

Biomonitorio de la contaminación atmosférica en La Habana durante la campaña 2004-2005

Estévez Álvarez Juan¹, Montero Álvarez Alfredo¹, López Sánchez Diana¹, Pupo González Iván¹, Hernández Torres Débora¹, Pérez Arriba Oraina¹, Iglesias Brito Hugo², Wolterbeek Bert³

¹Centro de Aplicaciones Tecnológicas y Desarrollo Nuclear (CEADEN). Calle 30 N° 502 e/ 5ta y 7ma, Miramar, Playa. La Habana

²Instituto de Ecología y Sistemática (IES). Carretera de Varona Km 3 ½. Capdevila, Boyeros. La Habana

³Interfacultair Reactor Institute (IRI). Delft, The Netherlands

jestev@ceaden.edu.cu

Resumen

Para evaluar la calidad del aire en La Habana se utilizó como bioindicador una especie de líquen epífita (*Physcia alba* sp.) que crece sobre Palma real (*Roystonea regia*). Se colectó un total de 225 muestras de líquenes en 181 sitios seleccionados de acuerdo con las condiciones de contaminación por tráfico y actividades industriales. Se determinaron las concentraciones de 15 elementos (Na, Mg, Al, Ca, V, Cr, Mn, Fe, Co, Ni, Cu, Zn, Sr, Cd and Pb), empleando espectrofotometría de absorción atómica, fluorescencia de rayos X por reflexión total y voltametría de redisolución anódica. Se aplicaron métodos estadísticos (componentes principales) a los resultados analíticos y se obtuvieron y seleccionaron varios factores. Por último se presentan mapas con los perfiles de distribución elementales y de factores y su posible correlación con distintas fuentes de contaminación.

Palabras claves: metales pesados, líquenes, vigilancia de la polución atmosférica, análisis por fluorescencia de rayos X, espectroscopía de absorción, voltametría

BIOMONITORING OF THE ATMOSPHERIC POLLUTION IN HAVANA DURING 2004-2005 SURVEY

Abstract

An epiphytic lichen (*Physcia alba* sp.) grown over Royal Palm (*Roystonea regia*) tree was used as bioindicator of air quality in Havana City. A total of 225 lichen samples were collected in 181 selected sites according to traffic and industrial conditions. The concentrations of 15 elements (Na, Mg, Al, Ca, V, Cr, Mn, Fe, Co, Ni, Cu, Zn, Sr, Cd and Pb) were determined by Atomic Absorption Spectrophotometry, Total Reflection X-Ray Fluorescence and Anodic Stripping Voltammetry. Principal Component Analysis was applied to analytical results and some factors were obtained. Finally, maps with lichen elemental contents and factors' patterns are presented. Several possible pollution sources were identified.

Key words: heavy metals, lichens, air pollution monitoring, X-ray fluorescence analysis, absorption spectroscopy, voltametry

Introducción

La atmósfera constituye uno de los componentes del medio ambiente más vulnerable a la acción directa del hombre, lo cual ha ocasionado el incremento de las concentraciones de un grupo de elementos traza entre los que se encuentran los metales pesados.

Determinadas especies biológicas son capaces de acumular o tolerar en su estructura niveles elevados de metales pesados de la atmósfera [1], lo cual permite, mediante el análisis de estos elementos, conocer el estado de contaminación de esta. Su bajo costo, la posibilidad de aplicación a grandes áreas, la obtención de mapas de distribución, información sobre tipos de fuentes de emisión y su localización, así como el trans-

porte de media y larga distancia de determinados elementos, hacen del biomonitorio una eficaz estrategia para estimar los niveles de contaminación del aire.

Los líquenes se han utilizado en estudios de contaminación atmosférica, principalmente en los Estados Unidos y en Europa [2], siendo escasas las investigaciones en Latinoamérica [3]. Estos organismos son constituyentes importantes de la vegetación de varios ecosistemas del mundo e incluyen alrededor de 13 500 especies [4]. Se han publicado numerosos trabajos sobre la acumulación de metales pesados aerotransportados en líquenes [2, 5-18]. En Cuba no existe prácticamente información sobre el contenido de metales pesados en la atmósfera. A partir del 2000 se han realizado estudios preliminares de la aplicabilidad de

líquenes en calidad de biomonitores de la contaminación atmosférica por metales pesados en zonas de La Habana [19].

Diversos métodos analíticos se han empleado para cuantificar metales pesados y otros elementos químicos en los biomonitores como espectrofotometría de absorción atómica (EAA) con llama y con horno de grafito, emisión con plasma acoplado por inducción (EPAI) [14], EPAI acoplado a espectrometría de masas (EPAI-EM), análisis por activación neutrónica (AAN) [16], fluorescencia de rayos X por reflexión total (FRXRT) [13] y polarografía [20]. Las técnicas de EPAI, EPAI-MS y AAN son las mejores desde el punto de vista analítico, pero son las más costosas.

El objetivo del trabajo fue evaluar de forma indirecta, aunque confiable e integral, la calidad del ecosistema atmosférico en La Habana mediante el biomonitorio con líquenes y su posible relación con fuentes de contaminación. Con este fin se utilizó una metodología que combina el tratamiento de las muestras con el análisis por EAA, VRA y FRXRT, de modo que se logra una exactitud y sensibilidad adecuadas para determinar los elementos químicos de interés. La aplicación simultánea de estos métodos para el caso de algunos metales pesados y el empleo de materiales certificados de referencia permitió garantizar el aseguramiento de la calidad de los resultados analíticos, de acuerdo con publicación anterior [21].

Materiales y métodos

Diseño del muestreo

Teniendo en cuenta las dimensiones de la provincia se diseñó una red de muestreo formada por una cuadrícula de 72 celdas de 2,5 x 2,5 Km cada una y de 5 x 5 Km para las zonas periféricas. Esto fue adaptado posteriormente durante la campaña de colecta en función de la existencia misma de líquenes en los diferentes lugares. El estudio comprendió 14 municipios, exceptuando el de Centro Habana por la ausencia del biomonitorio.

Muestreo

El muestreo se extendió durante 16 meses, tiempo en el cual las condiciones climáticas variaron poco, caracterizándose el período por ser muy seco. La humedad relativa de los líquenes recolectados osciló en un intervalo estrecho.

La especie de líquen seleccionada en este trabajo fue *Physcia alba*, debido a que es la de mayor distribución en la ciudad. Esta especie es de biotipo subfolioso y su separación del sustrato se hace difícil. Por ello se decidió recolectar los líquenes sobre palmas reales de la especie palma real *Roystonea regia* (HBK) O. F. Cook, ya que este fitoforo de amplia distribución posee una corteza extremadamente dura y lisa, lo que minimi-

za los efectos de contaminación por el sustrato.

La toma de las muestras se realizó a una altura entre 0,5 y 2,0 m del suelo. Para efectuar esta operación se utilizó una cuchilla de acero inoxidable afilada y se colocaron en cartuchos de papel para su transportación al laboratorio.

Las coordenadas geográficas de los sitios de muestreo se tomaron con ayuda de un GPS marca Garmin 12. Se registran además, un grupo de datos como fecha, condiciones climáticas, cobertura, cercanía o no a fuentes de contaminación, uso del suelo, etc.

En total se colectaron 225 muestras de líquenes en 181 puntos de muestreo distribuidos como muestra la figura 1. En 10 de los sitios (5,5% del total) se recogieron 4-5 muestras en Palmas cercanas para conocer las varianzas locales con el objetivo de compararlas con la varianza total y la de los métodos analíticos.

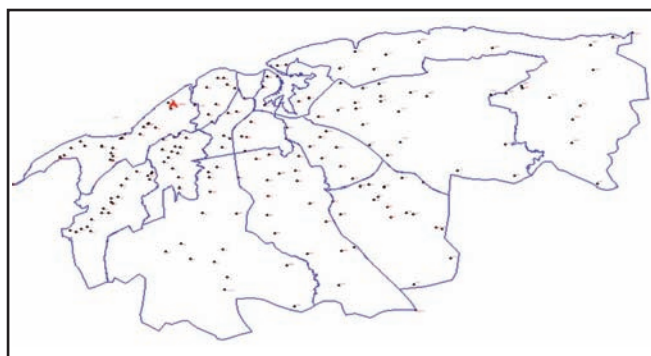


Figura 1. Puntos de muestreo en La Habana.

Materiales utilizados

Todos los reactivos utilizados fueron de calidad "Puro para Análisis".

En todos los casos se utilizó agua destilada en cuarzo y doblemente desionizada con una conductividad menor a 0,05 mS/cm (grado 2).

Las soluciones de los iones metálicos se prepararon a partir de soluciones patrones de calidad Spectrosol de la firma Merck.

El nitrógeno gaseoso utilizado para desoxigenar las soluciones durante las mediciones polarográficas se purificó, usando 2 trampas en serie.

Preparación de las muestras para el análisis químico

En el laboratorio las muestras se pesaron, separando una porción conocida (alrededor de 0,5 g con precisión de 0,0001 g) para determinar el porcentaje de humedad que se realiza mediante su secado a peso constante por calentamiento en estufa a 40 °C. Los valores obtenidos de humedad oscilaron entre 6 y 10%.

La otra porción se trituro y homogenizó en un molino de ágata eléctrico hasta un tamaño de grano menor a 100 mm, y se conservó en una desecadora.

De 2 a 3 gramos de muestra se calcinaron en mufla a 500 °C por un período de 3 horas y el residuo obtenido se disolvió con ataques consecutivos y combinados de HF, HNO₃ y HClO₄ concentrados. Se calentó hasta humos densos, repitiendo la operación 2 veces. El residuo se disolvió en HNO₃ ~ 0,1 mol/L hasta un volumen de enrase de 25 ml.

Determinaciones analíticas

El análisis por EAA se realizó en un equipo PYE UNICAM Modelo SP9-800. Se determinaron las concentraciones de Na, Mg, Al, Ca, V, Cr, Mn, Fe, Co, Ni, Cu, Zn, Sr, Cd y Pb. Las mediciones polarográficas se realizaron en un analizador polarográfico PA4, usando la variante de Voltametría de Redisolución Anódica (VRA) y en modo diferencial de pulso. Se determinaron los contenidos de Cu, Zn, Cd y Pb. Además, se utilizó el método de fluorescencia de rayos X por reflexión total (FRXRT) para determinar Ca, V, Cr, Mn, Fe, Co, Ni, Cu, Zn, Sr y Pb.

La cuantificación se realizó mediante curvas de calibración, siguiendo estrictamente la Norma ISO 8466 [22]. Los límites de detección se calcularon de acuerdo con Vogelgesang [23].

Mapas de concentración

Debido a la gran cantidad de elementos a determinar se llevó a cabo un análisis factorial mediante el programa SPSS, que permite reducir el número de variables para poder lograr una mejor interpretación de los resultados, obteniéndose los llamados componentes principales, representados por elementos con cierta correlación entre sí [24].

A partir de los valores de estos factores se realizaron los mapas de distribución por sitios de muestreo, permitiendo una mejor representación espacial de los contenidos de los metales estudiados. Los mapas se confeccionaron con el programa SURFER versión 7.0 y se utilizó además, el programa MAPINFO versión 6.5 para la conversión de las coordenadas geográficas a planas.

Resultados y discusión

En relación a la calidad de los resultados analíticos se puede consultar un trabajo anterior de los autores [21], donde se presentan los resultados del análisis de tres muestras de referencia certificadas (MRC) biológicas. En este se evalúan los parámetros metrológicos de veracidad, precisión, límites de detección e incertidumbre, concluyéndose lo siguiente:

No existen diferencias significativas entre los valores obtenidos por los diferentes métodos (EAA, FRXRT y VRA) para 95% de confiabilidad.

La veracidad (sesgo) y la precisión (repetibilidad) de las determinaciones por los tres métodos fueron por lo general menores al 10%; solamente en los casos donde los contenidos estuvieron próximos a los límites de detección (LD) de cada método el sesgo estuvo por encima del 10%, ocurriendo lo mismo para la precisión.

Los valores de límite de detección obtenidos fueron, en algunos casos, superiores a los valores certificados (o informativos) reportados para las MRC; no obstante, resultaron inferiores a los contenidos de estos elementos en las muestras de líquenes recolectadas.

Por estas razones los métodos utilizados se pueden aplicar de forma confiable al análisis de los elementos de interés en los líquenes.

Análisis de las muestras

Los contenidos de los elementos Ca, Mn, Fe, Ni, Cu, Zn, Sr y Cd determinados de forma simultánea por FRXRT, EAA y VRA en las 225 muestras de líquenes colectadas se compararon entre sí. Como se observa en la tabla 1 se obtuvieron adecuadas correlaciones para la mayoría de los elementos, incluso para los casos de Cu y Zn, que se analizaron por los tres métodos. Estos resultados también se aprecian, para el caso de Cu y Zn, en la figura 2. Las pendientes fueron cercanas a la unidad, lo que demuestra la concordancia entre los resultados analíticos obtenidos por las diferentes técnicas. Para el Cd, los valores por EAA fueron superiores a los de VRA y en correspondencia, la pendiente fue más baja (0,66). Esta diferencia se debe posiblemente a un efecto matriz en la determinación de Cd por EAA,

Tabla1. Correlación entre los métodos analíticos empleados para las determinaciones multielementales en los líquenes

Elemento	Ecuaciones de ajuste	Coeficiente de correlación (r)	Coeficiente de correlación múltiple (R)
Ca	CFRXRT = -100,7401 + 1,0423 CEAA	0,95	-
Mn	CFRXRT = -1,0368 + 1,0696 CEAA	0,99	-
Fe	CFRXRT = -22,9237 + 0,9629 CEAA	0,98	-
Ni	CFRXRT = 0,4024 + 0,9647 CEAA	0,96	-
Sr	CFRXRT = 0,0339 + 0,9885 CEAA	0,95	-
Cd	CFRXRT = -0,0799 + 0,6614 CEAA	0,80	-
Cu*		-	0,96
Zn*		-	0,99

*Comparación simultánea de las tres técnicas analíticas.

siendo los contenidos de este elemento los más bajos en los líquenes y en muchos casos, cercanos al límite de detección por EAA. Esta diferencia se explica por la presencia de altos contenidos de Na y K en las muestras, sobre todo de este último, donde hay valores que alcanzan 1%.

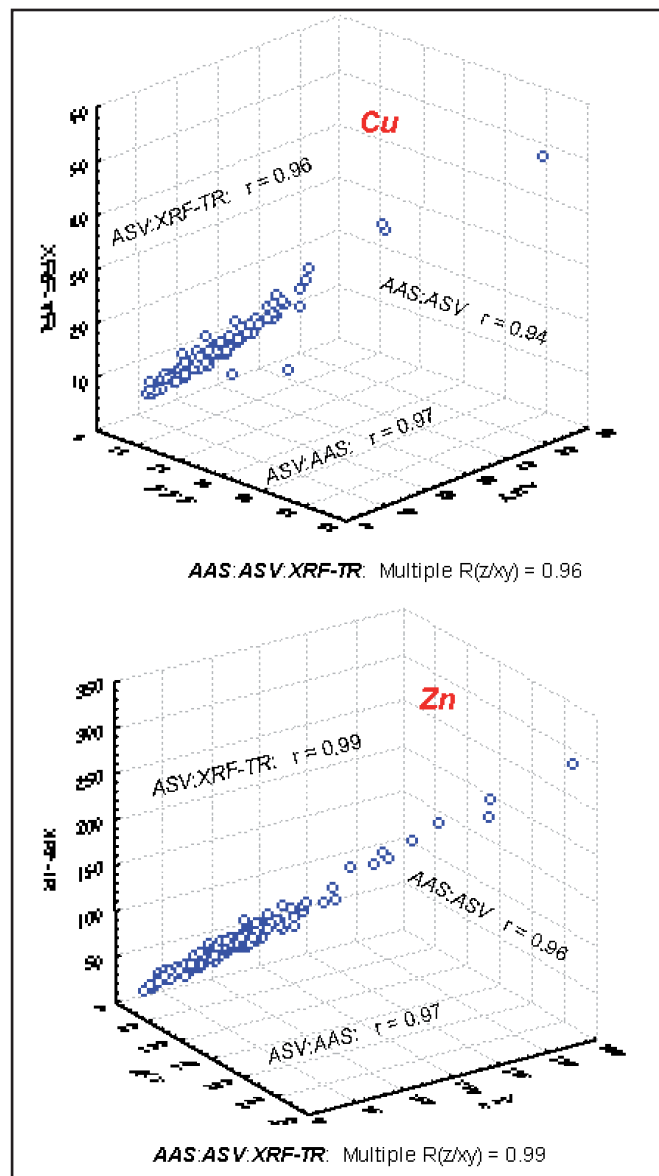


Figura 2. Correlaciones entre los resultados obtenidos por FRXRT (XRF-TR), EAA (AAS) y VRA (ASV) para Cu y Zn en las 225 muestras de líquenes colectados en la campaña del 2004.

Para los análisis estadísticos posteriores se seleccionan los valores obtenidos para Cd por VRA; esto además se sustenta por los datos de exactitud alcanzados para este elemento por VRA en el análisis de las MRC [20]. De igual forma se hace para Pb, pero en este caso la selección se realiza teniendo en cuenta los mejores LD logrados por VRA. Para el resto de los elementos se escogen los contenidos obtenidos por EAA.

En la tabla 2 se aprecian los intervalos de concentración para los elementos estudiados. Como se observa las mayores concentraciones se obtienen para Ca,

Al, Fe y Mg y las menores para Cd y Co. Los coeficientes de variación para Ni, V, Ca y Cr fueron los más altos y superaron la cifra de 60%. Esto puede estar relacionado con la existencia de sitios puntuales de contaminación debido a la presencia de industrias siderúrgicas, refinería y de materiales de la construcción.

Tabla 2. Intervalos de concentración encontrados (mg/g)

Elemento	Intervalo (mg/g)		Media	CV*
	Mínimo	Máximo		
Na	121	1363	415	53,98
Mg	523	4494	1302	45,89
Al	568	5580	1987	46,36
Ca	1330	41902	7589	63,27
V	3,8	143	20,9	65,30
Cr	2,0	37,6	8,3	60,91
Mn	9,1	169	28	58,93
Fe	19	8270	1899	58,59
Co	0,50	5,13	1,59	38,48
Ni	1,9	53,9	10,7	66,20
Cu	5,2	54,5	14,8	49,90
Zn	17,2	283	74,9	48,84
Sr	8,3	47,7	21,1	38,97
Cd	0,07	1,5	0,34	55,03
Pb	6,9	94,5	30,8	59,26

* CV: Coeficiente de variación (%).

Por otra parte las varianzas locales obtenidas para las concentraciones de los elementos oscilaron como promedio, entre 10 y 17%, siendo la media de 13,8%, ligeramente superiores a los valores de precisión de los métodos analíticos. Además, la varianza total tuvo un promedio de 54%.

La calidad del muestreo, reportado como la relación de la varianza total y la local (denominada relación señal vs ruido) resultó de 3,9 como promedio, lo cual refleja lo satisfactorio del muestreo, y la adecuada utilización de esta especie de líquenes como biomonitor de los metales estudiados.

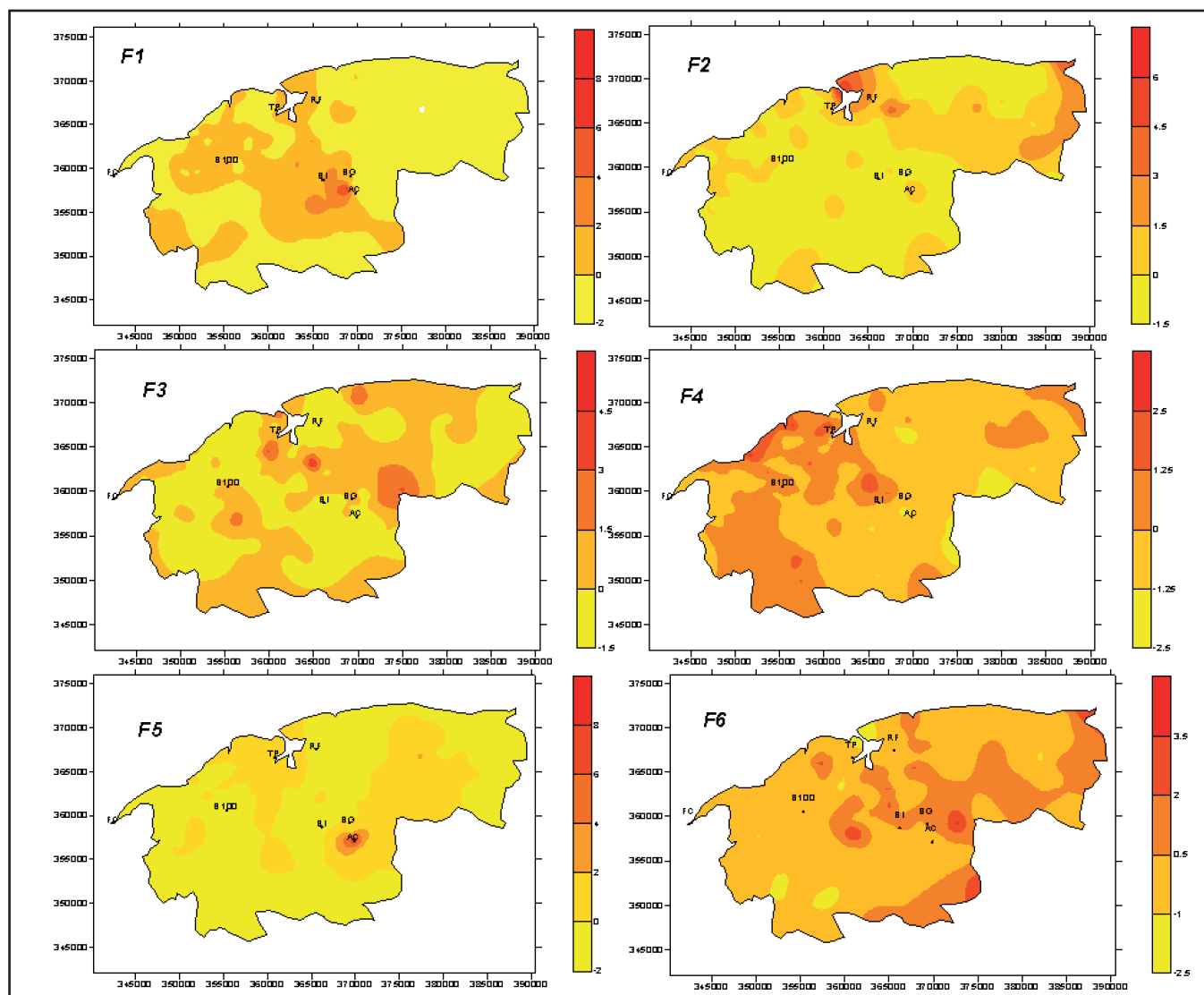
Análisis estadístico y obtención de los mapas de distribución

En la tabla 3 se observan las cargas de los componentes obtenidos con ayuda del programa SPSS (Método de Componentes Principales y Rotación de Varimax), donde se presentan solo los factores que tienen valores mayores de 0,40. Con ayuda de los componentes extraídos y lo reportado en la bibliografía [25] se puede lograr una mejor identificación y comprensión de las posibles fuentes de contaminación. En la figura 3 se presentan los perfiles de distribución de los factores. En el primero se agrupan los elementos Cd, Mn, Zn y Fe. Se conoce que los elementos Cd y Zn están estrechamente vinculados a vertederos de basuras fundamentalmente, mientras que los elemen-

tos Mn y Fe pueden estar relacionados con el polvo y con industrias ferrosas. En este caso existen dos fuentes (basurero industrial de La Habana y la fábrica Antillana de Acero), muy cercanas entre sí y que hacen imposible la separación de estos 2 componentes. El factor 3 se relaciona con la industria del cemento y por esta razón la mayor concentración se obtiene en las zonas norte y este de la ciudad, donde existen numerosas instalaciones de producción de materias primas para el cemento y otros productos. El factor 4, que incluye al Pb, refleja una mayor distribución en las zonas de mayor circulación de vehículos en La Habana y en lugares donde existieron pequeñas fábricas de recuperación de baterías de automóviles. Aunque en la actualidad se utilizan gasolinas libres de Pb no se descarta que las emisiones de este elemento en el pasado se encuentren ahora circulando entre el suelo y la atmósfera. El factor 5 vinculado a refinerías (crudos pesados) presenta coincidentemente su mayor concentración en las cercanías de la refinería de la ciudad (bahía de La Habana); además se vincula con la mayor industria de acero del país, ubicada en el Cotorro. Para los otros factores obtenidos no existe aún una explicación plausible.

Tabla 3. Carga de los componentes extraídos

Componentes						
	1	2	3	4	5	6
Cd	0,91					
Mn	0,82					
Zn	0,80					
Fe	0,60				0,52	
Mg		0,84				
Ni		0,74			0,55	
Cr		0,69				
Cu		0,40				
Ca			0,87			
Sr			0,77			
Co		0,55	0,58			
Al				0,74		
Pb				0,73		
V					0,91	
Na						0,89


Figura 3. Patrones de distribución de los componentes.

Un análisis más profundo requerirá del conocimiento de la ubicación de todas las posibles fuentes de contaminación, lo cual está previsto ejecutar posteriormente.

Conclusiones

La representación espacial de los componentes extraídos refleja muy bien las diferencias entre las áreas urbanas de La Habana, debido fundamentalmente, a la existencia de fuentes de contaminación puntuales e importantes. El uso de la técnica de biomonitorio permite evaluar correctamente estas diferencias, significando una ventaja sobre el método instrumental (colección de material particulado).

Agradecimientos

El trabajo se llevó a cabo en los marcos del Proyecto Regional para América Latina (ARCAL) LX (RLA7010) (2002-2005), financiado por el Organismo Internacional de Energía Atómica.

Referencias bibliográficas

- [1] Validation and application of plants as biomonitors of trace element atmospheric pollution, analyzed by nuclear and related techniques. Report of on the Second Research Co-ordination Meeting. NAHRES-63. Vienna: IAEA, 2001. 218 p.
- [2] WOLTERBEEK B. Large scaled biomonitoring of trace elements air pollution: goals and approaches. *Radiat Phys and Chem.* 2001; 61(3-6): 323-327.
- [3] GONZÁLEZ CM, ORELLANA L, CASANOVAS SS, PIGNATA ML. Environmental conditions and chemical response of a transplanted lichen to an urban area. *J Environ Manag.* 1998; 53(1): 73-81.
- [4] HAWKSWORTH DL. The fungal partner. *Handbook of lichenology.* Vol. III. Boca Ratón: CRC Press, 1988. p. 35-38.
- [5] JAMES PW. The effect of air pollutants other than hydrogen fluoride and sulphur dioxide on lichens. In: *Air Pollution and Lichens.* 1973. p.143-75389
- [6] LAAKSOVIRTA K., OLKKONEN H. Epyphytic lichen vegetation and element contents of Hypogymnia physodes and pine needles examined as indicators of air pollution at Kokkola, W. Finland. *Ann. Bot. Fennici.* 1977; 14: 112-130.
- [7] FOLKENSON L. Interspecies calibration of heavy-metal concentrations in nine mosses and lichens: Applicability to deposition measurements. *Water, Air and Soil Pollution.* 1979; 11: 253-260.
- [8] MARTIN MH, COUNGHTREY PJ. *Biological Monitoring of Heavy Metal Pollution.* London: Applied Science Publishers. 1982; 475 p.
- [9] PUCKETT KJ. Bryophytes and lichens as monitors of metal deposition. *Lichens, Bryophytes and Air Quality. Bibliotheca Lichenologica.* 1988; 30: 231-267.
- [10] PUCKETT KJ, NIEBOER E, GORZYNSKI MJ, RICHARDSON DHS. The uptake of metal ions by lichens: A modified ion-exchange process. *New Phytol.* 1973; 72: 329-342.
- [11] MARKERT B. *Plants as Biomonitors. Indicators for Heavy Metals in the Terrestrial Environment.* Weinheim: VCH, 1993. p. 193-257.
- [12] RUHLING A. *Atmospheric Heavy Metal Deposition in Europe – Estimation Based on Moss Analysis.* NORD 1984:9. Copenhagen: NORDIC Council of Ministers, 1994. p. 53.
- [13] WANNANZ ED, PIGNATA ML. Calibration of Four Species of Tillandsia as Air Pollution Biomonitors. *Journal of Atmospheric Chemistry.* 2006; 53: 185-209.
- [14] WANNANZ ED, CARRERAS H, PÉREZ C. Assessment of heavy metal accumulation in two species of Tillandsia in relation to atmospheric emission sources in Argentina. *Sci Total Environ.* 2006; 36(1-3): 267-278.
- [15] RUSU AM, JONES GC, CHIMONIDES PD, PURVIS OW. Biomonitoring using the lichen Hypogymnia physodes and bark samples near Zlatna, Romania immediately following closure of a copper ore-processing plant. *Environ Poll.* 2006; 143: 81-88.
- [16] CARRERA HA, PIGNATA ML. Effects of the heavy metals Cu₂+, Ni₂+, Pb₂+, and Zn₂ on some physiological parameters of the lichen Usnea amblyoclada. *Ecotoxicology and Environmental Safety.* 2007; 67: 59-66.
- [17] GODINHO RM, WOLTERBEEK HTH, VERBURG T, FREITAS MC. Bioaccumulation behavior of transplants of the lichen Flavoparmelia caperata in relation to total deposition at a polluted location in Portugal. *Environ Poll.* 2008; 151(2): 318-325.
- [18] PINHO P, AUGUSTO S, MÁGUAS C, et. al. Impact of neighbourhood land-cover in epiphytic lichen diversity: Analysis of multiple factors working at different spatial scales. *Environ Poll.* 2008; 151(2): 414-422.
- [19] MONTERO ALVAREZ A, et. al. Multi-elemental determination in lichens collected from Havana city. *Proceedings NURT-2001.* Havana, Cuba. 22-26 de octubre 2001.
- [20] MONTERO A, ESTÉVEZ JR, IGLESIAS H, et. al. Lichen based biomonitoring of air quality in Havana City west side. *J of Radioanal and Nucl Chem.* 2006; 270(1): 63-67.
- [21] MONTERO A, ESTÉVEZ JR, PADILLA R, LÓPEZ D. Analytical performance of some methods for the determination of trace elements in lichens used as air quality assessment. *J Radioanal Nucl Chem.* 2009; 281(3): 569-575.
- [22] ISO 8466-1. *Water quality-calibration and evaluation of analytical methods and estimation of performance characteristics. Part 1: Statistical evaluation of the linear calibration function.* 1990.
- [23] VOGELGESANG J, et. al. Limits of detection, identification and determination: statistical approach for practitioner. *Accred. Qual. Assur.* 1998; 3(6): 242-249.
- [24] BENNETT J, WETMORE C. 16-Year trends in elements of lichens at Theodore Roosevelt National Park, North Dakota. *Sci Total Environ.* 2000; 263(1-3): 231-241.
- [25] NRIAGU JO. Natural versus anthropogenic emissions of trace metals to the atmosphere. In: *Control and Fate of Atmospheric Trace Metals.* NATO ASI. Series Vol. 268. The Netherlands: Kluwer Academic Publishers, 1989. p. 3-13.

Recibido: 29 de agosto de 2011

Aceptado: 27 de octubre de 2011