles como biomonitores del material particulado (PM) ambiental en áreas urbanas. El trabajo fue implementado en San Nicolás de los Arroyos, noroeste de la Provincia de Buenos Aires, durante el año 2016. La especie seleccionada fue Ligustrum lucidum (ligustro). El análisis microestructural del PM y de las estructuras foliares se realizó con microscopía óptica (OM) y electrónica de barrido (SEM). Para determinar la composición elemental del PM se utilizó el análisis por energía dispersiva de rayos X (EDS). El comportamiento térmico se estudió con análisis térmico diferencial y termogravimétrico (DTA-TGA). Las técnicas microscópicas permitieron identificar características de la epidermis foliar que favorecieron la captura del PM. En el análisis elemental del PM se observó mayoritariamente Si, Al, O y Ca, composición típica de la tierra en suspensión y materiales de construcción. También se observó Na, Mg, K, Ti y Fe, y partículas biológicas. El análisis térmico mostró dos picos, uno de ellos alrededor de los 500°C, relacionado con los materiales carbonosos de origen vehicular. El procedimiento realizado permitió seleccionar una especie adecuada como biomonitor y caracterizar el PM ambiental de origen vehicular.*

Palabras clave: Contaminación vehicular, Material Particulado, Biomonitores, Ligustrum

1. INTRODUCCIÓN

1.1. La contaminación atmosférica y la salud humana

Los contaminantes del aire más relevantes en áreas urbanas son el dióxido de nitrógeno, el ozono y el material particulado (PM) [1]. Entre éstos, el PM es responsable de la mayoría de los efectos negativos en la salud humana, teniendo su origen en los combustibles fósiles relacionados al transporte y en industrias en áreas urbanas [2]. Según estimaciones de la Organización Mundial de la Salud, en el año 2012 la contaminación atmosférica fue responsable de 3,7 millones de muertes prematuras a nivel global, convirtiéndose en una amenaza con importantes implicancias en el ámbito de la salud pública [3]. El PM consiste en

una compleja mezcla de partículas líquidas y sólidas de sustancias orgánicas e inorgánicas suspendidas en el aire. Entre sus principales componentes se encuentran los sulfatos, nitratos, amoníaco, cloruro sódico, carbón, minerales silicoaluminosos, entre otros compuestos sólidos, que pueden tener además adsorbidos volátiles orgánicos y agua. Las partículas del PM se clasifican en función de su diámetro aerodinámico en PM₁₀ (partículas con un diámetro aerodinámico inferior a 10 μm), PM_{2.5} (diámetro aerodinámico inferior a 2,5 μm) y PM₁ (diámetro aerodinámico inferior a 1 μm). Cuanto menor es el diámetro de las partículas, más se facilita el ingreso de las mismas al interior del pulmón, a la vez que la forma y la carga de éstas juegan un papel importante en el riesgo asociado de provocar daños en la salud respiratoria y cardiovascular. A pesar de la importancia del problema en términos de impacto sanitario, el número de estaciones de control es limitado debido al alto costo de inversión y mantenimiento de las mismas. Por lo tanto, los contaminantes particulados y la calidad del aire urbano en general no son habitualmente controlados en una suficiente resolución espacial. Por otro lado, las estaciones automáticas de monitoreo evalúan las concentraciones de PM pero no permiten analizar su composición en cuanto a los elementos y compuestos químicos presentes, ni su cantidad relativa.

1.2. Biomonitores

Los biomonitores son organismos, parte de organismos o una comunidad de ellos con capacidad para acumular contaminantes. Estos permiten estimar en forma cuantitativa la calidad del ambiente, y obtener información sobre las concentraciones de los contaminantes y los efectos que éstos generan sobre los seres vivos. El empleo de biomonitores para detectar la polución tiene una serie de ventajas tales como el bajo costo, la obtención rápida de resultados y la posibilidad de proporcionar información acumulativa, integrada y discriminada, gracias a su capacidad de respuesta frente a las alteraciones del medio, la cual nunca puede ser detectada a través de mediciones físico-químicas [4]. Los organismos indicadores pueden ser clasificados de acuerdo con la forma en que se manifiesten. Por un lado, los indicadores de reacción son aquellos que responden sensiblemente a los agentes contaminantes y son usados sobre todo para estudiar los efectos que éstos generan sobre una especie, sobre su funcionamiento fisiológico y ecológico. Por otro lado, los indicadores de acumulación que son aquellos que fácilmente acumulan una gama de agentes contaminantes, se usan para supervisar la cantidad de agentes contaminantes y su distribución. Los organismos también se pueden clasificar según su origen. Por ejemplo, los biomonitores pasivos son organismos que naturalmente se encuentran en el área de estudio, mientras que los biomonitores activos son organismos traídos (transplantados) al área de estudio desde otros sitios durante un período específico de tiempo y bajo condiciones controladas. Las hojas de los árboles pueden actuar como acumuladores naturales del PM de la atmósfera, y son utilizadas con frecuencia como biomonitores debido a su alta exposición a la contaminación atmosférica y a su capacidad para acumular elementos trazadores, polen, esporas y sales [5-8]. Varios estudios han demostrado que la deposición y retención de partículas de la atmósfera dependen de las características de la superficie de las hojas. La morfología superficial de la hoja tiene un papel importante en la deposición y retención de las partículas en la superficie, por ejemplo, hojas

con superficie estriada, con vellosidades o secreciones, exhiben mayores velocidades y volúmenes de deposición. La principal ventaja de utilizar estos biomonitores es que una correcta selección de las especies permite una alta densidad de puntos de muestreo, y la posibilidad de construir mapas de alta resolución de contaminación del aire en áreas urbanas, a un costo reducido. Por consiguiente, la utilización de árboles como biomonitores de contaminación por PM constituye una alternativa frente a las estrategias de monitoreo tradicionales, que permiten la obtención de resultados de calidad a un menor costo operativo. En este sentido, el objetivo de este estudio fue desarrollar y evaluar un procedimiento para el uso de árboles como biomonitores del PM ambiental en áreas urbanas, incluyendo la selección de la especie adecuada, los puntos de monitoreo, y las técnicas de caracterización.

1. METODOLOGÍA

1.1. Área de estudio

El estudio se realizó en la ciudad de San Nicolás, ubicada en el extremo noroeste de la provincia de Buenos Aires, a la rivera del Río Paraná, a una distancia de 237 Km de Buenos Aires y 70 Km de Rosario. Posee una población de 133.602 habitantes en el ejido urbano, y 145.857 habitantes incluyendo zonas rurales de acuerdo al censo del año 2010. La población local se dedica principalmente a trabajos relacionados con la industria metalúrgica y derivados, ya que en la zona se encuentra ubicado el mayor polo industrial siderúrgico de Argentina. La zona a muestrear se ubicó en el área céntrica de la ciudad, cubriendo un radio de aproximadamente 0,7 Km, y fue seleccionada con el fin de caracterizar el PM proveniente principalmente del parque vehicular. Esta zona tiene una gran afluencia de tránsito debido a que en ella se encuentra el centro comercial, la mayoría de las oficinas municipales, numerosos centros educativos y un gran flujo de transportes públicos.

2.2. Especie arbórea seleccionada

La zona urbana de San Nicolás presenta una distribución de especies arbóreas características de la región Rioplatense. Las especies más frecuentes en la ciudad, según un relevamiento del año 2010, son el fresno, la palmera china, el crespón, la tuya, el jacarandá, el ficus, el tilo, el plátano, el paraíso, el ligustro, entre otras. La especie arbórea seleccionada como biomuestreador pasivo para la deposición de PM en el presente estudio fue el ligustro (*Ligustrum lucidum*), debido a varios factores. En primer lugar, esta especie cuenta con un total de 793 ejemplares homogénea y ampliamente distribuidos en la zona céntrica de la ciudad. En segundo lugar se trata de una especie perennifolia (con follaje durante todo el año), lo cual asegura la recolección en todo momento del año. En tercer lugar, este árbol presenta hojas con superficies lisas que secretan resinas que pueden capturar el PM. El *Ligustrum lucidum* es una especie asiática, perteneciente a la familia Olaceae. Esta familia presenta 24 géneros con 615 especies a nivel mundial. Se trata de un árbol con una gran dispersión debido a la influencia antrópica, por su uso como cercos vivos. Algunas variedades se utilizan en parques y jardines por el colorido veteado de sus hojas, mientras que en las veredas son muy utilizados por poseer hojas perennes. Son árboles de 5-15 m de altura y de

copa globosa, lo cual asegura buena y uniforme capacidad de recolección de partículas. Sus hojas tienen tamaños de 7-13 cm de largo por 2-4 cm de ancho. La variedad más abundante en la zona céntrica de San Nicolás es el ligustro con hojas disciplinadas, que presenta hojas jaspeadas de verde y amarillo. El aspecto macroscópico de las hojas de esta especie muestra diferencias entre la cara superior (adaxial) y la cara inferior (abaxial). Las células epidérmicas en ambas caras de la hoja son pequeñas, isodiamétricas o ligeramente alargadas, de paredes anticlinales rectas a levemente onduladas y cutícula gruesa y estriada. Los estomas, tipo anomocítico, se distribuyen sin ningún orden preferencial, únicamente en la cara inferior de la hoja. Estas células son las encargadas de regular el intercambio gaseoso y la transpiración de la hoja. Las caras inferior y superior presentan también tricomas, que son apéndices de la epidermis que cumplen diversas funciones como la absorción de agua, regulación de la temperatura, protección contra agentes abrasivos y percepción de estímulos.

2.3. Recolección y preparación de muestras

La recolección de las muestras se realizó en las dos áreas de mayor concentración de especies dentro de la zona de estudio, que se han denominado calle Belgrano y Calle España, y en cada caso estuvieron compuestas de 30 individuos. Las hojas fueron recolectadas entre diciembre de 2015 y enero de 2016, a una altura de entre 1,5 y 2,5 metros desde el nivel del suelo. Se seleccionaron brotes vegetativos y terminales, en buenas condiciones, libres de daño por insectos, de hongos o de enfermedades evidentes. En todos los casos el relevamiento se efectuó al menos 10 días luego de la última precipitación registrada. Para la toma de muestras se contó con el permiso correspondiente de la Municipalidad de San Nicolás.

Las hojas de los ejemplares seleccionados fueron seccionadas por sus pecíolos, colocadas dentro de una caja de plástico y mantenidas en seco a bajas temperaturas hasta su observación. Esto último permitió retrasar el proceso de degradación de la estructura hasta aproximadamente 15 días. Para el análisis microscópico se seleccionan aleatoriamente secciones de aproximadamente 1 cm².

La extracción del PM ambiental depositado en las hojas se realizó con agua destilada por inmersión, en un baño ultrasónico (15-400 kHz) a temperatura ambiente durante 20 minutos, procedimiento similar al de Freer-Smith [9]. De esta forma solo se removieron las partículas adheridas y no otras sustancias de origen orgánico propias de las hojas, como por ejemplo ceras superficiales segregadas. El PM se observa en suspensión, luego como un sólido que decanta en el líquido de extracción y finalmente se recupera como residuo durante un proceso de secado que se realiza en estufa a 40°C. Luego del proceso de extracción del PM se caracterizó el líquido sobrenadante mediante técnicas de pH y conductividad, con el fin de determinar su carácter ácido-base y la presencia de compuestos sólidos disueltos.

2.4. Caracterización de las muestras

Se realizaron observaciones microscópicas de las muestras hasta una magnificación de 1000X con el microscopio óptico, para el análisis de la morfología y la microestructura de las partículas, permitiendo además, si no se utilizan filtros de luz, observar las coloraciones reales de las distintas fases o cristales que componen la muestra. También se realizaron

observaciones de las estructuras de las hojas y la disposición del PM en las mismas. El equipo utilizado fue un microscopio Zeiss-Axiotech con una cámara anexada Donpisha 3CCD y digitalizador de imágenes. Además se utilizó un microscopio electrónico de barrido (SEM), con un analizador dispersivo de energía de rayos X (EDS) anexado, que permite determinar la composición elemental semicuantitativa de las muestras en estudio. El equipo utilizado fue un Philips 515, con EDAX-Phoenix anexado. Dado el carácter no conductor de las muestras en estudio, éstas fueron recubiertas con una película fina de paladio (Pd) y oro (Au), con el fin de obtener mayor definición en las imágenes, por el incremento de conductividad de las mismas. El análisis térmico diferencial y termogravimétrico (DTA-TGA) se utilizó para determinar los cambios en las propiedades físicas y químicas del PM como función del incremento de la temperatura, a una velocidad de calentamiento constante. Comúnmente esta técnica se utiliza para determinar diferentes características de los materiales, que presentan pérdida o ganancia de masa debido a reacciones de descomposición, oxidación, o pérdida de volátiles. Los ensayos de DTA-TGA se llevaron a cabo en un equipo Shimadzu DTA-50, TGA-50 con analizador TA-50 WSI, utilizando velocidades de calentamiento de 1°C/min, en el rango de temperaturas ambiente – 1100°C.

Los valores de conductividad y pH se midieron con equipos Sper-Scientific, Modelo 860032, y Altronix TPX-III, respectivamente. Estos equipos son de medición automática, y registran los valores de pH y conductividad mediante la introducción de un electrodo de medida en la solución a estudiar. Estas determinaciones se realizaron sobre las soluciones obtenidas luego de la limpieza por ultrasonido de las hojas, habiendo retirado las mismas, y luego de la decantación del PM extraído.

2. RESULTADOS

Es posible observar la presencia de estomas y de tricomas, uniformemente distribuidos en la superficie abaxial de la hoja, mientras que en la adaxial (superior) solo se observaron tricomas. La Figura 1 muestra micrografías ópticas de la superficie adaxial, donde pueden observarse los tricomas. Sobre éstos se observa el PM adherido, en mayor proporción en la superficie adaxial, como es de esperar ya que es la más expuesta en relación al proceso de decantación del PM ambiental. Se aprecian diferentes morfologías, tamaños y coloraciones. Estas estructuras pueden observarse en mayor detalle por medio del microscopio electrónico de barrido, el cual permite apreciar la forma en tres dimensiones (Figura 2).

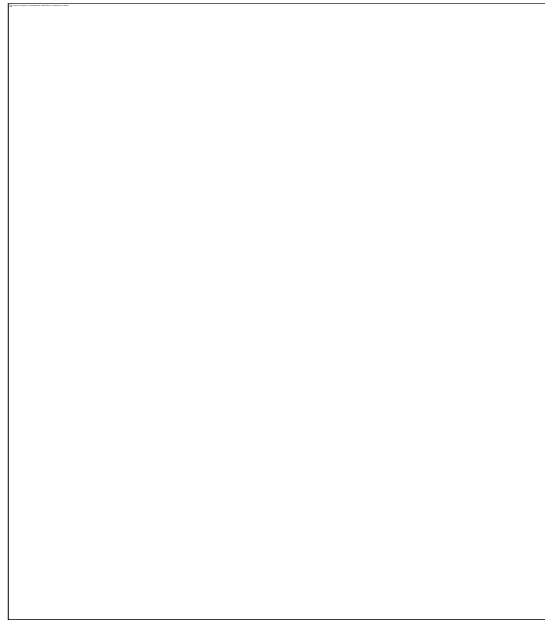


Figura 1. Imágenes OM de la hoja de Ligustro cara adaxial.
Magnificación: 500X y 1000X.

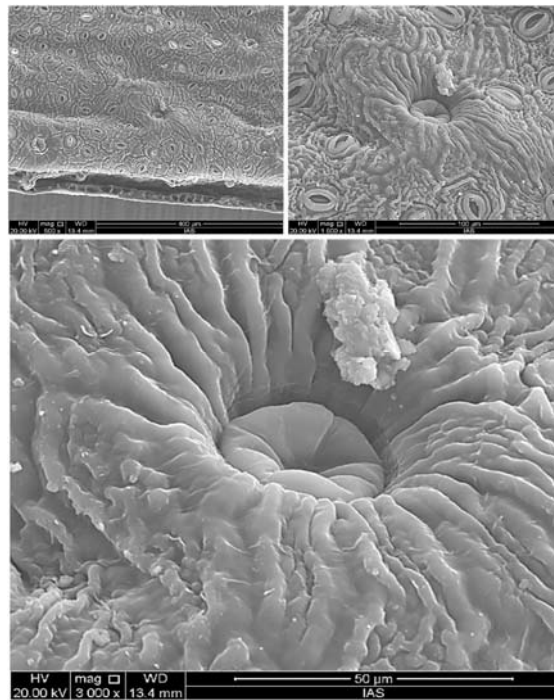


Figura 2. Imágenes SEM de la hoja de Ligustro cara abaxial.

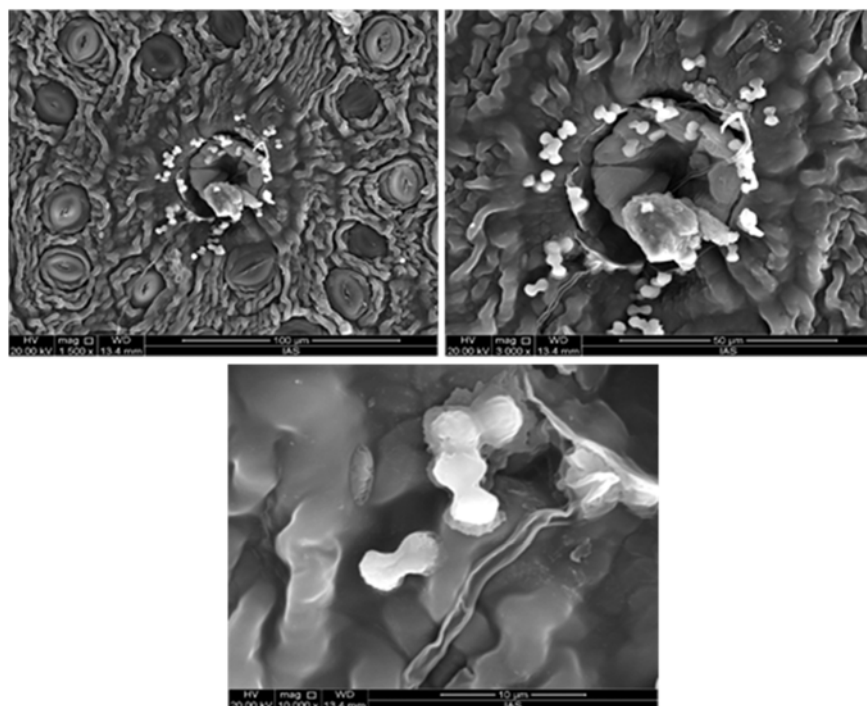


Figura 3. Imágenes SEM de la hoja de Ligustro cara abaxial, con presencia de microorganismos.

Durante el análisis, llamaron la atención numerosas partículas esféricas adheridas sobre las glándulas secretoras, ya que se trata de la superficie inferior de la hoja. Observaciones a mayores aumentos permitieron apreciar que se trata en realidad del desarrollo de microorganismos tipo cocos que aprovechan la humedad y secreción de estas áreas para desarrollarse. La Figura 3 muestra micrografías tomadas durante estas observaciones, donde pueden apreciarse estas formaciones típicas esféricas y unidas por pares.

La Figura 4 presenta las imágenes de las áreas de la muestra de PM sobre las que se realizaron los análisis por EDS. En las micrografías a y b puede apreciarse el aspecto general de las partículas presentes. De la morfología de las mismas puede aproximarse el origen o composición de algunas de estas partículas que tienen características particulares, como por ejemplo granos de polen, con un aspecto de esponja, en el centro de la imagen c, y partículas fundidas originadas en procesos de combustión, de forma esférica, como en la imagen d.

El análisis químico por EDS del PM recogido de las hojas de ligustro se presenta en la Tabla 1, expresado como porcentual de los elementos sin tener en cuenta el contenido de Carbono, que en general se encuentra en una proporción del 30-35%. Estos análisis son generales del material, se han realizado sobre dos zonas de la muestra, no sobre las partículas individuales.

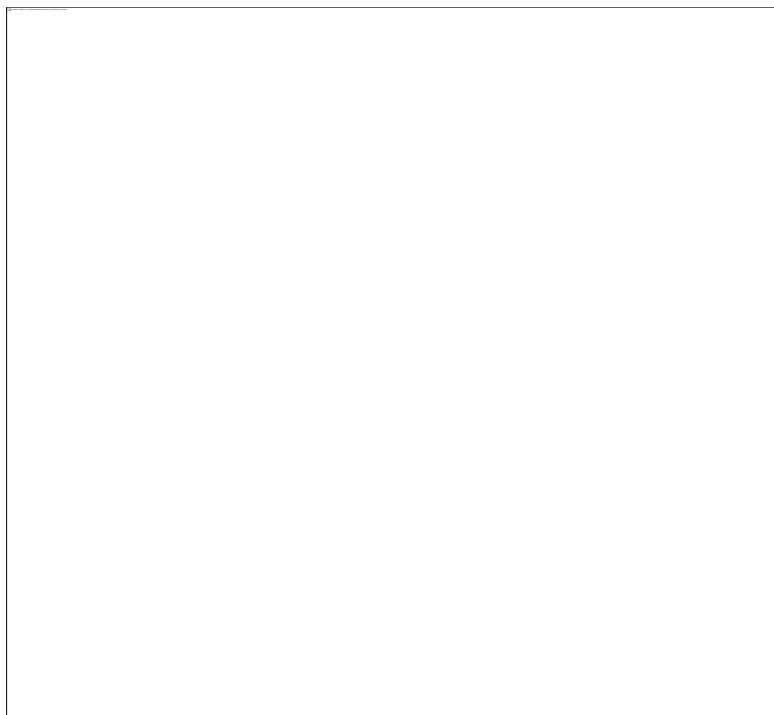


Figura 4. Imágenes SEM de las partículas extraídas de la hoja de *Ligustrum lucidum*.

Elementos en PM	O	Na	Mg	Al	Si	K	Ca	Ti	Fe
Análisis a)	31,4	1,1	1,5	8,3	34,0	2,7	9,4	-	11,6
Análisis b)	49,9	2,8	2,9	5,4	18,9	2,4	10,3	0,2	7,2

Tabla 1. Análisis químico de partículas en la muestra PM

Los resultados del análisis químico derivados del PM seco consisten en una gran variedad de elementos químicos, siendo los mayoritarios Si, Al, O y Ca. Es una composición típica que suele encontrarse en polvo atmosférico, provenientes de partículas de tierra en suspensión y partículas de materiales de construcción. Las proporciones de estos elementos en las muestras son similares a los encontrados en compuestos como arcillas y silicoaluminatos en general. En relación a las concentraciones de C determinadas, son también acordes a ambientes con combustión vehicular, y contemplan también la presencia de partículas biológicas como el polen y otros microorganismos observados. Además se determina la presencia de otros elementos tales como el Na, Mg, K, Ti y Fe, componentes también comunes a partículas de tierra en suspensión.

El análisis térmico de las muestras de PM extraído de las hojas de ligustro se observa en la Figura 5. Estos resultados corresponden a las dos zonas diferentes de extracción que como se ha mencionado, han sido identificadas como calle Belgrano y Calle España.

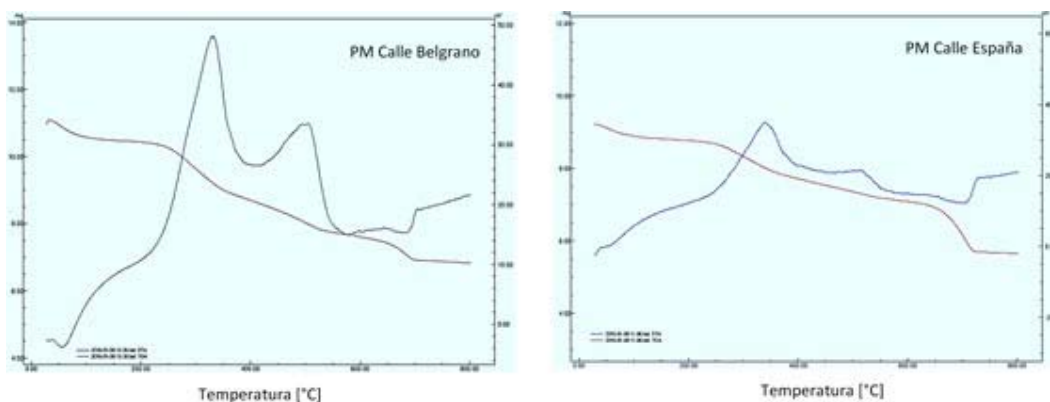


Figura 5. Curvas DTA-TGA del PM.

En las curvas DTA-TGA pueden observarse dos reacciones exotérmicas, una de ellas en el rango 300°C-350°C, con máximo en 330°C, y la otra como un pico ancho alrededor de los 500°C. El primer pico es característico de la combustión de los materiales orgánicos tipo polen, microorganismos o ceras segregadas, que pudieron haber sido arrastradas durante el proceso de lavado ultrasónico. El segundo pico se presenta a temperaturas en las cuales combustionan los materiales carbonosos típicos de combustión vehicular.

La Tabla 2 muestra los resultados obtenidos de pH, conductividad y sólidos disueltos totales (SDT), comparados con los valores correspondientes al agua destilada utilizada para estas experiencias. Se observa que todos los valores registrados aumentan con respecto a los valores de referencia del agua destilada. Esto implica que parte del material particulado está constituido por sales solubles, que se recuperan como sólidos durante el proceso de secado de estos líquidos sobrenadantes.

Muestra	pH	Conductividad (μ s)	SDT (ppm)
Agua destilada	5,93	24,1	12,9
Solución de extracción	6,11	44,7	23,7

Tabla 2. Valores determinados de pH, conductividad y SDT.

2. CONCLUSIONES

En el presente trabajo se analizó el uso de biomuestreadores para la caracterización del PM ambiental, proveniente del parque vehicular en la zona centro urbano de la ciudad de San Nicolás. Se seleccionó al *Ligustrum lucidum* como la especie arbórea más propicia debido a su extensa y homogénea distribución en la zona estudiada, por ser perenne, por el tamaño general de esta especie, y por las características físicas de las hojas. Los resultados obtenidos por las diversas técnicas de caracterización utilizadas muestran que la morfología y estructura de las hojas determina una alta capacidad de retención del PM, fundamentalmente debido a la presencia de tricomas, áreas donde el mismo queda adherido. El análisis del PM extraído refleja composiciones con Si, O, Al y Ca como los

elementos mayoritarios, componentes típicos de la tierra, y con porcentaje de C importante, debido probablemente a la combustión vehicular. La composición del PM, la morfología de las partículas y sus propiedades químicas tienen implicancias en los efectos que provocan en el ambiente y en la salud, por lo cual este tipo de metodologías pueden aportar información relevante complementaria a los métodos tradicionales de medición de la concentración de PM ambiental.

REFERENCIAS

- [1] Gennaro D'Amato, Carlos E Baena-Cagnani, et al, "Climate change, air pollution and extreme events leading to increasing prevalence of allergic respiratory diseases", *Multidiscip Respir Med.* Vol. **8(1)**, (2013).
- [2] Frank J. Kelly y Julia C. Fussell, "Air pollution and public health: emerging hazards and improved understanding of risk", *Environ Geochem Health.* Vol. **37(4)**, pp. 631-649, (2015).
- [3] Elisa Marino, Massimo Caruso, et al, "Impact of air quality on lung health: myth or reality?", *Ther Adv Chronic Dis.* Vol. **6(5)**, pp. 286-298, (2015).
- [4] Luis J. Rubiano Olaya y Martha Chaparro de Valencia, "Delimitación de áreas de isocontaminación atmosférica en el campus de la Universidad Nacional de Colombia mediante el análisis de bioindicadores (líquenes epífitos)", *Acta biol.Colomb.* Vol. **11(2)**, (2006).
- [5] Edina Simona, Edina Baranyaib, et al, "Elemental concentrations in deposited dust on leaves along an urbanization gradient", *Sci Total Environ.* Vol. **490**, pp. 514-520, (2014).
- [6] Bern Markert, Anton Breure, et al, "Definitions, strategies and principles for bioindication/biomonitoring of the environment". *Bioindicators.* **6** (2003) pp. 3-39.
- [7] Gonzalo Bermudez, Judith Rodriguez, et al, "Comparison of the air pollution biomonitoring ability of three Tillandsia species and the lichen Ramalina celastri in Argentina", *Environmental Research.* **109** (2009) pp. 6-14.
- [8] Samira Norouzi, Hossein Khademi, et al, "Using plane tree leaves for biomonitoring of dust borne heavy metals: A case study from Isfahan, Central Iran". *Ecol. Indic.* **57** (2015) pp. 64-73.
- [9] Peter Freer-Smith, Sophy Holloway, et al, "The uptake of particulates by an urban woodland: Site description and particulate composition", *Environ Pollut.* Vol. **95(1)**, pp. 27-35, (1997).