

**Universidad Central de Venezuela
Facultad de Ciencias
Escuela de Química
Departamento de Geoquímica
Licenciatura en Geoquímica**



**EVALUACIÓN DE LA CALIDAD DEL AIRE EN LOS ALREDEDORES DE LA
POBLACIÓN MINERA DE TIARA EMPLEANDO LÍQUENES COMO
BIOMONITORES DE METALES**

Trabajo Especial de Grado presentado ante la ilustre Universidad Central de Venezuela por el Br. Wilbert José Hurtado Boada para aprobar la asignatura Proyecto Geoquímico II y así optar al título de Licenciado en Geoquímica.

Caracas, Octubre 2010

**Universidad Central de Venezuela
Facultad de Ciencias
Escuela de Química
Departamento de Geoquímica
Licenciatura en Geoquímica**



**EVALUACIÓN DE LA CALIDAD DEL AIRE EN LOS ALREDEDORES DE LA
POBLACIÓN MINERA DE TIARA EMPLEANDO LÍQUENES COMO
BIOMONITORES DE METALES**

Tutores: Profesora Raiza Fernández

Licenciado Jesús Hernández

Realizado por:

Wilbert José Hurtado Boada

Caracas, Octubre 2010



EVALUACIÓN DE LA CALIDAD DEL AIRE EN LOS ALREDEDORES DE LA POBLACIÓN MINERA DE
TIARA EMPLEANDO LÍQUENES COMO BIOMONITORES DE METALES



ACTA

APROBADO EN NOMBRE DE LA UNIVERSIDAD CENTRAL DE VENEZUELA por
los Miembros del Jurado Examinador.

Profesora Raiza Fernández
Directora

Licenciado Jesús Hernández
Director

Profesor Armando Ramírez
Jurado

Profesora Anna Gann
Jurado



AGRADECIMIENTOS

Antes que todo quiero agradecer a Papá Dios quién siempre está presente para guiarnos; en las buenas y en las malas. He aprendido que tu tiempo es perfecto y que todo pasa cuando debe pasar. En ti siempre confiaré Señor.

A mis padres, Zunaida Boada y Wilfredo Hurtado; por darme la vida y enseñarme a ser lo que soy hoy, por sus valores y por su apoyo incondicional durante toda esta etapa; en especial a mi mamá por sus palabras de aliento y por todo su amor inagotable. Te amo mami!!! A ti también te quiero papá ;-)) sin ti y sin tu apoyo no habría llegado jamás a donde he llegado. A mis queridos hermanos Wilfredo y Wildert que aunque sólo nos veíamos en algunas vacaciones, siempre los tuve presente y siempre me brindaron su apoyo y aliento; hermanos, los quiero y amo demasiado!!!

A mi novia hermosa Angélica por estar siempre a mi lado, por aguantarme en las buenas y malas, por guiarme en todo momento y nunca dejarme sólo, por tu apoyo infinito, por esto y taaaanto más gracias mi vida, eres mi todo! TE AMO! Hoy y siempre lo haré! De la misma manera quiero dar gracias a tu familia por estar siempre pendiente de mi trayectoria en esta etapa y por su apoyo todos estos años, en especial a Mariann y a Pipo por darme un espacio en su hogar cuando lo necesitaba.

También agradezco a la familia Valls y en especial a la Sra. Edita por brindarme un lugar en su hogar en mis primeros 3 años aquí en Caracas. Igualmente quiero agradecer a toda la familia Fassano por darme el calor de un hogar durante mis últimos dos años de carrera universitaria y por su confianza. Irene, compañera de residencia, gracias por tu amistad y apoyo; y María Emilia, además de compañera de residencia y de estudios, excelente amiga! Gracias por tu bella amistad durante todos estos años.

A mis amigos del alma Jeffrey, Jesús y Henry. Más que amigos los considero hermanos, Los quiero! Gracias por su amistad y su confianza, espero nunca dejemos de estar en contactos.



Agradezco en especial a Henry David (Sí, otra vez...), compañero tesista, gracias por tu apoyo durante esta etapa final mi hermano, por tus palabras de aliento, compartir tus conocimientos y por tu valiosa amistad. Un abrazo!

Mariacarolina (Mayi), gracias también por tu linda amistad y tus palabras de ánimo. Aunque no nos graduemos juntos ten por seguro que para nosotros cuatros graduandos también estarás presente!

A la Universidad Central de Venezuela por abrirme sus puertas para lograr una meta; a la Facultad de Ciencias, la cual fue prácticamente mi hogar durante toda esta carrera; al Instituto de Ciencias de la Tierra y a todo su personal que han permitido que este sueño sea realidad; incluyo profesores, secretarias, personal técnico y de limpieza, a todos Gracias!

A mis formadores académicos: Prof. Raiza Fernández, gracias por darme esta oportunidad, por su apoyo incondicional, sus palabras de aliento y de motivación, por su paciencia, inspiración y por haber sido guía durante cada una de las etapas de este proyecto y por encaminarme hacia la toma de decisiones y la madurez profesional; Lic. Jesús Hernández, gracias también por esta increíble experiencia, por compartir tus conocimientos y por toda la motivación y colaboración prestada durante este proyecto. Al Prof. Armando Ramírez por sus consejos y por brindar sus conocimientos. Goyo, también fuiste de gran ayuda en este proyecto, gracias por impulsarme.

Por último quiero agradecer a todas las personas que me acompañaron durante mi carrera universitaria.

Gracias... Totales...!!!



EVALUACIÓN DE LA CALIDAD DEL AIRE EN LOS ALREDEDORES DE LA POBLACIÓN MINERA DE
TIARA EMPLEANDO LÍQUENES COMO BIOMONITORES DE METALES





RESUMEN

En este estudio han sido empleados los líquenes para evaluar contaminación por fuentes fijas (industrias), enfocándonos en la empresa Minera Loma de Níquel C.A., la cual está encargada de explotar a cielo abierto las rocas máficas-ultramáficas de esta zona, siendo de mayor interés el mineral silicatado de Garnierita $(\text{Ni,Mg})_3\text{Si}_2\text{O}_5(\text{OH})_4$ (mena de níquel); alterando así la atmósfera local y generando, posiblemente, problemas de salud en las poblaciones adyacentes como Tiara asociados a la presencia de metales en el aire.

Para llevar a cabo esta investigación fue realizado un monitoreo de tipo activo: fueron trasplantados líquenes *Parmotrema sancti angelii* (Lynge) Hale desde la Universidad Simón Bolívar hasta los alrededores de la población minera de Tiara (5 puntos en una transecta). Adicionalmente fueron tomadas muestras de suelo superficial en la zona más distante y cercana a la minera con la finalidad de realizar estudios sobre el factor de enriquecimiento de los metales.

La metodología empleada para analizar las muestras de líquen consistió en la pulverización inicial con nitrógeno líquido en un mortero de ágata. Posteriormente fueron secados en una estufa por 2 horas y subsiguientemente pesados 350 mg de cada muestra para disolverlas en HNO_3 concentrado de grado p.a y bidestilado, empleando para ello un bloque digestor a una temperatura de 120°C durante 8 horas. La solución resultante fue filtrada y enrasada en 25 ml con agua deionizada para determinar los metales (Al, As, Ba, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Hg, Mg, Mn, Ni, Pb, V, Zn y Ti) mediante el uso de espectrometría de absorción atómica de llama (AAS), Espectrometría de Emisión Óptica por Plasma Inductivamente Acoplado (ICP-AES) y el Analizador Directo de Mercurio MA-80. Las muestras de suelo superficial fueron disueltas según la misma metodología descrita anteriormente, pero esta vez empleando 500 mg para cada alícuota.

Los resultados obtenidos evidencian que existe acumulación para todos los metales, a excepción del Cd y As que no fueron detectados, en las muestras trasplantadas. La concentración en estas muestras refleja muy buena correlación entre los metales Al, Co, Hg, Fe, Mg, Mn, Ni y Ti a lo largo de la transecta; todos ellos asociados a la litología explotada por la minera. Otra buena correlación en los puntos muestreados es observada entre los metales Pb y Zn, ambos comúnmente provenientes de fuentes antropogénicas (quema de combustibles fósiles). El estudio del factor de enriquecimiento permitió establecer que las concentraciones de los metales Pb y Zn principalmente, no provienen del suelo local de la zona y que su fuente de emisión puede ser atribuida a fenómenos de transporte que actúan sobre otras fuentes naturales y/o por fuentes antropogénicas.



INDICE

Contenido	Página
1. INTRODUCCIÓN	14
1.1 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	16
1.2 OBJETIVOS.....	17
1.2.1 Objetivo General.....	17
1.2.2 Objetivos Específicos	17
2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA.....	18
2.1 FUNDAMENTOS TEÓRICOS	18
2.1.1 La atmósfera	18
2.1.2 Contaminación.....	20
2.1.3 Contaminación atmosférica.....	20
2.1.4 Contaminante	20
2.1.5 Clasificación de los contaminantes	21
2.1.6 Calidad del aire	22
2.1.7 Evaluación de la calidad del aire y métodos de monitoreo.....	22
2.1.8 Biomonitoreo.....	24
2.1.9 Biomonitores y bioindicadores	24
2.1.10 Líquenes.....	26



2.1.11 Líquenes como bioindicadores/biomonitores de la contaminación atmosférica	28
2.1.12 Mecanismos de captación de metales	29
2.1.13 Parmotrema sp. como bioindicador/biomonitor de contaminación atmosférica.....	30
3. ANTECEDENTES	31
4. ÁREA DE ESTUDIO	41
4.1 Consideraciones geológicas	42
4.1.1 Complejo Ofiolítico Loma de Hierro.....	42
4.1.2 Formación Tiara	42
4.2 Variables a considerar durante la etapa de campo	43
4.3 Hipótesis	43
4.3.1 Hipótesis alternativa	43
4.3.2 Hipótesis nula	43
5. METODOLOGÍA EXPERIMENTAL.....	44
5.1 Etapa de campo	44
5.1.1 Diseño del muestreo.....	44
5.1.2 Muestreo de líquenes.....	45
5.1.3 Trasplante de líquenes.....	45
5.1.4 Muestreo de suelo.....	46
5.2 Etapa de laboratorio	47



5.2.1 Muestras de líquenes.....	47
5.2.2 Muestras de suelo	51
5.3 Análisis estadístico de los datos	52
5.3.1 Análisis de varianza.....	52
5.3.2 Prueba de Duncan	53
5.3.3 Análisis de Componentes Principales (ACP).....	53
5.3.4 Análisis de Clúster.....	53
5.3.5 Análisis de Correlación.....	53
5.3.6 Factor de enriquecimiento (F.E)	54
6. PRESENTACIÓN Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS	55
6.1 Identificación del líquen.....	55
6.2 Humedad asociada a las muestras de líquen	57
6.3 Disolución de muestras.....	59
6.3.1 Líquenes.....	59
6.3.2 Disolución de las muestras de suelo	63
6.4 Material de referencia certificado. Líquen <i>Pseudevernia furfuracea</i> (CRM 482)	65
6.5 Concentración de metales en líquenes	68
6.6 Optimización del lavado.....	71
6.7 Análisis de varianza (ANOVA).....	74



6.7.1 Aluminio	75
6.7.3 Bario	77
6.7.4 Cobalto	79
6.7.5 Cromo	80
6.7.6 Cobre	82
6.7.7 Mercurio	83
6.7.8 Hierro.....	85
6.7.9 Magnesio	87
6.7.10 Manganeso	88
6.7.11 Níquel	90
6.7.12 Plomo.....	91
6.7.13 Vanadio.....	93
6.7.14 Zinc	94
6.7.15 Titanio.....	96
6.8 Correlaciones entre las concentraciones de los metales determinados en líquenes	97
6.9 Comparación de concentración de metales en líquenes con concentración de metales en partículas determinadas por Girón (2008)	98
6.10 Análisis de Conglomerados (Clúster).....	99
6.11 Análisis de Componentes Principales (ACP)	101



6.12 Factor de Enriquecimiento (F.E).....	104
7. CONCLUSIONES	108
8. RECOMENDACIONES	110
9. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	111
10. APÉNDICES	117

INDICE DE FIGURAS

Fig. 1. Estratificación de la Atmósfera	19
Fig. 2. Tipos de contaminantes	22
Fig. 3. Muestreador de alto volumen	24
Fig. 4. Estructura y proceso de formación de un líquen.....	27
Fig. 5. Morfología de líquenes: a) Fruticoso; b) Foliáceo y c) crustáceo	27
Fig. 6. Mecanismos de incorporación de metales en el líquen (Modificado de Williamson y col. 2004).....	30
Fig. 7. Ubicación de la zona de estudios (Modificado de Silvana, 2001).....	41
Fig. 8. Puntos de muestreo	44
Fig. 9. Vistas hacia la mina desde los puntos (3 y 5)	45
Fig. 10. Muestra trasplantada	46
Fig. 11. Esquema experimental para el tratamiento de los líquenes en el laboratorio.....	47
Fig. 12. Partículas y manchas en el líquen observadas bajo la lupa binocular	48
Fig. 13. Pulverización de líquen.....	49
Fig. 14. Bloque digestor Kjeldahl.....	50
Fig. 15. Análisis estadístico de los datos.....	52
Fig. 16. Características morfológicas de líquen folioso (Modificado de Álvarez y Guzmán, 2009)	55



Fig. 17. Parmotrema sancti-angelii (Lyngé) Hale	56
Fig. 18. Relaciones inter-elementales de metales entre diferentes investigaciones	71
Fig. 19. Comparación de porcentaje de residuos en muestra de líquen lavada (4-L) y no lavada (4).....	72
Fig. 20. Concentración de metales en muestra de líquen lavada (4-L) y no lavada (4)	74
Fig. 21. Gráfico de Análisis de Varianza para Al	76
Fig. 22. Gráfico de Análisis de Varianza para Ba	78
Fig. 23. Gráfico de Análisis de Varianza para Co	79
Fig. 24. Gráfico de Análisis de Varianza para Cr	81
Fig. 25. Gráfico de Análisis de Varianza para Cu	82
Fig. 26. Gráfico de Análisis de Varianza para Hg	84
Fig. 27. Gráfico de Análisis de Varianza para Fe	86
Fig. 28. Gráfico de Análisis de Varianza para Mg	87
Fig. 29. Gráfico de Análisis de Varianza para Mn	89
Fig. 30. Gráfico de Análisis de Varianza para Ni.....	90
Fig. 31. Gráfico de Análisis de Varianza para Pb	92
Fig. 32. Gráfico de Análisis de Varianza para V	93
Fig. 33. Gráfico de Análisis de Varianza para Zn	95
Fig. 34. Gráfico de Análisis de Varianza para Ti	96
Fig. 35. Concentración de metales de PTS (Girón, 2008) y líquenes (presente trabajo)	98
Fig. 36. Análisis de conglomerados para metales	99
Fig. 37. Análisis de conglomerados para los puntos de muestreo.....	101
Fig. 38, Componentes principales para P. sancti angelii a 3 meses de exposición en 6 puntos (Axis 1 y 2).....	103
Fig. 39. Comparación del Factor de enriquecimiento de metales en líquen usando Ti, Fe y Al como referencia	104
Fig. 40. Factor de Enriquecimiento en el punto 3 para cada metal	106
Fig. 41. Factor de Enriquecimiento en el punto 3 para cada metal	106



INDICE DE TABLAS

Tabla 1. Composición química de la atmósfera terrestre	18
Tabla 2. Variables consideradas en el biomonitoreo durante la etapa de campo	43
Tabla 3. Humedad en muestras de líquenes estudiadas.....	57
Tabla 4. Comparación de porcentaje promedio de humedad en diferentes investigaciones	58
Tabla 5. Diferencia de concentración (mg/kg) en líquenes empleando distintos ácidos (3 réplicas)	60
Tabla 6. Masa y porcentaje de residuo en las muestras de liquen analizadas.....	62
Tabla 7. Masa y porcentaje de residuos en las muestras de suelo analizadas.....	64
Tabla 8. Valores certificados de metales en liquen CRM 482.....	65
Tabla 9. Concentración (mg/kg) de elementos certificados obtenidos en CRM-482 (3 réplicas).....	66
Tabla 10. Valores de concentración de elementos indicados en CRM-482	68
Tabla 11. Concentración (mg/kg) de metales en muestras de liquen por punto de muestreo (3 réplicas)	69
Tabla 12. Concentración (mg/kg) de metales en muestras de liquen por punto de muestreo (3 réplicas)	69
Tabla 13. Masa y porcentaje de residuo en muestra lavada (4-L) y no lavada (4)	72
Tabla 14. Concentración de metales en muestra lavada y no lavada (3 réplicas).....	73
Tabla 15. Resultados de Análisis de Varianza para Al	75
Tabla 16. Resultados de Análisis de Varianza para Ba	77
Tabla 17. Resultados de Análisis de Varianza para Co	79
Tabla 18. Resultados de Análisis de Varianza para Cr	80
Tabla 19. Resultados de Análisis de Varianza para Cu	82
Tabla 20. Resultados de Análisis de Varianza para Hg	83
Tabla 21. Resultados de Análisis de Varianza para Fe.....	85
Tabla 22. Resultados de Análisis de Varianza para Mg	87



Tabla 23. Resultados de Análisis de Varianza para Mn	88
Tabla 24. Resultados de Análisis de Varianza para Ni	90
Tabla 25. Resultados de Análisis de Varianza para Pb	91
Tabla 26. Resultados de Análisis de Varianza para V	93
Tabla 27. Resultados de Análisis de Varianza para Zn	94
Tabla 28. Resultados de Análisis de Varianza para Ti.....	96
Tabla 29. Correlaciones de metales determinados en líquenes trasplantados	97
Tabla 30. Componentes Principales de metales determinados en Parmotrema sancti angelii	102
Tabla 31. Factor de enriquecimiento en muestras de liquen de los puntos 3 y 5 utilizando Ti como referencia	105
Tabla 32. Factor de enriquecimiento en muestras de liquen de los puntos 3 y 5 utilizando Fe como referencia	105
Tabla 33. Factor de enriquecimiento en muestras de liquen de los puntos 3 y 5 utilizando Al como referencia	105



1. INTRODUCCIÓN

La contaminación atmosférica es un problema que ha venido incidiendo sobre los seres vivos y los ecosistemas naturales, trayendo consigo graves repercusiones sobre la salud del ser humano y sobre el ambiente. Dicha contaminación es principalmente originada por actividades urbanas (industriales, vehicular) y su propagación puede relacionarse con distintos factores de naturaleza económica y social tales como: derroche de recursos, insuficiencia de tecnologías para tratar las emisiones de los contaminantes, políticas desiguales de desarrollo, leyes y regulaciones que ignoran la exposición del ser humano a los daños ocasionados por la contaminación (Frers, 2006).

Como respuesta a esta problemática han surgido un gran número de investigaciones enfocadas a evaluar la calidad del aire en zonas urbanas tales como las ciudades e industrias. Dichas investigaciones, tradicionalmente, están basadas en la captación de partículas atmosféricas en sus distintos diámetros aerodinámicos (PTS, PM₁₀ y PM_{2.5}) mediante el uso de equipos succionadores de aire tales como el muestreador de aire de alto volumen, el dicótomo y el mini partisol. Estos equipos generan información válida sobre la calidad del aire; sin embargo, presentan limitaciones importantes, ya que son de muy alto costo y generan dificultad en llevar a cabo muestreos extensivos, en términos de espacio y tiempo (Szczepaniak y Biziuk, 2003).

A raíz de estas limitaciones, en las últimas décadas han empezado a implementarse métodos indirectos para monitorear la calidad del aire mediante el uso de organismos indicadores de contaminación, tales como los musgos, líquenes, bromeliáceas, cortezas de árboles, helechos y pastos (Figueiredo y col. 2007). De ellos, los líquenes están clasificados entre los mejores bioindicadores de la contaminación atmosférica ya que poseen un bajo costo, son organismos epífitos, captan sus nutrientes del aire, son bioacumuladores y tienen una amplia distribución geográfica (Garty, 2001). Además, la confiabilidad de los resultados producto de su empleo ha sido comprobada al compararlos con métodos directos tales como el muestreador de aire "GENT" (Costa y col. 2002). Estos organismos pueden captar especies contaminantes, tales



como los metales, amoníaco, fluoruros, cloruros, dióxido de azufre, dióxido de nitrógeno, ozono, dibenzodioxinas policloradas, dibenzofuranos policlorados, hidrocarburos clorados y los hidrocarburos aromáticos policíclicos (Conti y Cecchetti, 2001).

Los estudios de monitoreo de metales tóxicos (As, Al, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Hg, Mn, Ni, Pb, V, Zn) presentes en el aire son de gran importancia debido a que estos metales son capaces de producir un gran número de enfermedades o alteraciones patológicas que afectan a los seres humanos y además pueden perturbar a los ecosistemas naturales (Bermudez y col. 2009). Estos metales pueden provenir de diversas fuentes como procesos de fundición, extracción de minerales, industria metalúrgica, gestión de residuos, corrosión metálica, agricultura y ganadería, industria forestal y maderera, quema de combustibles fósiles (Domènech y Peral, 2006).

Entre estas fuentes, la industria es considerada como una fuente fija o estacionaria de emisión de contaminantes, ya que independientemente del proceso industrial que involucren, los compuestos lanzados a la atmósfera son variables (gases, partículas, cenizas) (Jiménez, 2002). La minería, específicamente, es una industria asociada con la extracción de recursos de la corteza terrestre y su ejecución puede traer consigo grandes repercusiones sobre el medio ambiente y los seres vivos (Manahan, 2007).

La población de Tiara (Edo. Aragua) está muy cercana a la empresa Minera Loma de Níquel C.A., la cual al explotar a cielo abierto el mineral garnierita (mena de níquel), provoca una alteración en la calidad del aire, convirtiéndose entonces en una posible fuente de contaminación fija. En esta población han sido identificadas algunas enfermedades que pudiesen relacionarse con los metales expelidos debido a los distintos procesos que maneja dicha industria, por lo que mediante la presente investigación podrán ser determinadas las concentraciones de metales tóxicos en el aire empleando a los líquenes como biomonitores. De esta manera podrá generarse información sobre el nivel de dichos metales en la zona y evaluar la aplicación de los líquenes como biomonitores de la calidad del aire en relación a fuentes fijas.



1.1 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

El uso de métodos directos para evaluar la calidad del aire de zonas particulares es actualmente una dificultad para muchos países, ya que los equipos utilizados para ello constituyen una inversión de recursos económicos elevada y, adicionalmente, estos equipos presentan limitaciones en lo relativo a tiempo y espacio en el muestreo, debido a que no suelen ser empleados en áreas de gran tamaño y es difícil contar con instrumentos para todos los puntos de muestreo.

El método de monitorear la calidad del aire con líquenes es una nueva técnica indirecta que genera información fiable sobre contaminantes en cualquier zona de interés, ya que pueden ser estudiados activa o pasivamente, es decir, trasplantando organismos “limpios” a zonas contaminadas o evaluando los individuos “indígenas” de una zona contaminada. Su alta sensibilidad a los contaminantes, además de su total dependencia del aire por ser organismos epífitos, entre otras características, los convierten en un excelente indicador de contaminación atmosférica.

Las sustancias contaminantes en la atmósfera, metales tóxicos en este caso, afectan al ser humano y a los ecosistemas naturales, ya que generan enfermedades y degradan al ambiente (fauna y flora). Las actividades industriales tales como la minería están actualmente reportadas como focos de contaminación estacionaria o fija, ya que, debido a los distintos procesos que manejan y a la falta de tecnologías limpias, suelen emitir contaminantes como por ejemplos los metales tóxicos.

La necesidad de caracterizar la calidad del aire en zonas cercanas a la empresa Minera Loma de Níquel C.A. usando técnicas atractivas en términos de metodología y costos (biomonitores) es lo que impulsa a esta investigación a realizarse, además de generar información sobre la presencia de contaminantes (metales) en la zona de estudio.



1.2 OBJETIVOS

1.2.1 *Objetivo General*

Evaluar la aplicación de líquenes como biomonitores de la calidad del aire en relación a fuentes fijas (Minera Loma de Níquel C.A)

1.2.2 *Objetivos Específicos*

- Diseñar un método de biomonitoreo activo que permita evaluar emisiones de metales provenientes de fuentes fijas (Minera Loma de Níquel)
- Validar la metodología de extracción de metales presentes en los líquenes provenientes de los alrededores de la población minera de Tiara.
- Determinar la concentración de metales en los líquenes utilizados y establecer su posible asociación con fuentes naturales o antrópicas mediante el estudio del factor de enriquecimiento.



2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

2.1 FUNDAMENTOS TEÓRICOS

A continuación se presentan una serie de conceptos y tópicos relacionados con el trabajo de investigación. Entenderlos y manejarlos permitirá desarrollar una mejor fluidez en la comprensión de este trabajo.

2.1.1 La atmósfera

Es la capa de gases que cubre a la superficie terrestre. En ella se concentran gases importantes para el desarrollo y sustento de la vida tales como el oxígeno, requerido para la respiración en los seres vivos; el dióxido de carbono, esencial para la fotosíntesis de las plantas; el nitrógeno, el cual las bacterias fijadoras de nitrógeno y las plantas productoras de amoníaco emplean para producir el nitrógeno enlazado químicamente (componente esencial de las moléculas de los seres vivos); y otros en menores concentraciones como el neón, helio, metano, kriptón, hidrógeno, xenón, ozono y varias cantidades de vapor de agua y partículas aerotransportadas (Schaefer y col., 1998). (Tabla 1)

Tabla 1. Composición química de la atmósfera terrestre

Composición de la Atmósfera	
Nitrógeno	78,08 %
Oxígeno	20,95 %
Argón	0,93 %
Dióxido de carbono	0,033 %
Neón, Helio, Kriptón, Xenón, Hidrógeno, Metano, Oxido Nitroso, Ozono, Amoníaco, Monóxido de Carbono, Dióxido de Azufre, Dióxido de Nitrógeno	0,003 %



La atmósfera puede dividirse en varias capas dependiendo básicamente de cambios de la temperatura, teniendo así: la troposfera, estratosfera, mesosfera, termosfera o ionosfera y exosfera (Fig. 1). Cada una de ellas es importante ya que en conjunto forman una capa protectora que hace posible la vida en la Tierra y la protege del ambiente hostil del espacio exterior (Manahan, 2001). De estas capas, la troposfera es de gran importancia; extendiéndose desde la superficie terrestre hasta aproximadamente 12 Km., concentra el vapor de agua y la mayor cantidad de gases, y también en ella son producidos los fenómenos meteorológicos. Al estar en contacto con la superficie terrestre, es la más susceptible a actividades antrópicas que pudiesen ocasionar problemas de contaminación atmosférica y consecuentemente, problemas de salud en seres humanos y daños a distintos hábitats.

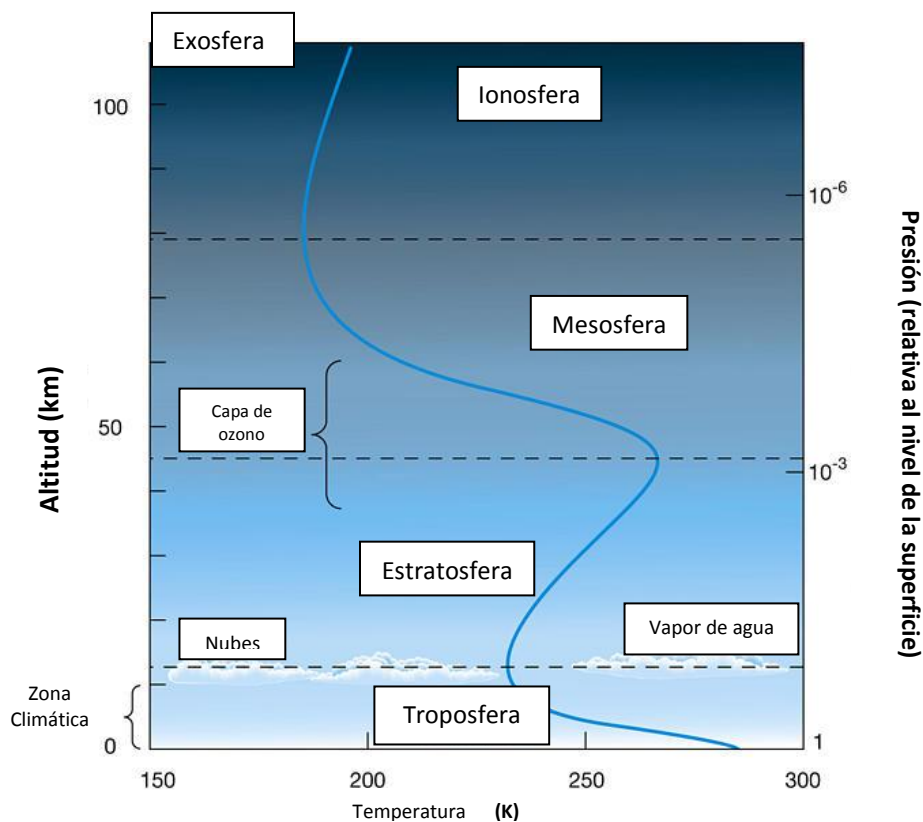


Fig. 1. Estratificación de la Atmósfera

(Modificado de http://physics.uoregon.edu/~jimbrau/BraulmNew/Chap07/FG07_02.jpg)



2.1.2 Contaminación

Es la liberación o introducción al ambiente de materia, en cualquiera de sus estados, que ocasione modificación al ambiente en su composición natural o la degrade (Ley Orgánica del Ambiente, 2006)

2.1.3 Contaminación atmosférica

Es definida como la presencia en el aire de materias o formas de energía que impliquen riesgo, daño o molestia grave para las personas y bienes de cualquier naturaleza. Esta contaminación puede deberse a gases, vapores, partículas sólidas o líquidas e incluso radiaciones. (Modificado de Martínez y Díaz, 2004).

Otra definición, emitida por la Organización Mundial de la Salud en 1980, establece que los contaminantes no solo pueden provocar daños al ser humano sino también a los animales, plantas o los materiales y perturbar el bienestar.

2.1.4 Contaminante

Es toda materia, energía o combinación de éstas, de origen natural o antrópico, que al liberarse o actuar sobre la atmósfera, agua, suelo, flora, fauna o cualquier otro elemento del ambiente, altere o modifique su composición natural o la degrade (Ley Orgánica del Ambiente, 2006). Estos contaminantes tienen una permanencia temporal, y pueden ser ajenos al ambiente atmosférico autóctono o poseer una concentración superior a las del mismo ambiente.

Algunas definiciones de los contaminantes le atribuyen la alteración del medio ambiente sólo a aquellas actividades de carácter antropogénico debido a que consideran a la naturaleza como un factor habitual. Sin embargo, en este trabajo la contaminación de origen natural es mostrada como un tipo de contaminante, ya que la misma puede producir modificaciones en la composición tolerable por los organismos y los ecosistemas.



2.1.5 Clasificación de los contaminantes

Existen diversas clasificaciones para los contaminantes, cada una tomando en cuenta un criterio diferente (Fig. 2):

Tomando en cuenta a la naturaleza como agente capaz de generar contaminantes, existe una clasificación de los mismos según su origen: **naturales** o **antropogénicos**. Los primeros son aquellos originados por fenómenos naturales en los cuales no interviene la actividad humana, como por ejemplo las erupciones volcánicas, los incendios forestales, producción de gases en pantanos y la diseminación de partículas por el viento. En cambio, los antropogénicos son todos aquellos derivados de las actividades humanas. (Miller, 2002)

Una clasificación para la contaminación antropogénica puede dividirse según el tipo de fuente:

- **Las fuentes fijas o estacionarias**, que, como su nombre lo indica, son focos estacionarios emisores de contaminantes. Entre ellas están las industrias, los vertederos o rellenos sanitarios, las fábricas, centrales termoeléctricas y estaciones de servicio.
- **Las fuentes móviles**, referidas a los emisores de contaminantes encontrados en movimiento. Ellas están relacionadas con maquinarias de transporte tales como vehículos, camiones y aviones.

Además, los contaminantes pueden clasificarse como primarios y secundarios, según sean arrojados a la atmósfera tal cual, o bien sean formados en ella por la presencia de diversos compuestos y a la acción de la luz solar (Jiménez, 2002). Siendo más objetivo, un **contaminante primario** es cualquier sustancia o producto químico nocivo que ha sido añadido directamente al aire por sucesos naturales o actividades humanas y tiene una concentración perniciosa; mientras que un **contaminante secundario** es aquella sustancia o producto químico formado en la atmósfera cuando un contaminante primario del aire reacciona con los componentes normales del aire y radiaciones incidentes o con otros contaminantes del aire (Miller, 2002).

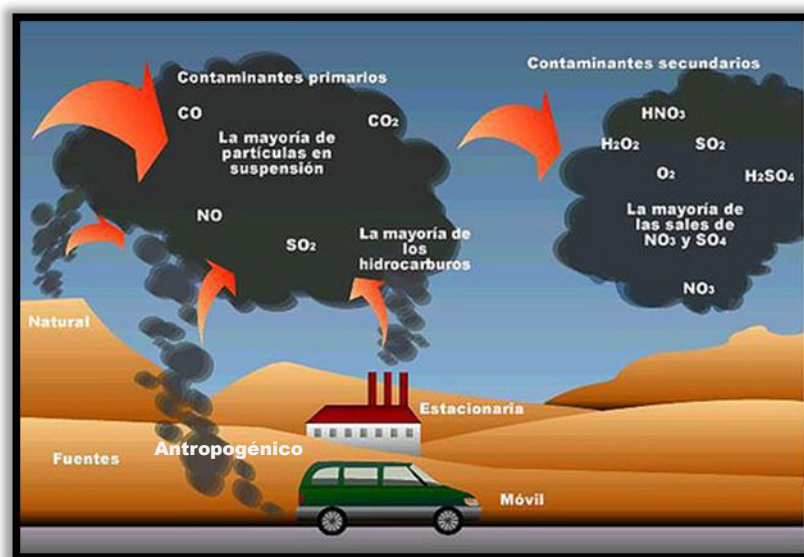


Fig. 2. Tipos de contaminantes
(Modificado de www.cma.gva.es)

2.1.6 Calidad del aire

Está determinada por su composición. Puede decirse que la calidad del aire es pobre o mala cuando las concentraciones de los contaminantes son altas, generando así reducción de la visibilidad, corrosión de materiales, daños a cultivos y efectos adversos en los ecosistemas naturales y en la salud del ser humano. Por el contrario, existe buena calidad del aire cuando no existen concentraciones elevadas de las sustancias contaminantes, evitándose de esta manera la expansión de efectos adversos al ser humano y al ambiente, como los descritos anteriormente.

2.1.7 Evaluación de la calidad del aire y métodos de monitoreo

Son todos aquellos procedimientos o metodologías diseñadas para determinar la composición del aire en una zona determinada y por un tiempo establecido. Comprende a las etapas de muestreo, análisis de contaminantes y la notificación de los resultados.



Los contaminantes más comúnmente estudiados para determinar la calidad del aire son: SO_2 , CO , NO_2 , O_3 , PTS y PM_{10} , ellos son denominados contaminantes criterio o convencionales. Entre los contaminantes no convencionales de mayor investigación están los metales como Pb , Cd , As , Zn , V y Hg ; y los compuestos orgánicos e inorgánicos tales como dioxinas, benceno, PAHs, NH_3 y H_2SO_4 . Todos estos contaminantes poseen concentraciones máximas permisibles en cada país, variando los niveles en cada uno de ellos debido a las tecnologías y los métodos de medida que los mismos utilizan. El propósito de legislar las concentraciones de los contaminantes es el de proteger al ambiente, al ser humano, los animales y las plantas.

Los equipos utilizados en Venezuela para evaluar y monitorear la calidad del aire son del tipo semiautomáticos. Estos estudios son coordinados actualmente por la Dirección General Sectorial de Calidad Ambiental del Ministerio del Poder Popular para el Ambiente, a través de la Dirección de Calidad del Aire, la cual opera la Red Nacional de Evaluación de Calidad del Aire desde 1981 en varios estados del país.

El equipo que manejan es el muestreador de alto volumen (Fig. 3), el cual capta una muestra cada 6 días por 24 ± 1 h. Este método tradicional está basado en succionar aire que posteriormente pasa a través de un filtro que captura las partículas de PTS , PM_{10} y $\text{PM}_{2,5}$ según sea el estudio a realizar. La concentración es determinada pesando cada filtro antes y después de la exposición al aire y se expresa en microgramos de partícula por metro cúbico de aire muestreado ($\mu\text{g}/\text{m}^3$).

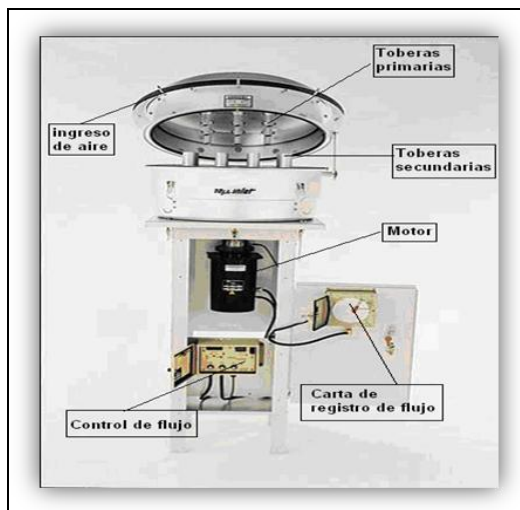


Fig. 3. Muestreador de alto volumen

Estos equipos generan información verídica sobre la calidad del aire; sin embargo, presentan limitaciones importantes ya que son de muy alto costo y presentan la dificultad de llevar a cabo muestreos extensivos, en términos de espacio y tiempo. Debido a esto, recientes investigaciones han estado enfocadas en la búsqueda de métodos alternativos para monitorear la calidad del aire, lo que ha sido logrado mediante el empleo de bioindicadores.

2.1.8 Biomonitorio

Consiste en el uso de organismos y materiales biológicos capaces de acumular sustancias particulares que pueden ser determinadas mediante métodos químicos, es decir, empleando bioacumuladores (Hawksworth y col. 2005). Por esta razón, pueden ser usados como indicadores de la biodisponibilidad de un contaminante específico en el tiempo, permitiendo así, en ciertos casos, comparar los niveles de contaminación en áreas geográficamente distintas (Conti y Cecchetti, 2001).

2.1.9 Biomonitores y bioindicadores

Un bioacumulador puede ser bioindicador o biomonitor de la calidad del aire. Hawksworth y col. (2005) presenta en su revisión a ambos términos: los bioindicadores son organismos cuyas



funciones vitales están relacionadas con efectos medioambientales, tanto naturales como antropogénicos, de tal manera que pueden ser utilizados para señalar la presencia de algunos de estos factores; mientras que los biomonitores son organismos, su distribución o población, estudiados a lo largo del tiempo y comparados con valores estándar, tomando en cuenta las desviaciones del comportamiento esperado.

Las principales características que debe poseer un bioacumulador, resumidas de Conti y Cecchetti (2001) y Pignata y col. (2008), son:

- Acumular el contaminante sin morir por los niveles con los que entra en contacto;
- Tener una amplia distribución geográfica;
- Ser abundante, sedentario o de escasa movilidad, así como también representativo del área de recolección;
- Estar disponible en cualquier época del año, con un número suficiente de individuos que permitan los análisis;
- Ser de fácil reconocimiento y recolección;
- Poseer un alto factor de concentración del contaminante y acumularlos por un tiempo prolongado;
- Poseer características morfológicas y anatómicas tales que permitan un muestreo rápido y una sencilla preparación de las muestras;
- Tener una correlación simple entre la cantidad de contaminante contenido en el organismo y el promedio de la concentración del contaminante en los ambientes circundantes; y
- Poseer el mismo nivel de correlación del contenido del contaminante con el entorno en cada sitio de estudio y bajo cualquier condición. Esto lo deben cumplir todos los organismos examinados.



Cabe destacar que otra característica deseable para un biomonitor de acumulación es que sean organismos epífitos, ya que estos dependen exclusivamente de la atmósfera para obtener los nutrientes necesarios para su desarrollo (Pignata y col. 2008).

Entre los organismos y biomateriales utilizados para evaluar contaminación del aire están: líquenes, algas, musgos, agujas de pino, pasto, hojas, helechos, anillos y cortezas de árboles (Figueiredo y col. 2007). De ellos, los líquenes son los más usados y, particularmente para el biomonitoreo de contaminación por metales pesados, se han realizado gran cantidad de investigaciones, además de los musgos y corteza de árboles desde los 1970s (Szczepaniak y Biziuk, 2003).

2.1.10 Líquenes

Los líquenes u “hongos liquenizados”, son organismos constituidos por una asociación entre dos organismos radicalmente diferentes: un hongo (micobionte), la mayoría de las veces un ascomiceto, y un microorganismo fotosintético, una cianobacteria o clorofita (fotobionte). De esa interacción es originado un talo estable con estructura, ecología y fisiología específicas diferentes a las que tienen los hongos o algas por separado (Moreno y col. 2007). La simbiosis consiste en que la fotosíntesis del alga provee al hongo los carbohidratos para producir la energía necesaria para su metabolismo, además de brindarle agua y sales minerales, y a cambio la estructura del talo – formada por hifas y micelio- le provee protección al alga reduciendo sustancialmente la intensidad luminosa a la cual el fotobionte está expuesto (Pignata y col. 2008) (Fig. 4).

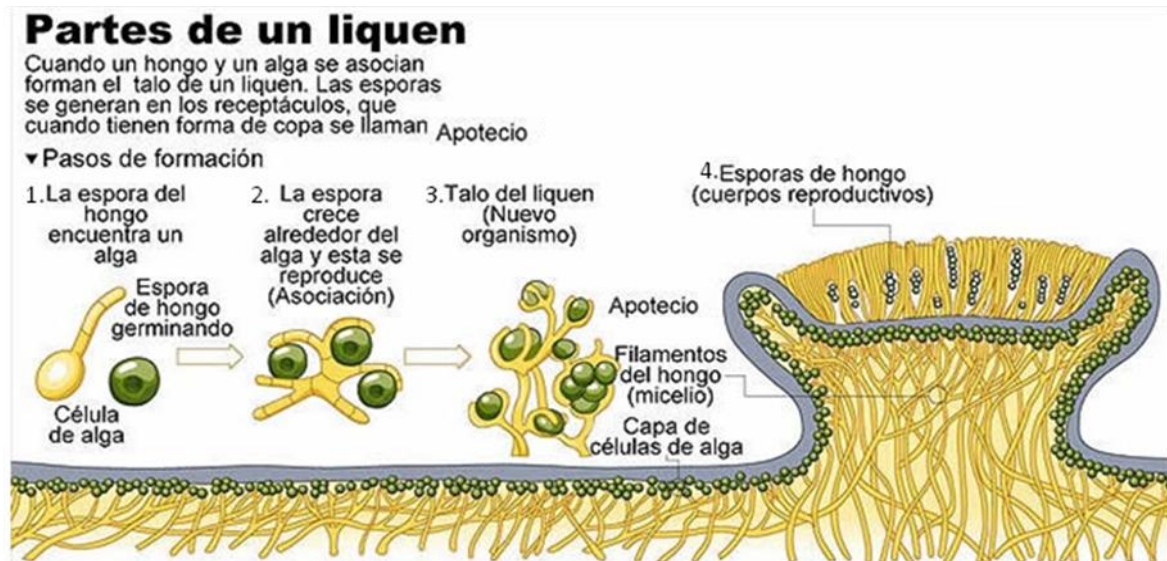


Fig. 4. Estructura y proceso de formación de un líquen
Modificado de (www.icarito.cl)

La morfología de los líquenes es definida por sus diferentes capas y la posición de estas en el talo, lo que está definido por el tipo de relación que establezcan ambas especies durante el mutualismo. De esta manera, existen tres formas principales como podemos encontrar a los líquenes: fruticulosos, foliáceos y crustáceos (Fig. 5)

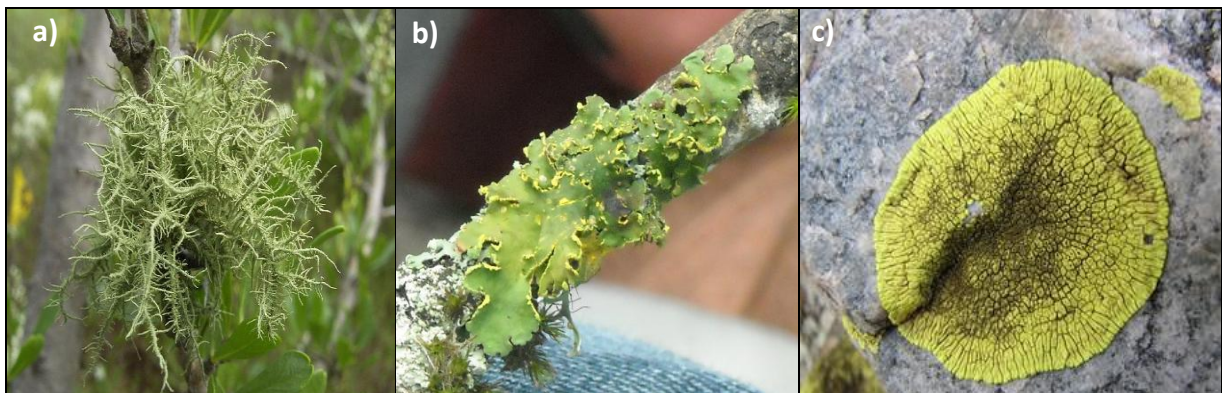


Fig. 5. Morfología de líquenes: a) Fruticuloso; b) Foliáceo y c) Crustáceo

Los líquenes fruticulosos parecen arbustos y sólo están adheridos al sustrato por una superficie de fijación reducida, pueden ser erectos, péndulos o extendidos; los foliáceos poseen forma hojosa, extendiéndose sobre el sustrato fijándose al mismo por un conjunto de ricinas (hifas



fijadoras); y los crustáceos están fuertemente adheridos al sustrato, incorporados total o parcialmente. Otras formas desprendidas de las mencionadas anteriormente son los escuamolosos (escamas), gelatinosos, filamentosos, mixtos, entre otros.

2.1.11 Líquenes como bioindicadores/biomonitores de la contaminación atmosférica

Los líquenes pueden ser utilizados como indicadores de la contaminación atmosférica debido a las siguientes características: (Pignata y col. 2008)

- Su amplia distribución geográfica, lo que posibilita la comparación de distintas regiones.
- No poseen una cutícula protectora ni raíz, por lo que absorben nutrientes y minerales del aire y junto con ellos los contaminantes.
- Son relativamente longevos, permaneciendo expuestos al efecto nocivo por largos períodos, por lo que proporcionan una imagen de estados crónicos y no de variaciones puntuales del medio ambiente.
- Son organismos perennes que no presentan variaciones morfológicas estacionales, pudiendo así ser muestreados durante todo el año.

Existen dos formas de usar a los líquenes como bioindicadores/biomonitores:

- 1) Mapeando todas las especies presentes en un área específica
- 2) A través del muestreo individual de especies de líquenes y midiendo la acumulación de un contaminante en el talo (monitoreo pasivo); o trasplantando líquenes desde un área no contaminada a una contaminada y midiendo luego los cambios morfológicos en el talo y/o evaluando parámetros fisiológicos y/o evaluando la capacidad bioacumuladora de un contaminante (monitoreo activo). Este método de trasplante puede realizarse con sustrato o sin sustrato (modificado de Conti y Cecchetti, 2001).



2.1.12 Mecanismos de captación de metales

La capacidad de acumulación de un metal depende de la disponibilidad del mismo y de las características de la especie de líquen, ya que diferentes especies muestran diferente grado de sensibilidad a todos los contaminantes atmosféricos. Incluso distintas especies de un mismo género pueden tener patrones de acumulación muy disímiles. Debido a esto, no todas las especies son apropiadas para ser empleadas como bioindicadores de la calidad atmosférica (Pignata y col. 2008).

En general, los líquenes foliosos muestran mayores niveles de acumulación que los talos fruticosos o fruticulosos debido a que la presencia de cilios (apéndice filiforme), isidios (protuberancia del talo) o rugosidades incrementan la eficiencia de captación de partículas. (Conti y Cecchetti, 2001; Pignata y col. 2008)

El principal mecanismo de incorporación y acumulación de metales y elementos traza en los líquenes es mediante el intercambio catiónico (Fig. 6). Mediante este proceso, los iones son fijados en la superficie externa del talo, donde existen grupos aniónicos fijados como los ácidos carboxílicos o hidroxicarboxílicos, hidroxilos, fosfatos, aminos o sulfhidrilos. Los iones entrantes desplazan a los iones H^+ o a otros iones metálicos con menor afinidad por los sitios de intercambio sobre o dentro de la pared celular. La capacidad total de captación está entonces limitada por la capacidad de intercambio iónico total de las paredes celulares. Cabe destacar que este proceso es rápido (Garty, 2001).

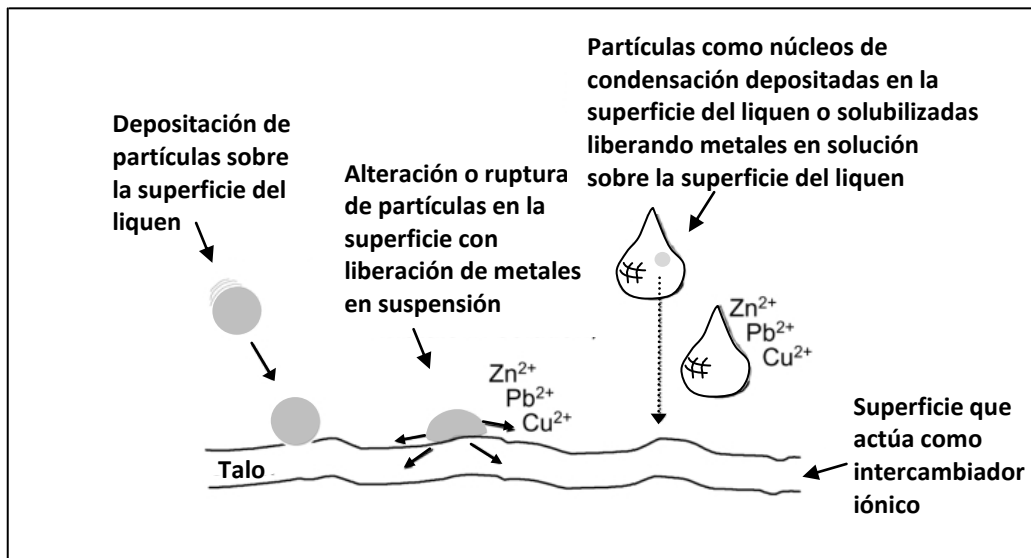


Fig. 6. Mecanismos de incorporación de metales en el líquen (Modificado de Williamson y col. 2004)

La captación de metales a nivel intracelular es un proceso más lento que aumenta con el tiempo y está correlacionado con la concentración de cationes unidos a los sitios de intercambio de la pared celular (Garty, 2001; Pignata y col. 2008).

2.1.13 *Parmotrema sp.* como bioindicador/biomonitor de contaminación atmosférica

Las características morfológicas: presencia de cilios, isidios y talo folioso; su abundancia en zonas de baja contaminación en Caracas como la Universidad Simón Bolívar (USB), así como también su presencia en la zona de estudio, aunque muy poco, hacen de este género una especie ideal para realizar esta investigación. Además, existen casos de estudios a nivel internacional y nacional que emplean dicho género en países tropicales y subtropicales como Argentina, China, Japón, Estados Unidos, Costa Rica, Islas Galapagos, México (Garty, 2001; Hawksworth y col. 2005; Vergara y col. 2005).



3. ANTECEDENTES

Las observaciones del decrecimiento de las comunidades de líquenes, por posiblemente efectos de la contaminación, han sido documentadas desde hace más de 200 años cuando Erasmus Darwin notó que la abundancia de los mismos disminuyó alrededor de una mina de cobre en las montañas de París (Nimis y col. 2002). Sin embargo, es en el año 1866 cuando son reconocidos los organismos como posibles bioindicadores de contaminación. En este año, Nylander midió los efectos de la contaminación del aire utilizando la abundancia de los líquenes. Otros organismos y materiales indicadores de contaminación atmosférica han sido propuestos desde hace más de 30 años para biomonitorear la calidad del aire; ellos comprenden a las algas, musgos, agujas de pino, pasto, hojas, helechos, anillos y cortezas de árboles (Figueiredo y col. 2007)

A pesar de haberse reconocido a los líquenes como bioindicadores de contaminación, fue en 1960 -al ser identificado el dióxido de azufre (SO_2) como el factor principal que influencia el crecimiento, distribución y salud de los líquenes- cuando ocurrió un crecimiento exponencial de los estudios que utilizaban los líquenes como biomonitores, teniéndose hoy en día más de 2.500 trabajos publicados sobre este tema, incluyendo varios (Hawksworth y col. 2005).

Actualmente, no sólo el dióxido de azufre puede ser detectado y monitoreado empleando líquenes, sino también otros compuestos contaminantes tales como: amoníaco, fluoruros, cloruros, ozono, dióxido de nitrógeno, dibenzodioxinas policloradas, dibenzofuranos policlorados, metales y metales radioactivos, hidrocarburos clorados, hidrocarburos aromáticos policíclicos, así como algunos procesos generados por contaminación como la eutrofización y la lluvia ácida. También, además de funcionar como bioindicadores de lectura inmediata de la contaminación medioambiental, tienen un importante papel como indicadores de cambios climáticos y de la estabilización del suelo (Hawksworth y col. 2005; Conti y Cecchetti, 2001).



Muchas han sido las investigaciones dirigidas al estudio de contaminación por metales empleando líquenes, sean como bioindicadores o biomonitores, sin embargo son pocas las relacionadas a fuentes fijas como la actividad minera:

Bargagli y col. (2002) realizaron un estudio comparativo entre líquenes (*Parmelia caperata*) y musgos (*Hypnum cupressiforme*) como biomonitores de metales traza en un ex-distrito minero en Italia, en el cual explotaron intensivamente sulfuros y en donde actualmente opera una fuente geotermal. Ellos determinaron que los líquenes epífitos acumularon mayores concentraciones de elementos atmófilos que los musgos epigeos, que estaban enriquecidos en elementos litófilos, en una región con amplia fuente natural y antropogénica de metales (Colina Metalífera), llegando a la conclusión de que estos organismos no pueden ser utilizados indistintamente como biomonitores de metales en las áreas con yacimientos minerales debido a que presentan distintas características morfológicas y ecofisiológicas que así lo establecen. Los intervalos de concentración ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$) obtenidos en los líquenes para algunos metales son: Al (216-2333); As (0,10-0,23); Cd (0,06-0,69); Cr (0,59-5,10); Cu (3,83-8,60); Ni (0,97-7,78); Pb (0,65-10,6) y Zn (25,8-56,8).

Por otro lado, Purvis y col. (2003) llevaron a cabo un biomonitoreo con líquenes nativos y trasplantados en el pueblo de Karabash en los Montes Urales, Rusia. Esta zona está calificada como una de las más contaminadas del mundo debido a los trabajos de fundición de cobre, minas abandonadas y vertederos de desechos metalíferos que en ella yacen. Los líquenes trasplantados (*Hypogymnia physodes*) fueron situados a lo largo de una transecta de 60 Km centrada en Karabash y posteriormente recolectados luego de 2 y 3 meses junto a líquenes nativos de la misma especie. Cabe destacar la ausencia de líquen *in situ* a una distancia de 16,5 Km desde el pueblo. De las muestras expuestas durante 3 meses, los niveles de concentración (%) obtenidos en la zona cercana a la fundidora fueron: Fe (0,466); Zn (>0,27); Cu (0,22); S (0,233) y Pb (0,12); y en menor proporción ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$) Al (894); As, Ba, Sn, Ti, Cd, Sb (10-100); V, Se, Ga, Mo, Te, Bi (1-10) y Co, Ge, Li, Th y U (< 1). Las concentraciones de metales determinadas



decrecen curvilíneamente desde el área de Karabash por lo que ellos sugieren que las emisiones de fundición o los polvos asociados a los vertederos mineros son la fuente de los mismos. Además, pudieron observar mayor acumulación de metales hacia el suroeste, lo que corresponde con la predominancia de los vientos en la región.

Del mismo modo, Rusu y col. (2006) llevaron a cabo un estudio de biomonitoreo en Rumania empleando líquenes (*Hypogymnia physodes*) y cortezas de árbol inmediatamente luego del cierre de una planta procesadora de mineral de cobre. Desarrollaron un monitoreo activo por un tiempo de 3 meses a lo largo de una transecta de 40 Km centrada en el vertedero de desechos de la mina, obteniendo que a pesar de haber establecido dicha transecta luego de 2 semanas de haber cerrado la planta, los patrones espaciales de las concentraciones de Cu, Pb, Zn, Fe, Ba y S confirmaban la deposición de los mismos a corto y largo plazo. Las concentraciones de estos elementos ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$) en las muestras de líquenes oscilaban entre: Cu (15-87); Pb (78-344); Zn (84-121); Fe (871-1061); Ba (14-20) y S (1084-1198).

Nyarko y col. (2006) ejecutaron un biomonitoreo pasivo por 18 meses de la deposición atmosférica de elementos traza alrededor de un pueblo industrial en Ghana usando el liquen *Parmelia Sulcata*. También analizaron muestras de suelo para obtener la acumulación superficial de los metales pesados. De esta manera, y utilizando el factor de enriquecimiento para distinguir contribuciones desde el suelo o desde el aire, lograron observar que elementos como Cr, Mn, Ti, V, Th y Fe estuvieron significativamente enriquecidos en el liquen, mostrando claramente la fuente antropogénica. Adicionalmente obtuvieron mayores concentraciones de dichos metales a distancias menores de la fuente fija. Estas concentraciones, expresadas en $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ para cada elemento, variaban entre: Cr (6,63-23,50); Fe (2250-14230); Mn (65-610); Th (0,58-1,80); Ti (595-1850) y V (5,10-39).

Posteriormente, Johansen y col (2008) hicieron una compilación de información sobre el impacto ambiental debido a una mina de Pb y Zn que laboró desde 1956 hasta 1963 en Mestervig, al Este de Groenlandia. Esta reseña muestra estudios realizados en diferentes años



donde fueron empleadas muestras de sedimentos, aguas, líquenes, algas, peces y bivalvos. Específicamente los líquenes (*Cetraria nevalis*) fueron muestreados en los años 1979 y 2001 encontrando en ambos casos altas concentraciones de Pb y Zn hasta distancias mayores de 10 km desde la mina, demostrando así el transporte de estos metales por partículas en el aire a través del tiempo. Para el año 1979, las concentraciones de Pb y Zn alcanzaron $500 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ y $130 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ respectivamente, mientras que para el año 2001, fueron de $215 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ de Pb y $150 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ de Zn.

Johansen y col. (2008) realizaron un estudio ambiental alrededor de una mina de Pb y Zn en Maarmorilik, al NorAESTe de Groenlandia. Esta mina estuvo activa desde 1973 hasta 1990. A través de un muestreo pasivo durante el año 2007 pudieron determinar que luego de 17 años del cierre de la mina, aún existen fuentes de contaminación en el área, siendo la más importante los vertederos de escombros de rocas. Los niveles de concentración máximos encontrados fueron: Pb ($293,45 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$) y Zn ($133,6 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)

En el mismo año fue realizado un informe técnico por Naeth y Wilkinson (2008) en el cual evaluaron a los líquenes como biomonitores de la calidad del aire alrededor de una mina de diamante en Canadá. Ellos usaron 3 especies distintas de líquenes: *Flavocetraria nivalis*, *Flavocetraria cucullata* y *Cladina arbuscula*, situados inmediatamente adyacentes a la mina, en todos los puntos cardinales. Además, ubicaron muestras a 30 y 60 Km. al SE y NE de la mina. Conjuntamente con los líquenes, también analizaron muestras de suelo y sus investigaciones comprendieron elementos mayoritarios y traza, sulfato, nitrato, amonio, hidrocarburos aromáticos policíclicos y ftalatos. Sus resultados en cuanto a metales en líquenes muestran altas concentraciones de Al, Cr, Cu, Fe, Ni, Ti y V en todas las direcciones, con una reducción hasta los niveles base a partir de 30 Km. Estos metales están relacionados con la extracción de kimberlitas. Las concentraciones de algunos de estos metales, expresadas en $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$, oscilaban entre especies como son descritas a continuación: Al (1126-4356); Cr (4,23-12); Cu (1,59-2,55); Pb (1,45-5,24); Co (0,86-2,45) y Zn (30-168).



De la misma manera, Asmund y col. (2009) hicieron un estudio de monitoreo y línea base en una mina de olivino en Seqi, Groenlandia durante los años 2004 a 2007. Su estudio comprendió mejillones azules, algas, líquenes, sedimentos marinos, estudio de peces y observaciones de aves. El propósito que ellos plantearon con el estudio de líquenes (*Cetraria nivalis*) fue el de establecer la línea base entre los años 2004 y 2005 antes de la apertura de la mina, además de determinar cómo afectaba la minería de prueba y la minería intensiva durante los años 2006 y 2007 respectivamente, al ambiente. Sus resultados muestran un aumento significativo en metales relacionados al olivino: Ni, Co, Cr y Fe pero sólo a distancias menores de 2 Km. Las concentraciones ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$) de los mismos para el año 2007, correspondiente a la minería intensiva, fueron: Ni (2,38-20,83); Co (0,229-1,183); Cr (1,225-9,912) y Fe (138-578).

Søndergaard y col (2009) también realizaron un monitoreo ambiental de la mina de olivino en Seqi, Groenlandia. La investigación fue realizada durante los años 2008 y 2009 empleando musgos, algas, líquenes y peces con la finalidad de monitorear anualmente el impacto de la actividad minera sobre la biota. De esta manera lograron determinar elevadas concentraciones de algunos elementos, principalmente níquel (Ni) y cromo (Cr), en líquenes (*Cetraria nivalis*) hasta una distancia de 8 km de la mina, indicando así una importante propagación de polvo asociado a la actividad minera en comparación a los años anteriores donde Asmund y col (2009) sólo lograron determinar altas concentraciones hasta 2 km de la mina. Además, pudieron relacionar la distancia de propagación de polvo mineral con el crecimiento en la intensidad de la actividad minera. En los puntos más cercanos a la mina, las concentraciones para Ni y Cr alcanzaron $96 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ y $45 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ respectivamente.

Durante el año 2009, Johansen y col (2010) llevaron a cabo nuevamente un monitoreo ambiental en la mina de Zn y Pb en Maarmorilik, Groenlandia. El estudio fue realizado con líquenes (*Cetraria nevalis*) y mejillones azules. Varias fuentes de contaminación y dispersión de polvo mineral fueron definidas: los procesos de disgregación y transporte desde la mena, los vertederos de escombros de rocas y las minas de relave. Los líquenes empleados fueron



trasplantados en el año 2008 desde una zona de referencia hasta ciertos puntos cerca de Maarmorilik, mostrando un incremento en las concentraciones de Pb y Zn durante el año 2009 hasta distancias de 12 km. Los niveles de Pb y Zn más altos estaban situados dentro de la mina y alcanzaron concentraciones de $1102,90 \mu\text{g.g}^{-1}$ y $971,5 \mu\text{g.g}^{-1}$ respectivamente.

Al sur de Groenlandia, específicamente en la mina de oro de Nalunaq, también ha habido una serie de estudios de monitoreo ambiental a partir de la inauguración de la mina en el año 2004, empleando para ello la biota de la zona, entre ellos los líquenes (*Cetraria nivalis*). Las investigaciones han sido dirigidas por Glahder y col. (2005; 2008; 2009; 2010). Durante el año 2004 Glahder y col (2005) recolectaron líquenes en 20 estaciones alrededor de la mina consiguiendo concentraciones (mg.kg^{-1}) elevadas desde 3 hasta 9 veces por encima de los niveles de fondo para los siguientes metales: Cu (0,69-6,43); Cr (0,253-3,243); As (0,07-5,65); Co (0,079-1,527). Posteriormente, en el año 2007 Glahder y col (2008) realizaron un monitoreo en el área de minería usando el mismo líquen (*Cetraria nivalis*) logrando determinar nuevamente altas concentraciones (mg.kg^{-1}) para los mismos metales, esta vez en órdenes de hasta 5 a 20 veces por encima del valor de fondo: Cu (0,32-8,46); Cr (0,134-5,118); As (0,05-6,37); Co (0,071-2,316). De la misma manera, en el año 2008 fue realizada dicha investigación en los mismos puntos de muestreo y con los mismos organismos por Glahder y col (2009). Los resultados en líquenes muestran esta vez valores de concentración (mg.kg^{-1}) de 4 a 19 veces más altos que los referidos como valores de fondo para los mismos metales: Cu (0,27-8,74); Cr (0,195-5,374); As (0,09-11,23); Co (0,051-2,129). Finalmente, el último estudio realizado en esta zona por Glahder y col (2010) fue ejecutado durante el año 2009 utilizando la misma metodología de los años previos. Los resultados determinados en las muestras de líquen siguen alcanzando concentraciones (mg.kg^{-1}) anómalas para los mismos elementos, sin embargo esta vez en órdenes de magnitud menores: Cu (0,51-5,61); Cr (0,138-3,423); As (0,18-5,11); Co (0,15-1,63).

Más recientemente, Boamponsem y col (2010) realizaron una evaluación de la deposición atmosférica de metales pesados en un área de minería de oro en Ghana usando el líquen epífito



Parmelia sulcata. Ellos llevaron a cabo un muestreo pasivo durante 5 meses en diez puntos dentro de la zona de estudio, recolectando así una muestra en cada punto mensualmente. Además, tomaron muestras de una zona no contaminada (University of Cape Coast) considerando a las mismas como muestras control. Las concentraciones obtenidas ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$) reveladas para los metales fueron: Sb (0,78-10,35); Al (8,38-69,55); As (0,25-8,00); Cd (0,38-1,41); Cu (0,26-370); Co (0,87-6,13); Hg (0,16-1,24); Mn (37,1-1097); Th (0,01-0,21) y V (1,53-27,24), siguiendo el siguiente orden de decrecimiento de aporte por la mina de oro: Sb > Th > As > Hg > Cd > Co > Cu > Al > Mn > V.

Los trabajos descritos anteriormente han sido desarrollados en su mayoría en países de climas templados. Sin embargo, a nivel de los trópicos no han sido realizados muchos estudios con organismos o biomateriales indicadores de contaminación ambiental. No obstante, la alta biodiversidad liquenácea permite inferir un gran potencial para emplear a los mismos como bioindicadores de contaminación en estas regiones (Hawskworth y col. 2005).

Vareschi (1953) fue el primero en explorar estos estudios en un país tropical. Él mapeó las comunidades de líquenes en la ciudad de Caracas-Venezuela logrando distinguir una zona desértica de líquenes, una zona interna y externa de conflicto, y una zona de vitalidad sana y fértil de estas comunidades. Sin embargo, no fue hasta 1973 cuando logró correlacionar la presencia de estos organismos con niveles de contaminación para dicha área geográfica (Vareschi y Moreno, 1973).

Otras investigaciones han sido ejecutadas en zonas tropicales y sub-tropicales como Brasil (Figueiredo y col. 2007), México (Aspiazu y col. 2007), Argentina (Bernasconi y col. 2000; Bermúdez y col. 2009), Perú (Bedregal y col. 2004), China (Zhang y col. 2002) y otros países. Algunas de estas, y otras investigaciones para cada país, son resumidas en la revisión realizada por Hawskworth y col. (2005). En cada una de estas evaluaron la contaminación del aire enfocándose en áreas urbanas-industriales mediante el uso de líquenes y tillandsias para



determinar concentraciones de metales, llegando en todos a la conclusión de que dichos organismos pueden ser propuestos como biomonitores de la calidad del aire.

En Venezuela, además del trabajo de Vareschi y Moreno (Vareschi, 1953; Vareschi y Moreno, 1973), han sido realizados otros estudios en donde emplean líquenes y/o tillandsias como bioindicadores de contaminación del aire, pero todos están relacionados con fuentes móviles, siendo el presente trabajo de investigación el primero en este país relacionado a fuentes fijas.

Hawsksworth y col. (2005) en su revisión indican que Bretschneider y Marcano (1995) utilizaron líquenes como indicadores de contaminación causada por metales pesados y otros agentes en el Valle de Mérida. En el mismo año, Gordon y col. (1995) emplearon al liquen *Parmotrema madagascariaceum* como bioindicador de aportes de metal en las atmósferas de dos bosques en el Valle de Caracas: Altos de Pipe y Parque Nacional El Avila. Ellos realizaron monitoreos de tipo activo (6 a 10 meses) y pasivo obteniendo que en los líquenes trasplantados las concentraciones de Pb y Zn reflejaban un aumento significativo a los pocos meses. Las concentraciones de Pb y Zn alcanzaron los valores de $190 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ y $80 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ respectivamente en las muestras trasplantadas. Adicionalmente realizaron una comparación entre líquenes trasplantados usando mallas de nylon y los líquenes trasplantados sin ellas observando que al usar dichas mallas, las concentraciones disminuían significativamente para Pb y Zn. También determinaron mediante el estudio del factor de enriquecimiento que los elementos Pb, B, S y Zn provenían de fuentes antropogénicas.

Posteriormente, Quijada (2006) también realizó un estudio de contaminación por metales pesados en la Ciudad de Caracas, usando dos géneros de líquenes distintos como biomonitores: *Ramalina sp.* el cual le permitió observar la acumulación de contaminantes por los líquenes; y *Pyxine sp.*, con quien logró determinar la variabilidad de los contaminantes en la ciudad a lo largo de una transecta. Las concentraciones obtenidas ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$) variaban para cada metal de la siguiente manera: Cr (6,58-31,60); Cd (1,60-6,28); Cu (8,37-57,78); Pb (107,59-777,14); Ni (9,40-20,23); V (4,30-22,82) y Zn (48,27-271,96).



De la misma manera, Díaz (2008) utilizó dos géneros de líquenes distintos para biomonitorizar contaminación por metales pesados en algunas localidades de la Ciudad de Caracas: *Parmotrema sp.* y *Physcia sp.* Esto fue realizado a través de un monitoreo activo llevado a cabo por 3 y 6 meses, demostrando así que el primero de dichos organismos tuvo mayor capacidad acumuladora de metales. Sus resultados para las muestras de 3 meses de *Parmotrema sp.* pueden resumirse en concentraciones ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$) que variaban como se muestra a continuación: Cd (2-26); Cr (34-207); Cu (216-877); Ni (33-214); Pb (230-899); V (9-31) y Zn (2217-1373).

Argüello (2009) realizó un biomonitoreo pasivo durante el año 2008 en la ciudad de Caracas a lo largo de una transecta entre quebrada Quintero en El Ávila y Plaza Altamira, con el fin de evaluar la distribución de metales pesados empleando líquenes y tillandsias como especies acumuladoras. Sus resultados muestran que los líquenes *Pyxine sp.* son más eficientes en la acumulación de Ni, Pb y V, mientras que las *Tillandsia recurvata* reflejan ser más eficientes en la acumulación de Zn y Cr. Las concentraciones de los metales, expresadas como $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$, varían entre: Cr (10,93-40,33); Cu (19,95-70,77); Ni (4,70-45,26); Pb (112,44-760,71); V (4,20-15,46) y Zn (81,89-287,60).

En lo que respecta a la localidad de estudio seleccionada para llevar a cabo esta investigación, sólo ha sido realizado un trabajo sobre partículas atmosféricas en la localidad de Tiara, llevado a cabo durante los años 2006 y 2008 por Girón (2009). Su estudio estuvo basado en evaluar la concentración y composición química de las partículas totales suspendidas (PTS) y las partículas de diámetro aerodinámico menor de $10\ \mu\text{m}$ (PM_{10}) utilizando equipos de alto volumen y filtros de celulosa. Sus resultados permiten clasificar a la zona como de "aire limpio", ya que las concentraciones promedio de PTS y PM_{10} son menores que las dictaminadas por la normativa ambiental venezolana y a las recomendadas por la Organización Mundial de la Salud, para cada caso. En relación a la composición química, específicamente de los metales traza, logró determinar Al, Ba, Co, Cr, Cu, Mn, Ni, Pb, V y Zn, predominantemente en las PTS, con



concentraciones mayores para Al, Cu, Ni y Zn en el orden de $0,26-3,77 \mu\text{g.m}^{-3}$; $5,4-530,1 \text{ ng.m}^{-3}$ y $1,1-575,8 \text{ ng.m}^{-3}$ y $0,2-432 \text{ ng.m}^{-3}$ respectivamente.

Es importante destacar que en los trabajos descritos anteriormente utilizan principalmente como herramientas estadísticas para el análisis de sus resultados las pruebas de ANOVA, análisis de conglomerados (clúster), análisis de componentes principales (ACP), análisis de correlación, entre otros.



4. ÁREA DE ESTUDIO

La población de Tiara está ubicada en el municipio Santos Michelena del Estado Aragua, a unos 20 Km al sur de Las Tejerías, (Fig. 7). Entre las características de la zona están la presencia de suelos muy fértiles para la producción agrícola en las áreas montañosas, y muy productivos en el subsuelo para la explotación minera; un clima tropical húmedo caracterizado por la alternancia de períodos: lluvioso y seco; una vegetación variada de bosque nublado hasta pastizales; humedad relativa media anual de 70%; temperatura media anual de 26°C; evaporación media anual de 2300 mm; alturas entre 700 y 1000 m.s.n.m.; precipitación media anual de 1406 mm; y direcciones dominantes de vientos hacia el oeste – suroeste (Birbe, 2009; Girón, 2009).

La explotación del yacimiento en esta zona (Loma de Hierro) es realizado a cielo abierto con un método de excavaciones por terrazas con una altura aproximada de 5 m y ángulos máximos de taludes de 34 grados (Birbe, 2009). El yacimiento forma un cuerpo continuo extendido por unos 21 km de distancia en dirección N70°E desde unos 4 km al oeste de la población de Tiara, hasta las proximidades de Tácata, con una anchura variable entre 1 y 5 km (Lavie, 1967).



Fig. 7. Ubicación de la zona de estudios (Silvana, 2001)



4.1 Consideraciones geológicas

La litología de la zona está caracterizada por el complejo ofiolítico Loma de Hierro y la Formación Tiara, ambas de edad Cretácica (Léxico Estratigráfico de Venezuela, 2009).

4.1.1 Complejo Ofiolítico Loma de Hierro

Según Birbe (2009), este complejo peridotítico está constituido principalmente por rocas de tipo harzburgita con espinela, de color negro a verdoso, dependiendo esto del grado de serpentización; y en menor proporción por gabro olivínico cumulativo (crescumulado de piroxeno y olivino con heteroadcumulado de plagioclasa). La peridotita está constituida de porfidoclastos de ortopiroxeno-bastita en una matriz olivínica alterada a serpentina y oxihidróxidos de hierro, con minerales del grupo de la espinela como accesorios (opacos y Cr-espinela); el gabro está constituido por plagioclasa cálcica alterada (saussuritizada), clinopiroxeno (diópsido) y olivino, de grano medio a fino, dispuestos en forma estratiforme, serpentizados y cloritizados, con minerales opacos como accesorios.

Quizás la expresión más característica de esta unidad es la fila de Loma de Hierro, donde sobre la peridotita serpentizada se ha formado una cobertura de laterita níquelífera producto de meteorización, que en algunos lugares tiene gruesas capas de moco de hierro. (Léxico Estratigráfico de Venezuela, 2009).

4.1.2 Formación Tiara

Esta formación representa una secuencia de diabasa, diques de microgabro y basalto con muy bajo grado de metamorfismo; además existe presencia de metabrechas volcánicas con fragmentos constitutivos de gabro y rocas volcánicas. (Léxico Estratigráfico de Venezuela, 2009)



4.2 Variables a considerar durante la etapa de campo

Las variables a considerar durante la etapa de campo del biomonitoreo son presentadas en la Tabla 2.

Tabla 2. Variables consideradas en el biomonitoreo durante la etapa de campo

Variable	Tipo de variable
Concentración de metales en el líquen <i>Parmotrema sancti angelii</i> (Lynge) Hale	Dependiente
Ubicación de las muestras	Independiente
Altura de la ubicación de las muestras	Independiente
Dirección del viento	Independiente

4.3 Hipótesis

4.3.1 Hipótesis alternativa

Las mayores concentraciones de metales tóxicos se localizarán en los puntos de la transecta más cercanos a la mina, mientras que las menores concentraciones en los puntos más lejanos.

4.3.2 Hipótesis nula

No existe variación en las concentraciones de metales tóxicos a lo largo de la transecta.



5. METODOLOGÍA EXPERIMENTAL

5.1 Etapa de campo

5.1.1 Diseño del muestreo

Cinco sitios fueron ubicados en los alrededores de la Minera Loma de Níquel C.A., cuatro de ellos a lo largo de una transecta centrada en la mina: dos al NE y dos al SO, y un quinto punto ubicado a aproximadamente 10 Km al SO de la mina (Fig. 8). Este último se estableció con el fin de determinar la influencia de los vientos y la topografía en la dispersión de las partículas que contienen a los metales a evaluar.

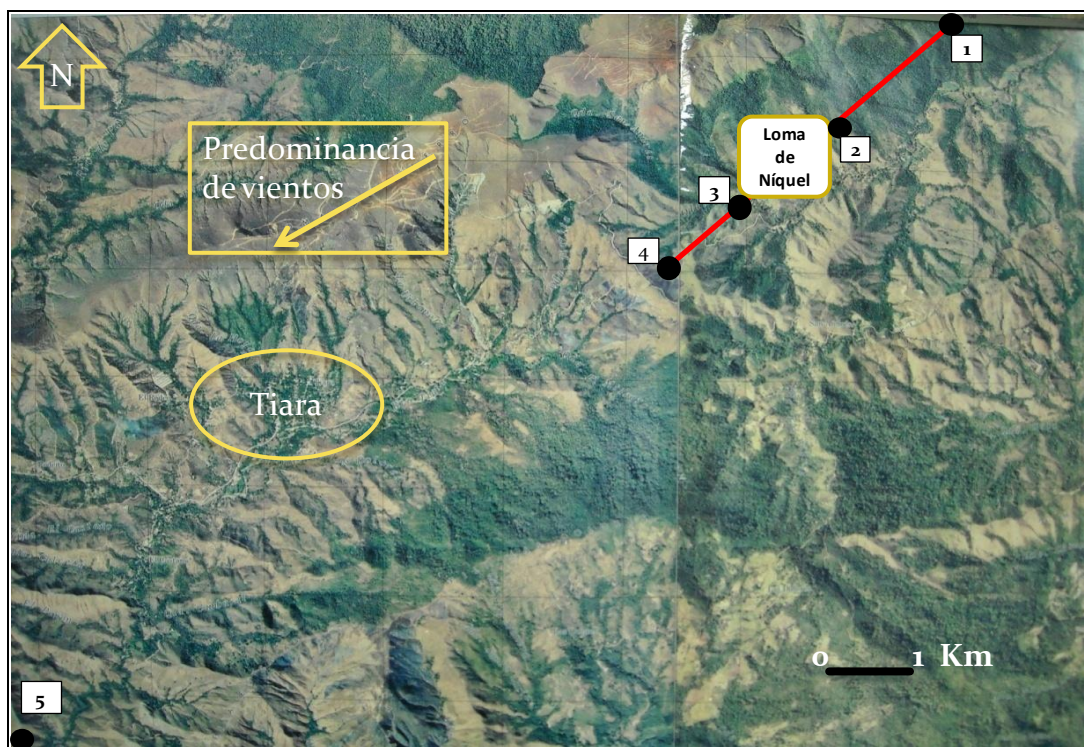


Fig. 8. Puntos de muestreo

Los puntos de muestreo fueron fijados por la carretera de la localidad y su ubicación fue definida según la disponibilidad de árboles en espacios abiertos con vista hacia la mina. (Fig. 9)



Fig. 9. Vistas hacia la mina desde los puntos (3 y 5)

Para cada punto de muestreo fueron utilizadas muestras compuestas. Estas estaban constituidas por tres sub-muestras que yacían en diferentes árboles.

5.1.2 Muestreo de líquenes

El muestreo realizado fue de tipo activo: las muestras fueron recolectadas el 18 de diciembre de 2009 en los jardines de la Universidad Simón Bolívar (USB), municipio Baruta, estado Miranda; por considerarse esta como una zona de baja contaminación por metales. Fueron recolectados líquenes del género *Parmotrema* adheridos a árboles del género *Clusia* (Forófito) encontrándose en pequeñas ramas de estos árboles y se refrigeraron hasta trasplantarlas a la zona de estudio. Las muestras recolectadas fueron agrupadas con hilo de nylon y cinta de embalaje para posteriormente ser fijadas en cada punto de muestreo.

5.1.3 Trasplante de líquenes

El trasplante de las muestras a la zona de estudio fue realizado dos días después de su recolección. Las muestras fueron colocadas en árboles usando hilo de nylon para asegurarlas. La altura con respecto al suelo a la cual fueron expuestas variaba entre 1,5 m y 2 m (Fig. 10).



Fig. 10. Muestra trasplantada

Las muestras fueron colectadas tres meses después de su colocación en la zona de estudio. Las mismas se mantuvieron refrigeradas hasta iniciar la etapa de laboratorio.

5.1.4 Muestreo de suelo

Adicional a las muestras de líquenes fueron tomadas muestras de suelo superficial en el punto más cercano y en el más distante de la zona de estudio: 3 y 5 respectivamente. Esto con la finalidad de que pudieran efectuarse estudios sobre el factor de enriquecimiento en conjunto con las muestras de líquenes de los mismos puntos.

Las muestras de suelo superficial fueron tomadas justo debajo de los árboles donde yacían las muestras de liquen; en un área aproximada de 25 cm^2 y a una profundidad de 3-6 cm. El procedimiento de este muestreo fue llevado a cabo mediante el uso de herramientas de plástico (cuchillos) para evitar la posible contaminación por metales. Las muestras fueron almacenadas en bolsas de plástico previamente identificadas y se mantuvieron refrigeradas hasta iniciar su tratamiento en el laboratorio.



5.2 Etapa de laboratorio

5.2.1 Muestras de líquenes

Una vez expuestas las muestras de los líquenes por un período de 3 meses en la zona de estudio, fue realizado el tratamiento esquematizado en la Fig. 11.

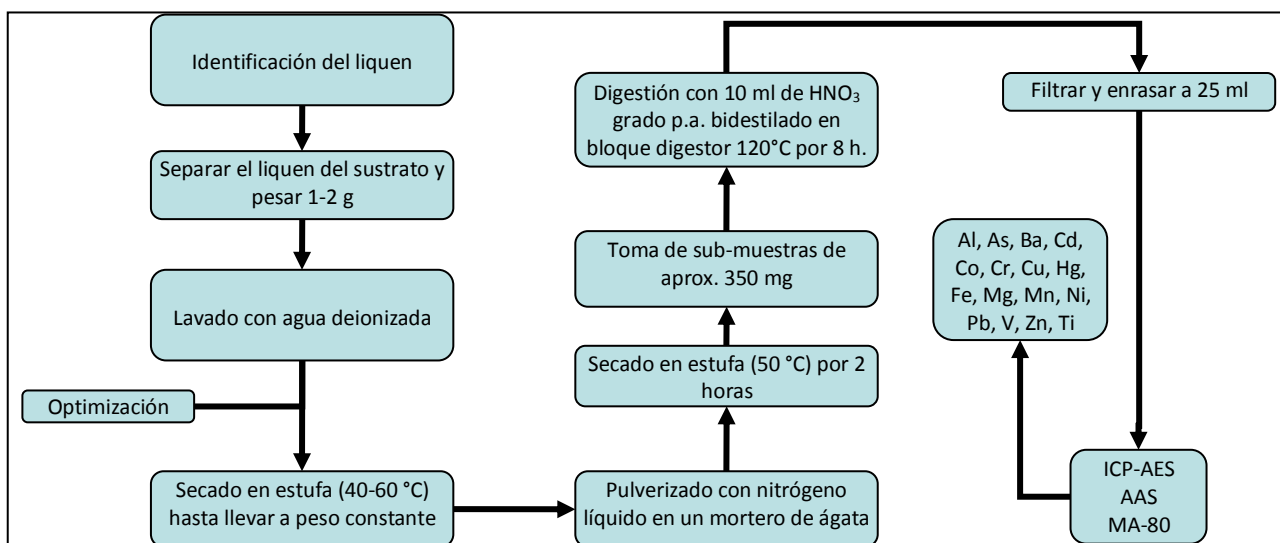


Fig. 11. Esquema experimental para el tratamiento de los líquenes en el laboratorio

(Modificado de Garty y col. 2003)

Este esquema puede describirse detalladamente de la siguiente manera:

5.2.1.1 Tratamiento físico

5.2.1.1.1 Identificación del líquen

Fue realizado utilizando los protocolos rutinarios mencionados en la literatura (Sipman, 2005; y Moreno y col. 2007). Para describir las características del líquen fue empleada una lupa binocular, una hojilla fina, una lámpara de luz ultravioleta (UV), ácido perclórico (C) e hidróxido de potasio al 10 % (K).



5.2.1.1.2 Remoción del líquen del sustrato

Inicialmente fueron removidos los líquenes del sustrato mediante el uso de una lupa binocular. Cabe destacar que en esta etapa fue utilizado material plástico y de madera, así como de guantes de látex, con el fin de evitar la posible contaminación de las muestras.

De la misma manera fueron observadas algunas manchas y partículas de diferentes colores (blanco, negro, marrón) en el líquen que pudieran estar asociadas a las hifas del hongo, cristales de sustancias líquénicas y/o polvo mineral presente en la atmósfera local (Fig. 12).

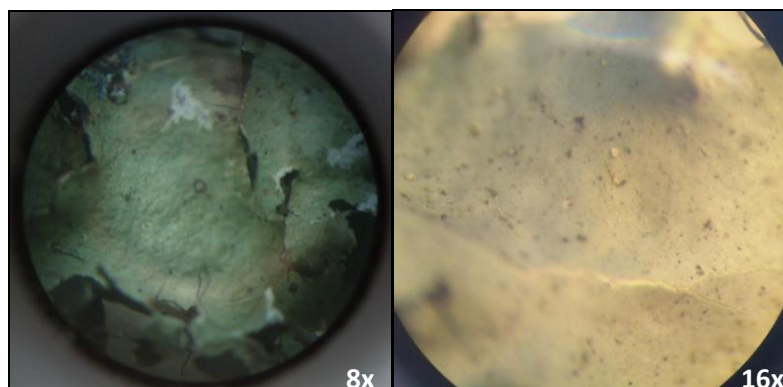


Fig. 12. Partículas y manchas en el líquen observadas bajo la lupa binocular

5.2.1.1.3 Determinación de humedad en muestras de líquen

Una vez que el líquen fue removido del sustrato, cada muestra fue pesada y colocada en vidrios de reloj previamente identificados para posteriormente ser secadas en una estufa a una temperatura de 50-60 °C hasta llevar a peso constante (2-4 horas). Seguido a esto, cada muestra fue puesta en un desecador por 30 minutos antes de ser pesada nuevamente de manera que pudiera determinarse así la masa perdida por humedad.

5.2.1.1.4 Pulverización con nitrógeno líquido

Una vez determinado el porcentaje de pérdida por humedad, se procedió a la etapa de pulverización con nitrógeno líquido en un mortero de ágata (Fig. 13). Es importante resaltar



que una de las muestras pertenecientes al punto de muestreo N° 4 fue seleccionada antes de la pulverización para realizar el lavado y optimizar esta etapa en el proceso.



Fig. 13. Pulverización de liquen

Luego de la pulverización, las muestras fueron homogeneizadas y secadas nuevamente en una estufa a 50 °C por 2 horas. A partir de este polvo de liquen fueron pesadas y almacenadas en envases plásticos las alícuotas de 350 mg correspondientes a cada réplica de análisis.

5.2.1.1.5 Optimización del lavado del liquen

Con la finalidad de determinar la influencia del proceso de lavado sobre el liquen en las concentraciones de los metales a analizar, fue realizado un lavado sobre una alícuota de muestra referente al punto 4 debido a que ésta contaba con gran cantidad de material.

Entre las técnicas utilizadas para realizar el lavado están: limpieza o cepillado húmedo o seco, soplado, sumersión en agua, lavado por ultrasonido, siendo este último el que ocasiona mayor daño al tejido botánico (Bettinelli y col. 2002; Tuncel y col. 2004).

La metodología llevada a cabo en este trabajo está descrita por Tuncel y col. (2004) y consistió en sumergir por aproximadamente 30 segundos la muestra de liquen en un beaker con agua deionizada, quedando en este partículas foráneas como insectos, trozos de corteza y de hojas, partículas, entre otros.



5.2.1.2 Tratamiento químico

5.2.1.2.1 Digestión ácida

Ya obtenidas las alícuotas de 350 mg de las fracciones previamente pulverizadas, homogeneizadas y secadas, se procedió a realizar la disolución de las muestras. Cada alícuota fue introducida en tubos de digestión y seguido a esto se agregó 10 ml de HNO₃ concentrado grado p. a. (65 % m/v) bidestilado. La disolución se hizo mediante el uso de un bloque digestor a una temperatura de 120-140 °C por un período de 8 horas (Fig. 14). La solución resultante fue posteriormente filtrada con papel de filtro Whatman N° 40 y subsiguientemente enrasada a 25 ml en balones aforados con agua deionizada. Las soluciones fueron almacenadas en envases plásticos previamente lavados con HNO₃ al 10 % (v/v). El residuo de la digestión fue pesado y almacenado en pequeños envases plásticos.



Fig. 14. Bloque digestor Kjeldalh

La digestión de prueba con la mezcla HNO₃/HF fue realizada de la siguiente manera: inicialmente HNO₃ en el bloque digestor por 8 horas a 120-140 °C, posteriormente un trasvasado a beakers de teflón para agregar 0,5 ml de HF y calentar en una plancha de calentamiento por 4-6 horas a 120-140 °C. La eliminación de HF de la solución fue realizada por evaporación según lo descrito por Tuncel y col. (2004).



5.2.2 Muestras de suelo

5.2.2.1 Tratamiento físico

5.2.2.1.1 Tamizado

Inicialmente fueron separados los insectos y las hojas y raíces de árboles que estaban junto a cada muestra de suelo superficial. Posteriormente se realizó el tamizado de cada una de ellas. Para ello fue utilizado un tamiz de 10 mallas con el fin de obtener la fracción menor a 2 mm correspondiente a arenas, limos y arcillas; en las cuales se concentran las partículas relacionadas con los metales a analizar (Purvis y col. 2003)

5.2.2.1.2 Trituración

La trituración de estas muestras de suelo superficial fue realizada a la fracción tamizada (menor a 2 mm) mediante un mortero de ágata. El material obtenido fue posteriormente cuarteado y pesado con la finalidad de obtener una alícuota de muestra representativa de 500 mg. En el punto de muestreo 5 fueron tomadas 3 muestras, mientras que en el punto de muestreo 3 fueron tomadas 2 muestras; esto debido a que una de las tres muestras trasplantadas de líquen en este último punto no fue encontrada en el árbol. Para cada una de estas muestras fueron tomadas 3 alícuotas de 500 mg para su análisis.

5.2.2.2 Tratamiento químico

5.2.2.2.1 Digestión ácida

Cada alícuota de 500 mg correspondiente a cada muestra de suelo fue puesta a disolución en un bloque digestor empleando aproximadamente 12 ml de HNO_3 a una temperatura de 120-140 °C. Posteriormente, la solución fue filtrada usando un papel de filtro Whatman N° 40 y seguido a esto fueron cada una enrasadas a 25 ml en balones aforados con agua deionizada (18mQ). Las soluciones fueron trasvasadas a frascos plásticos previamente lavados con HNO_3 al 10 % (v/v). El residuo de la digestión para cada muestra fue pesado y almacenado en pequeños envases plásticos.



5.3 Análisis estadístico de los datos

Los resultados de las concentraciones de metales fueron sometidos a diferentes análisis estadísticos con el fin de clasificar, agrupar y comparar a los mismos. Entre ellos están: análisis de varianza (ANOVA), análisis de clúster, análisis de componentes principales y la prueba de Duncan (Fig. 15). Adicionalmente con las muestras de suelo fue realizado un análisis del factor de enriquecimiento para cada metal.

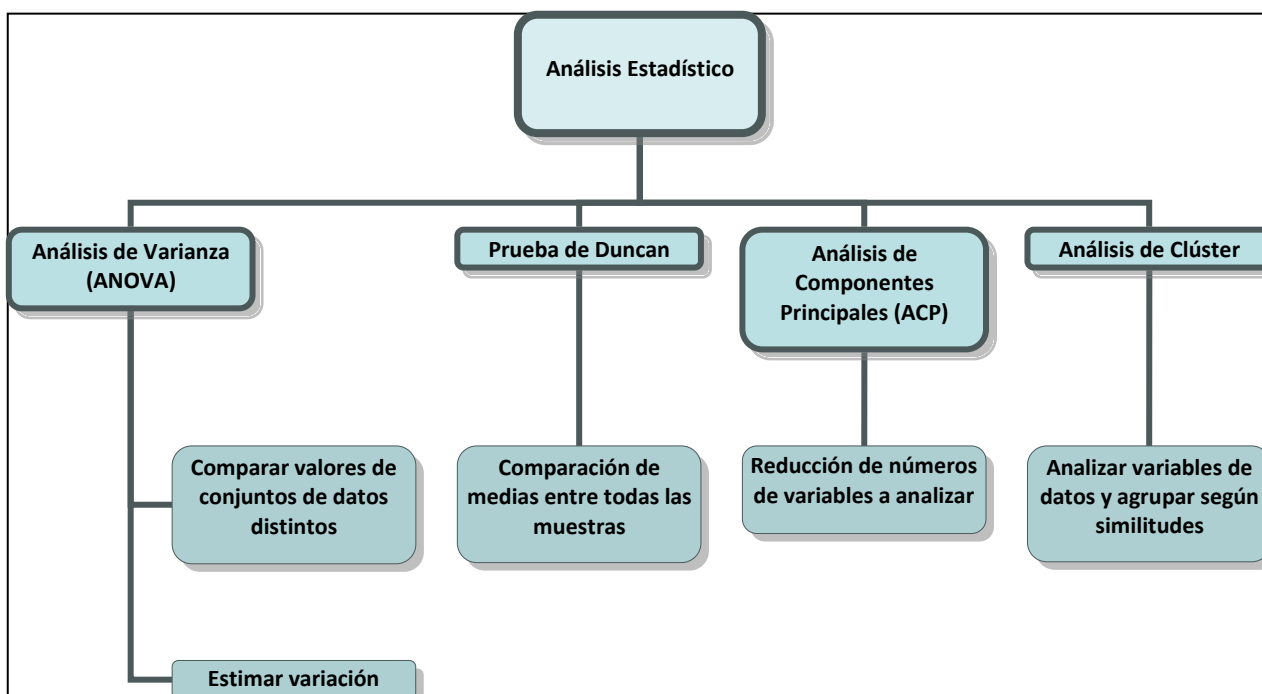


Fig. 15. Análisis estadístico de los datos

5.3.1 Análisis de varianza

Es un método estadístico que se utiliza para comparar dos o más conjuntos de datos mediante la asociación a una probabilidad. Además, puede ser empleada para contrastar la hipótesis de interés mediante un valor conocido como nivel de significancia.

Un nivel de significancia mayor a 0,05 nos dice que debemos aceptar la hipótesis nula de independencia entre las variables. Por el contrario, si el valor es menor a 0,05 rechazaremos la



hipótesis nula y aceptaremos la hipótesis alternativa, es decir, debe existir una relación de dependencia entre las variables.

5.3.2 Prueba de Duncan

Es una prueba de rango múltiple que se usa como método de comparación de cada promedio de tratamiento con cada uno de los otros promedios.

5.3.3 Análisis de Componentes Principales (ACP)

Conocido también como análisis de correspondencia, es un método estadístico multivariado que permite explorar un conjunto de datos con muchas variables mediante la reducción o síntesis de las mismas.

Los nuevos componentes principales o factores serán una combinación lineal de las variables iniciales, siendo esto un aspecto importante para su interpretación.

5.3.4 Análisis de Clúster

También llamado análisis de conglomerados, es un método estadístico que divide un conjunto de objetos, a través de la información suministrada por una serie de variables, en grupos homogéneos internamente y diferentes entre sí, es decir, midiendo la similitud entre ellos.

5.3.5 Análisis de Correlación

El análisis de correlación permite determinar si existe una relación lineal entre las variables cuantitativas determinadas en la investigación. Este análisis puede realizarse con el coeficiente de correlación lineal de Pearson (r) y con el coeficiente de determinación (r^2).

El coeficiente de correlación lineal de Pearson puede variar entre -1 y $+1$ donde si $r = \pm 1$, existe una correlación perfecta que indica dependencia total entre las dos variables; por el contrario si $r = 0$, no existe relación lineal por lo que las variables serían independientes entre sí. Valores entre 0 y ± 1 indican la existencia de correlación en diferentes magnitudes, dependiendo de que



el valor se acerque o no a ± 1 . El valor positivo o negativo de r indica si la relación entre las variables es directa o inversa respectivamente.

El coeficiente de determinación (r^2) es el cuadrado del coeficiente de Pearson e indica el porcentaje de variación de una variable debido a la variación de otra. Su valor varía entre 0 y 1 donde un valor de 0 indica independencia y un valor de 1 lo contrario.

Estos análisis fueron realizados empleando el programa estadístico *STATISTICA 8.0*.

5.3.6 Factor de enriquecimiento (F.E)

El factor de enriquecimiento es una técnica habitual desarrollada para estimar concentración de metales debido a contaminación atmosférica (actividades antropogénicas) o a removilización de partículas del material parental o suelo por acción del viento en la composición del líquen (Nyarko y col. 2006).

Este factor puede ser calculado para cualquier elemento siguiendo la siguiente ecuación:

$$F.E = \frac{(C_x/C_s)(liquen)}{(C_x/C_s)(suelo)}$$

Donde C_x es la concentración del elemento al cual se le determinará el enriquecimiento; y C_s es la concentración del elemento empleado para normalizar, el cual se asume que es únicamente característico del material parental o suelo. Entre los elementos utilizados para normalizar se encuentran el Al, Sc, Ti, La, Fe y Si (Bettinelli y col. 2002). Usualmente, suelen utilizarse Ti y Sc debido a que son importantes indicadores del material parental y porque además no poseen funciones biológicas conocidas en el líquen (Nash, 1996).

Si la proporción del elemento es la misma en el líquen y en el suelo, el F.E será igual a 1, indicando que la concentración del mismo deriva de una fuente natural local; por el contrario, valores significativamente mayores a la unidad indican que el elemento es acumulado debido a la acción de fenómenos de transporte sobre una fuente natural distinta a la del suelo local y/o de fuentes antropogénicas, o, en algunos casos, debido a que existe enriquecimiento preferencial (Bergamaschi y col. 2002).



6. PRESENTACIÓN Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS

6.1 Identificación del líquen

Durante la presente investigación fue realizada la identificación del género y la especie del líquen a emplear como biomonitor, ya que si bien todos los líquenes pueden fijar elementos traza y metales pesados en su superficie, los niveles de acumulación dependen de la especie (Pignata y col. 2008). Esta actividad fue supervisada por el Lic. Jesús Hernández (líquenólogo).

Bajo la lupa binocular fueron observadas las características morfológicas del líquen: textura del talo, presencia o ausencia de apotecios, tomentos, máculas (manchas), rizinas, cilios, isidios y cifelas (Fig. 16). También fue anotado lo referente a las coloraciones tanto internas como externas del líquen. Posteriormente fueron realizadas algunas pruebas de coloración con ácido perclórico (C), hidróxido de potasio al 10 % (K) y con una lámpara de luz ultravioleta (UV).

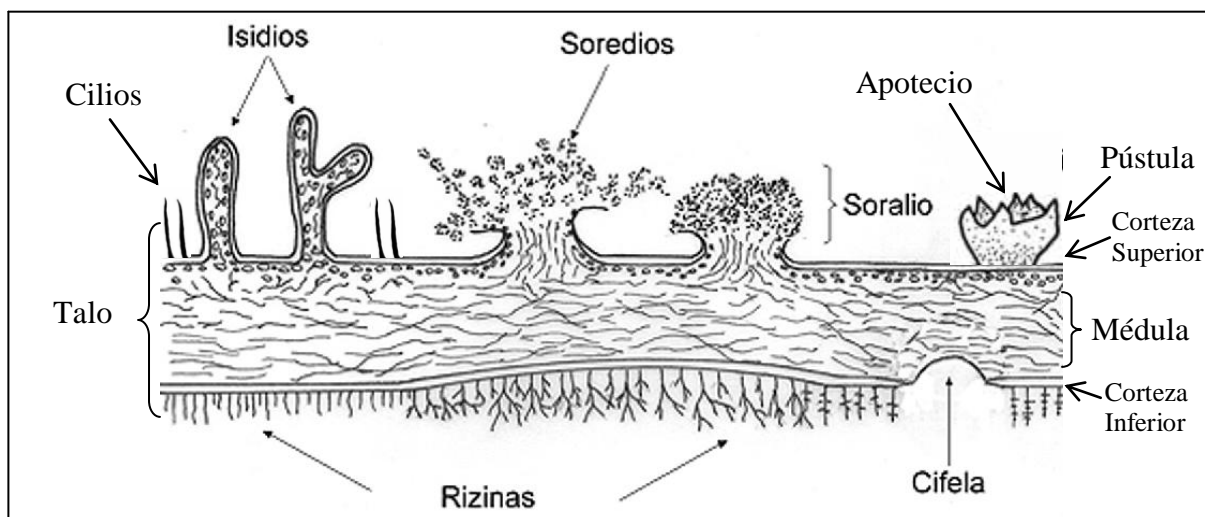


Fig. 16. Características morfológicas de líquen folioso (Modificado de Álvarez y Guzmán, 2009)

Las características identificadas fueron las siguientes:

- Talo con soredios; soralia circular, ocasionalmente producidos sobre pústulas; sin isidios iniciales presentes.



- Cilios bien desarrollados en torno a las extremidades del lóbulo a muy escasos y presentes sólo en las axilas del lóbulo.
- Médula blanca (a veces con manchas de color rojo-naranja).
- Talo gris verdoso a blanco (ácido úsnico ausente en la corteza).
- Parte inferior con una amplia zona desnuda marginal o con escasas rizinas de longitud muy variable, cerca de los márgenes; el lado inferior marrón oscuro a negro, a veces pálido en los márgenes.
- Corteza superior continua. La mácula no está dispuesta reticularmente sino dispersa; el lado inferior posee una amplia y desnuda zona marginal, marrón o blanco a la zona manchada.
- Superficie inferior marrón tenue a negro, rara vez con áreas de manchas blancas en el margen.
- K+ amarillo en la médula. Esto implica la presencia de dépsidos de β -Orcinol (ácido tamnólico).
- C+ rosa a rojizo en la médula. Implica la presencia de ácido salacínico.
- UV+ amarillo. Implica presencia de xantonas (liquenxantona).

Este conjunto de cualidades permitieron definir al líquen en estudio como *Parmotrema sancti-angelii* (Lyngé) Hale (Fig. 17).



Fig. 17. *Parmotrema sancti-angelii* (Lyngé) Hale
(Tomado de http://content3.eol.org/content/2009/09/17/04/63886_large.jpg)



6.2 Humedad asociada a las muestras de líquen

La Tabla 3 muestra los resultados en cuanto a la pérdida de masa por humedad asociada a los líquenes trasplantados a la zona de estudio y a los líquenes nativos de la Universidad Simón Bolívar (USB).

Tabla 3. Humedad en muestras de líquenes estudiadas

Muestra	Masa de líquen humedad ($\pm 0,0001$ g)	Masa de líquen seco ($\pm 0,0001$ g)	% de pérdida
USB	0,9746	0,9106	6,6
	0,9599	0,8916	7,1
	0,9998	0,9325	6,7
1	0,4860	0,4709	3,1
	0,9400	0,9098	3,2
	2,0283	1,9608	3,3
2	1,1330	1,0946	3,4
	0,5069	0,4892	3,5
	0,5000	0,4792	4,2
3*	0,9937	0,9368	5,7
	0,9709	0,9191	5,3
4	1,3932	1,3367	4,1
	1,3497	1,2948	4,1
	1,5204	1,4590	4,0
5	1,8420	1,7694	3,9
	0,9880	0,9531	3,5
	1,1398	1,0913	4,3

*Sólo se trabajó con 2 muestras debido a que la tercera no fue encontrada al momento de recolectarla en el árbol

En el apéndice A es presentado un gráfico con la tendencia del porcentaje de pérdida de humedad de acuerdo a las muestras estudiadas.

Los líquenes procedentes de la Universidad Simón Bolívar poseen mayor humedad (6,6 % a 7,1 %) con respecto a los líquenes trasplantados a Tiara, cuyo porcentaje está comprendido entre 3,1 % y 5,7 %. Esto puede explicarse por las características climáticas existentes entre una zona y otra las cuales difieren, condicionando así distintos niveles de humedad. Entre estas características y/o factores climáticos están la disponibilidad de cuerpos de aguas, abundancia



de vegetación, altura, régimen de precipitaciones, tasas de evaporación y temperaturas promedios del aire.

Con respecto a la humedad de los líquenes trasplantados (muestras 1 – 5), es notable que existe variabilidad a lo largo de la transecta (Fig. 9), sin embargo la diferencia a lo largo de ella no es considerable ya que están en el orden de entre 3 y 6 % aproximadamente. Pese a esto puede destacarse que hacia el punto 3 (cercano a la planta minera), las muestras tienden a poseer mayor humedad, lo cual podría deberse a la alta tasa de evaporación sobre el embalse de agua cercano a este punto, el cual fue creado por la minera para utilizar en sus procesos de producción de ferroníquel.

Realizando una comparación en cuanto a la humedad de estos líquenes con respecto a los utilizados por Díaz (2008) puede observarse una diferencia notable. De acuerdo a la Tabla 4, el porcentaje promedio de humedad en su estudio estuvo en 22 % mientras que en la presente investigación el valor fue menor (4,5 %). La especie del liquen utilizado por este autor no fue identificada, sin embargo pertenecía al género *Parmotrema*.

Tabla 4. Comparación de porcentaje promedio de humedad en diferentes investigaciones

	Humedad promedio (%)	Desviación estándar (%)
Presente investigación	4,5	1,3
Díaz, 2008	22,1	9,6

Ahora bien, la diferencia entre los valores de humedad entre estas dos investigaciones puede deberse a varios aspectos: 1) Si la especie de liquen utilizado en ambos trabajos fue diferente, es posible que no tuviesen igual comportamiento en cuanto a la retención de humedad ya que organismos del mismo género pero de distintas especies no necesariamente reaccionan de la misma manera ante estos factores. Es por ello que es importante determinar la especie del liquen a utilizar como biomonitor en estas investigaciones. 2) Si Las condiciones climáticas existentes en cada zona de estudio (Caracas durante el 2008 y Tiara durante el 2010) fueron



distintas (períodos de sequía o lluvia, presencia o no de calina y de incendios, variaciones de temperaturas, entre otras), esto también habría condicionado el comportamiento del liquen en cuanto a la retención de humedad ya que el grado de estrés o de alteración del mismo habría sido distinto.

6.3 Disolución de muestras

6.3.1 Líquenes

6.3.1.1 Optimización de la metodología de disolución

Inicialmente fueron realizadas varias pruebas de disolución sobre muestras del punto 1 de la transecta (Fig. 9) por poseer gran cantidad de masa, empleando diferentes mezclas de reactivos en cada caso. Esto fue realizado con la finalidad de comparar la eficiencia de cada metodología de disolución y de comparar los valores de las concentraciones de metales al emplear cada una de ellas. Estas metodologías de digestión fueron las siguientes:

- 1) Disolución en 10 ml de ácido nítrico (HNO_3) grado p.a. bidestilado en un bloque digestor a 120 -140 °C por 8 horas (Garty y col. 2003).
- 2) Disolución en 10 ml de ácido nítrico (HNO_3) grado p.a. bidestilado en un bloque digestor a 120 - 140 °C por 8 horas y posterior trasvasado a beakers de teflón para añadir 0,5 ml de ácido fluorhídrico (HF) concentrado y calentar en planchas de calentamiento a 120-140°C por 3-4 horas agregando HNO_3 antes de secarse la solución repetidamente (Modificado de Tuncel y col. 2004).
- 3) Disolución en una mezcla de 10 ml de agua regia (3 HCl : 1 HNO_3) en un bloque digestor a 120 -140°C por 8 horas (Modificado de Wilson y Pyatt, 2007).

La disolución de las muestras de liquen usando sólo ácido nítrico no fue total, quedando así partículas no disueltas en el fondo del tubo digestor. Estas fueron retenidas por un papel de filtro N° 5B (Whatman 40) de retención de partículas de tamaño de 5 - 10 μm .



La disolución de prueba en muestras con agua regia tampoco fue total. Además de partículas, también pudieron observarse restos de material líquénico, lo cual permite deducir que la mezcla de reactivos no posee la cantidad suficiente de agente oxidante (HNO_3) para descomponer totalmente al material líquénico.

Por otra parte, la mezcla de HNO_3/HF como solvente de prueba sí permitió la disolución total de las muestras de líquen. De esta manera es posible deducir que el residuo de partículas observado bajo las metodologías descritas anteriormente está constituido principalmente por óxidos de silicio o silicatos los cuales si pudieron ser disueltos por el ácido fluorhídrico.

La Tabla 5 muestra los valores de concentración de metales en los líquenes referentes al punto 1 de muestreo (Fig. 9) empleando estas distintas metodologías.

Tabla 5. Diferencia de concentración (mg/kg) en líquenes empleando distintos ácidos (3 réplicas sobre el punto 1)

Elemento	HNO_3	$\text{HNO}_3/\text{HCl}^{**}$	HNO_3/HF
Al	1112 ± 69	1288	2224 ± 267
Ba	10,34 ± 0,18	11,18	13,73 ± 1,26
Co	1,50 ± 0,52	0,09	0,98 ± 0,65
Cr	5,65 ± 1,51	17,36	14,71 ± 1,34
Cu	9,91 ± 3,21	12,90	17,99 ± 0,93
Fe*	1271 ± 108	n.a	n.a
Mg*	1078 ± 75	n.a	n.a
Mn	31,7 ± 2,9	34,50	35,82 ± 3,10
Ni	29,93 ± 2,40	37,07	40,33 ± 1,12
Pb	24,0 ± 5,4	23,31	23,1 ± 3,4
V	2,53 ± 0,33	0,98	2,61 ± 0,02
Zn	116,7 ± 3,6	92,70	128,1 ± 1,7
Ti	12,39 ± 0,61	21,80	33,46 ± 1,63

n.a significa no analizado

* (Determinado por AAS)

** (1 réplica)

En general, los valores de concentración de los metales analizados son mayores al emplear mezcla de ácidos, sea agua regia o mezcla de HNO_3/HF por lo que puede decirse que los mismos ejercen un ataque más fuerte sobre las muestras en comparación con el uso de sólo ácido



nítrico. De estas metodologías de digestión, la que muestra mayores valores en la concentración de metales es la referente al uso de HF, la misma que a diferencia de las otras permite la disolución total de la muestras. Esto permite inferir que las partículas no disueltas por HNO_3 y HNO_3/HCl están constituidas principalmente por silicatos de estos metales.

En función de estos resultados puede proponerse como mejor metodología de disolución de las muestras de liquen el uso de HF para disolver completamente las partículas no solubles en otros ácidos. Esto coincide con lo descrito por Baffi y col. (2002) en su trabajo de comparación de diferentes procedimientos analíticos en la determinación de elementos traza en líquenes, donde determinan que el uso de HF en la mezcla de solventes ácidos introduce una mejoría en el procedimiento analítico al asegurar la completa disolución de la muestra, especialmente para elementos litológicos como el Al, Cr, Ti y Fe.

6.3.1.2 Disolución de las muestras estudiadas

A pesar de definir al uso de la mezcla de HNO_3/HF como mejor metodología de disolución, esta no fue aplicada en las muestras estudiadas en este trabajo debido a diferentes razones: 1) El tiempo de tratamiento se vería alargado debido al tratamiento posterior a la solución resultante, ya que el HF agregado debía ser eliminado ya sea por evaporación en reflujo con HNO_3 (Bergamaschi y col. 2002; Tuncel y col. 2004) o por adición de ácido bórico (Taylor y col. 2002) para evitar daños en los instrumentales analíticos a utilizar posteriormente (ICP-AES y AAS), esto no estaba previsto en el cronograma planteado; 2) La purificación de HF para su posterior uso conlleva una metodología muy compleja ya que no puede entrar en contacto con el material de vidrio usualmente utilizado para la purificación de reactivos; 3) Al agregar más reactivos a la matriz, existe mayor posibilidad de alcanzar interferencias con los metales a analizar, así como también de tener mayores fuentes de error; 4) La metodología de disolución propuesta para su validación no incorporaba a este reactivo en su ejecución.



Así, la metodología empleada para disolver las muestras de estudio fue la propuesta inicialmente mediante el uso de HNO_3 .

Mediante esta metodología fueron obtenidos residuos en cada muestra sometida a disolución, en mayor o menor proporción dependiendo del punto de muestreo. El remanente fue pesado en pequeños frascos plásticos. En la Tabla 6 son presentados los valores y porcentajes de este residuo para cada punto. El apéndice B refleja la variabilidad en cuanto al residuo determinado por cada punto de muestreo.

Tabla 6. Masa y porcentaje de residuo en las muestras de liquen analizadas

Muestra	Masa (g) ($\pm 0,0001$ g)	Residuo (g) ($\pm 0,0001$ g)	% de residuo
USB	0,3502	0,0019	0,5
	0,3541	0,0016	0,5
	0,3508	0,0029	0,8
1	0,3504	0,0034	1,0
	0,3501	0,0030	0,9
	0,3501	0,0020	0,6
2	0,3500	0,0058	1,7
	0,3495	0,0047	1,3
	0,3520	0,0041	1,2
3	0,3542	0,0038	1,1
	0,3544	0,0049	1,4
	0,3553	0,0034	1,0
4	0,3501	0,0056	1,6
	0,3508	0,0063	1,8
	0,3532	0,0057	1,6
5	0,3510	0,0033	0,9
	0,3513	0,0034	1,0
	0,3505	0,0023	0,7

Las muestras definidas como nivel base (USB) poseen un porcentaje de residuo menor a las trasplantadas a la zona de estudio, evidenciando de esta manera que existe un aporte de partículas aerotrasportables no solubles en los alrededores de la población minera de Tiara.



También puede notarse que el mayor porcentaje de residuo se encuentra en los puntos más cercanos a la mina -2, 3 y 4- mientras que los más distantes -1 y 5- están muy cercanos al nivel base. Esto permite inferir que la emisión de partículas no solubles en ácido nítrico podría estar asociada a la actividad minera, específicamente a los procesos de trituración llevados a cabo en sus inmediaciones y al efecto de la erosión por el viento en las pilas de escoria y de mineral triturado producto de su apilamiento a cielo abierto.

La disminución del porcentaje de residuo en el punto 3 puede explicarse debido a la mayor humedad presente en tal estación ya que la misma aumenta la densidad de las partículas aerotransportables haciendo que sean depositadas más rápidamente sobre el suelo. Hien y col. (2002) realizaron un estudio de la influencia de las condiciones meteorológicas en concentraciones de $PM_{2.5}$ y $PM_{2.5-10}$ en Vietnam concluyendo entre sus resultados que la humedad, así como la lluvia, remueven partículas de la atmósfera y disminuyen la cantidad de polvo de suelo re-suspendido al hacerlo más húmedo.

6.3.2 Disolución de las muestras de suelo

Según Bettinelli y col. (2002), es importante que la metodología de digestión de la muestra de suelo superficial sea la misma de las muestras de líquenes cuando son realizados estudios sobre la contribución de partículas de suelo en la concentración de metales en los líquenes para garantizar de esta manera una recuperación equivalente del analito en ambas muestras. Por ello, el método de disolución empleado para las muestras de suelo en esta investigación fue utilizando sólo HNO_3 grado p.a.

Como puede observarse en la Tabla 7, el porcentaje de residuo en las muestras de suelo fue mayor que el de las muestras de líquenes (Tabla 6), llegando a más de 50 % en peso en cualquiera de los dos puntos. En el apéndice C es mostrada la variabilidad entre estos puntos, destacándose que en la zona más lejana a la mina fue determinado mayor porcentaje de



residuo que en el punto más cercano. Esto indica que las partículas no solubles están en mayor proporción en el suelo y más aún en la zona más distante a la mina.

Posiblemente las partículas emitidas por las actividades mineras se mantienen suspendidas en el aire en las zonas más cercanas a la mina, tal como ha sido sugerido previamente, mientras que en las zonas más lejanas ya las mismas han sido depositadas debido a su densidad y el efecto de la gravedad.

Tabla 7. Masa y porcentaje de residuos en las muestras de suelo analizadas

Muestra	Masa ($\pm 0,0001$ g)	Residuo ($\pm 0,0001$ g)	% de residuo
3-2	0,5012	0,2800	56
	0,5040	0,2834	56
	0,5004	0,2712	54
3-3	0,5030	0,2718	54
	0,5018	0,2841	57
	0,5010	0,2866	57
5-1	0,5018	0,2752	55
	0,5001	0,2805	56
	0,5004	0,2812	56
5-2	0,5004	0,3144	63
	0,5009	0,3159	63
	0,5008	0,3062	61
5-3	0,5016	0,3078	61
	0,5008	0,3164	63
	0,5019	0,3297	66

*La muestra 3-1 no fue tomada debido a que no fue encontrada la muestra de líquen 3-1 en el árbol de este punto de muestreo

Adicionalmente, en la tabla anterior puede detallarse que una de las tres muestras del punto más lejano a la mina posee un porcentaje de residuos similar al del punto más cercano. Esto puede ser debido a que esta muestra yacía debajo de un árbol de gran tamaño que pudo haber interferido en la deposición de partículas sobre el suelo; por lo que es importante muestrear en zonas preferiblemente abiertas.



Cabe destacar que estas muestras de suelo fueron recolectadas con la finalidad de determinar su influencia en el aporte a la concentración de metales en las muestras de liquen mediante el estudio del Factor de Enriquecimiento (F.E).

6.4 Material de referencia certificado. Liquen *Pseudevernia furfuracea* (CRM 482)

Este material de referencia fue certificado para su contenido de Al, As, Cd, Cr, Cu, Hg, Ni, Pb y Zn según se muestra en la Tabla 8.

Tabla 8. Valores certificados de metales en liquen CRM 482

Elemento	Valor certificado (mg/kg)	Incertidumbre* (mg/kg)
Al	1103	24
As	0,85	0,07
Cd	0,56	0,02
Cr	4,12	0,15
Cu	7,03	0,19
Hg	0,48	0,02
Ni	2,47	0,07
Pb	40,9	1,4
Zn	100,6	2,2

*Desviación estándar para un 95 % de intervalo de confianza

En la presente investigación el material de referencia certificado fue sometido a disolución empleando HNO₃ como solvente. Adicionalmente fue realizada una disolución con una mezcla de HNO₃/HF según lo propuesto por Quevauviller y col. (1996) con el fin de comparar los resultados para ambas metodologías.

A continuación, en la Tabla 9 son presentados los valores de concentración de los metales certificados obtenidos bajo estas metodologías.



Tabla 9. Concentración (mg/kg) de elementos certificados obtenidos en CRM-482 (3 réplicas)

Elemento	CRM-482 HNO ₃	CRM-482 HNO ₃ /HF	Valor certificado
Al	938 ± 191	1358 ± 38	1103 ± 24
As	nd	0,49 ± 0,11	0,85 ± 0,07
Cd	0,47 ± 0,11	0,56 ± 0,10	0,56 ± 0,02
Cr	3,92 ± 0,72	8,39**	4,12 ± 0,15
Cu	12,44 ± 3,03	11,99 ± 0,74	7,03 ± 0,19
Hg*		0,49*	0,48 ± 0,02
Ni	2,78 ± 1,21	7,87**	2,47 ± 0,07
Pb	22,4 ± 2,6	40,0 ± 1,9	40,9 ± 1,4
Zn	83,0 ± 3,0	100,7 ± 0,03	100,6 ± 2,2

*Valor obtenido por analizador de Hg (MA-80) sobre muestra sólida

** 1 réplica

Comparando las dos metodologías puede decirse que el uso de HF en la metodología de disolución proporciona resultados más aceptables para la cuantificación de los metales Cd, Pb y Zn, ya que sus valores obtenidos entran dentro del intervalo del valor certificado. En cambio, bajo esta misma metodología, los metales Al, Cr, Cu y Ni poseen una concentración superior al valor certificado, pudiendo ser esto debido a contaminación de la muestra en estos metales. Cabe destacar que en el reporte de certificación del material CRM-482 descrito por Quevauviller y col. (1996), el Cr no es considerado como un elemento certificado para las técnicas de ICP-MS y ICP-AES debido a fuertes interferencias asociadas al gas argón empleado en ellas.

Los valores de concentración para Cd, Cr, Cu y Ni son muy bajos, lo que podría estar influyendo sobre su veracidad ya que los valores medidos mediante la técnica de ICP-AES para cada uno de ellos están por debajo del rango lineal de la curva de calibración (Apéndice L).

Con respecto al As, Quevauviller y col. (1996) demuestra que es necesario el uso de media a alta presión (10 – 85 bar) para obtener una recuperación total del contenido de este metal en el material y que sin ello el porcentaje de recuperación estaría comprendido entre 30 y 70 %.



Por otra parte, la metodología de disolución con sólo HNO_3 también proporciona valores aceptables para las concentraciones de Al, Cd, Cr y Ni ya que sus resultados entran dentro del intervalo de certificación. El resto de los metales, a excepción de Cu, poseen valores por debajo del valor certificado lo cual permite deducir que estos metales no fueron disueltos completamente con el uso de este ácido. Cabe destacar que este procedimiento no permitió obtener una disolución total del material certificado por lo que el restante de concentración de estos metales pudiera estar contenido en el residuo asociado.

El Hg fue determinado en muestra sólida en el analizador directo de mercurio MA-80 y la exactitud de dicha metodología puede comprobarse comparando el valor obtenido y el valor certificado (Tabla 5).

Uno de los factores que pudo ser determinante en la pérdida de analito en el material de referencia certificado fue el uso del bloque digestor como aparato de disolución de muestras ya que según Tuncel y col. (2004), la digestión por microondas es la más recomendable cuando exista recuperación de analito; además de ser más rápida. Por otra parte, Moreira y col. (2005) realizaron una comparación empleando un bloque digestor y una digestión asistida por microondas en líquenes a los cuales les realizó un “spiking” o inyección de una concentración de Pb determinada, llegando a la conclusión de que para ambos métodos existe problemas de contaminación, sobre todo para concentraciones muy bajas.

Adicionalmente, en este trabajo fueron determinados otros metales relativos a la muestra CRM-482 los cuales no están certificados por el Departamento de la Comunidad de Referencia (BCR por sus siglas en inglés) pero que de igual manera son indicados en el reporte de certificación (Quevauviller y col. 1996). Estos metales son presentados en la Tabla 10.



Tabla 10. Valores de concentración de elementos indicados en CRM-482

Elemento	CRM-482 HNO ₃ (mg/kg)	CRM-482 HNO ₃ /HF (mg/kg)	Valor indicado en CRM- 482 (mg/kg)
Ba	8,44 ± 0,39	9,06 ± 2,0	14,9 ± 2,4
Co	nd	nd	0,32 ± 0,03
Fe*	653 ± 39	904 ± 33	804 ± 160
Mg*	449 ± 39	514 ± 12	578 ± 4
Mn	24,9 ± 1,1	30,5 ± 3,7	33,0 ± 0,5
V	3,28 ± 1,38	3,84 ± 1,29	3,74 ± 0,61
Ti	14,6 ± 0,2	22,8 ± 1,1	34,2 ± 1,1

*Valor obtenido por Espectrometría de Absorción Atómica (AAS)

Nuevamente puede observarse que el uso de HF en la metodología de disolución de las muestras aumenta el valor determinado en comparación con la metodología en la cual se emplea sólo HNO₃ por lo que podría concluirse que su uso mejora el procedimiento analítico ya que con ello puede disolverse completamente el material de estudio.

6.5 Concentración de metales en líquenes

Cinco puntos de muestreo fueron estudiados alrededor de la empresa Minera Loma de Níquel C.A. (Fig. 9). Los metales Al, As, Ba, Cd, Co, Cr, Cu, Mn, Ni, Pb, V, Zn y Ti fueron determinados en las muestras de líquenes trasplantadas mediante el uso del Espectrómetro de Emisión Óptica por Plasma Inductivamente Acoplado (ICP-AES); Fe y Mg mediante la técnica de espectrometría de Absorción Atómica (AAS); y Hg con el analizador directo de mercurio MA-80. Los metales Cd y As no fueron considerados para el análisis de los datos, ya que sus resultados estuvieron por debajo del límite de detección del instrumental analítico empleado.

Las Tablas 11 y 12 muestran los valores de concentración con su respectiva desviación estándar que fueron determinados para cada metal por cada punto de muestreo, expresados en mg/kg.



Tabla 11. Concentración (mg/kg) de metales en muestras de liquen por punto de muestreo (3 réplicas)

Punto de Muestreo	Al	Ba	Co	Cr	Cu	Hg*	Mn
USB	888 ± 43	8,63 ± 1,17	0,66 ± 0,19	2,51 ± 1,11	8,04 ± 0,64	0,04	21,5 ± 7,5
1	1112 ± 69	10,34 ± 0,18	1,50 ± 0,52	5,65 ± 1,51	9,91 ± 3,21	0,07	31,7 ± 2,9
2	1602 ± 90	13,80 ± 0,42	2,24 ± 0,30	12,44 ± 2,14	11,33 ± 0,77	0,09	53,6 ± 2,0
3	1434 ± 140	12,53 ± 1,26	1,85 ± 0,21	31,51 ± 3,96	12,66 ± 2,83	0,08	36,8 ± 3,2
4	1918 ± 116	13,52 ± 0,62	3,77 ± 0,40	30,66 ± 0,42	10,57 ± 0,19	0,14	49,7 ± 3,7
5	1175 ± 211	19,06 ± 2,37	0,57 ± 0,21	0,91 ± 1,26	10,20 ± 0,97	0,07	34,7 ± 4,3
Máximo	2043	21,76	4,03	34,31	14,98	0,14	55,9
Mínimo	839	7,89	0,41	1,71	7,27	0,04	15,2

*Valor obtenido con el analizador de Hg sobre muestra sólida

Tabla 12. Concentración (mg/kg) de metales en muestras de liquen por punto de muestreo (3 réplicas)

Punto de Muestreo	Fe*	Mg*	Ni	Pb	V	Zn	Ti
USB	686 ± 50	584 ± 123	2,17 ± 0,77	16,6 ± 2,9	2,13 ± 0,54	29,9 ± 1,8	10,54 ± 1,88
1	1271 ± 108	1078 ± 75	29,93 ± 2,40	24,0 ± 5,4	2,53 ± 0,33	116,7 ± 3,36	12,39 ± 0,61
2	2334 ± 158	1360 ± 18	58,81 ± 3,48	38,1 ± 2,6	2,40 ± 0,26	219,4 ± 9,0	18,45 ± 0,96
3	1507 ± 127	1080 ± 62	38,16 ± 2,97	26,8 ± 2,5	2,51 ± 0,27	104,6 ± 18,2	18,99 ± 1,12
4	3093 ± 119	1792 ± 59	119,78 ± 4,87	25,9 ± 2,7	4,30 ± 1,03	115,7 ± 6,3	25,30 ± 0,97
5	1035 ± 102	740 ± 30	7,43 ± 5,42	30,0 ± 3,2	2,09 ± 0,04	115,1 ± 12,1	17,90 ± 0,58
Máximo	3228	1856	124,04	41,0	5,44	226,8	26,41
Mínimo	634	455	1,28	14,1	1,52	28,5	8,49

*Valor obtenido por Espectrometría de Absorción Atómica (AAS)

A excepción de Hg, cada muestra fue analizada por triplicado con la finalidad de evaluar la precisión del método en cada punto de muestreo para cada metal. El Hg sólo fue analizado una vez debido a la poca disponibilidad de material para el análisis.

Las mayores concentraciones fueron obtenidas para los metales Fe, Al y Mg. Estos elementos son constituyentes de los minerales formadores de las rocas máficas-ultramáficas explotadas por la empresa minera por lo que podría decirse que la dispersión de estos metales en la atmósfera es debido a las actividades que en ella son realizadas: extracción, remoción,



trituration, apilación, entre otros; junto con la acción de los agentes de transporte como el viento.

Metales como Ni, Co, Cr, Mn, y Ti también están relacionados con estas rocas, sin embargo están presentes en concentraciones traza, explicando esto su baja proporción en relación a los metales anteriormente descritos.

Por otro lado, los metales As, Ba, Cd, Cu, Hg, Pb, V y Zn también presentaron concentraciones bajas. Estos no están asociados a la litología directamente sin embargo pueden estar contenidos en cantidades traza como es el caso de Hg (Carlson, 2005) y V (Canil, 2002). Una fuente de emisión común de estos metales es debido a procesos de fundición y a la quema de combustibles fósiles como el carbón mineral y el diesel que también son empleados en esta industria.

Al comparar los valores de concentración de las muestras trasplantadas con las muestras de líquen nativo de la USB puede observarse que los metales Cu y V no son emitidos tan intensamente hacia la atmósfera local como los demás elementos. Esto puede observarse en el apéndice G.

Comparando los valores obtenidos en esta investigación con otros estudios llevados a cabo empleando líquenes alrededor de minas asociadas a rocas ultramáficas (Asmund y col. 2009; Sondergaard y col. 2009) puede observarse que existe una misma tendencia entre las relaciones inter-elementales de los metales más característicos de estas rocas (Fig. 18). El apéndice T muestra los valores de estas relaciones.

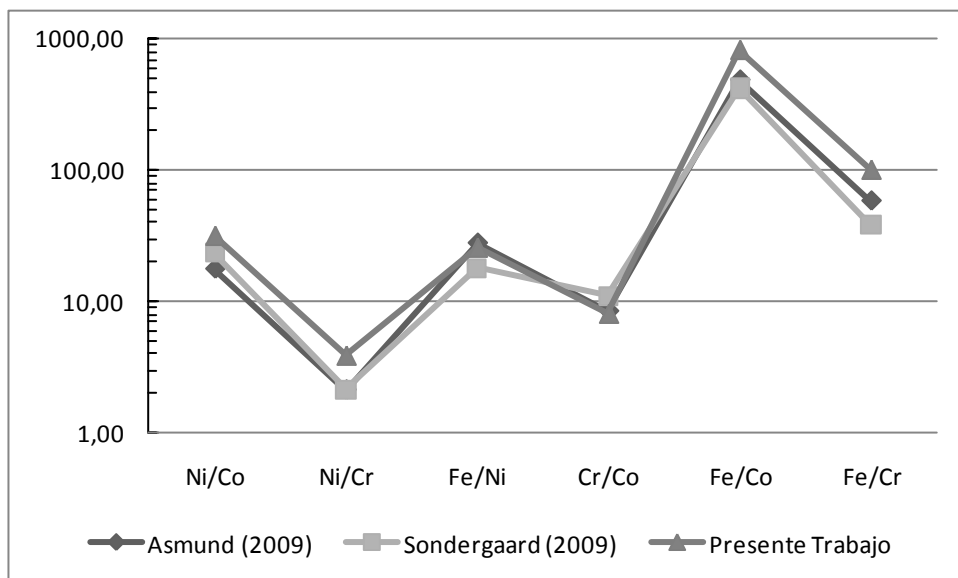


Fig. 18. Relaciones inter-elementales de metales entre diferentes investigaciones

6.6 Optimización del lavado

Con la finalidad de determinar la influencia del proceso de lavado sobre el liquen en las concentraciones de los metales a analizar, fue realizado un lavado sobre una alícuota de muestra referente al punto 4. Fue establecida esta muestra debido a que presentaba la mayor cantidad de masa de liquen.

En primer lugar, realizando una comparación en cuanto al porcentaje de residuos (Fig. 19), puede decirse que la técnica de lavado empleada, además de disminuir la concentración de los metales, proporciona mayor dispersión en los resultados. La Tabla 13 muestra los resultados de esta etapa.

La disminución del porcentaje de residuos en la muestra lavada (4-L) indica que existe pérdida de partículas no solubles en ácido nítrico al realizar el procedimiento de lavado. En cuanto a la mayor dispersión reflejada, esta podría ser efecto de la incertidumbre intrínseca del procedimiento. Sin embargo, Bettinelli y col. (2002) hacen énfasis en que cualquier metodología podría insertar variabilidad en los resultados y reducir la posibilidad de realizar



comparaciones entre datos ya que actualmente no existe un método de lavado estandarizado para muestras de líquenes.

Tabla 13. Masa y porcentaje de residuo en muestra lavada (4-L) y no lavada (4)

Muestra	Masa ($\pm 0,0001$ g)	Residuo ($\pm 0,0001$ g)	% de residuo
4	0,3501	0,0056	1,6
	0,3508	0,0063	1,8
	0,3532	0,0057	1,6
4-L	0,3571	0,0045	1,3
	0,3506	0,0066	1,9
	0,3022	0,0033	1,1

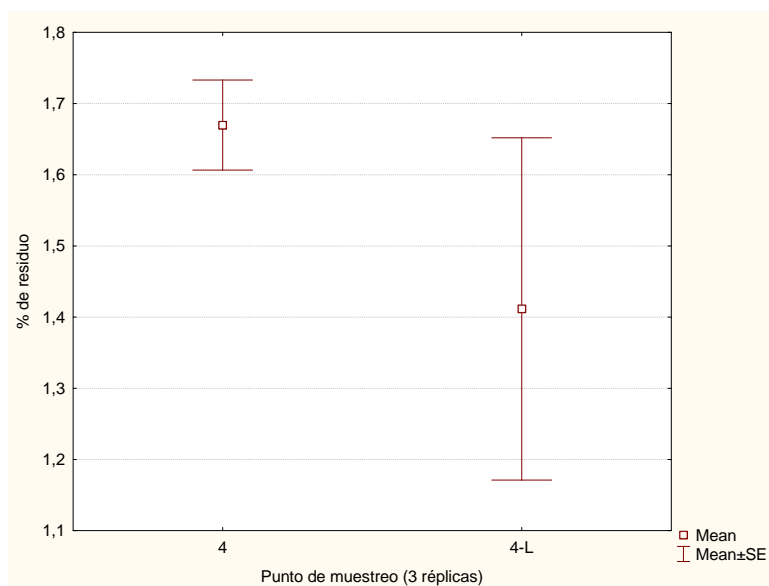


Fig. 19. Comparación de porcentaje de residuos en muestra de líquen lavada (4-L) y no lavada (4)

Al sumergir la muestra de líquen en un beaker con agua deionizada, partículas foráneas como insectos, trozos de corteza y de hojas, partículas, entre otros, fueron separados del líquen.

En cuanto a las concentraciones determinadas en la muestra lavada y no lavada (Tabla 14) puede notarse una disminución en la concentración de cada elemento para la muestra lavada hasta alcanzar porcentajes de hasta 70 % como para el Cr.



Para determinar si estos valores son estadísticamente diferentes fue realizada la prueba de Duncan (Apéndice R) la cual permitió establecer que las concentraciones de Al, Ba, Cr, Cu y V son similares en relación a si la muestra está o no lavada, lo que implica que no existen diferencias apreciables en la concentración de estos metales al realizar el lavado; mientras que para el resto de los metales (Co, Fe, Mg, Mn, Ni, Pb, Zn y Ti) la diferencia si es significativa.

Tabla 14. Concentración de metales en muestra lavada y no lavada (3 réplicas)

Punto de Muestreo	4 (mg/kg)	4-L (mg/kg)	% disminución
Al	1918 ± 116	1672 ± 156	13
Ba	13,52 ± 0,62	11,55 ± 1,38	15
Co	3,77 ± 0,40	2,36 ± 0,31	38
Cr	30,66 ± 0,29	9,21 ± 0,31	70
Cu	10,57 ± 0,19	9,31 ± 1,07	12
Fe	3093 ± 119	2550 ± 194	18
Mg	1792 ± 59	1480 ± 125	17
Mn	49,7 ± 3,7	39,6 ± 3,7	20
Ni	119,78 ± 4,87	77,21 ± 8,56	36
Pb	25,9 ± 2,7	20,0 ± 1,0	23
V	4,30 ± 1,03	3,54 ± 0,12	18
Zn	115,73 ± 6,35	72,11 ± 7,91	38
Ti	25,30 ± 0,97	22,90 ± 0,99	9

La tendencia de estos metales a disminuir al realizarle el lavado a la muestra 4 puede ser observado en la Fig. 20.

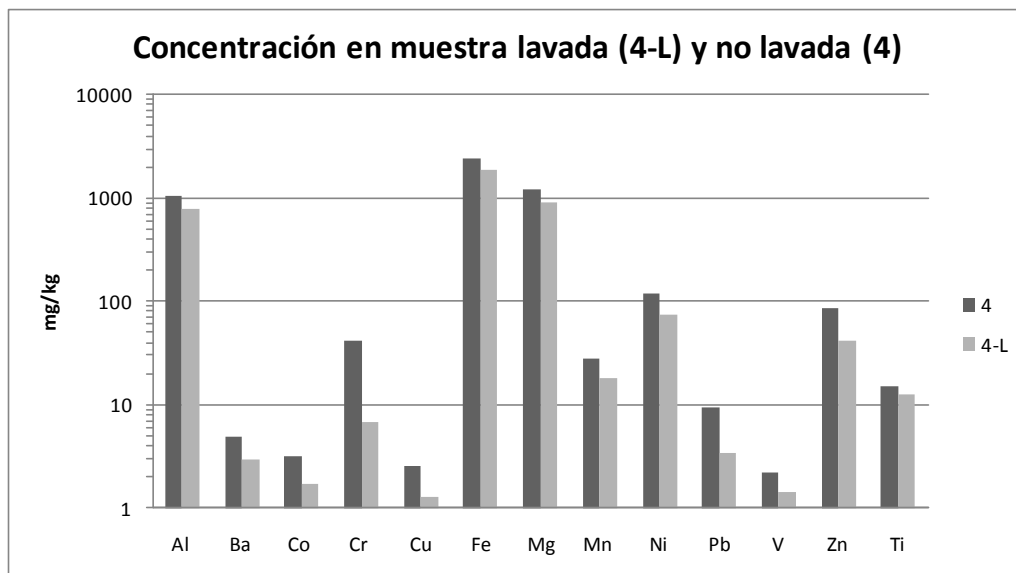


Fig. 20. Concentración de metales en muestra de líquen lavada (4-L) y no lavada (4)

Esto permite deducir que el proceso de lavado llevado a cabo, descrito por Tuncel y col. (2004), remueve a las partículas del líquen. Estas partículas poseen en su composición a estos metales.

Es importante resaltar lo dicho por Bettinelli y col. (2002): "...la limpieza del biomonitor es un paso indispensable sólo para el caso de investigaciones fisiológicas y toxicológicas, donde la fracción del elemento adsorbido sobre la superficie debe ser distinguida de aquella presente dentro de los tejidos". Este mismo autor afirma que los elementos de naturaleza antropogénica están frecuentemente asociados a las partículas atmosféricas que se encuentran adsorbidas sobre la superficie del biosensor, y que por lo tanto son fácilmente removibles.

6.7 Análisis de varianza (ANOVA)

Fue realizada la prueba estadística de análisis de varianza (ANOVA) de un factor con la finalidad de establecer relaciones entre los promedios de las concentraciones de cada metal con respecto a cada punto de muestreo.

El nivel de significancia (p) establecido para esta prueba fue de 0,05. Las hipótesis planteadas fueron las siguientes:



$$H_0: \mu_1 = \mu_2 = \mu_n$$

$$\alpha = 0,05$$

Acepto si la $p > 0,05$

H_1 : Al menos una es diferente

Acepto si la $p < 0,05$

Un nivel de significancia mayor a 0,05 nos dice que debemos aceptar la hipótesis nula (H_0), es decir, que no existe diferencia significativa entre los valores promedio. Por el contrario, si el valor es menor a 0,05 rechazaremos la hipótesis nula y aceptaremos la hipótesis alternativa (H_1) en donde ha sido establecido que hay diferencias significativas entre estos promedios.

Adicionalmente fueron realizadas las pruebas de Duncan, las cuales permitieron evaluar las diferencias individuales entre todos los promedios a lo largo de las estaciones muestreadas.

A continuación son presentados los resultados de estas pruebas estadísticas para cada metal estudiado:

6.7.1 Aluminio

Tabla 15. Resultados de Análisis de Varianza para Al

Efecto	Al (mg/kg)				
	Sumatoria de cuadrados	Grados de Libertad	Cuadrado medio	F	p
Intercepto	31461391	1	31461391	1746,190	0,000000
Punto de Muestreo	1295918	4	323980	17,982	0,000146
Error	180172	10	18017		

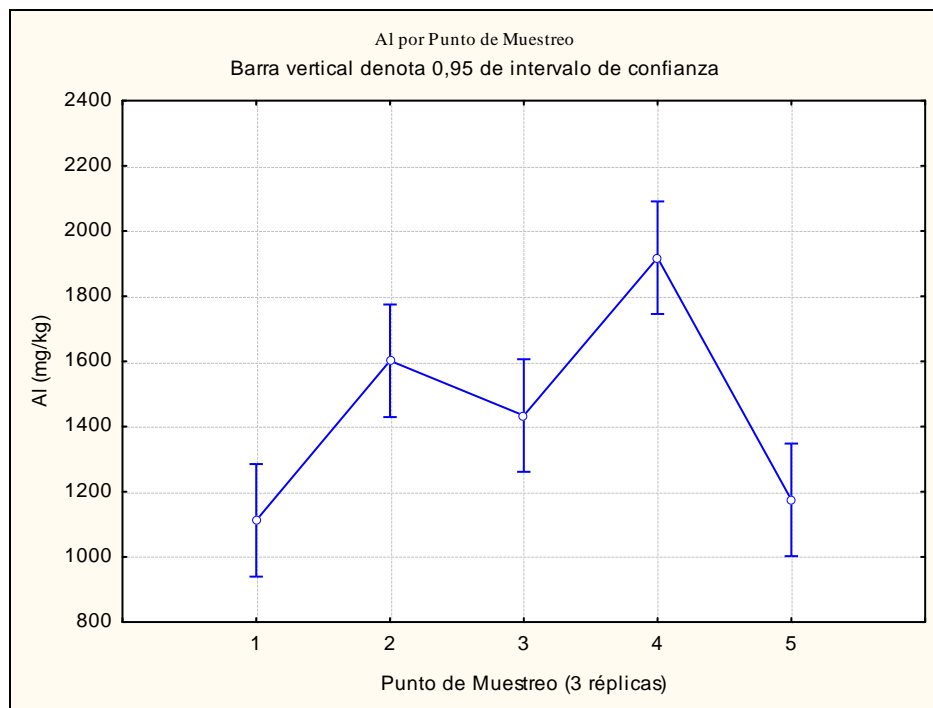


Fig. 21. Gráfico de Análisis de Varianza para Al

Según la Tabla 15, $p < 0,05$ lo que quiere decir que al menos un punto de muestreo posee una concentración significativamente diferente a la de las demás. Sin embargo, observando los resultados de la prueba de Duncan (Apéndice 5) podemos establecer que existen 4 grupos homogéneos y diferenciables entre sí en cuanto a sus valores promedio: el primer grupo conformado por los puntos 1 y 5; el segundo grupo por los puntos 2 y 3; el tercer grupo conformado sólo por el punto 4; y el último grupo conformado sólo por la muestra de la USB. De esta manera podríamos decir que existen 4 poblaciones significativamente distintas para el elemento Al a lo largo de las estaciones muestreadas. Las concentraciones de Al de todos los puntos de la zona de estudio son significativamente distintos a las concentraciones determinadas en las muestras de la USB.

En la Fig. 21 podemos observar el comportamiento del Al a lo largo de la transecta junto al error estándar asociado para un intervalo de confianza del 95 %. Los puntos más cercanos a la minera poseen concentraciones mayores, lo que permite inferir que la misma sea la fuente más importante de este metal en la atmósfera local.



Cabe destacar que el aluminio es un elemento característico de suelos, además es un constituyente principal de rocas máficas, asociándose a minerales como el piroxeno y las plagioclasas. En procesos de laterización, este metal es concentrado pudiendo formar parte de la estructura de los silicatos de Ni (Bellizzia, 1967). Está principalmente asociado a partículas de tamaño grueso (entre 3.5 y 15 μm) por lo que suele tener bajas distancias de dispersión en la atmósfera (Fernández, 2001).

También es notable que en el punto 3 existe una disminución de la concentración de Al con respecto a la tendencia de aumentar la misma hacia la mina. Esto podría explicarse de la misma manera como se hizo con el estudio del porcentaje de residuos en las mismas muestras: la densidad de las partículas aumenta en este punto debido a la mayor humedad local ocasionando así una rápida deposición de las mismas al suelo (Hien y col 2002). Estas partículas tendrían este metal como uno de sus constituyentes.

6.7.3 Bario

Tabla 16. Resultados de Análisis de Varianza para Ba

Efecto	Ba (mg/kg)				
	Sumatoria de cuadrados	Grados de Libertad	Cuadrado medio	F	p
Intercepto	2876,411	1	2876,411	1850,593	0,000000
Punto de Muestreo	123,904	4	30,976	19,929	0,000094
Error	15,543	10	1,554		

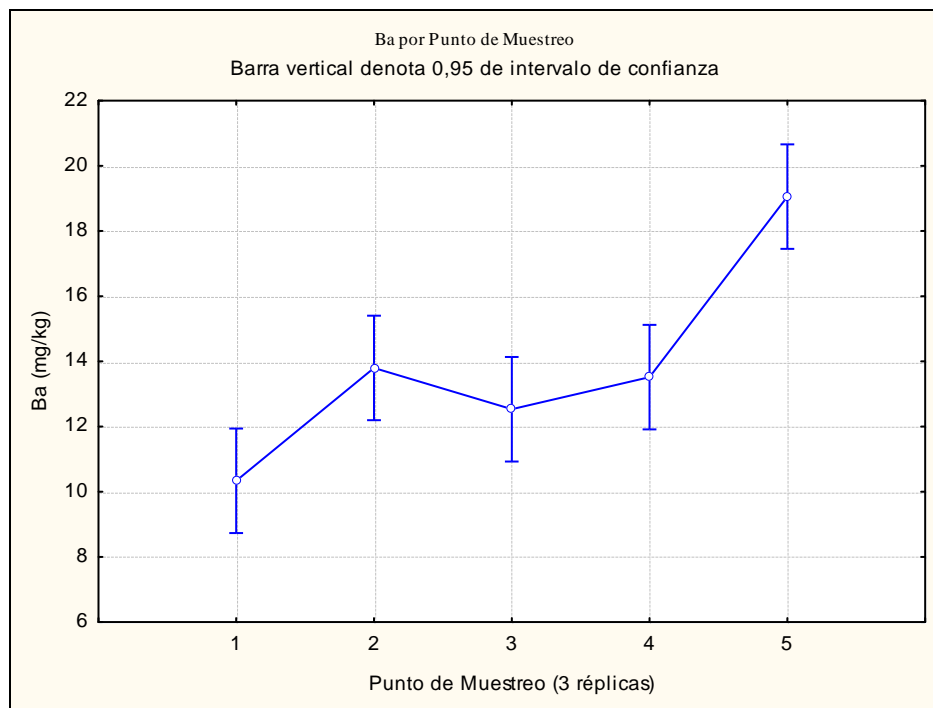


Fig. 22. Gráfico de Análisis de Varianza para Ba

El nivel de significancia para Ba a lo largo de la transecta ($p < 0,05$) permite rechazar la hipótesis nula y de esta manera establecer que existe al menos una localidad con concentraciones estadísticamente diferentes a las de las demás (Tabla 16). Según la prueba de Duncan (Apéndice S) las concentraciones determinadas en las muestra del punto 1 son similares a las de la USB; los puntos 2, 3 y 4 poseen concentraciones similares y; el punto 5 posee la mayor concentración de Ba, la cual es distinta estadísticamente a las demás.

De manera general el Ba aumenta hacia el punto 5 (Fig. 22). Esta dirección (Este-Oeste) es la misma que siguen los vientos predominantes de la zona por lo que la dispersión de este metal pudiera estar asociada con este factor. El Ba no es constituyente de las rocas que son explotadas por esta empresa minera, por lo que su origen en la atmósfera puede asociarse también a productos de fundición y de la quema de combustibles fósiles como el carbón mineral y el diesel los cuales son empleados en esta empresa. Las partículas asociadas a este tipo de fuentes son



de tamaño fino (0-2,5 μ m) por lo que su dispersión por acción del viento suele ser mayor en la atmósfera (Fernández, 2001).

6.7.4 Cobalto

Tabla 17. Resultados de Análisis de Varianza para Co

Efecto	Co (mg/kg)				
	Sumatoria de cuadrados	Grados de Libertad	Cuadrado medio	F	p
Intercepto	59,24409	1	59,24409	484,4094	0,000000
Punto de Muestreo	16,53877	4	4,13469	33,8073	0,000009
Error	1,22302	10	0,12230		

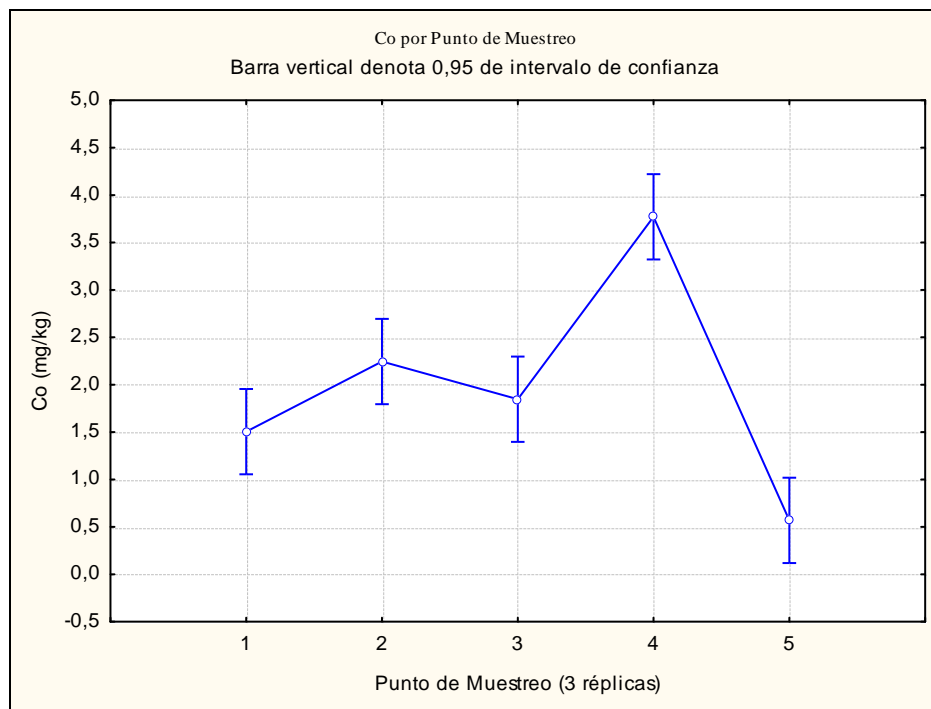


Fig. 23. Gráfico de Análisis de Varianza para Co

El análisis de varianza para Co también permite rechazar la hipótesis nula ya que $p < 0,05$ (Tabla 17). Así, observando los resultados de la prueba de Duncan (Apéndice S) podemos concluir que la concentración de Co en el punto 5 es estadísticamente similar a la obtenida en la USB; el punto 4 posee la mayor concentración; y los puntos 1, 2 y 3 son similares estadísticamente.



Según la Fig. 23, es notable que la concentración de Co tiende a disminuir hacia los puntos más lejanos (1 y 5). En el punto 5 la concentración de Co es similar a las determinadas en las muestras de la USB lo que permite inferir que la dispersión de este metal, por acción del viento principalmente, no alcanza esta distancia. Además, el Co es un metal asociado a partículas gruesas provenientes de la litología en este caso y su sedimentación es alcanzada rápidamente (Jiménez, 2002). Adicionalmente, puede observarse que existe un descenso en las concentraciones de Co en la tercera estación que lo ubica entre las concentraciones del punto 1 y 2. Esta disminución puede explicarse de la misma manera como se hizo con las concentraciones de Al en el mismo punto ya que el Co también es un metal asociado a esta litología. Según Bellizzia (1967), en Venezuela puede encontrarse Co en rocas ultrabásicas (Loma de Hierro y Tinaquillo) en forma de absolana (óxido hidratado de cobalto y manganeso), aunque en proporciones muy bajas.

Por otra parte, el Co también puede estar presente en rocas ferromagnesianas (constituyentes de estas rocas), ya que es capaz de sustituir al Fe en la red cristalina por enmascaramiento o camuflaje por poseer similar radio iónico y electronegatividad, además de una carga de +2.

6.7.5 Cromo

Tabla 18. Resultados de Análisis de Varianza para Cr

Efecto	Cr (mg/kg)				
	Sumatoria de cuadrados	Grados de Libertad	Cuadrado medio	F	p
Intercepto	3953,887	1	3953,887	1266,039	0,000000
Punto de Muestreo	2408,595	4	602,149	192,809	0,000000
Error	31,230	10	3,123		

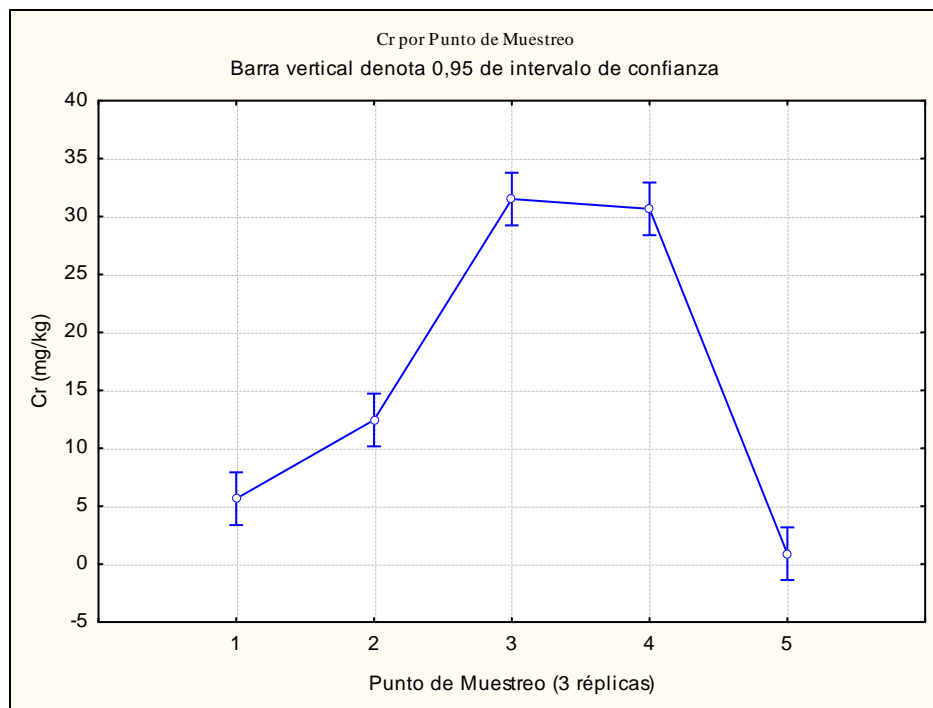


Fig. 24. Gráfico de Análisis de Varianza para Cr

La Tabla 18 muestra que $p < 0,05$ por lo que existe al menos una estación en donde la concentración es diferente significativamente a la de las demás estaciones. Los resultados de la prueba de Duncan (Apéndice 5) permiten establecer 4 grupos distintos: el primero establece que las estaciones 5 y USB poseen concentraciones estadísticamente homogéneas; el segundo establece que las estaciones 3 y 4 poseen concentraciones similares; y el tercero y el cuarto grupo están conformados sólo por los puntos 1 y 2 respectivamente.

Las concentraciones de Cr a lo largo de la transecta (Fig. 24) aumentan hacia la minera (puntos 3 y 4) y descienden hasta el nivel base (USB) en el punto 5 por lo que la dispersión de este metal no alcanza los 10 km de longitud hacia el suroeste por acción del viento. Este metal, al igual que Al y Co suele estar asociado a un tamaño de partículas grueso ($> 2.5 \mu\text{m}$) debido a que proviene principalmente de polvo de suelo y de carreteras pavimentadas, sin embargo también es asociada a partículas finas ($< 2.5 \mu\text{m}$) cuando proviene de fuentes como quemadores de carbón y procesos de fundición (Fernández, 2001).



Este metal posee un comportamiento parecido al hierro y al aluminio debido a sus similitudes en cuanto a propiedades químicas, radio iónico y carga iónica, por lo que sigue a ellos durante el ciclo exógeno. El Cr existente en los piroxenos, anfíboles y micas es liberado durante la meteorización; en cambio el Cr contenido en los óxidos de cromita, magnetita e ilmenita (asociados a complejos máficos-ultramáficos) son concentrados, pudiendo así ser expulsados posteriormente a la atmósfera debido a la explotación de estas rocas (Bellizia, 1967).

6.7.6 Cobre

Tabla 19. Resultados de Análisis de Varianza para Cu

Efecto	Cu (mg/kg)				
	Sumatoria de cuadrados	Grados de Libertad	Cuadrado medio	F	p
Intercepto	1793,028	1	1793,028	450,403	0,000000
Punto de Muestreo	14,596	4	3,649	0,9166	0,491140
Error	39,809	10	3,981		

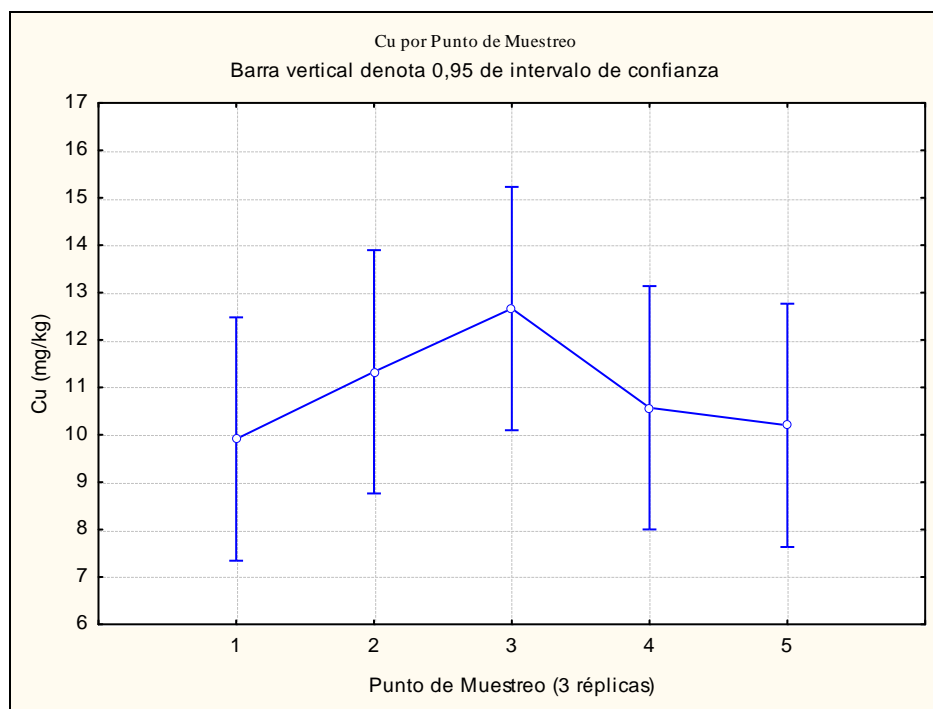


Fig. 25. Gráfico de Análisis de Varianza para Cu



Según la Tabla 19, $p < 0,05$ por lo que se rechaza la hipótesis nula y existen medias estadísticamente distintas. Detallando la prueba de Duncan (Apéndice S) las concentraciones de Cu en los puntos 1, 2, 4 y 5 son estadísticamente similares a las concentraciones de Cu en las muestras de la USB por lo que la emisión de este metal no es significativa en estos puntos. El punto 3, sin embargo, posee la mayor concentración, la cual es distinta estadísticamente a las demás.

Según la Fig. 25, las concentraciones de Cu aumentan hacia la minera. Este metal no es constituyente de las rocas que son explotadas por la minera, sin embargo su origen puede asociarse a la quema de combustibles fósiles (carbón y diesel) y procesos de fundición (Fernández, 2001).

6.7.7 Mercurio

Tabla 20. Resultados de Análisis de Varianza para Hg

Efecto	Hg (mg/kg)			
	Sumatoria de Cuadrados	grados de Libertad	Cuadrado medio	F p
Intercepto	0,11504	1	0,11504	
Punto de Muestreo	0,01500	5	0,00300	
Error	0,00000	12	0,00000	



Fig. 26. Gráfico de Análisis de Varianza para Hg

El Hg sólo fue analizado una vez por estación por lo que no existe variabilidad en los resultados. Por esto no fue posible determinar el nivel de significancia de los datos realizando el análisis de ANOVA (Tabla 20) ni realizar la prueba de Duncan.

No obstante, en la Fig. 26 se muestra el comportamiento de este metal, el cual es similar al de Al y Co: disminuye hacia los extremos y en el punto 3 de muestreo. Este metal no es un constituyente principal de las rocas ultramáficas, sin embargo, según Frederick y col. (1998) puede estar presente en rocas peridotíticas serpetinizadas. Cabe destacar que según Garuti y col. 1984, citado por Carlson (2005), existen niveles altos de Hg (hasta 150 ppb) en peridotitas masivas por lo que a pesar de no presentar altas concentraciones, su comportamiento a lo largo de las estaciones permite relacionarlo a la litología de la zona.

Otra posible fuente de Hg puede originarse por la quema de carbón mineral usado como combustible o por procesos de fundición llevados a cabo en esta industria minera.



Adicionalmente fue determinada la concentración de Hg en una muestra de líquen *Parmotrema sancti-angelii* trasplantada desde la USB a la ciudad de Caracas, específicamente a la localidad de El Silencio, Caracas (Gómez, 2010). La misma estuvo expuesta por un periodo de cuatro meses en dicha zona y la concentración determinada por el analizador directo de mercurio (DMA-80) fue de 87 ng/g. A pesar de haber estado expuesta por un periodo mayor a las trasplantadas en los alrededores de la población de Tiara, su concentración es similar e incluso menor a las concentraciones determinadas en Tiara. Esto podría significar que existe una mayor tasa de emisión de este metal en Tiara que en la zona estudiada en Caracas (El Silencio). También es probable que el líquen, al estar en condiciones distintas en cuanto a clima y diversidad de contaminantes, tenga un metabolismo distinto que pueda estar influyendo sobre la bioacumulación de este metal (Seaward, 1974).

6.7.8 Hierro

Tabla 21. Resultados de Análisis de Varianza para Fe

Efecto	Fe (mg/kg)				
	Sumatoria de cuadrados	Grados de Libertad	Cuadrado medio	F	p
Intercepto	51233543	1	51233543	3305,26	0,000000
Punto de Muestreo	8691938	4	2172985	140,187	0,000000
Error	155006	10	15501		

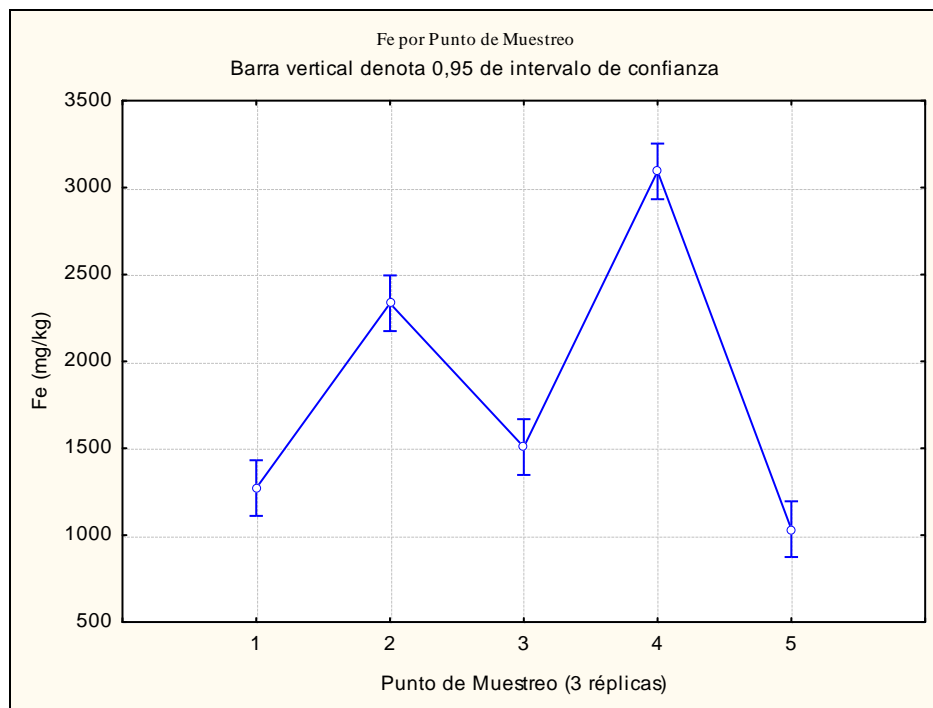


Fig. 27. Gráfico de Análisis de Varianza para Fe

Según el análisis de varianza para Fe existe al menos una estación donde las concentraciones son significativamente distintas ya que $p < 0,05$ (Tabla 21). Los resultados de la prueba de Duncan (Apéndice 5) permiten establecer 6 grupos de medias distintos donde cada uno de estos está compuesto por cada una de las estaciones del muestreo, es decir, no existen similitudes entre cada estación (1-5 y USB) en cuanto a las medias de las concentraciones de Fe.

La Fig. 27 muestra el comportamiento del Fe junto con el error estándar asociado para un nivel de confianza de 0,95. Este metal suele estar presente en la atmósfera como partículas de tamaño grueso por lo que su sedimentación luego de ser emitido hacia la atmósfera tiende a ser rápida (Fernández, 2001). Puede notarse que las concentraciones disminuyen hacia los puntos más lejanos (1 y 5) aunque siguen siendo relativamente altas con respecto a las de los demás metales analizados. De la misma manera que Al, Co y Hg, el Fe tiene una tendencia similar a lo largo de las estaciones, pudiéndose explicar en el punto 3 de la misma manera que para los metales ya descritos.



Las altas concentraciones de este metal obedecen a la dispersión por agentes de transporte como el viento sobre las partículas relacionadas con las rocas explotadas por la empresa minera, la cual poseen Fe como uno de los constituyentes. Esta litología está formada principalmente por rocas harzburgitas y gabros serpentinizados, constituidas por olivino $(Mg,Fe)SiO_4$ y ortopiroxeno que al ser meteorizados forman lateritas ricas en oxihidróxidos de hierro (Birbe, 2009).

6.7.9 Magnesio

Tabla 22. Resultados de Análisis de Varianza para Mg

Efecto	Mg (mg/kg)				
	Sumatoria de cuadrados	Grados de Libertad	Cuadrado medio	F	p
Intercepto	21959704	1	21959704	7712,748	0,000000
Punto de Muestreo	1849378	4	462345	162,386	0,000000
Error	28472	10	2847		

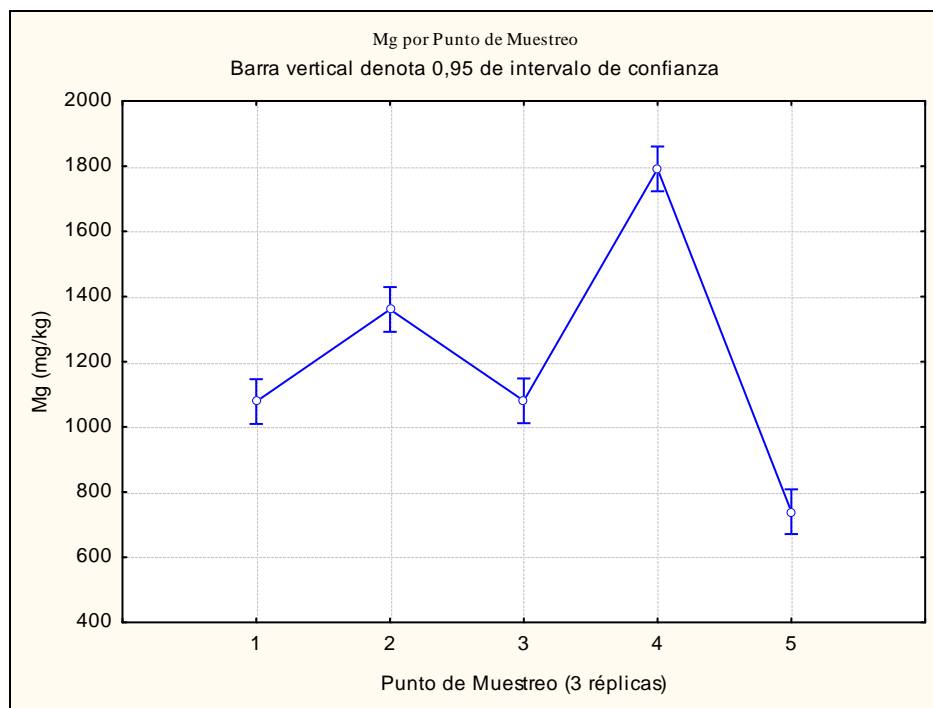


Fig. 28. Gráfico de Análisis de Varianza para Mg



El análisis de varianza para Mg indica que $p < 0,05$ (Tabla 22) por lo que es rechazada la hipótesis nula. La prueba de Duncan (Apéndice S) define 5 grupos distintos: el primero de ellos concentra la muestra de la USB; el segundo a los puntos 1 y 3; mientras que cada uno de los otros tres grupos está conformado por los puntos 2, 4 y 5 respectivamente.

Las concentraciones de Mg a lo largo de las estaciones de muestreo reflejan un comportamiento similar al de los metales Al, Co, Hg y Fe (Fig. 28). Las concentraciones disminuyen hacia los puntos externos (1 y 5) y también existe un declive de concentración en el punto 3 que logra explicarse de la misma manera que para los metales descritos anteriormente.

El Mg al igual que el Fe es uno de los principales constituyentes de los minerales formadores de las rocas explotadas en esta zona. Entre los minerales presentes en la zona que están asociados al metal Mg están el olivino $(Mg,Fe)SiO_4$, la enstantita $MgSiO_3$ y la garnierita $(Ni,Mg)_3Si_2O_5(OH)_4$ (Birbe, 2009).

6.7.10 Manganeso

Tabla 23. Resultados de Análisis de Varianza para Mn

Efecto	Mn (mg/kg)				
	Sumatoria de cuadrados	Grados de Libertad	Cuadrado medio	F	p
Intercepto	25598,72	1	25598,72	2343,675	0,000000
Punto de Muestreo	1130,81	4	282,70	25,883	0,000029
Error	109,22	10	10,92		

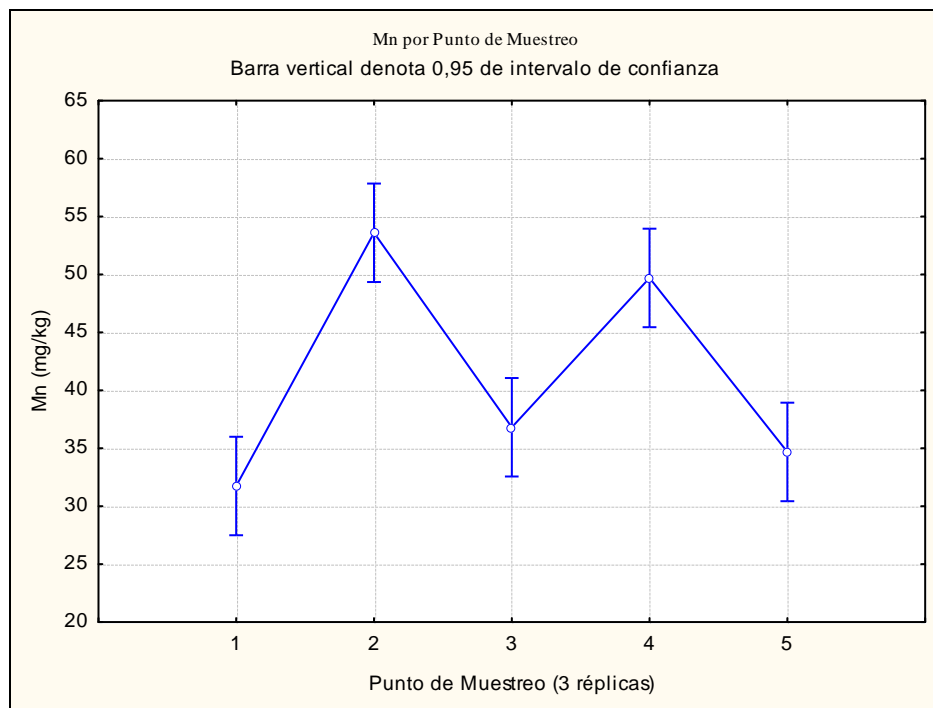


Fig. 29. Gráfico de Análisis de Varianza para Mn

Al igual que los metales descritos anteriormente, el Mn presenta $p < 0,05$ (Tabla 23) por lo que también se rechaza la hipótesis nula. La prueba de Duncan (Apéndice S) establece que en ninguna estación las concentraciones de Mn son estadísticamente similares a las determinadas en la muestra de la USB por lo que existe un aporte de este metal en todos estos. Según esta prueba, las concentraciones de los puntos 2 y 4 son similares, al igual que las concentraciones de Mn en las estaciones 1,3 y 5.

Según la Fig. 29 las concentraciones tienden a disminuir hacia los puntos extremos. Sin embargo, también se nota un descenso en la concentración de la tercera estación tal cual como para los metales Al, Co, Hg, Fe y Mg. Esta disminución puede explicarse de la misma manera que para dichos metales ya que el Mn también se encuentra asociado a la litología local explotada. Es un metal que en las etapas de cristalización del magma puede sustituir al Fe en la red cristalina por sustitución iónica, más específicamente por admisión ya que posee menor densidad de carga (2,5) con respecto al Fe (2,7). Además, también es encontrado en forma de



absolana $\text{CoO}_2 \cdot \text{MnO}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ en estas rocas peridotíticas, aunque en muy bajas proporciones (Bellizzia, 1967).

6.7.11 Níquel

Tabla 24. Resultados de Análisis de Varianza para Ni

Efecto	Ni (mg/kg)				
	Sumatoria de cuadrados	Grados de Libertad	Cuadrado medio	F	p
Intercepto	38742,64	1	38742,64	2427,53	0,000000
Punto de Muestreo	21895,06	4	5473,76	342,975	0,000000
Error	159,60	10	15,96		

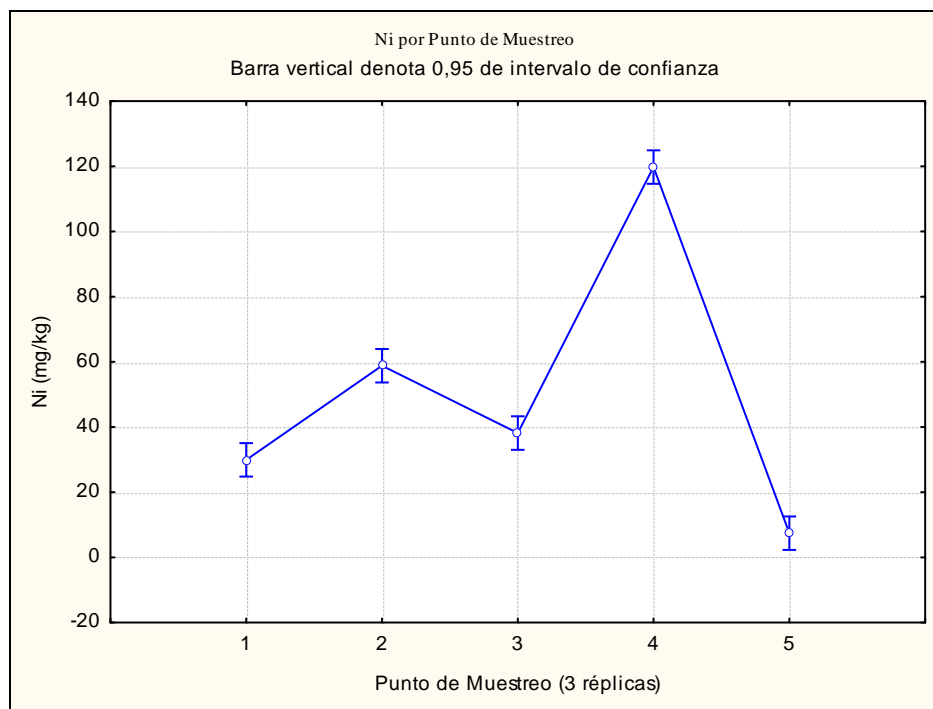


Fig. 30. Gráfico de Análisis de Varianza para Ni

El análisis de varianza para Ni también indica que $p < 0,05$ (Tabla 24) por lo que se rechaza la hipótesis nula. La prueba de Duncan (Apéndice S) permite establecer 5 grupos de medias significativamente distintas donde sólo las concentraciones de Ni alcanzadas en el punto 5 son estadísticamente homogéneas con respecto a la concentración base (USB).



En la Fig. 30 se muestran las concentraciones de Ni para cada punto de muestreo junto con el error estándar asociado para un intervalo de confianza de 0,95. De la misma manera que el Al, Co, Hg, Fe, Mg y Mn, el Ni posee un comportamiento con concentraciones menores hacia los puntos extremos y una disminución en el punto 3, pudiéndose explicar de la misma manera ya que tienen un origen común.

El níquel es también constituyente de los minerales formadores de las rocas explotadas en esta zona. Es el metal más importante para esta empresa minera ya que ella se encarga de producir y mercadear al mismo como ferroníquel. Durante el proceso de laterización, el níquel sufre una concentración aproximada de 1:8 (Bellizzia, 1967). El mineral más importante presente en la zona con Ni en su estructura cristalina es la Garnierita $(Ni,Mg)_3Si_2O_5(OH)_4$.

Sin embargo, este metal también puede sustituir al Mg en la red cristalina de los minerales presentes en rocas máficas - ultramáficas por enmascaramiento o camuflaje ya que poseen radios iónicos similares. De esta manera, el olivino $(Mg,Fe)SiO_4$ y la enstantita $(MgSiO_3)$, así como también la pimelita $Ni_3Si_4O_{10}(OH)_2 \cdot 4(H_2O)$, el talco $Mg_3Si_4O_{10}(OH)_2$, la clorita y algunos hidróxidos de Fe como la goethita $FeO(OH)$ también pueden contener Ni en su estructura interna (Bellizzia, 1967) y por tanto ser también fuente de este metal para la atmósfera local.

6.7.12 Plomo

Tabla 25. Resultados de Análisis de Varianza para Pb

Efecto	Pb (mg/kg)				
	Sumatoria de cuadrados	Grados de Libertad	Cuadrado medio	F	p
Intercepto	12586,31	1	12586,31	1042,158	0,000000
Punto de Muestreo	371,58	4	92,89	7,692	0,004239
Error	120,77	10	12,08		

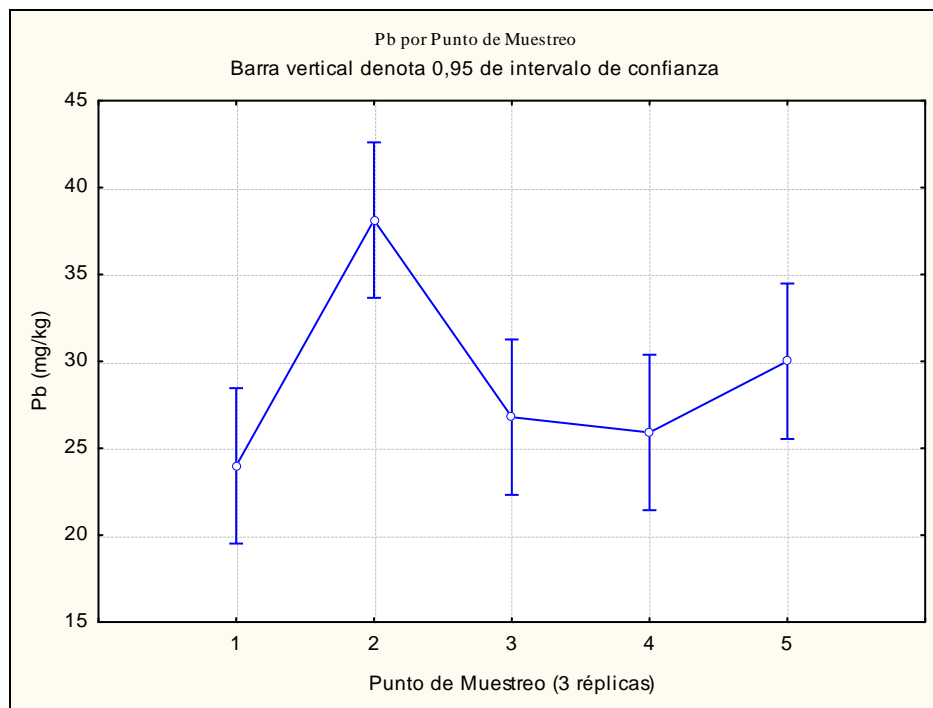


Fig. 31. Gráfico de Análisis de Varianza para Pb

El nivel de significancia para Pb es de $p < 0,05$ (Tabla 25), lo que permite rechazar la hipótesis nula y establecer así que existe al menos una estación con diferencias significativas de las medias. Según la prueba de Duncan (Apéndice S) las mayores concentraciones de este metal se asocian al punto 2, mientras que en las estaciones 1, 3, 4 y 5 son homogéneas estadísticamente y a su vez distintas a las concentraciones base (USB).

La Fig. 31 muestra las concentraciones de Pb en los puntos de muestreo con un intervalo de confianza de 0,95. La mayor concentración se halla en la estación 2 y desciende hasta ser estadísticamente homogénea en los puntos 1, 3, 4 y 5.

Actualmente, es sabido que el Pb no es un elemento constituyente de las rocas máficas – ultramáficas ya que este se asocia a la fase de sulfuros. Las emisiones de Pb están asociadas, más bien, a actividades antropogénicas producto de la quema de combustibles fósiles. En esta zona el tráfico vehicular es bajo sin embargo en las inmediaciones de la empresa se movilizan camiones y se utilizan maquinarias que usan diesel como combustible, el cual actualmente es



bien sabido que posee impurezas de metales en su composición. Además, la quema de carbón, empleada en esta industria para calcinar el mineral, también puede ser un emisor de este metal hacia la atmósfera ya que el mismo puede contener Pb en su composición traza como impureza.

6.7.13 Vanadio

Tabla 26. Resultados de Análisis de Varianza para V

Efecto	V (mg/kg)				
	Sumatoria de cuadrados	Grados de Libertad	Cuadrado medio	F	p
Intercepto	114,8351	1	114,8351	437,5102	0,000000
Punto de Muestreo	9,1640	4	2,2910	8,7285	0,002674
Error	2,6247	10	0,2625		

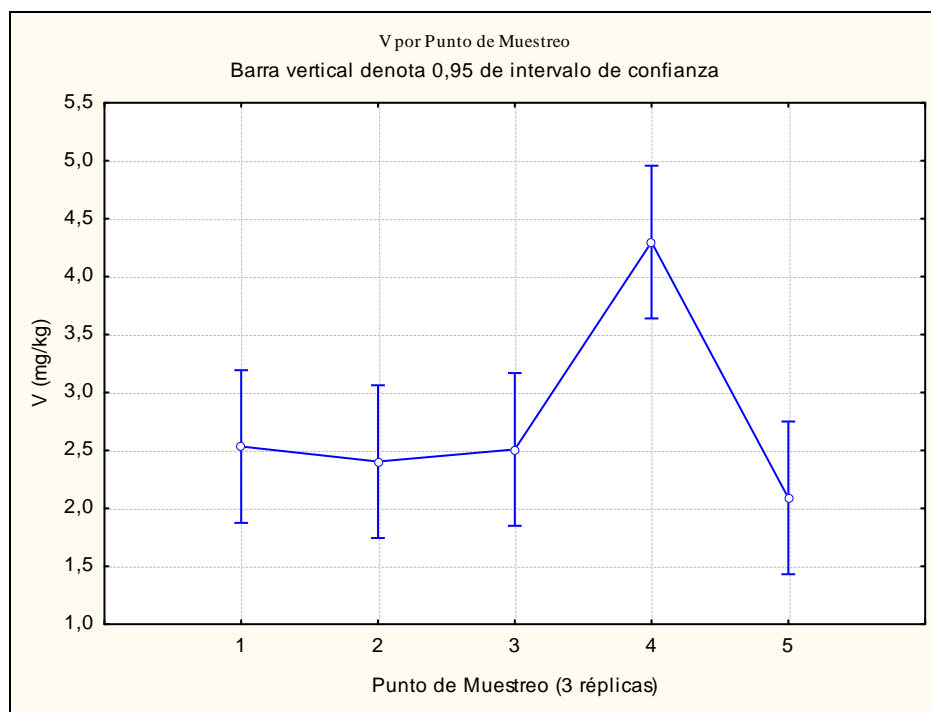


Fig. 32. Gráfico de Análisis de Varianza para V

Según el análisis de ANOVA, para V existe al menos una localidad significativamente distinta a las demás en cuanto a sus medias de concentración ya que $p < 0,05$ (Tabla 27). Para comprobar esto fue realizada la prueba de Duncan (Apéndice S) y efectivamente se nota que existe sólo una



localidad distinta a las demás: el punto 4. Este, a su vez posee la mayor concentración de todos los puntos (Fig. 32).

Las concentraciones de V en los puntos distintos al 4 son estadísticamente iguales a las obtenidas como nivel base en las muestras de la USB por lo que podría decirse que su dispersión por acción del viento no alcanza distancias mayores a 2 km.

El vanadio, al igual que el mercurio, no es un constituyente principal de las rocas pertenecientes a complejos máficos-ultramáficos como el de esta zona. Sin embargo puede estar presente en peridotitas en relación al piroxeno y la espinela (Canil, 2002).

Su emisión hacia la atmósfera también puede ser ocasionada por actividades antrópicas, principalmente aquellas en donde existen procesos de combustión (Fernández, 2001).

6.7.14 Zinc

Tabla 27. Resultados de Análisis de Varianza para Zn

Efecto	Zn (mg/kg)				
	Sumatoria de cuadrados	Grados de Libertad	Cuadrado medio	F	p
Intercepto	270505,9	1	270505,9	2237,264	0,000000
Punto de Muestreo	27444,6	4	6861,1	56,746	0,000000
Error	1209,1	10	120,9		

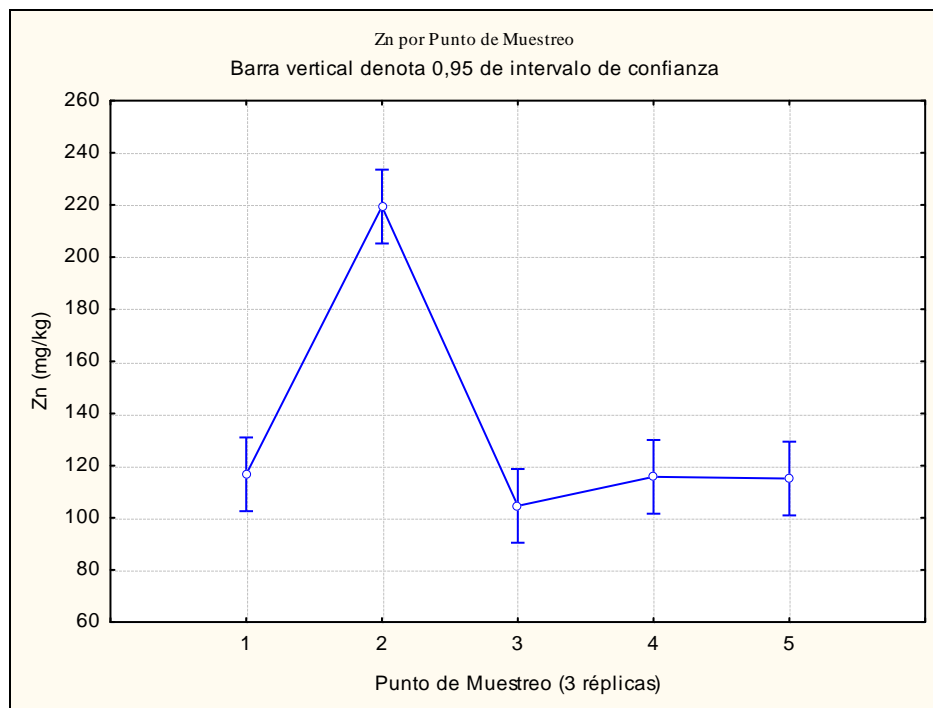


Fig. 33. Gráfico de Análisis de Varianza para Zn

Al ver el nivel de significancia para Zn en la Tabla 27 ($p < 0,05$), podemos rechazar la hipótesis nula y establecer que existe al menos una estación con diferencias significativas en las medias de concentración. La prueba de Duncan (Apéndice S) permite diferenciar 3 grupos distintos: el primer grupo donde las concentraciones de Zn en los puntos 1, 3, 4 y 5 son estadísticamente homogéneas; y el segundo y tercer grupo conformados por los puntos 2 y USB respectivamente.

En la Fig. 33 son observadas las concentraciones de Zn para cada punto de muestreo con un intervalo de confianza de 0,95. La mayor concentración fue determinada para la estación 2, mientras que en el resto se mantiene con un nivel bajo y constante.

Al igual que para el Pb, las emisiones de Zn están relacionadas con actividades antrópicas en donde existan procesos de quema de combustibles, además de a procesos de incineración y a pesticidas en suelos agrícolas. Este metal no está asociado a las fases minerales de las rocas que prevalecen en esta zona.



6.7.15 Titanio

Tabla 28. Resultados de Análisis de Varianza para Ti

Efecto	Ti (mg/kg)				
	Sumatoria de cuadrados	Grados de Libertad	Cuadrado medio	F	p
Intercepto	5192,244	1	5192,244	6823,155	0,000000
Punto de Muestreo	252,498	4	63,124	82,952	0,000000
Error	7,610	10	0,761		

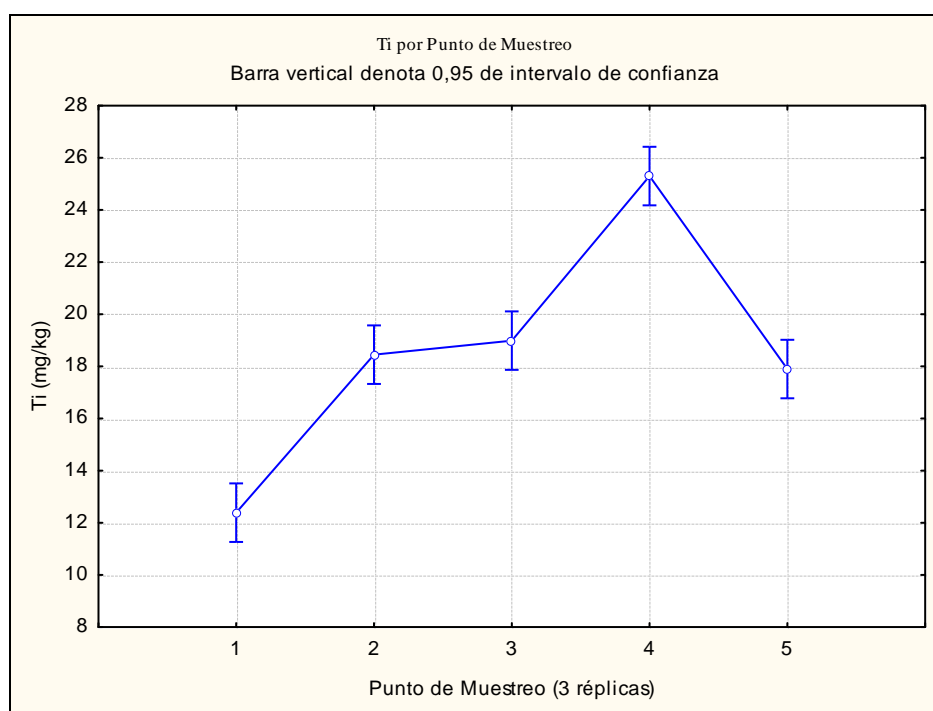


Fig. 34. Gráfico de Análisis de Varianza para Ti

Para el Ti también hay que rechazar la hipótesis nula ya que $p < 0,05$ según se muestra en la Tabla 28. La prueba de Duncan (Apéndice S) nos indica que existen 4 grupos de medias de concentraciones distintas a lo largo de los puntos de muestreo. El primer grupo lo conforman las concentraciones de las estaciones 1 y USB; el segundo grupo por las estaciones 2, 3 y 5; y el tercer grupo sólo por la estación 4, donde alcanza las mayores concentraciones.

El gráfico sobre la varianza de Ti a lo largo de las estaciones (Fig. 34) permite observar un comportamiento similar al de otros metales: Al, Co, Hg, Fe, Mg, Mn y Ni, permitiendo de esta



manera inferir que poseen una fuente común. Las mayores concentraciones son alcanzadas en la cuarta estación.

6.8 Correlaciones entre las concentraciones de los metales determinados en líquenes

A continuación se muestra en la Tabla 29 los resultados de las correlaciones más significativas entre las variables determinadas. Adicionalmente, el apéndice P muestra el coeficiente de correlación de Pearson (r) entre todos los metales analizados.

Tabla 29. Correlaciones de metales determinados en líquenes trasplantados

Correlación	r^*	r^2
Fe/Mg	0,9708	0,9425
Hg/Ni	0,9702	0,9414
Ni/Fe	0,9687	0,9383
Ni/Mg	0,9668	0,9347
Mg/Hg	0,9534	0,9089
Fe/Al	0,9512	0,9048
Co/Ni	0,9503	0,9030
Hg/Fe	0,9502	0,9028
Co/Mg	0,9321	0,8689
Co/Fe	0,9296	0,8642
Pb/Zn	0,8731	0,7623

* Para $p < 0,01$

Al observar estos valores podemos concluir que existe buena correlación y por tanto dependencia entre las concentraciones de los metales allí mostrados, es decir, ellos se relacionan directamente: si uno aumenta su concentración, el otro también lo hace.

De esta manera podemos inferir que existe un origen común para la emisión de estos metales hacia la atmósfera local. Detallando el apéndice P podemos establecer 2 principales grupos de correlación: el primero donde agrupamos los metales Al, Fe, Mg, Mn, Ni, Co y Hg; y el segundo



grupo sólo constituido por Pb y Zn. El primero de estos está relacionado con la litología de la zona, la cual es intensamente explotada en la minera; el último más bien con procesos de quema de combustibles fósiles como carbón y diesel en vehículos y maquinarias principalmente.

6.9 Comparación de concentración de metales en líquenes con concentración de metales en partículas determinadas por Girón (2008)

A continuación es presentada en la Fig. 35 el promedio de las concentraciones de los metales obtenidos de la fracción ácida para las partículas totales suspendidas (PTS) determinadas por Girón (2008) en los distintos puntos muestreados en la población de Tiara y la composición promedio de los puntos muestreados de los mismos metales determinados en el presente trabajo mediante el empleo de líquenes.

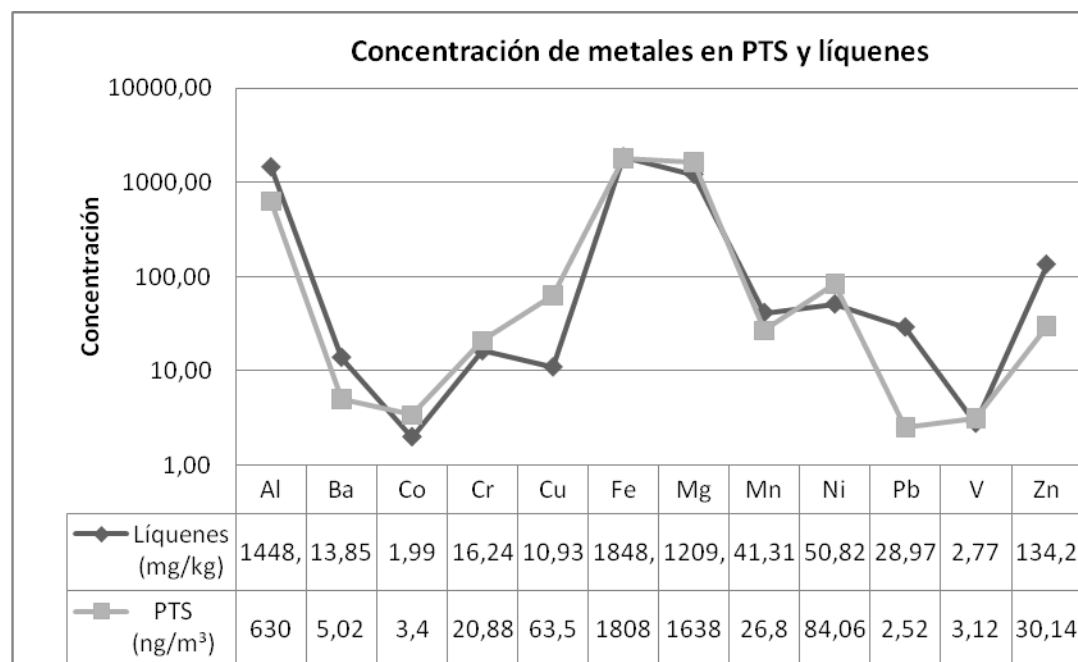


Fig. 35. Concentración de metales de PTS (Girón, 2008) y líquenes (presente trabajo)

En general puede observarse la misma tendencia en las concentraciones de metales en relación a ambas investigaciones. El metal Cu es el único que muestra una correlación negativa, ya que mientras en las PTS aumenta en relación a Cr, en los líquenes disminuye. Esto podría asociarse a diferencias en cuanto a su emisión en los períodos de estudios de cada investigación ya que



Girón (2009) realizó su estudio entre los años 2006-2008 y la presente investigación sólo en el año 2010. Cabe destacar que las fuentes de este metal están asociadas a partículas finas producto de la quema de combustibles fósiles, procesos de fundición y también por incineración (Fernández, 2001).

6.10 Análisis de Conglomerados (Clúster)

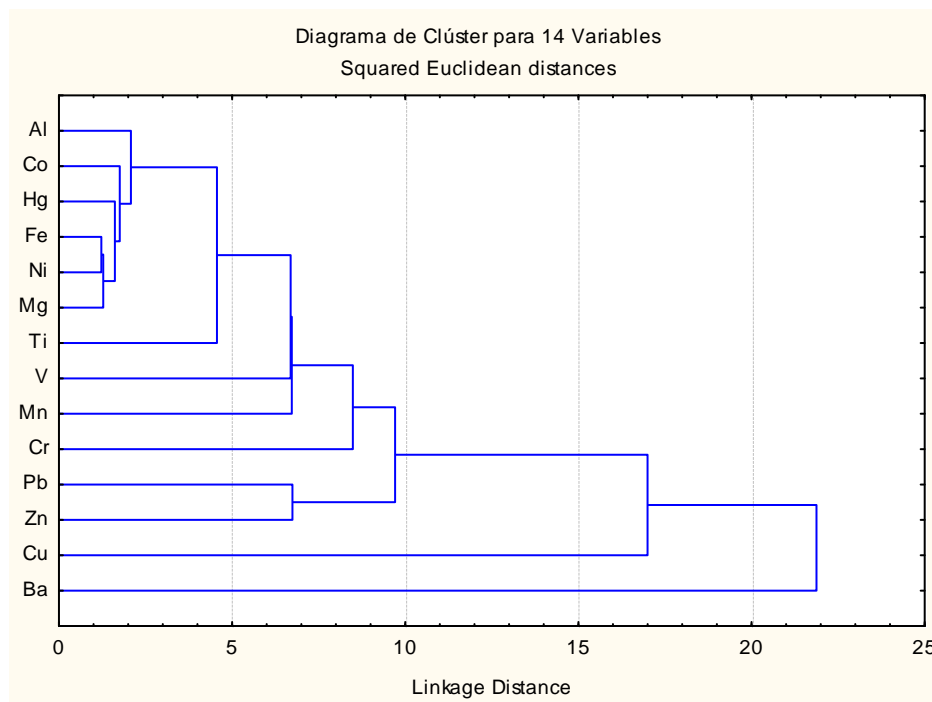


Fig. 36. Análisis de conglomerados para metales

El análisis de conglomerados presentado en la Fig. 36 revela un fuerte agrupamiento estadístico entre los metales Fe, Ni y Mg en conjunto con Hg, Co y Al. Esto sugiere que los mismos posean características o afinidades similares a lo largo de las estaciones muestreadas. Las propiedades geoquímicas de ellos, a excepción de Hg, los permiten definir como elementos litófilos por lo que se encuentran asociados a rocas silicatadas de la corteza terrestre, en este caso, a las rocas máficas-ultramáficas serpentinizadas de la zona. El Hg, a pesar de ser un elemento calcófilo, puede estar presente en estas rocas ultramáficas (Carlson, 2005).



Los elementos Ti, V, Mn y Cr también pueden agruparse junto a los metales descritos anteriormente, sin embargo las similitudes no son tan fuertes estadísticamente. Estos metales también son clasificados como litófilos y están presentes en las fases minerales constituyentes de las rocas explotadas de esta zona.

Otra asociación reflejada en la Fig. 36 es la de los elementos Pb y Zn. Este agrupamiento obedece a que existe un origen común para ambos elementos, pudiendo ser en este caso por actividades antrópicas como emisiones debido a quema de combustibles fósiles y procesos de fundición.

Por último, los metales Cu y Ba pueden ser agrupados distintamente a los mencionados anteriormente según el análisis de conglomerados. Ellos no suelen estar presente en los minerales constituyentes de estas rocas y pueden ser emitidos hacia la atmósfera a través de automóviles, quemadores de carbón y por actividades de fundición (Fernández, 2001).

Al realizar el análisis de conglomerados para las estaciones muestreadas (Fig. 37) pueden definirse 4 grupos (clúster): el primero conformado por las muestras de la USB las cuales representan el nivel base de cada elemento en estudio; el segundo por los puntos más alejados de la minera (1 y 5); el tercero por las estaciones 2 y 3 que están más cercanas a la minera; y el último grupo conformado sólo por el punto 4, el cual tiene las mayores concentraciones de metales, está cercano a la minera y se encuentra favorecido por la dirección preferencial de los vientos con respecto a la minera.

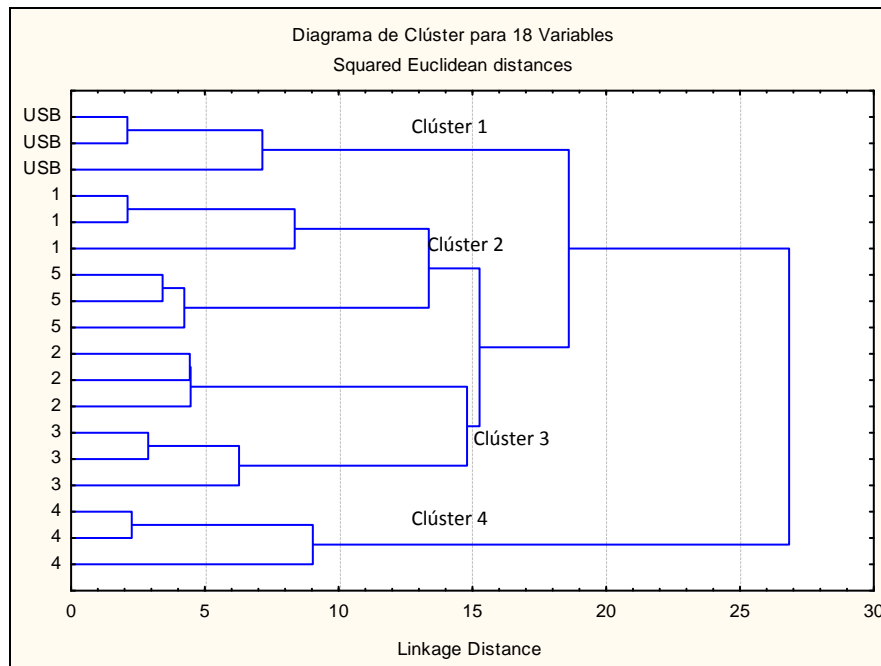


Fig. 37. Análisis de conglomerados para los puntos de muestreo

6.11 Análisis de Componentes Principales (ACP)

Los resultados del análisis de componentes principales para los metales analizados son presentados en la Tabla 30. Los valores resaltados indican cargas significativas para cada factor o componente (Axis).



Tabla 30. Componentes Principales de metales determinados en *Parmotrema sancti angelii*

Eigenvalues			
	Axis 1	Axis 2	Axis 3
Eigenvalues	9,477	2,166	0,837
Percentage	67,694	15,47	5,981
Cum. Percentage	67,694	83,165	89,146
PCA variable loadings			
	Axis 1	Axis 2	Axis 3
Al	0,315	0,012	-0,035
Ba	0,146	-0,513	-0,419
Co	0,279	0,288	0,002
Cr	0,249	0,282	0,399
Cu	0,198	-0,259	0,528
Hg	0,319	0,068	-0,028
Fe	0,299	0,156	-0,296
Mg	0,307	0,12	0,07
Mn	0,29	-0,173	0,046
Ni	0,306	0,119	0,175
Pb	0,213	-0,429	0,11
V	0,22	0,352	-0,325
Zn	0,254	-0,325	0,102
Ti	0,28	-0,083	-0,362

De acuerdo a esta tabla, los tres primeros factores permiten explicar el 89,1 % de la varianza total de los datos.

Con el primer componente (Axis 1) son correlacionados los metales Al, Co, Cr, Hg, Fe, Mg, Mn, Ni, Pb, V, Zn y Ti. Con el segundo componente (Axis 2) esencialmente a Co, Cr y V, mientras que con el tercer componente (Axis 3) son correlacionados los metales Cr y Cu principalmente.

En la Fig. 38 se muestra la tendencia de cada uno de estos metales con respecto a las zonas muestreadas.

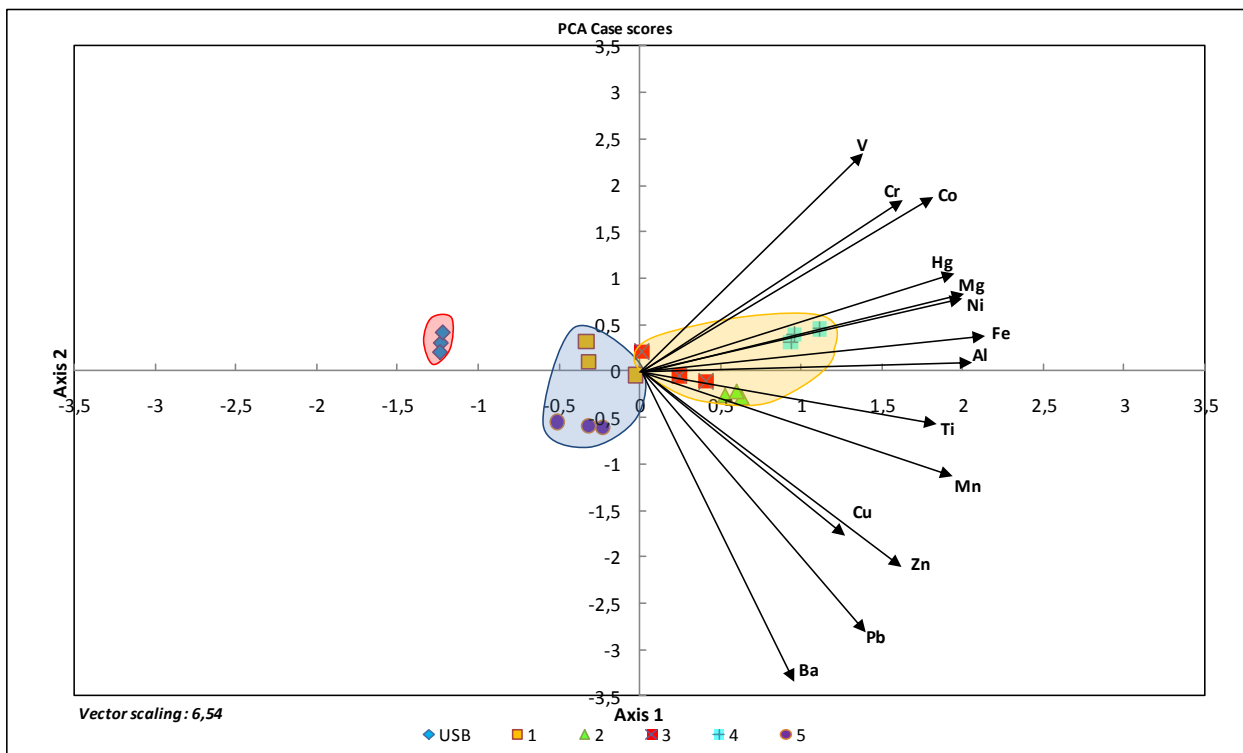


Fig. 38, Componentes principales para Parmotrema sancti angelii a 3 meses de exposición en 6 puntos (Axis 1 y 2)

A partir de esta figura puede deducirse que existen 3 grupos que difieren significativamente en cuanto a la retención de metales en los puntos muestreados: los líquenes nativos (USB), los líquenes que yacían cerca a la minera (2, 3 y 4), y los líquenes que se encontraban más lejanos a la minera (1 y 5).

De estos grupos, el que posee mayor influencia de metales es el que está más cercano a la minera, principalmente la estación 4, la cual está ubicada en una posición favorecida por la dirección preferencial de los vientos en la zona con respecto a la empresa. Esto permite relacionar a la misma como principal fuente de emisión de estos metales a la atmósfera local, especialmente de Hg, Mg, Ni, Fe y Al, y en menor proporción de Co, Cr, Mn y Ti; todos ellos elementos relacionados a las rocas explotadas por la minera.

Los metales relacionados a procesos de fundición y quema de combustibles fósiles (Ba, Cu, Pb y Zn) se asocian más bien a fases gaseosas en la atmósfera y se concentran en estaciones



cercanas (2 y 3) y lejanas (1 y 5) a la minera. Esta distribución podría estar influenciada por la acción de los vientos en la dispersión de estos metales.

6.12 Factor de Enriquecimiento (F.E)

La Fig. 39 demuestra el F.E para los líquenes utilizando Ti, Fe y Al como elementos de referencia.

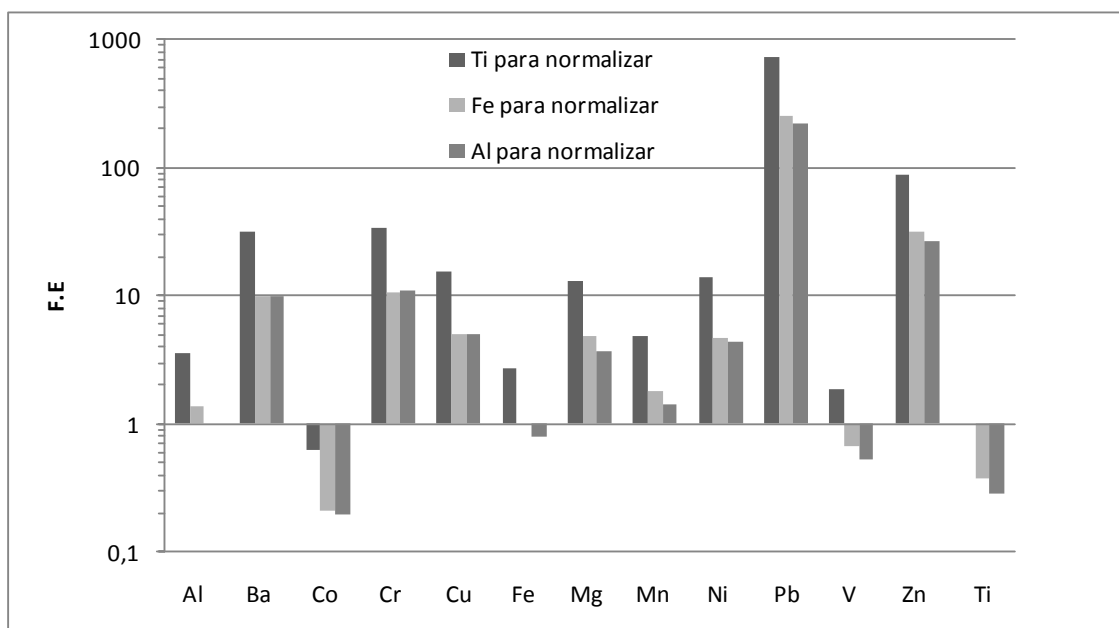


Fig. 39. Comparación del Factor de enriquecimiento de metales en liquen usando Ti, Fe y Al como referencia

Cada uno de estos metales puede ser empleado como elemento para normalizar sin embargo puede detallarse que los valores del factor de enriquecimiento utilizando Fe y Al son mucho menores que los obtenidos con Ti. Estos valores pueden observarse mejor en las Tablas 31, 32 y 33.



Tabla 31. Factor de enriquecimiento en muestras de líquen de los puntos 3 y 5 utilizando Ti como referencia

Punto de muestreo	Al	Ba	Co	Cr	Cu	Fe	Mg	Mn	Ni	Pb	V	Zn	Ti
3	3,1	63,7	1,2	67,6	32,5	3,2	13,3	5,2	21,7	1106,0	1,6	114,5	1,0
	3,4	63,7	1,0	73,6	36,1	3,4	13,6	5,7	25,1	1226,2	2,0	140,8	1,0
	2,8	53,3	0,9	61,6	22,9	2,9	12,1	4,7	22,3	1017,2	1,9	100,1	1,0
5	4,8	2,6	0,2	0,4	0,8	2,5	13,4	5,0	9,1	345,9	1,8	62,8	1,0
	3,9	3,2	0,2	0,8	0,7	2,5	13,9	4,9	4,3	312,7	1,8	60,8	1,0
	3,4	2,5	0,3	0,0	0,7	2,1	12,8	4,0	1,8	388,0	1,9	51,4	1,0

Tabla 32. Factor de enriquecimiento en muestras de líquen de los puntos 3 y 5 utilizando Fe como referencia

Punto de muestreo	Al	Ba	Co	Cr	Cu	Fe	Mg	Mn	Ni	Pb	V	Zn	Ti
3	1,0	20,1	0,4	21,3	10,2	1,0	4,2	1,6	6,8	348,3	0,5	36,1	0,3
	1,1	20,1	0,3	23,2	11,4	1,0	4,3	1,8	7,9	386,2	0,6	44,3	0,4
	0,9	16,8	0,3	19,4	7,2	1,0	3,8	1,5	7,0	320,4	0,6	31,5	0,3
5	2,1	1,1	0,1	0,2	0,4	1,0	5,7	2,1	3,9	148,1	0,8	26,9	0,4
	1,7	1,4	0,1	0,3	0,3	1,0	5,9	2,1	1,8	133,8	0,8	26,0	0,5
	1,5	1,1	0,1	0,0	0,3	1,0	5,5	1,7	0,8	166,0	0,8	22,0	0,4

Tabla 33. Factor de enriquecimiento en muestras de líquen de los puntos 3 y 5 utilizando Al como referencia

Punto de muestreo	Al	Ba	Co	Cr	Cu	Fe	Mg	Mn	Ni	Pb	V	Zn	Ti
3	1,0	20,6	0,4	21,8	10,5	1,0	4,3	1,7	7,0	357,0	0,5	37,0	0,3
	1,0	20,6	0,3	23,8	11,6	1,1	4,4	1,8	8,1	395,8	0,7	45,4	0,4
	1,0	17,2	0,3	19,9	7,4	0,9	3,9	1,5	7,2	328,3	0,6	32,3	0,3
5	1,0	0,7	0,0	0,1	0,2	0,6	3,3	1,2	2,2	85,4	0,4	15,5	0,2
	1,0	0,8	0,1	0,2	0,2	0,6	3,4	1,2	1,1	77,2	0,4	15,0	0,3
	1,0	0,6	0,1	0,0	0,2	0,5	3,2	1,0	0,4	95,8	0,5	12,7	0,2

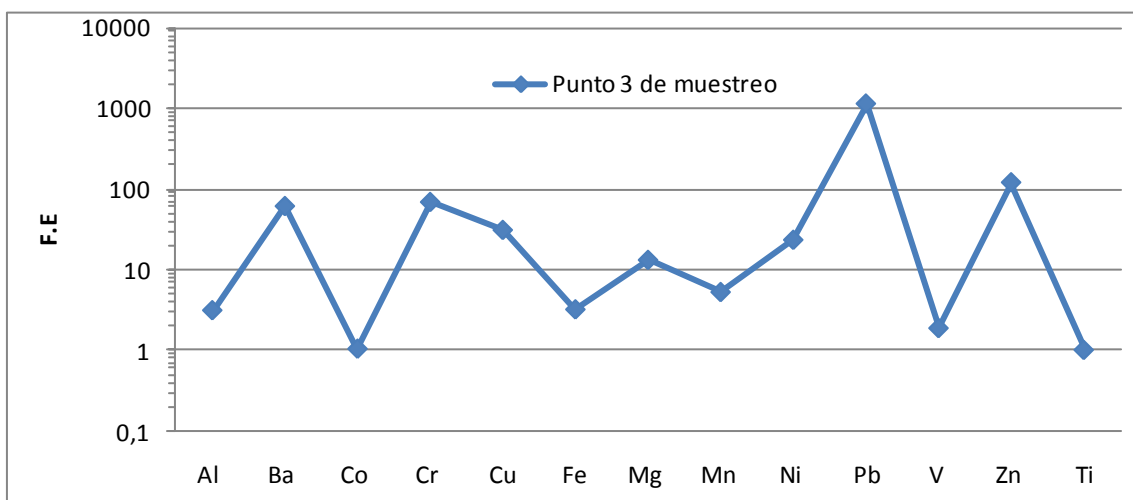
Estos tres elementos son trazadores de suelo, sin embargo actualmente suele utilizarse Ti, así como también Sc, para estudios de factor de enriquecimiento porque no poseen funciones biológicas conocidas en el líquen (Nash, 1996). Esto podría estar influyendo en la diferencia observada de estos valores con respecto a los obtenidos con Al y Fe.

Otro factor que pudiera estar incidiendo sobre los resultados del F.E usando Al como referencia es que las concentraciones determinadas de este metal para las muestras de suelo están fuera



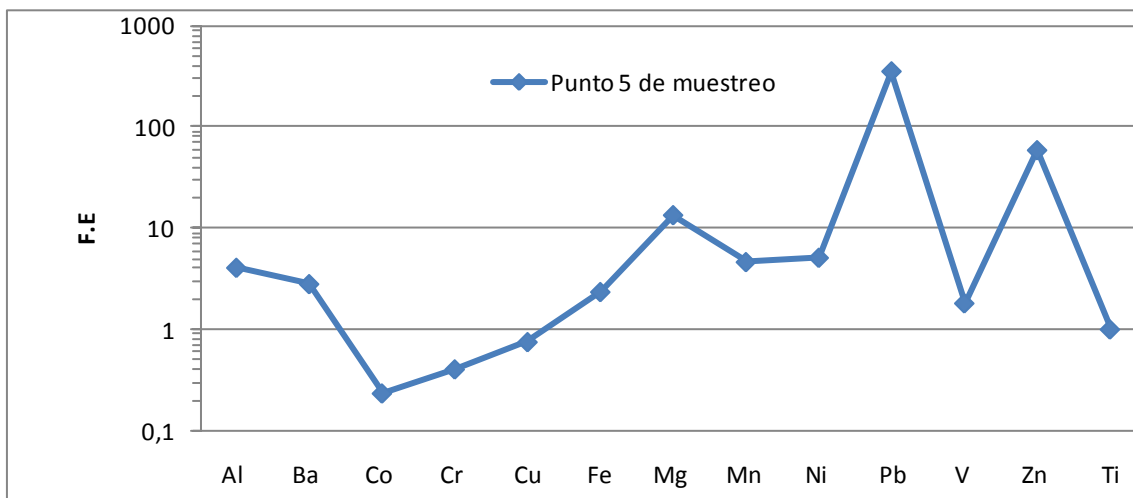
del rango lineal provisto por la curva de calibración, pudiendo afectar así la veracidad de estos resultados.

En las figuras 40 y 41 puede observarse la tendencia de los valores del F.E en los puntos 3 y 5 de muestreo utilizando Ti como referencia.



*Ti para normalizar

Fig. 40. Factor de Enriquecimiento en el punto 3 para cada metal



*Ti para normalizar

Fig. 41. Factor de Enriquecimiento en el punto 3 para cada metal



El general, el F.E de todos elementos es mayor en la zona más cercana a la minera (punto 3), destacándose los valores para los metales Pb y Zn que son mayores a 100. Estos niveles indican que estos metales no provienen del suelo local sino de fuentes antropogénicas o naturales lejanas. En este caso sería por la quema de combustibles fósiles (Carbón y Diesel), y en menor proporción por procesos de fundición y uso de pesticidas y fertilizantes para el caso de Zn (Scerbo y col. 2002) ya que no existen fuentes naturales de estos metales (menas de sulfuros) en zonas cercanas. Estas actividades antrópicas están presentes en esta zona, ya sea por labores de la industria minera, así como por la actividad agrícola y vehicular.

En la zona más distanciada a la minera (punto 5), estos mismos metales siguen teniendo un F.E alto (> 50), indicando así el alcance de la dispersión de estos metales en el aire debido a las fuentes antrópicas antes mencionadas. Cabe destacar que estos metales están principalmente asociados a partículas finas ($< 2.5 \mu\text{m}$) por lo que su dispersión por los vientos alcanza distancias mayores que las alcanzadas por partículas asociadas más bien a la litología (Fernández, 2001).

Algunos metales relacionados a la litología explotada por la industria minera (Al, Fe, Mg, Mn y Ni) también poseen valores > 1 en ambas zonas muestreadas, evidenciando así que también existe propagación de estos metales en el aire a las distancias que comprenden estas estaciones. En este caso dicha emisión sería debido a los procesos de extracción, remoción, trituración, apilación, entre otros, llevados a cabo por la industria. Sólo el Cr posee valores que permiten establecer que su difusión en el aire no alcanza la zona lejana ya que en esta posee valores del F.E < 1 .



7. CONCLUSIONES

1. El método de muestreo diseñado permitió biomonitorizar las emisiones de metales provenientes de una fuente fija.
2. El líquen empleado como biomonitor de metales en este estudio fue identificado como *Parmotrema sancti-angelii*.
3. La mezcla de ácido nítrico/ácido fluorhídrico concentrado es más eficiente que el agua regia y el ácido nítrico para la extracción de metales de muestras de líquen ya que permite la disolución total de la muestra.
4. La concentración de los metales Al, Cd, Cr, Ni, Fe y V fueron validadas bajo la metodología de extracción de metales con HNO₃. Usando la mezcla HF/HNO₃ pudieron ser validadas las concentraciones de Cd, Pb, Zn, Fe, Mn y V.
5. La concentración de metales (mg/kg) determinada en el líquen *P. sancti-angelii* fue: Fe (634-3228); Al (830-2043); Mg (455-1856); Zn (28,5-226,8); Ni (1,28-124,04); Mn (15,2-55,9); Pb (14,1-41,0); Cr (1,71-34,31); Ti (8,49-26,41); Ba (7,89-21,76); Cu (7,27-14,98); V (1,52-5,44); Co (0,41-4,03) y Hg (40,6-136,0 µg/kg).
6. El método de lavado empleado inserta variabilidad en la determinación de la concentración de metales en el líquen *Parmotrema sancti-angelii* disminuyendo sus valores.
7. La concentración de los metales Al, Fe, Mg, Mn, Ni, Co y Hg presentan muy buena correlación entre sí a lo largo de la transecta. Estos se relacionan con la litología explotada por la minera. Por otro lado, la concentración de los metales Pb y Zn (relacionados con la quema de combustibles fósiles) también poseen buena correlación entre sí a lo largo de la transecta.
8. El análisis de conglomerados realizado para los metales determinados permitió establecer 2 grupos con características o afinidades similares a lo largo de las estaciones: un grupo de factor litológico y otro de factor antropogénico.



9. El análisis de conglomerados por punto de muestreo permitió definir 4 grupos particulares: un primer grupo conformado por el punto de referencia o USB; un segundo grupo por los puntos más alejados a la minera (1 y 5); un tercer grupo por los puntos más cercanos a la misma (2 y 3); y un último grupo conformado por el punto 4 el cual posee mayor influencia con el favorecimiento de la dirección preferencial de los vientos.
10. El análisis de componentes principales permitió definir a los puntos cercanos a la minera como los que poseen mayor aporte de metales asociados al factor litológico.
11. El factor de enriquecimiento determinó que los metales Pb y Zn principalmente, son los metales provenientes de fuentes distintas al material parental de la zona, pudiendo ser originados por fuentes antropogénicas.



8. RECOMENDACIONES

- Evitar el lavado de la muestra de líquen al realizar estudios de contaminación, ya que las partículas son removibles.
- Realizar un estudio de biomonitoreo de metales en la misma zona en periodo lluvioso y establecer comparaciones entre muestras lavadas y no lavadas para determinar si existe un efecto de lavado o acumulación de metales por la lluvia.
- Análisis por Difracción de Rayos X al residuo insoluble en HNO_3 para determinar la composición mineralógica de estas partículas.
- Realizar análisis por Microscopía Electrónica para determinar la morfología y la composición elemental de las partículas no solubles.
- Realizar disolución del residuo de las muestras para su posterior análisis por ICP-AES.
- Emplear una fracción más fina (limos y arcillas) en las muestras de suelo al realizar estudios sobre el factor de enriquecimiento.



9. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Álvarez, I. & Guzmán-Dávalos, L. 2009: *Flavopunctelia* y *Punctelia* (Ascomycetes liquenizados) de Nueva Galicia, México. *Revista Mexicana de Micología*, Vol. 29: 15-29.
2. Argüello, E. 2009: Distribución de metales pesados entre Quebrada Quintero y Altamira-Caracas empleando líquenes y bromeliáceas como biomonitores de contaminación atmosférica. Trabajo Especial de Grado en Geoquímica, Universidad Central de Venezuela. Caracas. 109 pp.
3. Asmund, G; Boertmann, D. & Johansen, P. 2009: Baseline and monitoring studies at the Seqi olivine mine 2004 to 2007. National Environmental Research Institute, Aarhus University, 90 pp. – NERI Technical Report No. 715.
4. Aspiazu, J.; Cervantes, L.; Ramírez, J.; López, A; Ramos, R.; Muñoz, R. & Villaseñor, P. 2007: Temporal and spatial trends studied by lichen analysis: atmospheric deposition of trace elements in Mexico. *Revista Mexicana de Física* **53** (3): 87-96.
5. Baffi, C., Bettinelli, M., Beone, G.M. & Spezia, S., 2002: Comparison of different analytical procedures en the determinacion of trace elements in lichens. *Chemosphere* **48**: 299-306.
6. Bargagli, R.; Monaci, F.; Borghini, F.; Bravi, F. & Agnorelli, C. 2002: Mosses and lichens as biomonitors of trace metals. A comparison study on *Hypnum cupressiforme* and *Parmelia caperata* in a former mining district in Italy. *Environmental Pollution* **116**: 279-287.
7. Bedregal, P; Torres, B; Mendoza, P; Ubillús, M; Hurtado, J; Maza, I & Espinoza, R; 2004. El uso de *Usnea sp.* y *Tillandsia capillaris*, como Bioindicadores de la Contaminación Ambiental en la Ciudad de Lima, Perú. *Analysis in the Social Sciences* **37**: 378-385.
8. Bellizia, A. 1967: Rocas ultrabásicas en el Sistema Montañoso del Caribe y yacimientos minerales asociados. *Boletín de Geología, Ministerio de Minas e Hidrocarburos, Caracas* **8** (16): 159-198.
9. Bergamaschi, L.; Rizzio, E.; Valcuvia, M.; Verza, G.; Profumo, A. & Gallorini, M. 2002: Determination of trace elements and evaluation of their enrichment factors in Himalayan lichens. *Environmental Pollution* **120**: 137-144.
10. Bermudez, G.; Rodríguez, J. & Pignata, M. 2009: Comparison of the air pollution biomonitoring ability of three *Tillandsia* species and the lichen *Ramalina celastri* in Argentina. *Environmental Research* **109**: 6-14.



11. Bernasconi, E.; De Vito, I.; Martínez, L. & Raba, J. 2000: Liqueen *Usnea densirostra* como bioindicador de metales pesados. Determinación por ICP-AES acoplado con nebulizador ultrasónico. *Ars Pharmaceutica* **41:3**. 249-257.
12. Bettinelli, M; Perotti, M.; Spezia, S.; Baffi, C; Beone, G.; Alberici, F.; Bergonzi, S.; Bettinelli, C.; Cantarini, P. & Mascetti, L. 2002: The role of analytical methods for the determination of trace elements in environmental biomonitors. *Microchemical Journal* **73**: 131-152.
13. Birbe, N. 2009: Actualización geológica de la zona de explotación del yacimiento Loma de Hierro, Estado Miranda. Trabajo Especial de Grado para optar por grado de Ingeniero Geólogo, Universidad Central de Venezuela. Caracas. 81 pp.
14. Boamposem, L.; Adam, J.; Dampare, S.; Nyarko, B. & Esumang, D. 2010: Assessment of atmospheric heavy metal deposition in the Tarkwa gold mining area of Ghana using epiphytic lichens. *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research B* **268**: 1492-1501.
15. Canil, D. 2002: Vanadium in peridotites, mantle redox and tectonic environments: Archean to present. *Earth and Planetary Science Letters* **195**: 75-90.
16. Carlson, R. 2005: The Mantle and Core. Treatise on Geochemistry. Elsevier, 608 pp.
17. Conti, M.E. & Cecchetti, G. 2001: Biological monitoring: lichens as bioindicators of air pollution assessment – a review. *Environmental Pollution* **114**: 471-492.
18. Costa, C. ; Marques, A; Freitas, M.; Reis, M. & Oliveira O. 2002: A comparative study for results obtained using biomonitors and PM₁₀ collectors in Sado Estuary, *Environmental Pollution* **120**: 97-106.
19. Díaz, J. 2008: Aplicación de los líquenes *Parmotrema* sp. y *Physcia* sp. como biomonitores de contaminación por metales pesados, en algunas localidades de la Ciudad de Caracas. Trabajo Especial de Grado en Geoquímica, Universidad Central de Venezuela. Caracas. 152 pp.
20. Domènech, X. & Peral, J. 2006: Química Ambiental de Sistemas Terrestres. Editorial Reverté. Barcelona, España. 239 pp.
21. Fernández, A. 2001: Especiación química y física de metales en la materia particulada atmosférica. Universidad de Sevilla, Fundación Focus-Abengoa, 562 pp.
22. Figueiredo, A.; Nogueira, C.; Saiki, M.; Milian, F. & Domingos M. 2007: Assessment of atmospheric metallic pollution in the metropolitan region of São Paulo, Brazil, employing *Tillandsia usneoides* L. as biomonitor. *Environmental Pollution* **145**: 279-292.



23. Frers, C. 2006: La importancia de los problemas ambientales. Informe de Ecología y Gestión Ambiental. [Artículo en línea] Disponible:
http://www.internatura.org/estudios/informes/La_importancia_problemas_ambientales.pdf
24. Garty, J. 2001: Biomonitoring Atmospheric Heavy Metals with Lichens: Theory and Application. *Critical Reviews in Plants Sciences* **20** (4): 309-371.
25. Garty, J.; Tomer, S.; Levin, T. & Lehr, H. 2003: Lichens as biomonitores around a coal-fired power station in Israel. *Environmental Research* **91**: 186-198.
26. Girón, A. 2009: Concentración y composición química de las partículas atmosféricas en el pueblo de Tiara, Edo. Aragua. Trabajo de Grado en Ms en Ingeniería Sanitaria, Universidad Central de Venezuela. 91 pp.
27. Glahder, C.M. & Asmund, G. 2005: Environmental monitoring at the Nalunaq Gold Mine, South Greenland, 2004. National Environmental Research Institute, Denmark. 34 pp. –NERI Technical Report No. 546.
28. Glahder, C.M., Asmund, G. & Riget, F. 2008: Environmental monitoring at the Nalunaq Gold Mine, South Greenland, 2007. National Environmental Research Institute, University of Aarhus, Denmark. 32 pp. – NERI Technical Report No. 662.
29. Glahder, C.M., Asmund, G. & Riget, F. 2009: Environmental monitoring at the Nalunaq Gold Mine, South Greenland, 2008. National Environmental Research Institute, Aarhus University, Denmark. 30 pp. – NERI Technical Report No. 698.
30. Glahder, C.M., Asmund, G. & Riget, F. 2010: Environmental monitoring at the Nalunaq Gold Mine, South Greenland, 2009. National Environmental Research Institute, Aarhus University. 32 pp. – NERI Technical Report No. 772.
31. Gómez, H. 2010: Evaluación de la contaminación atmosférica por hidrocarburos aromáticos policíclicos empleando el liquen *Parmotrema sancti-angelii* y aplicando un muestreo de tipo activo en la ciudad de Caracas. Trabajo Especial de Grado en Geoquímica, Universidad Central de Venezuela. Caracas.
32. Gordon, A.; Herrera, R. & Hutchinson, T. 1995: The use of a common epiphytic lichen as a bioindicator of atmospheric inputs to two Venezuelan cloud forests. *Journal of Tropical Ecology* **11**: 1-26.
33. Hawksworth, DL; Iturriaga, T. & Crespo, A; 2005. Líquenes como bioindicadores inmediatos de contaminación y cambios medio-ambientales en los trópicos–Revisión. *Rev Iberoam Micol.* **22**: 71-82.



34. Hien, P.; Bac, V.; Tham, H.; Nhan, D. & Vinh, L. 2002: Influence of meteorological conditions on PM_{2.5} y PM_{2.5 - 10} concentrations during the monsoon season in Hanoi, Vietnam. *Atmospheric Environment* **36**: 3473-3484.
35. Jiménez B. 2002: La contaminación ambiental en México: causas, efectos y tecnología apropiada. Colegio de Ingenieros Ambientales de México. Instituto de Ingeniería de la UNAM y FEMISCA. 926 pp.
36. Johansen, P., Asmund, G., Aastrup, P. & Tamstorf, M. 2008: Environmental Impact of the Lead-Zinc Mine at Mestervig, East Greenland. National Environmental Research Institute, University of Aarhus, Denmark. 30 pp. – Research Notes from NERI no. 241.
37. Johansen, P., Asmund, G., Rigét, F. & Johansen, K. 2008: Environmental monitoring at the lead-zinc mine in Maarmorilik, Northwest Greenland, 2007. National Environmental Research Institute, University of Aarhus. 54 pp. – NERI Technical Report
38. Johansen, P., Asmund, G., Rigét, F., Johansen, K. & Schledermann, H. 2010. Environmental monitoring at the former lead-zinc mine in Maarmorilik, Northwest Greenland, in 2009. National Environmental Research Institute, Aarhus University. 32 pp. – NERI Technical Report No. 775.
39. Lavie, H. 1967: Evaluación de los yacimientos de lateritas níquelíferas en Loma de Hierro, Estados Aragua y Miranda. Boletín de Geología, Ministerio de Minas e Hidrocarburos, Caracas 8 (16), 199-215.
40. Léxico Estratigráfico de Venezuela. Boletín de Geología publicación especial N° 12, Tomo 1. Tercera edición. M.J. Editores C.A. 2009.
41. Ley Orgánica del Ambiente. 2006. Asamblea Nacional de la República Bolivariana de Venezuela. Gaceta Oficial N° 5.833 Extraordinario.
42. Manahan, S. 2001: Fundamentals of Environmental Chemistry. CRC Press LLC. 993 pp.
43. Manahan, S. 2007: Introducción a la Química Ambiental. Editorial Reverté. 725 pp.
44. Martínez, E. & Díaz Y. 2004: Contaminación Atmosférica. Ediciones de la Universidad de Castilla-La Mancha. 288 pp.
45. Miller, G. 2002: Ciencia Ambiental: Preservemos la Tierra. Editorial Thomson, quinta edición – Ciencias e Ingeniería. 456 pp.
46. Moreno, E.; Sánchez, A. & Hernández, J. 2007: Guía ilustrada de hongos liquenizados en Venezuela. Caracas: Fundación Instituto Botánico de Venezuela.



47. Naeth, M. & Wilkinson, S. 2008: Lichens as Biomonitors of Air Quality around a Diamond Mine, Northwest Territories, Canada – Technical Reports: Atmospheric Pollutants And Trace Gases J. *Environ. Qual.* **37**: 1675–1684.
48. Nash, T. “Lichen Biology”. Third Edition Cambridge University Press 1996. 330 pp.
49. Nimis, P.; Scheidegger, C. & Wolseley, P. 2002: Monitoring with lichens: Monitoring lichens. Kluwer Academic Publisher. NATO Science Series. 408 pp.
50. Nyarko, B.; Adomako, D.; Serfor-Armah, Y.; Dampare, S.; Adotey, D. & Akaho, E. 2006: Biomonitoring of atmospheric trace element deposition around an industrial town in Ghana. *Radiation Physics and Chemistry* **75**: 954–958.
51. Pignata María L.; González, C.M.; Carreras, H.A. & Wannaz, E.D. 2008: Guía para el Muestreo de Líquenes y Plantas Epifitas que se Emplean Como Biomonitores de Acumulación de Metales Pesados y Elementos Traza en Latinoamérica. IAEA Technical Co-Operation 148 pp.
52. Purvis, W.; Chimonides P.; Jones, G.; Mikhailova, I.; Spiro B.; Weiss, D. & Williamson, B. 2003: Lichen biomonitoring near Karabash Smelter Town, Ural Mountains, Russia, one of the most polluted areas in the world. *The Royal Society* **271**: 221-226.
53. Quevauviller, Ph.; Herzig, R. & Muntau, H. 1996: The certification of the contents (mass fractions) of Al, As, Cd, Cr, Cu, Hg, Ni, Pb and Zn in lichen. European Commission. 64 pp.
54. Quijada, M; 2006. Líquenes como biomonitores de contaminación por metales pesados (Pb, Cu, Zn, Cd, Ni, V y Cr) en la ciudad de Caracas-Venezuela. Trabajo Especial de Grado en Geoquímica. Universidad Central de Venezuela. Caracas 2006. 91 pp.
55. Rusu, A.; Jones, G.; Chimonides, P. & Purvis, O. 2006: Biomonitoring using the lichen *Hypogymnia physodes* and bark samples near Zlatna, Romania immediately following closure of a copper ore-processing plant. *Environmental Pollution* **143**: 81-88.
56. Scerbo, R.; Ristori, T.; Possenti, L.; Lampugnani, L.; Barale, R. & Barghigiani, C. (2002): Lichen (*Xanthoria parietina*) biomonitoring of trace element contamination and air quality assessment in Pisa Province (Tuscany, Italy). *The science of the Total Environment* **286**: 27-40.
57. Schaefer, V.; Day, J. & Pasachoff, J. 1998: A Field Guide to the Atmosphere. Peterson Field Guides. Houghton Mifflin Harcourt Company, 384 pp.
58. Seaward, M. 1974: Some observations on heavy metal toxicity and tolerance in lichens. *Lichenologist* **6**: 158-164.

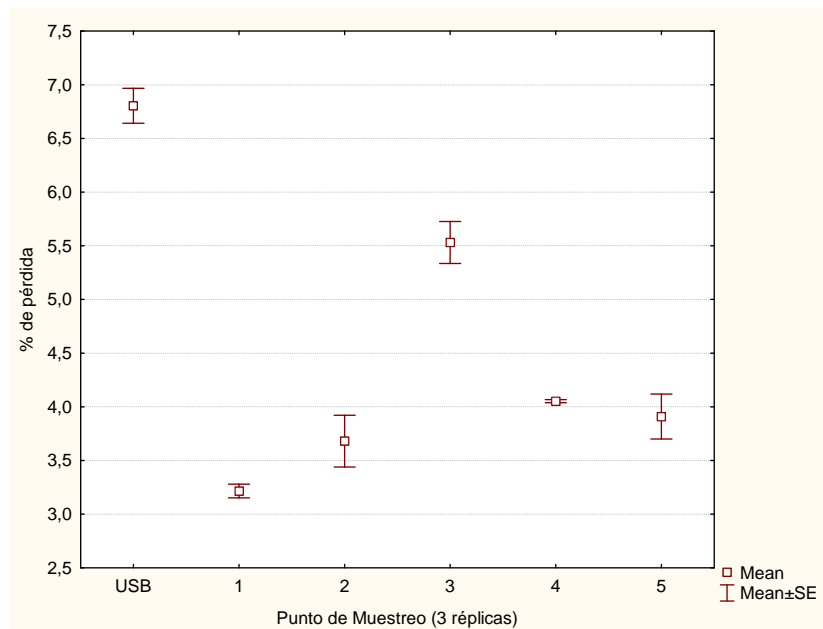


59. Silvana, S. 2001. Loma de Níquel: Nuevas exportaciones. *VenEconomía Mensual* **18** (7): 3-6. [Artículo en línea] Disponible: http://www.veneconomia.com/site/files/articulos/artEsp464_238.pdf
60. Sipman, H. 2005: Mason Hale's key to *Parmotrema*, revised edition: key to wide-lobed parmelioid species occurring in Tropical America (genera *Canomaculina*, *Parmotrema*, *Rimelia*, *Rimeliella*).
61. Søndergaard, J., Schiedek, D. & Asmund, G. 2009: Environmental monitoring at the Seqi olivine mine 2008-2009. National Environmental Research Institute, Aarhus University. 48 pp. – NERI Technical Report No. 753.
62. Szczepaniak K. & Biziuk M. 2003: Aspects of the biomonitoring studies using mosses and lichens as indicators of metal pollution. *Environmental Research* **93**: 221-230.
63. Tuncel, S.; Yenisoý-Karakas, S. & Dogangün, A. 2004: Determination of metal concentrations in lichen samples by inductively coupled plasma atomic emission spectroscopy technique after applying different digestion procedures. *Talanta* **63**: 273-277.
64. Vareschi, V. 1953: La influencia de los bosques y parques sobre el aire de la ciudad de Caracas. *Acta Científica Venezolana* **4**: 89-95.
65. Vareschi, V. & Moreno, M; 1973; La contaminación en Caracas en los años 1953 y 1973. *Sociedad Venezolana de Ciencias Naturales* **30**: 387-444.
66. Vergara, D.; Paredes T. & Simbaña W. 2007: Líquenes como bioindicadores de contaminación en el sitio de disposición final desechos sólidos, Isla Santa Cruz, Galápagos. RIO-B «Residuos en Islas Oceánicas»: 36 pp.
67. Williamson, B.J, Mikhailova, I. & Purvis, O.W., (2004) .SEM-EDX analysis in the source apportionment of particulate matter on *Hypogymnia physodes* lichen transplants around the Cu smelter and former mining town of Karabash, South Urals, Russia. *The science of the total environment* **322**: 139–154.
68. Wilson, B. & Pyatt, F. 2007: Heavy metal dispersion, persistence, and bioaccumulation around an ancient copper mine situated in Anglesey, UK. *Ecotoxicology and Environmental Safety* **66**: 224-231.
69. Zhang, Zh.; Chai, Z; Mao, X. & Chen, J. 2002: Biomonitoring trace element atmospheric deposition using lichens in China. *Environmental Pollution* **120**: 157-161.

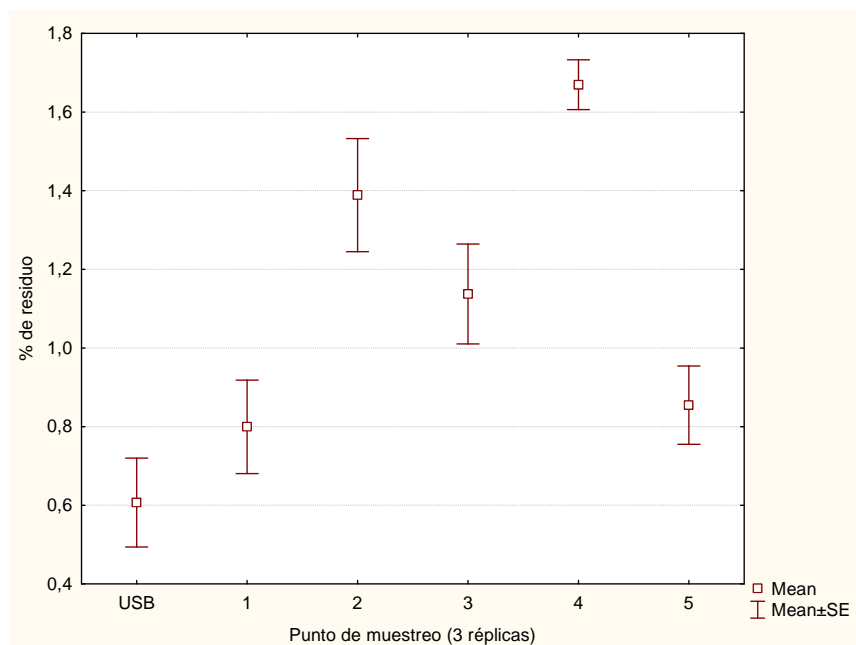


10. APÉNDICES

APÉNDICE A. Porcentaje de pérdida por humedad de líquenes por punto de muestreo

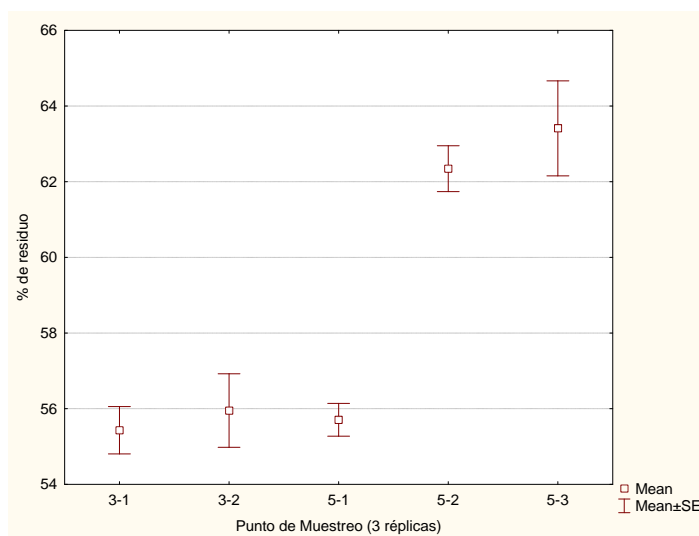


APÉNDICE B. Porcentaje de residuos de líquen por punto de muestreo





APÉNDICE C. Porcentaje de residuos de suelo por punto de muestreo



APÉNDICE D. Concentración (mg/L) de metales en soluciones del blanco de HNO₃ de líquenes

Blanco	Al	As	Ba	Cd	Co	Cr	Cu	Fe	Mg	Mn	Ni	Pb	V	Zn	Ti
1	1,92	0,006	0,007	<0,001	0,009	0,13	0,025	0,77	0,41	0,02	0,07	0,02	<0,03	1,52	0,01
2	1,16	0,007	0,005	<0,001	0,005	0,01	<0,01	0,50	0,10	0,01	0,02	0,05	<0,03	0,16	0,02
3	1,05	0,009	0,005	<0,001	0,016	0,05	<0,01	0,53	0,12	0,01	0,01	0,09	<0,03	0,19	0,01
USB	1,52	0,007	0,004	<0,001	0,011	0,02	<0,01	0,46	0,13	0,01	0,04	0,05	<0,03	0,01	0,04
CRM-HF	1,10	0,009	0,01	<0,001	0,02	0,05	<0,01	0,54	0,12	0,01	0,01	0,10	<0,03	0,20	0,01



APÉNDICE E. Concentración (mg/L) de metales en muestras de liquen

Muestra	Al	As	Ba	Cd	Co	Cr	Cu	Fe
USB-1	13,98	0,005	0,12	0,003	0,02	0,04	0,12	14,99
USB-2	12,91	0,012	0,14	0,003	0,01	0,06	0,11	14,20
USB-3	13,92	0,004	0,12	0,004	0,01	0,03	0,11	15,59
M 1-1	16,39	0,008	0,15	0,002	0,03	0,09	0,13	22,05
M 1-2	16,72	0,007	0,15	0,003	0,04	0,08	0,11	21,19
M 1-3	18,20	0,009	0,15	0,003	0,03	0,12	0,19	24,13
M 2-1	25,21	0,013	0,20	0,002	0,05	0,16	0,15	39,23
M 2-2	22,70	0,009	0,19	0,004	0,04	0,19	0,17	34,91
M 2-3	23,99	0,014	0,20	0,004	0,04	0,22	0,17	37,94
M 3-1	22,05	0,013	0,19	0,003	0,04	0,37	0,21	29,24
M 3-2	23,96	0,012	0,19	0,002	0,03	0,61	0,23	30,43
M 3-3	20,04	0,015	0,16	0,004	0,03	0,53	0,16	26,92
M 4-1	28,10	0,014	0,20	0,003	0,06	0,44	0,15	46,75
M 4-2	26,95	0,013	0,19	0,003	0,07	0,98	0,15	47,34
M 4-3	30,15	0,011	0,19	0,005	0,07	0,45	0,15	49,89
M 5-1	21,63	0,010	0,26	0,001	0,01	0,62	0,18	23,10
M 5-2	17,69	0,010	0,31	0,002	0,02	0,16	0,16	23,04
M 5-3	15,85	0,010	0,25	0,002	0,02	0,015	0,16	20,59
M 4-L	23,05	0,015	0,18	0,006	0,05	0,18	0,13	42,65
M 4-L'	27,01	0,007	0,18	0,003	0,05	0,18	0,11	42,61
M 4-L''	23,40	0,011	0,14	0,004	0,05	0,18	0,14	37,92

*M 4-L = muestra de liquen lavada referente al punto 4



Continuación Apéndice E

Muestra	Hg	Mg	Mn	Ni	Pb	V	Zn	Ti
USB-1	0,04	7,36	0,22	0,04	0,32	0,03	0,56	0,19
USB-2		10,80	0,43	0,06	0,24	0,02	0,61	0,14
USB-3		9,35	0,28	0,06	0,27	0,04	0,57	0,17
M 1-1	0,07	16,12	0,43	0,44	0,36	0,04	1,61	0,22
M 1-2		15,44	0,43	0,44	0,32	0,05	1,68	0,22
M 1-3		17,51	0,50	0,50	0,47	0,05	1,65	0,21
M 2-1	0,09	20,56	0,79	0,83	0,62	0,04	3,12	0,32
M 2-2		20,06	0,75	0,84	0,57	0,04	2,94	0,30
M 2-3		20,33	0,74	0,92	0,55	0,05	3,19	0,29
M 3-1	0,08	19,55	0,53	0,57	0,39	0,05	2,93	0,28
M 3-2		19,89	0,58	0,65	0,43	0,05	3,26	0,30
M 3-3		18,24	0,49	0,58	0,36	0,05	2,76	0,27
M 4-1	0,14	26,17	0,77	1,73	0,37	0,06	1,58	0,39
M 4-2		25,65	0,67	1,78	0,43	0,07	1,58	0,39
M 4-3		27,27	0,68	1,64	0,44	0,09	1,73	0,41
M 5-1	0,07	14,50	0,54	0,25	0,44	0,04	3,25	0,26
M 5-2		14,86	0,53	0,15	0,40	0,04	3,20	0,27
M 5-3		14,02	0,43	0,10	0,49	0,04	2,94	0,27
M 4-L	n.a	23,15	0,61	1,20	0,37	0,05	1,31	0,34
M 4-L'		22,74	0,57	1,13	0,38	0,05	1,18	0,34
M 4-L''		19,94	0,51	0,96	0,35	0,05	1,09	0,32

*M 4-L = muestra de liquen lavada referente al punto 4



APÉNDICE F. Concentración (mg/kg) de metales en muestras de líquen

Muestra	Al	Ba	Co	Cr	Cu	Hg (ng/g)	Fe
1	1061,32	10,41	1,71	5,09	8,97	72,4	1242,15
1	1085,09	10,13	1,21	4,50	7,27		1180,79
1	1190,41	10,46	1,36	7,37	13,49		1390,55
2	1690,62	14,21	3,28	10,38	10,47	87,5	2467,89
2	1511,57	13,38	2,43	12,30	11,57		2159,67
2	1603,38	13,81	2,78	14,66	11,95		2375,86
3	1436,19	13,25	1,14	17,18	13,50	76,6	1533,96
3	1572,22	13,26	1,14	34,31	14,98		1618,86
3	1292,99	11,08	0,78	28,71	9,50		1368,44
4	1896,55	14,19	4,42	30,37	10,77	136,0	3004,42
4	1814,44	12,95	3,78	68,71	10,39		3046,52
4	2043,27	13,42	4,07	30,96	10,55		3228,45
4-L	1569,79	12,26	5,71	9,56	9,45	n.a	2663,38
4-L'	1851,80	12,42	5,49	8,98	8,18		2660,53
4-L''	1594,42	9,96	4,99	9,08	10,30		2325,91
5	1406,38	18,04	0,41	34,64	11,30	66,5	1095,89
5	1125,53	21,76	0,50	1,80	9,79		1091,61
5	993,77	17,36	0,80	0,33	9,50		916,81

Continuación Apéndice F

Muestra	Mg	Mn	Ni	Pb	V	Zn	Ti
1	1060,93	30,13	28,88	22,59	2,17	114,31	12,89
1	1012,41	30,00	28,23	19,42	2,59	119,06	12,56
1	1160,10	35,11	32,67	29,97	2,84	237,61	11,71
2	1377,71	55,90	56,43	40,95	2,29	221,96	19,52
2	1342,04	52,73	57,21	37,58	2,22	209,41	18,16
2	1361,30	52,17	62,80	35,86	2,70	226,79	17,67
3	1103,03	36,88	36,00	26,54	2,21	101,10	18,93
3	1127,28	40,01	41,54	29,42	2,72	124,31	20,13
3	1009,56	33,56	36,93	24,41	2,59	88,34	17,90
4	1777,97	53,90	120,82	22,77	3,44	111,88	24,88
4	1740,87	47,05	124,04	27,20	4,01	112,26	24,62
4	1856,45	48,15	114,47	27,76	5,44	123,06	26,41
4-L	1566,07	43,03	84,42	20,28	3,59	80,49	23,17
4-L'	1536,82	40,02	79,46	20,85	3,40	71,07	23,74
4-L''	1337,04	35,76	67,74	18,84	3,62	64,76	21,81
5	742,72	37,63	13,33	29,76	2,07	123,95	17,28
5	768,41	36,63	6,31	26,90	2,06	119,92	18,43
5	708,48	29,81	2,66	33,37	2,14	101,33	17,98



APÉNDICE G. Porcentaje de acumulación de metales en muestras de liquen con respecto a
muestras USB

Elemento	1 (mg/kg)	% Acumulación	2 (mg/kg)	% Acumulación	3 (mg/kg)	% Acumulación	4 (mg/kg)	% Acumulación	5 (mg/kg)	% Acumulación
Al	1112	25	1602	80	1434	61	1918	116	1175	32
Ba	10,34	20	13,80	60	12,53	45	13,52	57	19,06	121
Co	1,50	129	2,24	242	1,85	182	3,77	475	0,57	-13
Cr	5,65	125	12,44	395	31,51	1154	30,66	1121	0,91	-64
Cu	9,91	23	11,33	41	12,66	58	10,57	31	10,20	27
Hg	0,07	78	0,09	116	0,08	89	0,14	235	0,07	64
Fe	1271	85	2334	240	1507	120	3093	351	1035	51
Mg	1078	85	1360	133	1080	85	1792	207	740	27
Mn	31,7	48	53,6	150	36,8	72	49,7	132	34,7	62
Ni	29,93	1280	58,81	2613	38,16	1660	119,78	5425	7,43	243
Pb	24,0	45	38,1	130	26,8	62	25,9	56	30,0	81
V	2,53	19	2,40	13	2,51	118	4,30	101	2,09	-2
Zn	116,7	290	219,4	633	104,6	250	115,7	287	115,1	285
Ti	12,39	18	18,45	75	18,99	80	25,30	140	17,90	70

APÉNDICE H. Concentración (mg/L) de metales en soluciones del blanco de HNO₃ de suelo

Blanco	Al	As	Ba	Cd	Co	Cr	Cu	Fe	Mg	Mn	Ni	Pb	V	Zn	Ti
RS-1	2,24	0,01	0,03	0,003	0,02	0,07	0,06	0,90	0,25	0,02	0,07	0,05	0,02	0,01	0,05



APÉNDICE I. Concentración (mg/L) de metales en muestras de suelo

Muestra	Al	As	Ba	Cd	Co	Cr	Cu	Fe	Mg	Mn	Ni	Pb	V	Zn	Ti
3-2	823	0,010	0,55	0,014	0,47	3,71	1,50	1089,4	230,5	13,87	4,33	0,2	2,15	2,2	17,69
3-2	882	0,007	0,61	0,008	0,52	4,17	1,63	1150,5	242,0	13,51	4,66	0,2	2,58	2,3	19,14
3-2	833	0,013	0,54	0,008	0,50	4,23	1,57	1044,2	220,1	13,49	4,72	0,1	2,15	2,3	16,54
3-3	1023	0,019	0,39	0,014	0,62	3,62	0,47	1090,3	168,9	16,09	2,61	<0,05	3,36	1,5	16,85
3-3	1122	0,010	0,35	0,017	0,62	3,59	0,50	1052,0	165,5	16,19	2,42	<0,05	3,39	1,4	17,55
3-3	1145	0,013	0,38	0,004	0,65	3,51	0,51	1072,2	166,2	15,90	2,50	<0,05	3,41	1,4	18,78
5-1	620	0,018	15,16	0,015	0,41	6,63	4,94	993,4	177,6	15,61	3,73	0,3	2,49	4,1	17,94
5-1	698	0,016	14,74	0,014	0,40	7,05	4,49	996,6	173,5	15,32	3,45	0,2	2,82	4,0	18,71
5-1	626	0,016	12,92	0,013	0,41	6,17	4,80	981,2	173,7	15,01	3,48	0,3	2,26	3,8	16,99
5-2	561	0,015	13,53	0,010	0,41	4,96	4,11	943,4	127,0	15,51	2,95	0,2	2,29	4,0	14,89
5-2	586	0,016	14,72	0,012	0,40	4,55	4,29	961,9	129,9	15,89	3,01	0,2	2,39	3,8	14,61
5-2	568	0,012	12,06	0,009	0,39	4,15	4,10	933,1	121,8	15,22	2,93	0,2	2,17	4,0	14,44
5-3	530	0,013	14,35	0,011	0,36	3,90	4,61	999,2	106,2	14,21	2,55	0,3	2,12	4,0	12,20
5-3	496	0,009	11,90	0,013	0,36	3,74	4,69	981,2	104,9	14,52	2,46	0,2	2,05	3,9	11,94
5-3	588	0,014	14,23	0,013	0,36	3,49	5,04	1025,1	109,4	15,04	2,54	0,2	2,49	4,1	12,04

APÉNDICE J. Concentración (mg/Kg) de metales en muestras de suelo

Muestra	Al*	As	Ba	Cd	Co	Cr	Cu	Fe*	Mg*	Mn	Ni	Pb	V	Zn	Ti
MS 3-2	4,1	0,14	25,6	0,59	22,6	181,5	72,3	5,0	1,0	691,3	212,5	5,7	106,2	111,7	880,2
MS 3-2	4,4	0,02	28,7	0,27	24,9	204,4	78,6	5,3	1,1	673,3	229,1	5,2	127,7	115,9	952,6
MS 3-2	4,1	0,26	25,3	0,27	23,9	207,7	75,3	4,8	1,0	672,2	232,0	3,8	106,4	113,2	822,8
MS 3-3	5,1	0,56	17,7	0,60	29,9	177,3	20,8	5,0	0,7	801,9	126,7	nd	166,7	75,8	838,2
MS 3-3	5,6	0,11	15,8	0,72	29,8	175,5	22,3	4,8	0,7	806,7	117,5	nd	168,0	68,2	873,3
MS 3-3	5,7	0,28	17,3	0,07	31,4	171,8	22,8	4,9	0,7	792,1	121,6	nd	169,3	68,6	934,3
MS 5-1	3,1	0,54	754,5	0,63	19,6	327,2	243,7	4,5	0,8	778,1	182,5	10,9	123,3	204,1	892,3
MS 5-1	3,5	0,44	733,4	0,58	19,0	348,2	221,4	4,5	0,7	763,3	168,7	7,5	139,6	198,0	931,0
MS 5-1	3,1	0,41	642,9	0,50	19,7	304,2	236,4	4,5	0,7	747,9	170,4	10,1	111,7	190,6	845,0
MS 5-2	2,8	0,35	673,0	0,38	19,6	243,8	202,2	4,3	0,5	773,1	143,7	5,7	113,4	197,3	740,3
MS 5-2	2,9	0,39	732,6	0,49	19,1	223,5	211,1	4,4	0,5	791,9	146,9	7,1	118,2	191,3	726,6
MS 5-2	2,8	0,22	599,8	0,30	18,5	203,7	201,6	4,2	0,5	758,5	142,6	8,6	107,4	200,8	717,8
MS 5-3	2,6	0,24	714,2	0,44	17,1	191,1	226,9	4,5	0,4	707,9	123,9	11,0	105,0	197,2	606,2
MS 5-3	2,5	0,05	591,8	0,50	17,0	183,1	230,9	4,5	0,4	723,7	119,2	9,1	101,6	195,5	593,2
MS 5-3	2,9	0,30	707,8	0,54	17,0	170,8	248,9	4,7	0,4	749,2	123,2	7,6	123,3	206,0	598,2

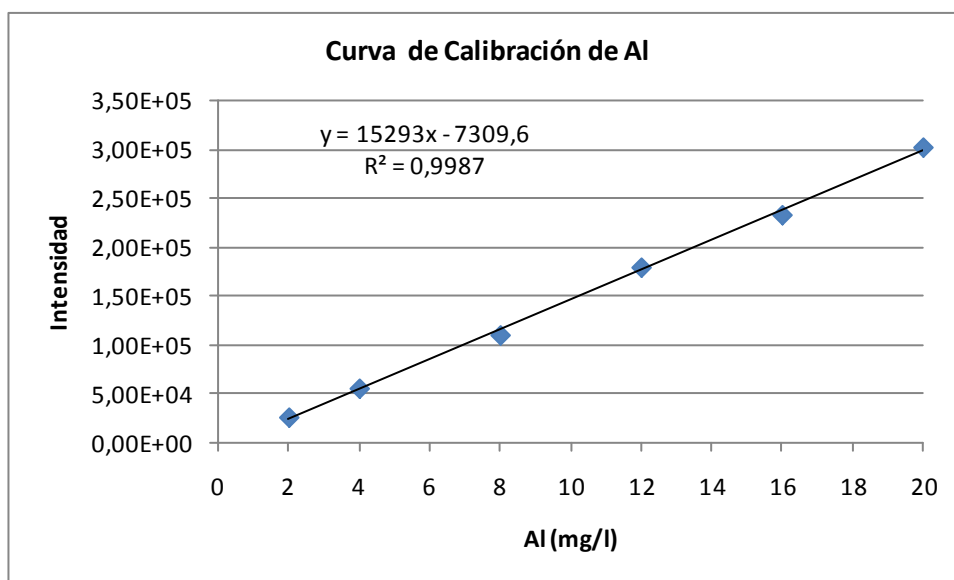
*Concentraciones en porcentaje (%)

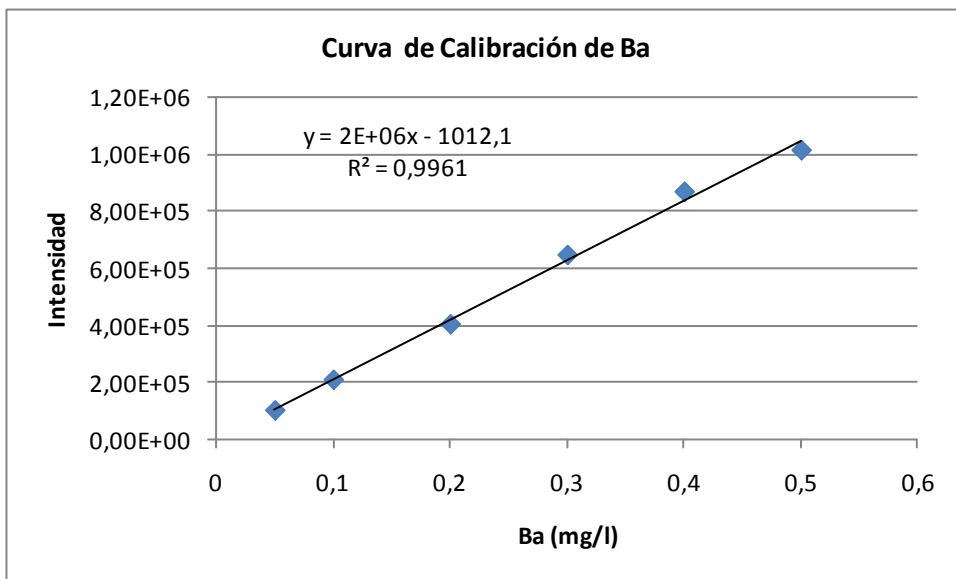
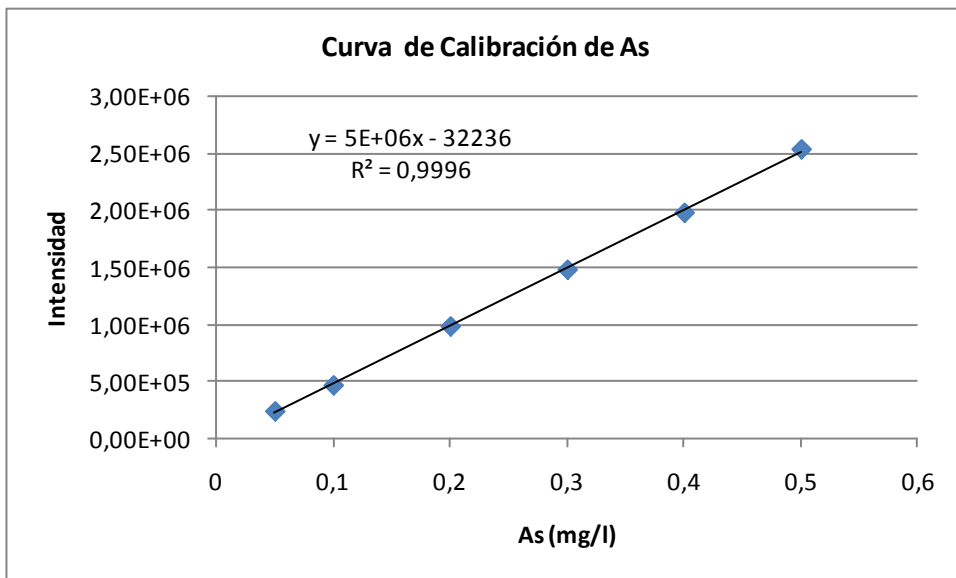


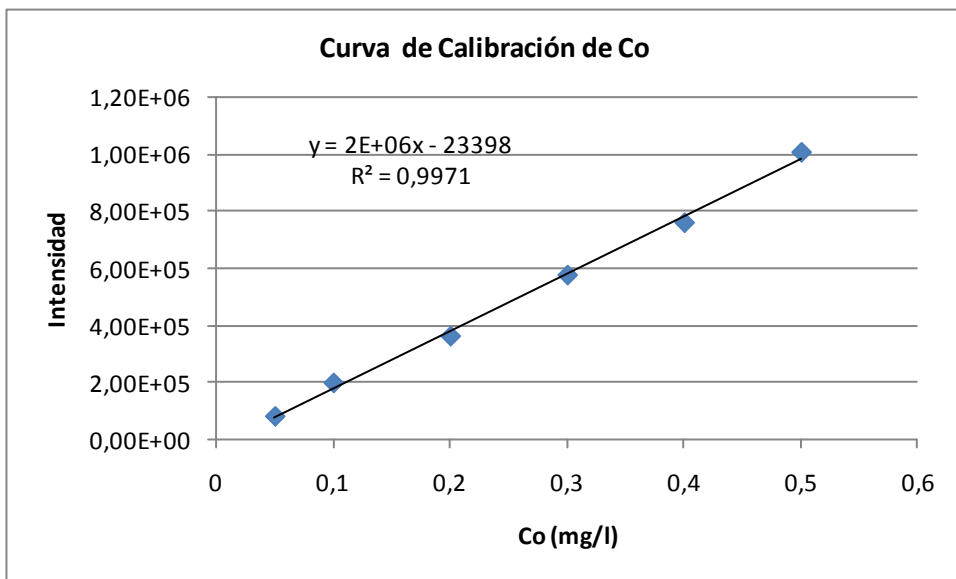
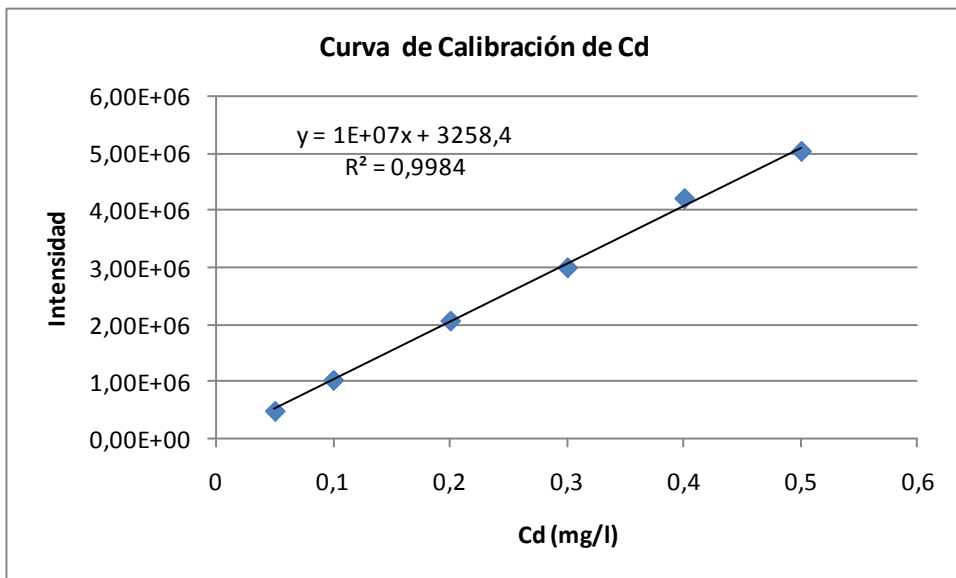
APÉNDICE K. Concentración (mg/L) de metales en muestras de CRM-482

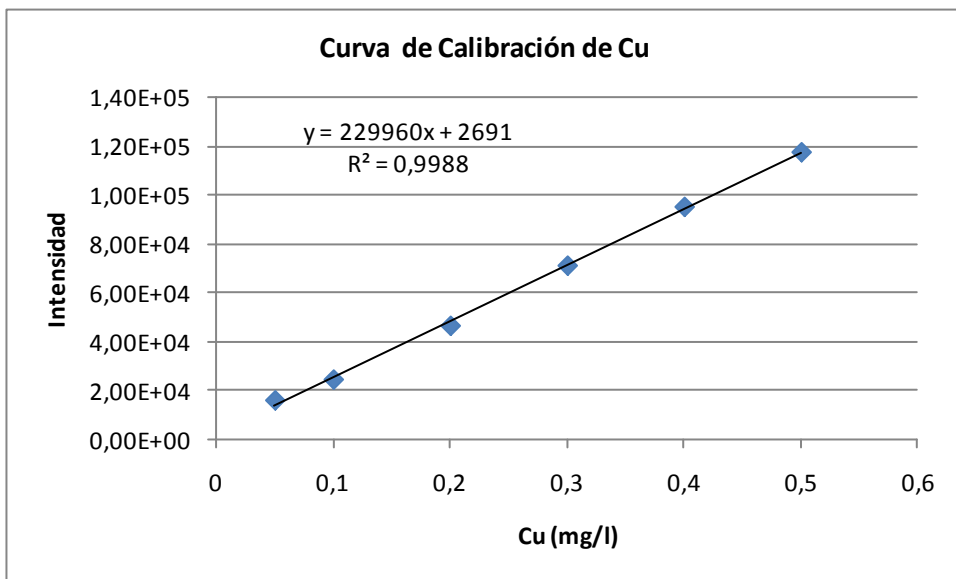
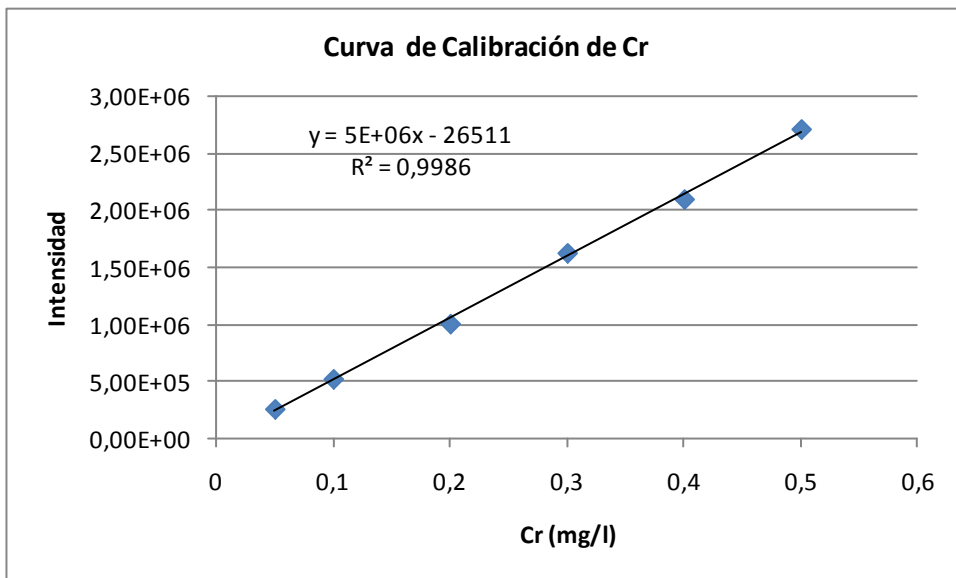
Muestra	Al	As	Ba	Cd	Co	Cr	Cu	Fe	Mg	Mn	Ni	Pb	V	Zn	Ti
CRM-1	10,66	0,009	0,09	0,003	0,01	0,04	0,10	6,89	1,58	0,25	0,06	0,31	0,04	1,05	0,16
CRM-2	8,56	nd	0,08	0,005	0,02	nd	0,15	7,49	1,36	0,27	nd	0,34	0,02	1,01	0,16
CRM-3	12,35	0,009	0,09	0,006	nd	0,05	nd	6,76	1,39	0,26	0,04	0,29	0,04	0,98	0,15
CRM-HF1'	15,01	0,015	0,42	0,005	0,02	0,53	0,12	9,40	1,62	0,33	0,34	0,42	0,03	1,01	0,62
CRM-HF2'	14,59	nd	0,45	0,007	0,02	0,70	0,13	9,93	1,69	0,34	0,37	0,44	0,05	nd	0,48
CRM-HF3'	13,47	0,013	0,36	0,005	nd	0,48	0,11	8,82	1,58	0,26	0,30	0,43	0,04	0,95	0,54

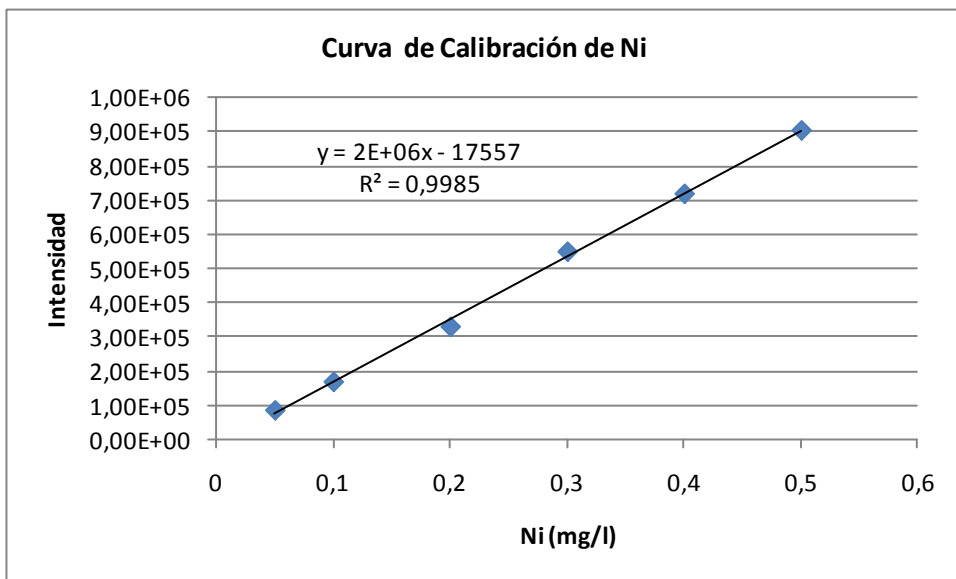
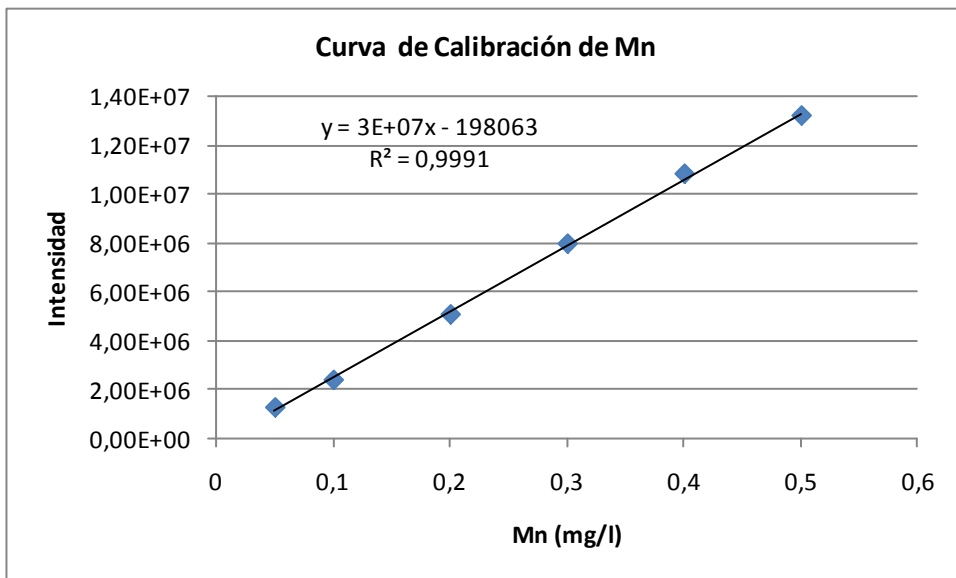
APÉNDICE L. Curvas de calibración para metales en líquenes analizadas por ICP-AES

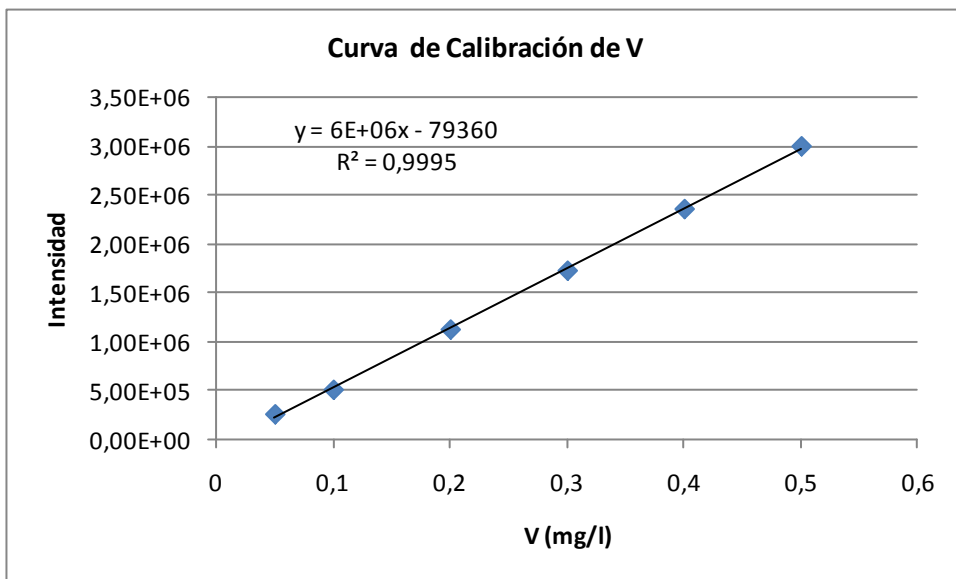
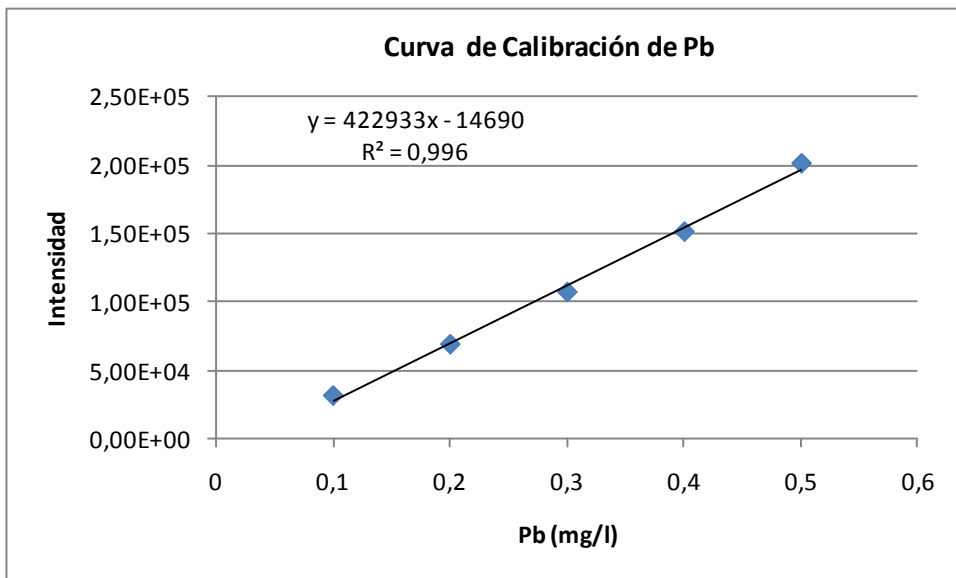


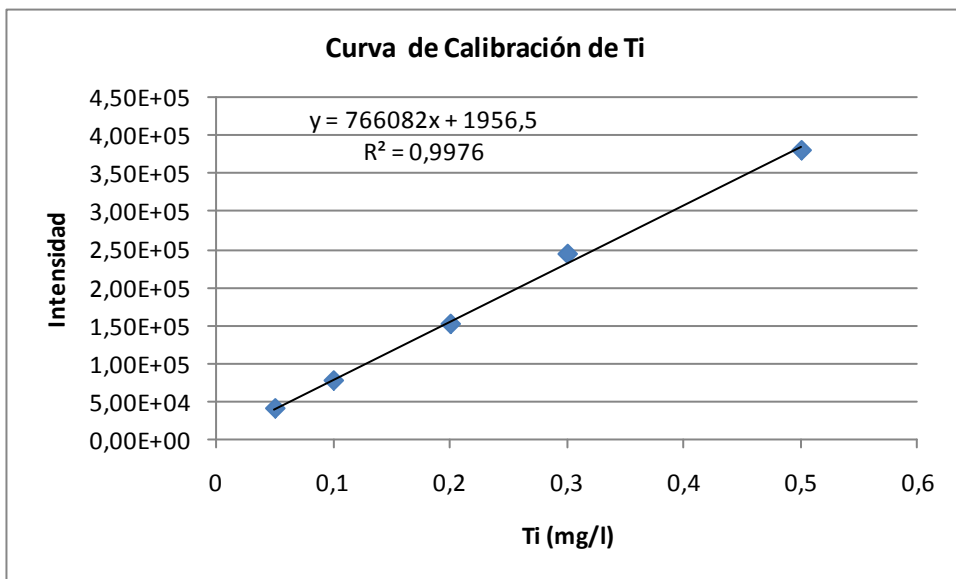
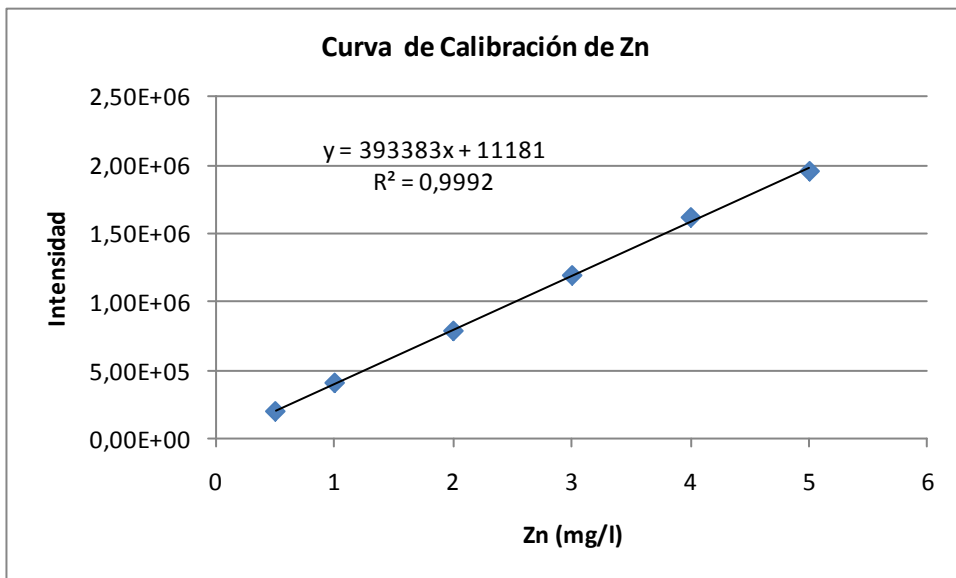






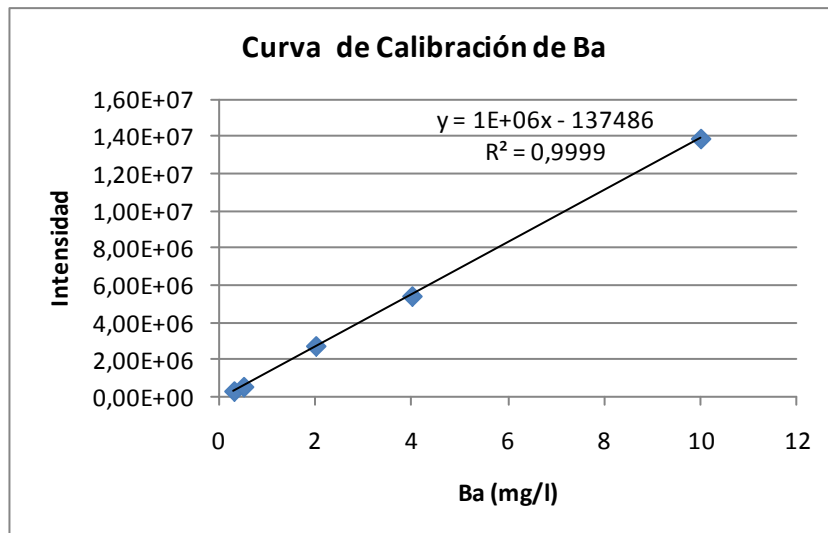
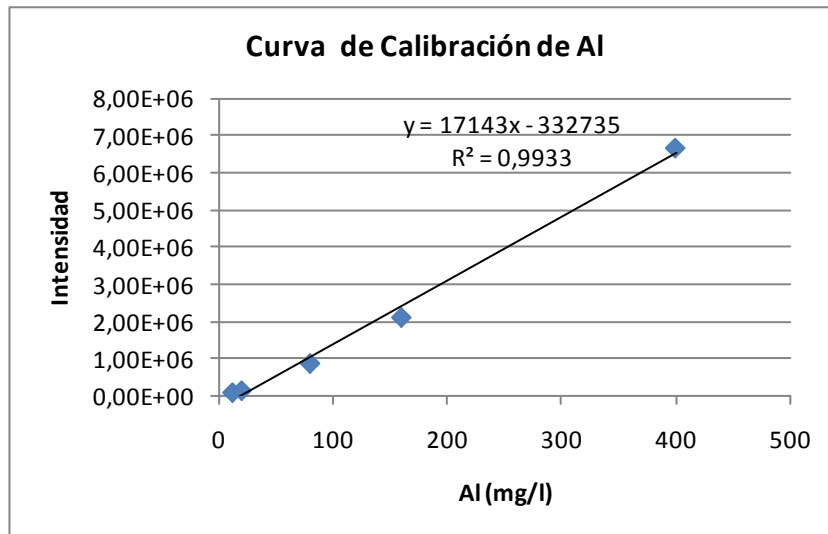


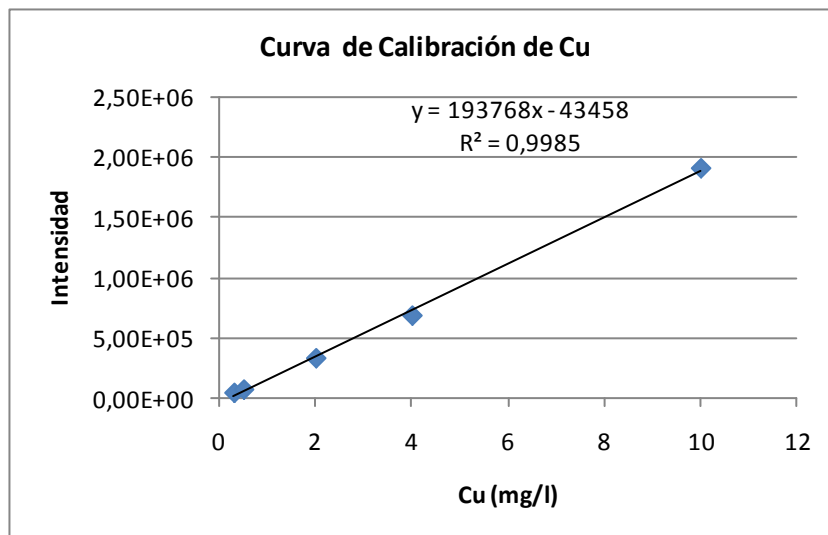
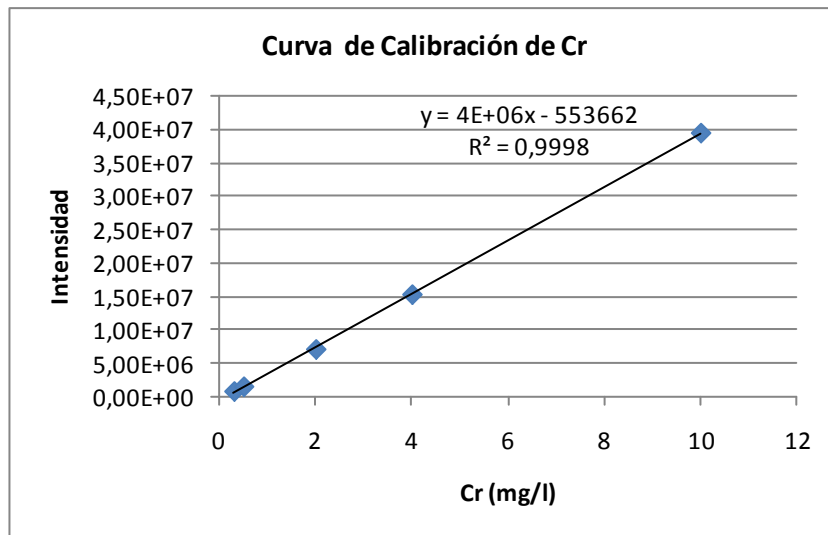


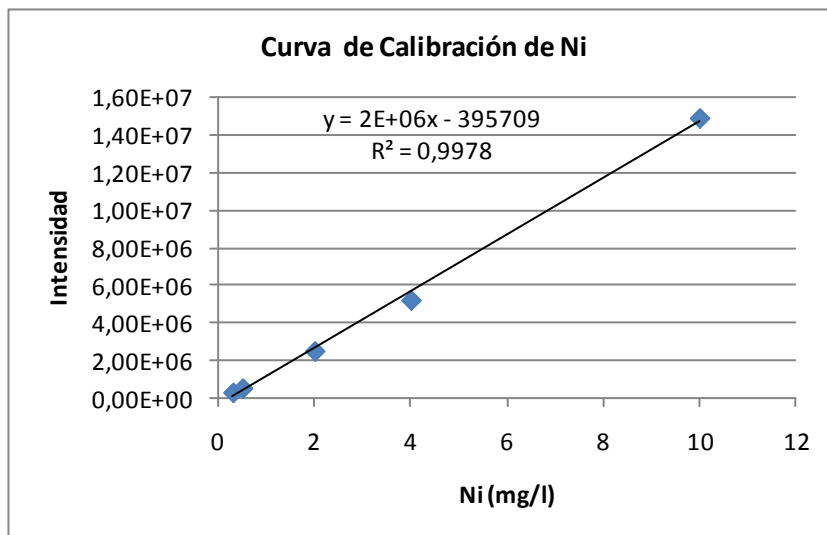
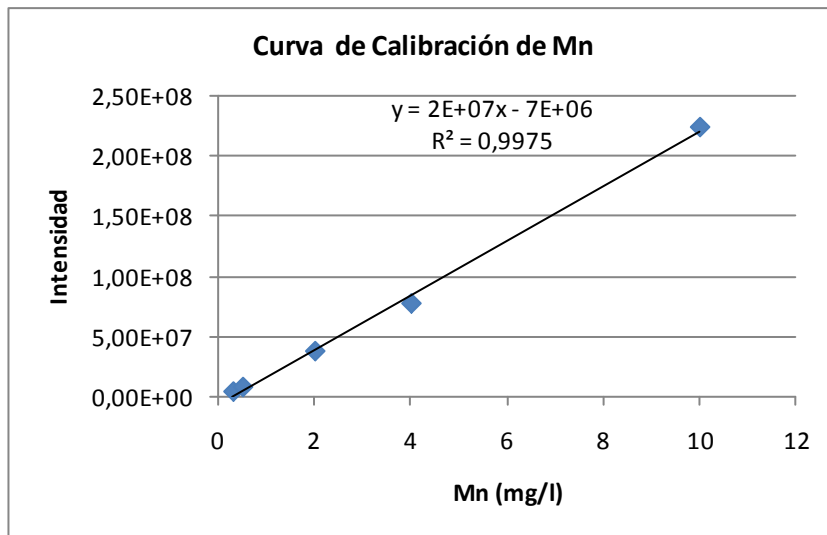


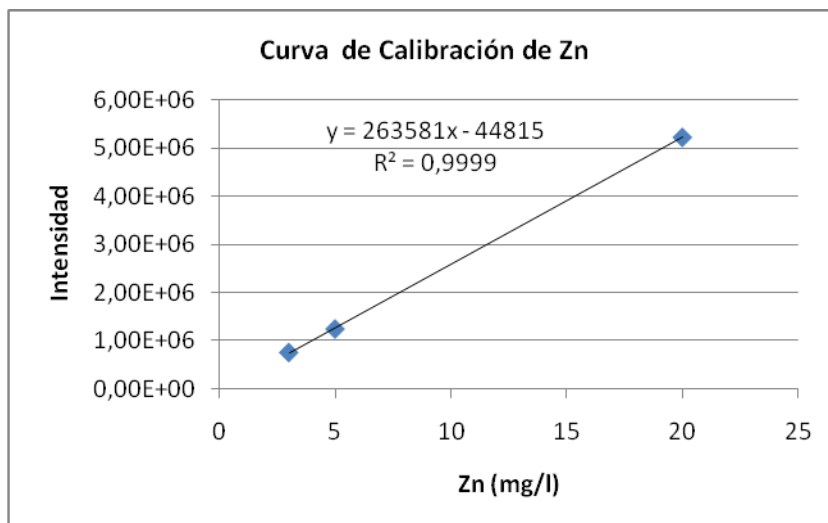
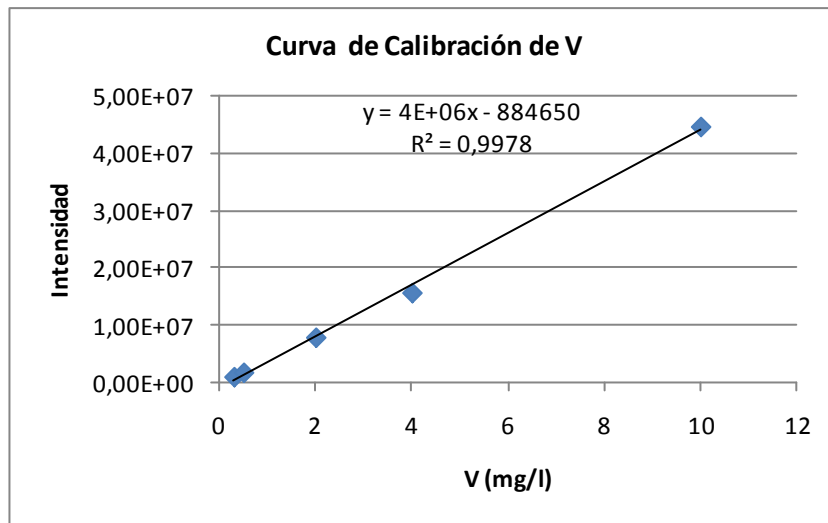


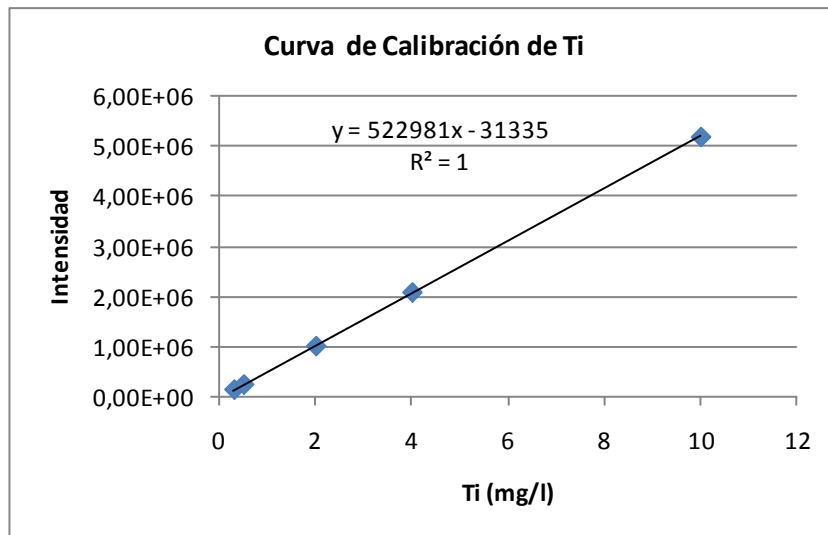
APÉNDICE M. Curvas de calibración para metales en muestras de suelo analizadas por ICP-AES



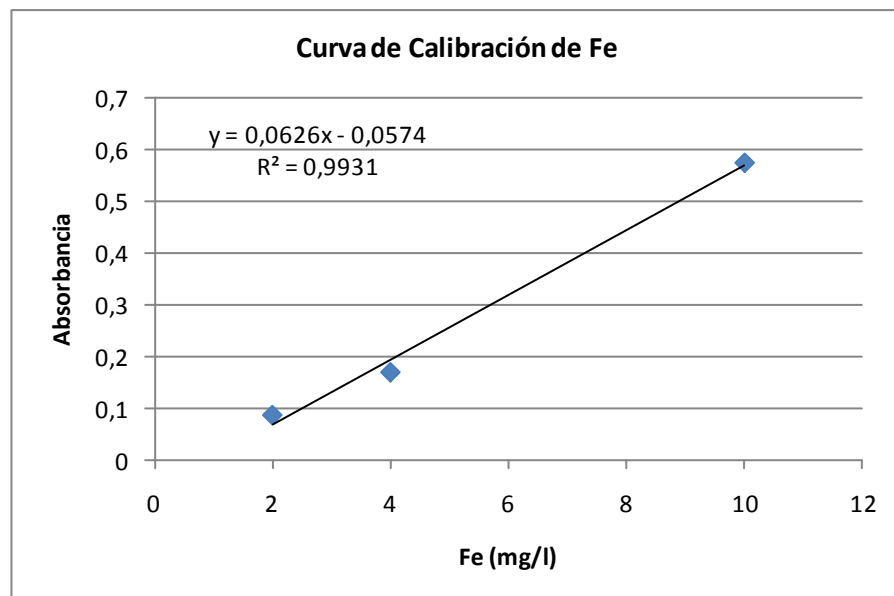


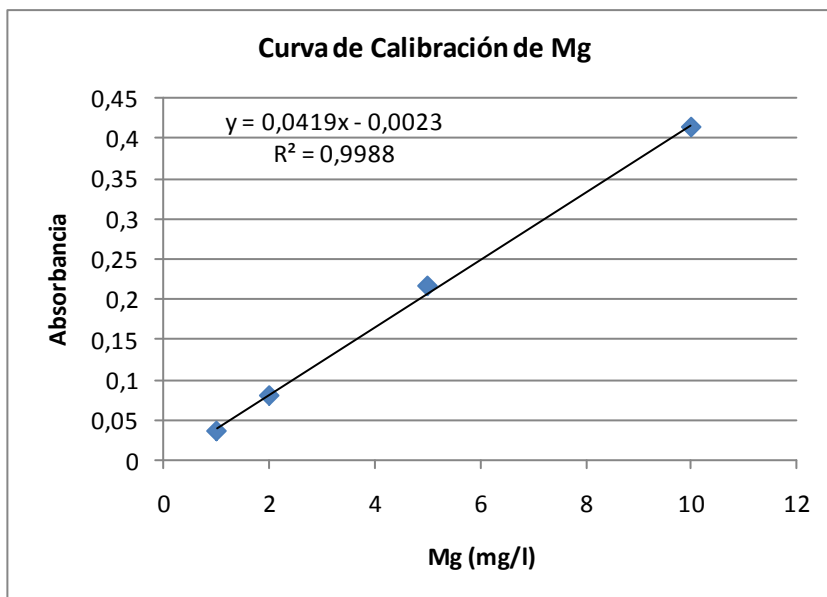




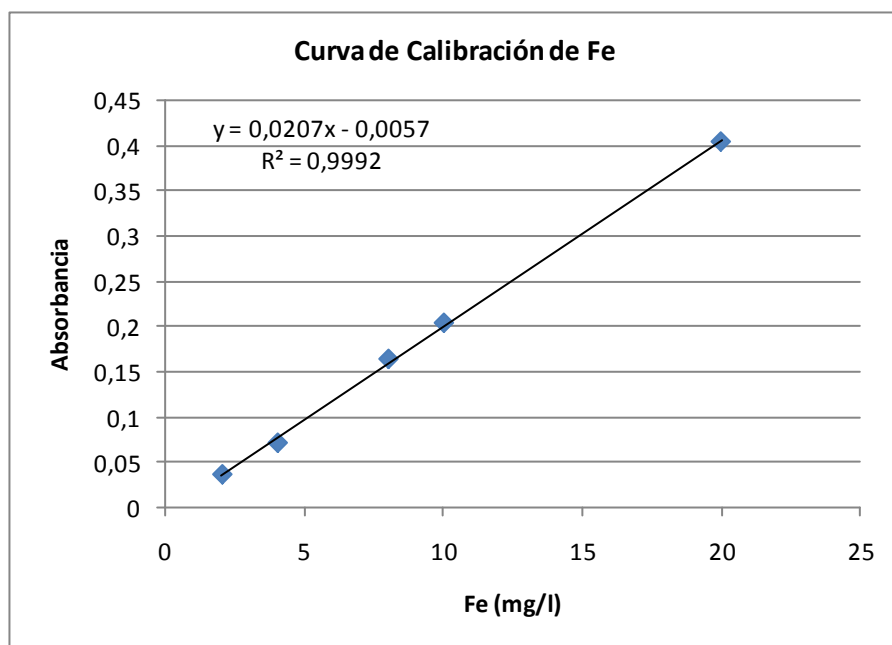


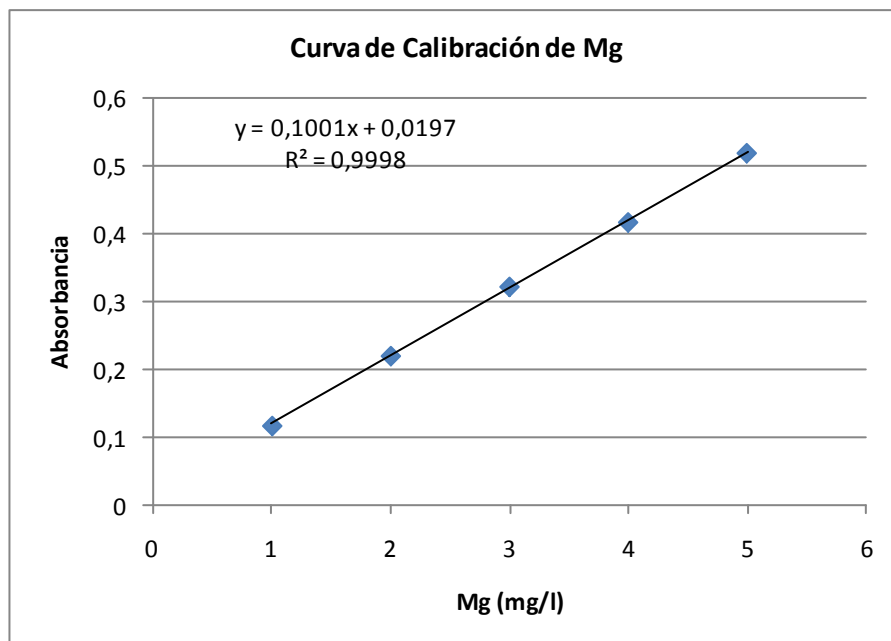
APÉNDICE N. Curvas de calibración para metales en muestras de liquen analizadas por AAS





APÉNDICE O. Curvas de calibración para metales en muestras de suelo analizadas por AAS





APÉNDICE P. Coeficiente de Correlación de Pearson (r) para metales analizados en líquenes

Variable	Coeficiente de Correlación de Pearson (r) para $p < 0,01000$													
	Al	Ba	Co	Cr	Cu	Hg	Fe	Mg	Mn	Ni	Pb	V	Zn	Ti
Al	1,0000	0,2941	0,8619	0,7541	0,5169	0,9084	0,9512	0,9105	0,8656	0,9066	0,5123	0,7206	0,5783	0,8986
Ba		1,0000	-0,0252	-0,0139	0,2897	0,2492	0,1811	0,1091	0,4343	0,0657	0,5246	-0,0449	0,4201	0,5067
Co			1,0000	0,7528	0,2240	0,9216	0,9296	0,9321	0,6898	0,9503	0,2642	0,8044	0,3876	0,7794
Cr				1,0000	0,5362	0,7057	0,6851	0,7153	0,5156	0,7397	0,1305	0,6083	0,1588	0,7272
Cu					1,0000	0,3038	0,3544	0,3737	0,4833	0,2868	0,5784	0,1498	0,4483	0,4167
Hg						1,0000	0,9502	0,9534	0,7706	0,9702	0,3415	0,8022	0,4350	0,8825
Fe							1,0000	0,9708	0,8633	0,9687	0,4634	0,7591	0,5761	0,8411
Mg								1,0000	0,8392	0,9667	0,3920	0,7522	0,5447	0,7752
Mn									1,0000	0,7599	0,6939	0,3921	0,8197	0,7258
Ni										1,0000	0,2705	0,8058	0,4001	0,8108
Pb											1,0000	0,0634	0,8731	0,4663
V												1,0000	0,0922	0,6897
Zn													1,0000	0,4222
Ti														1,0000



APÉNDICE Q. Componentes principales para localidades de muestreo de líquenes

PCA case scores			
Muestra	Axis 1	Axis 2	Axis 3
USB-1	-1,295	0,364	-0,037
USB-2	-1,215	0,2	-0,257
USB-3	-1,294	0,524	-0,018
1-1	-0,351	-0,059	0,445
1-2	-0,388	0,177	0,595
1-3	-0,054	-0,106	0,205
2-1	0,66	-0,367	0,159
2-2	0,474	-0,119	0,045
2-3	0,626	-0,176	-0,096
3-1	0,288	0,027	-0,448
3-2	0,441	-0,079	-0,31
3-3	0,074	0,276	-0,399
4-1	0,971	0,263	0,017
4-2	0,976	0,339	0,141
4-3	1,066	0,62	0,064
5-1	-0,195	-0,676	-0,045
5-2	-0,293	-0,617	-0,083
5-3	-0,491	-0,591	0,021



APÉNDICE R. Prueba de Duncan de metales para muestras de optimización de lavado (4 y 4-L)

Al (mg/kg)			
Punto de Muestreo		{1}	{2}
		1918,1	1672,0
1	4		0,09374:
2	4-L	0,09374:	

Ba (mg/kg)			
Punto de Muestreo		{1}	{2}
		13,517	11,549
1	4		0,08743:
2	4-L	0,08743:	

Co (mg/kg)			
Punto de Muestreo		{1}	{2}
		3,7714	2,3571
1	4		0,00851:
2	4-L	0,00851:	

Cu (mg/kg)			
Punto de Muestreo		{1}	{2}
		10,569	9,3101
1	4		0,11542:
2	4-L	0,11542:	

Mg (mg/kg)			
Punto de Muestreo		{1}	{2}
		1791,8	1480,0
1	4		0,01748:
2	4-L	0,01748:	

Ni (mg/kg)			
Punto de Muestreo		{1}	{2}
		119,78	77,206
1	4		0,00192:
2	4-L	0,00192:	

V (mg/kg)			
Punto de Muestreo		{1}	{2}
		4,2979	3,5368
1	4		0,27301:
2	4-L	0,27301:	

As (mg/kg)			
Punto de Muestreo		{1}	{2}
		,40563	,28087
1	4		0,31851:
2	4-L	0,31851:	

Cd (mg/kg)			
Punto de Muestreo		{1}	{2}
		,17984	,29655
1	4		0,19114:
2	4-L	0,19114:	

Cr (mg/kg)			
Punto de Muestreo		{1}	{2}
		30,664	9,2056
1	4		0,00029
2	4-L	0,00029	

Fe (mg/kg)			
Punto de Muestreo		{1}	{2}
		3093,1	2549,9
1	4		0,01463:
2	4-L	0,01463:	

Mn (mg/kg)			
Punto de Muestreo		{1}	{2}
		49,702	39,605
1	4		0,02816
2	4-L	0,02816	

Pb (mg/kg)			
Punto de Muestreo		{1}	{2}
		25,912	19,992
1	4		0,02492:
2	4-L	0,02492:	

Zn (mg/kg)			
Punto de Muestreo		{1}	{2}
		115,73	72,108
1	4		0,00196:
2	4-L	0,00196:	

Ti (mg/kg)			
Punto de Muestreo		{1}	{2}
		25,301	22,903
1	4		0,04013:
2	4-L	0,04013:	



APÉNDICE S. Prueba de Duncan de metales para muestras de líquen

Aluminio

	Punto de Muestreo	{1}	{2}	{3}	{4}	{5}	{6}
		1112,3	1601,9	1433,8	1918,1	1175,2	888,11
1	1		0,000704	0,010123	0,000044	0,545169	0,046750
2	2	0,000704		0,122360	0,008865	0,001644	0,000059
3	3	0,010123	0,122360		0,000663	0,025234	0,000319
4	4	0,000044	0,008865	0,000663		0,000079	0,000032
5	5	0,545169	0,001644	0,025234	0,000079		0,018640
6	USB	0,046750	0,000059	0,000319	0,000032	0,018640	

Arsénico

	Punto de Muestreo	{1}	{2}	{3}	{4}	{5}	{6}
		,07372	,33692	,53353	,40563	,29886	,12111
1	1		0,030437	0,001260	0,010123	0,052486	0,643959
2	2	0,030437		0,085040	0,504934	0,710059	0,061579
3	3	0,001260	0,085040		0,224873	0,049517	0,002532
4	4	0,010123	0,504934	0,224873		0,329507	0,021007
5	5	0,052486	0,710059	0,049517	0,329507		0,100744
6	USB	0,643959	0,061579	0,002532	0,021007	0,100744	

Bario

	Punto de Muestreo	{1}	{2}	{3}	{4}	{5}	{6}
		10,335	13,799	12,532	13,517	19,055	8,6282
1	1		0,007444	0,050008	0,010547	0,000039	0,116194
2	2	0,007444		0,254475	0,784690	0,000370	0,000498
3	3	0,050008	0,254475		0,347444	0,000110	0,002971
4	4	0,010547	0,784690	0,347444		0,000267	0,000696
5	5	0,000039	0,000370	0,000110	0,000267		0,000032
6	USB	0,116194	0,000498	0,002971	0,000696	0,000032	

Cobalto

	Punto de Muestreo	{1}	{2}	{3}	{4}	{5}	{6}
		1,5045	2,2443	1,8474	3,7714	,56914	,65558
1	1		0,021750	0,225932	0,000068	0,005906	0,008367
2	2	0,021750		0,165370	0,000256	0,000115	0,000175
3	3	0,225932	0,165370		0,000109	0,000802	0,001154
4	4	0,000068	0,000256	0,000109		0,000032	0,000038
5	5	0,005906	0,000115	0,000802	0,000032		0,753248
6	USB	0,008367	0,000175	0,001154	0,000038	0,753248	



Cromo

	Punto de Muestreo	{1}	{2}	{3}	{4}	{5}	{6}
		5,6524	12,445	31,511	30,664	,90616	2,5123
1	1		0,000475	0,000066	0,000095	0,006065	0,040763
2	2	0,000475		0,000095	0,000172	0,000065	0,000108
3	3	0,000066	0,000095		0,547585	0,000032	0,000038
4	4	0,000095	0,000172	0,547585		0,000038	0,000066
5	5	0,006065	0,000066	0,000032	0,000038		0,263467
6	USB	0,040763	0,000108	0,000038	0,000066	0,263467	

Cobre

	Punto de Muestreo	{1}	{2}	{3}	{4}	{5}	{6}
		9,9093	11,329	12,661	10,569	10,198	8,0383
1	1		0,39818	0,120154	0,684074	0,851013	0,236934
2	2	0,39818		0,39276	0,622248	0,488005	0,068517
3	3	0,120154	0,39276		0,209544	0,154066	0,016522
4	4	0,684074	0,622248	0,209544		0,809355	0,144057
5	5	0,851013	0,488005	0,154066	0,809355		0,196225
6	USB	0,236934	0,068517	0,016522	0,144057	0,196225	

Hierro

	Punto de Muestreo	{1}	{2}	{3}	{4}	{5}	{6}
		1271,2	2334,5	1507,1	3093,1	1034,8	685,80
1	1		0,000095	0,027937	0,000066	0,02768	0,000148
2	2	0,000095		0,000172	0,000172	0,000066	0,000038
3	3	0,027937	0,000172		0,000095	0,000483	0,000067
4	4	0,000066	0,000172	0,000095		0,000038	0,000032
5	5	0,02768	0,000066	0,000483	0,000038		0,003178
6	USB	0,000148	0,000038	0,000067	0,000032	0,003178	

Magnesio

	Punto de Muestreo	{1}	{2}	{3}	{4}	{5}	{6}
		1077,8	1360,4	1080,0	1791,8	739,87	583,95
1	1		0,000532	0,970902	0,000066	0,000225	0,000096
2	2	0,000532		0,000513	0,000172	0,000066	0,000038
3	3	0,970902	0,000513		0,000095	0,000172	0,000067
4	4	0,000066	0,000172	0,000095		0,000038	0,000032
5	5	0,000225	0,000066	0,000172	0,000038		0,01855
6	USB	0,000096	0,000038	0,000067	0,000032	0,01855	



Manganeso

	Punto de Muestreo	{1}	{2}	{3}	{4}	{5}	{6}
		31,747	53,599	36,817	49,702	34,688	21,456
1	1		0,000115	0,193095	0,000462	0,417587	0,012542
2	2	0,000115		0,000662	0,287641	0,000318	0,000032
3	3	0,193095	0,000662		0,003295	0,554530	0,001457
4	4	0,000462	0,287641	0,003295		0,001472	0,000042
5	5	0,417587	0,000318	0,554530	0,001472		0,003501
6	USB	0,012542	0,000032	0,001457	0,000042	0,003501	

Níquel

	Punto de Muestreo	{1}	{2}	{3}	{4}	{5}	{6}
		29,926	58,814	38,156	119,78	7,4338	2,1679
1	1		0,000095	0,017641	0,000066	0,000175	0,000095
2	2	0,000095		0,000182	0,000172	0,000066	0,000038
3	3	0,017641	0,000182		0,000095	0,000095	0,000066
4	4	0,000066	0,000172	0,000095		0,000038	0,000032
5	5	0,000175	0,000066	0,000095	0,000038		0,103650
6	USB	0,000095	0,000038	0,000066	0,000032	0,103650	

Plomo

	Punto de Muestreo	{1}	{2}	{3}	{4}	{5}	{6}
		23,992	38,129	26,791	25,912	30,011	16,561
1	1		0,000512	0,354406	0,500692	0,065835	0,019885
2	2	0,000512		0,002008	0,001382	0,012600	0,000040
3	3	0,354406	0,002008		0,755906	0,266930	0,004696
4	4	0,500692	0,001382	0,755906		0,183321	0,007055
5	5	0,065835	0,012600	0,266930	0,183321		0,000752
6	USB	0,019885	0,000040	0,004696	0,007055	0,000752	

Vanadio

	Punto de Muestreo	{1}	{2}	{3}	{4}	{5}	{6}
		2,5339	2,4037	2,5087	4,2979	2,0903	2,1350
1	1		0,774333	0,953435	0,001402	0,354645	0,397387
2	2	0,774333		0,807598	0,001222	0,493246	0,535916
3	3	0,953435	0,807598		0,001580	0,375463	0,415685
4	4	0,001402	0,001222	0,001580		0,000463	0,000498
5	5	0,354645	0,493246	0,375463	0,000463		0,917492
6	USB	0,397387	0,535916	0,415685	0,000498	0,917492	



Zinc

	Punto de Muestreo	{1}	{2}	{3}	{4}	{5}	{6}
		116,68	219,39	104,58	115,73	115,07	29,921
1	1		0,000172	0,196977	0,910007	0,855147	0,000038
2	2	0,000172		0,000038	0,000095	0,000066	0,000032
3	3	0,196977	0,000038		0,220773	0,226239	0,000172
4	4	0,910007	0,000095	0,220773		0,936790	0,000066
5	5	0,855147	0,000066	0,226239	0,936790		0,000095
6	USB	0,000038	0,000032	0,000172	0,000066	0,000095	

Titanio

	Punto de Muestreo	{1}	{2}	{3}	{4}	{5}	{6}
		12,388	18,451	18,988	25,301	17,898	10,536
1	1		0,000120	0,000079	0,000038	0,000212	0,062809
2	2	0,000120		0,562803	0,000100	0,551330	0,000067
3	3	0,000079	0,562803		0,000180	0,272560	0,000038
4	4	0,000038	0,000100	0,000180		0,000069	0,000032
5	5	0,000212	0,551330	0,272560	0,000069		0,000097
6	USB	0,062809	0,000067	0,000038	0,000032	0,000097	

APÉNDICE T. Relación inter-elemental de metales asociados a rocas peridotíticas en diferentes investigaciones.

Relación	Asmund (2007)	Søndergaard (2009)	Presente Trabajo
Ni/Co	17,61	23,45	31,77
Ni/Cr	2,10	2,13	3,91
Ni/Fe	0,04	0,06	0,04
Co/Cr	0,12	0,09	0,12
Co/Fe	0,002	0,002	0,001
Cr/Fe	0,02	0,03	0,01



APÉNDICE U. Espectrómetro de Emisión Óptica con Plasma Inductivamente Acoplado (ICP-AES)



Fue utilizado este instrumental de análisis para determinar las concentraciones de los metales (Al, As, Ba, Cd, Cr, Co, Cu, Mn, Ni, Pb, V, Zn, Ti) en las muestras de líquen y suelo. Este instrumental es propiedad del Instituto de Ciencias de La Tierra (ICT) de la Facultad de Ciencias-UCV. Proviene de la casa HORIBA Jovin Yvon, modelo ULTIMA 2. Las especificaciones para llevar a cabo el análisis fueron las siguientes:

- Montaje óptico: Czerny Turner
- Onda focal: 0,64 m
- Gas del plasma: argón
- Potencia: 950 W
- Flujo del gas: 12 L/min
- Nebulizador: 0,8 L/min
- Tipo de nebulizador: vidrio concéntrico
- Altura de lectura de visualización: 3 mm

Las longitudes de onda fueron especificadas mediante el programa IMAGE, seleccionando las más favorables en términos de disminuir las interferencias asociadas.

Elemento	Al	As	Ba	Cd	Co	Cr	Cu	Mn	Ni	Pb	V	Zn	Ti
λ (nm)	308,215	228,812	493,409	214,438	228,616	267,716	324,754	257,61	231,604	220,353	311,071	206,2	337,28



APÉNDICE V. Analizador Directo de Mercurio (DMA-80 Direct Mercury Analyzer)



Este equipo realiza descomposición térmica, reducción catalítica, amalgamación, desorción y espectroscopía de absorción atómica para tratar y analizar rápidamente las muestras sólidas o líquidas para determinar mercurio. Da resultados de análisis de mercurio en unos 5 minutos (por muestra) sin tratamiento previo de la muestra y sin generación de residuos.

Las especificaciones técnicas del mismo son:

Control Instrumental	Dactilar
Instrumento óptico	Espectrofotómetro de haz simple con flujo secuencial a través de las celdas de medición
Fuente de luz	Lámpara de mercurio de baja presión
Longitud de onda	253.65 nm
Interferencia del Filtro	254 nm, ancho de banda de 9 nm
Detector	Foto-detector UV de silicio
Límite de detección	0.005 ng Hg
Intervalo de trabajo	Bajo: 0–20 ng Hg Alto: 20–1,000 ng Hg
Reproducibilidad	< 1.5%
Tratamiento de la muestra	Programado completamente
Introducción de la muestra	Auto-muestreador integrado de 40 posiciones
Calibración	Material de referencia certificado en estado líquido o sólido
Máx volumen de muestra líquida	1,500 µL
Máx. peso de muestra sólida	2,000 mg
Gas	Oxygen
Presión de entrada	4 bar (60 psig)
Flujo	~ 165 mL/min
Potencia	110 V / 60 Hz
Dimensiones	29 x 19 x 9 in.
Peso	56 kg (123 lbs.)