

UNIVERSIDAD CENTRAL DE VENEZUELA
FACULTAD DE CIENCIAS
ESCUELA DE QUIMICA



**“APLICACIÓN DE LA MEB/EDX EN EL ESTUDIO DE LA MORFOLOGÍA,
TAMAÑO Y COMPOSICIÓN QUÍMICA DEL MATERIAL DEPOSITADO
SOBRE LÍQUENES”**

Trabajo Especial de Grado
presentado ante la Ilustre
Universidad Central de Venezuela,
por la Br. Yamelis Y. Sancler L.
para optar al Título de
Licenciado en Química.

Caracas, Febrero 2015

UNIVERSIDAD CENTRAL DE VENEZUELA
FACULTAD DE CIENCIAS
ESCUELA DE QUIMICA



**“APLICACIÓN DE LA MEB/EDX EN EL ESTUDIO DE LA MORFOLOGÍA,
TAMAÑO Y COMPOSICIÓN QUÍMICA DEL MATERIAL DEPOSITADO
SOBRE LÍQUENES”**

Tutores:

Prof. Caribay Urbina (UCV)

Prof. Raiza Fernández (UCV)

Caracas, Febrero 2015

**DEDICADO A MI DIOS,
MI ABUELA Y MI TIA
QUE ME CUIDAN
DESDE EL CIELO.**

Gracias, primeramente a mi Dios que guía mis pasos en todo momento.

Gracias, a mi casa de estudios, la Universidad Central de Venezuela, a los profesores que me enseñaron todo lo que ahora se y contribuyeron en mi formación como profesional.

Gracias, a mis amigos, con los cuales compartí tantos momentos gratos durante mi carrera, compartimos sueños y desvelos para lograr el éxito!

Gracias a Daniela Toro, por estar a mi lado durante casi toda la carrera, por las enseñanzas y por el apoyo.

Gracias, a José Pinto, por ser mi amigo invaluable, por tantos momentos inolvidables, por todo el apoyo.

Gracias, a Javier González, por ser el amigo con quien contar siempre, por las enseñanzas, por ser tan excelente persona.

Gracias, a John Santiago, por ser el amigo sincero, el que escucha y comprende, por tanto apoyo.

Gracias, a Alejandra Delgado, por ser mi amiga, por prestarme todo su apoyo e incondicionalidad, por las sonrisas, por los abrazos, por las atenciones.

Gracias, a Martha Brun, por ser mi amiga, por regalarme su cariño, su apoyo, por escucharme, por empujarme a seguir.

Gracias, a Jóneth Mendoza, mi Dulce, por ser más que una amiga, una consejera, por darme aliento, por empujarme a seguir, por los abrazos, por las sonrisas, por los regaños y por ser una lucecita en mi camino.

Gracias, a Jimy Danelli, mi jefe en la compañía C.A. Metro de Caracas, por su comprensión y flexibilización para ayudarme a seguir mi carrera profesional, sobre todo en los inicios de mi carrera laboral.

Gracias, a mis tutoras, Raiza Fernández por el apoyo, por los conocimientos aportados, por el cariño. A Caribay Urbina, por los conocimientos aportados.

Gracias, a mi familia, que fue, es y seguirá siendo mi apoyo incondicional, mi soporte, mis ganas de vivir.

Gracias a mis hermanos, que me apoyaron y por su comprensión.

Gracias a mi papá y mamá, por ser de mi quien soy hoy, por formarme e inculcarme los valores más valiosos, por su apoyo, por su cariño, por sus consejos, por sus regaños, por todo.

Gracias a todos ustedes, que de una u otra forma me ayudaron a conseguir este logro, los quiero, todos tendrán siempre un pedacito de mi corazón.

GRACIAS.

YAMELIS YURUBI SANCLER LARROCHE.

Nosotras Prof. Caribay Urbina Investigadora del Centro de Microscopía Electrónica de la Escuela de Biología de la Universidad Central de Venezuela y la Prof. Raiza Fernández, Investigadora del Instituto de Ciencias de la Tierra de la Escuela de Química de la Universidad Central de Venezuela certificamos que, el presente Trabajo Especial de Grado, titulado:

“APLICACIÓN DE LA MEB/EDX EN EL ESTUDIO DE LA MORFOLOGÍA, TAMAÑO Y COMPOSICIÓN QUÍMICA DEL MATERIAL DEPOSITADO SOBRE LOS LÍQUENES”.

Que presenta la Br. Yamelis Sancler, para aspirar al título de Licenciado en Química, ha sido realizado en el Centro de Microscopía Electrónica de la Escuela de Química de la Universidad Central de Venezuela, bajo nuestra dirección y con esta fecha autorizamos su presentación.

Caracas, Febrero de 2015

Prof. Caribay Urbina

Prof. Raiza Fernández

Los abajo firmantes asignados por la Universidad Central de Venezuela, como integrantes del jurado examinador del Trabajo Especial de Grado titulado: “APLICACIÓN DE LA MEB/EDX EN EL ESTUDIO DE LA MORFOLOGÍA, TAMAÑO Y COMPOSICIÓN QUÍMICA DEL MATERIAL DEPOSITADO SOBRE LOS LÍQUENES” presentado por la Br. Yamelis Y. Sancler L., certificamos que este trabajo cumple con los requisitos exigidos por nuestra Magna Casa de Estudios para optar por el título de Licenciado en Química.

Prof. Caribay Urbina
(Directora)

Prof. Raiza Fernández
(Directora)

Prof. Jesús Hernández
(Jurado)

Prof. Carlos Barrios
(Jurado)

Resumen

En esta investigación se caracterizaron tanto química como morfológicamente mediante MEB/EDX, partículas depositadas sobre los líquenes *Parmotrema sp.* y *Pixine.sp.*

Primeramente, se determinó el tratamiento adecuado para analizar una porción de liquen, comparando los resultados obtenidos de los análisis hechos a una muestra de la especie *Parmotrema sp.* al ser lavado o no con agua. Tales resultados arrojaron una disminución porcentual de los elementos analizados, una vez lavadas las muestras, indicando que lo más adecuado es analizar la muestra sin lavar.

Se analizaron 7 muestras de líquenes, 3 de la especie *Parmotrema sp.* y 4 de la especie *Pyxine sp.*, las cuales fueron recolectadas en El Placer y en los alrededores del jardín Topotepuy. Tales muestras fueron trasladadas posteriormente a la estación del Ministerio del Ambiente, ubicada en El Cementerio, donde estuvieron expuestas por 3 meses.

Los resultados correspondientes a estos análisis, indicaron poca variedad de partículas depositadas sobre los líquenes en cuanto a la composición de las mismas. Sin embargo, en cuanto a morfología, no se encontraron suficientes partículas con forma definida, por lo que no fue posible establecer una relación morfología-composición. Los resultados obtenidos sugieren un origen mixto para las partículas, es

decir, tanto natural como antrópico. En cuanto a composición, los elementos mayormente encontrados fueron: Ca, K y Si.

INDICE GENERAL

1. Introducción.....	18
2. Objetivos.....	20
2.1. Objetivo general.....	20
2.2. Objetivos específicos.....	20
3. Revisión bibliográfica.....	21
3.1 Atmósfera terrestre.....	21
3.2 Contaminación atmosférica.....	21
3.3 Calidad del aire.....	22
3.4 Biomonitor.....	22
3.5 Bioindicador.....	23
3.6 Bioacumulador.....	23
3.7 Líquenes.....	23
3.7.1 Tipos de líquenes.....	24
3.7.1.1 Crustáceos.....	24
3.7.1.2 Foliáceos.....	24
3.7.1.3 Fruticulosos.....	24
3.8 Partículas.....	25
3.9 Microscopía electrónica de barrido (MEB).....	26
3.9.1 Funcionamiento del MEB.....	26

3.9.2 Preparación de la muestra para su observación mediante MEB.....	27
4. Antecedentes.....	29
5. Zona de estudio y metodología experimental.....	38
5.1. Zona de estudio.....	38
5.2. Metodología experimental.....	39
5.2.0. Instrumental analítico.....	39
5.2.1. Determinación del tratamiento preliminar de las porciones de las muestra de líquenes.....	40
5.2.2. Etapa de precampo.....	41
5.2.3. Etapa de campo.....	42
5.2.4. Tratamiento para el estudio de las muestras mediante MEB...	43
6. Resultados y discusiones.....	44
6.1 Tratamiento preliminar de las porciones de las muestras de líquenes.....	44
6.2 Caracterización química y morfológica de las partículas depositadas en los biomonitores <i>Parmotrema sp.</i> y <i>Pyxine sp.</i>	50
6.2.1. Caracterización química.....	50
6.2.2. Posibles fuentes de los elementos encontrados.....	83
6.2.3. Caracterización morfológica.....	85
7. Conclusiones.....	91

8. Recomendaciones.....	92
9. Bibliografía.....	93

INDICE DE FIGURAS

Figura 1. Estructura interior de los líquenes.....	24
Figura 2. Fotografías y dibujos con sus detalles de las principales formas liquénicas.....	25
Figura 3. Esquema de un MEB.....	27
Figura 4. Zona de estudio.....	38
Figura 5. Fotografía de líquenes tomados en El Placer y cercanías del jardín Topotepuy.....	41
Figura 6. Fotografía de líquenes tomados en El Placer y cercanías del jardín Topotepuy.....	43
Figura 7. Preservación de las muestras.....	44
Figura 8. Colocación de las muestras en el sitio de estudio.....	
Figura 9. Fotografía de una zona de la porción A y valores obtenidos del análisis elemental. Lavada, parte anterior.....	45
Figura 10. (a) y (b). Fotografías de una zona de la porción B. Lavada, parte posterior.....	46
Figura 11. (a) y (b). Fotografías de una zona de la porción C. No lavada, parte anterior.....	47
Figura 12. (a) y (b). Fotografías de una zona de la porción D. No lavada, parte posterior.....	48

Figura 13. (a) y (b). Fotografías de una zona de la porción E.....	49
Figura 14. Fotografía de un área de la muestra PT1-A.....	51
Figura 15. Fotografía de un área de la muestra PT1-B.....	53
Figura 16. Fotografía de un área de la muestra PT1-C.....	55
Figura 17. Fotografía de un área de la muestra PT1-D.....	57
Figura 18. Fotografía de un área de la muestra PT2-A.....	59
Figura 19. Fotografía de un área de la muestra PT2-B.....	61
Figura 20. Fotografía de un área de la muestra PT3-A.....	63
Figura 21. Fotografía de un área de la muestra PT3-B.....	65
Figura 22. Fotografía de un área de la muestra PX1-A.....	67
Figura 23. Fotografía de un área de la muestra PX1-B.....	69
Figura 24. Fotografía de un área de la muestra PX2-A.....	71
Figura 25. Fotografía de un área de la muestra PX2-B.....	73
Figura 26. Fotografía de un área de la muestra PX3.....	75
Figura 27. Fotografía de un área de la muestra PX4-A.....	77
Figura 28. Fotografía de un área de la muestra PX4-B.....	79
Figura 29. Fotografía de la muestra PT2.....	85
Figura 30. Morfología irregular.....	85
Figura 31. Morfología irregular.....	85
Figura 32. Fotografía de la muestra PT3.....	85
Figura 33. Morfología esférica espongiforme.....	86

Figura 34. Morfología esférica lisa.....	86
Figura 35. Fotografía de la muestra PX1.....	86
Figura 36. Morfología posiblemente biológica.....	86
Figura 37. Morfología laminar (facetada).....	86
Figura 38. Fotografía de la muestra PX1.....	87
Figura 39. Morfología irregular.....	87
Figura 40. Morfología irregular.....	87
Figura 41. Fotografía de la muestra PX3.....	87
Figura 42. Morfología rectangular.....	87
Figura 43. Morfología irregular.....	87
Figura 44. Fotografía de la muestra PX4.....	88
Figura 45. Morfología prismática.....	88
Figura 46. Morfología prismática.....	88
Figura 47. Fotografía de la muestra PX2.....	88
Figura 48. Extracto de la muestra PX2.....	88
Figura 49. Fotografía de la muestra PX1.....	89
Figura 50. Extracto de la muestra PX1.....	89

Índice de tablas

Tabla 1. Resumen de antecedentes.....	34
Tabla 2. Nomenclatura de las muestras utilizadas para la determinación del tratamiento preliminar de las porciones de líquen a ser observadas por MEB.....	40
Tabla 3. Valores obtenidos del análisis elemental. Porción B.....	46
Tabla 4. Valores obtenidos del análisis elemental. Porción C.....	47
Tabla 5. Valores obtenidos del análisis elemental. Porción D.....	48
Tabla 6. Valores obtenidos del análisis elemental. Porción E.....	49
Tabla 7. Análisis elemental de la muestra PT1-A.....	52
Tabla 8. Análisis elemental de la muestra PT1-B.....	54
Tabla 9. Análisis elemental de la muestra PT1-C.....	56
Tabla 10. Análisis elemental de la muestra PT1-D.....	58
Tabla 11. Análisis elemental de la muestra PT2-A.....	60
Tabla 12. Análisis elemental de la muestra PT2-B.....	62
Tabla 13. Análisis elemental de la muestra PT3-A.....	64
Tabla 14. Análisis elemental de la muestra PT3-B.....	66
Tabla 15. Análisis elemental de la muestra PX1-A.....	68
Tabla 16. Análisis elemental de la muestra PX1-B.....	70
Tabla 17. Análisis elemental de la muestra PX2-A.....	72

Tabla 18. Análisis elemental de la muestra PX2-B.....	74
Tabla 19. Análisis elemental de la muestra PX3.....	76
Tabla 20. Análisis elemental de la muestra PX4-A.....	78
Tabla 21. Análisis elemental de la muestra PX4-B.....	80
Tabla 22. Resumen cualitativo del análisis elemental de las muestras.....	81
Tabla 23. Frecuencia de los elementos detectados en base a muestras y análisis realizados.....	82
Tabla 24. Morfologías encontradas en esta investigación y por Ramos (2006).....	89

1. Introducción

La aplicación de la microscopía electrónica en líquenes comienza aproximadamente en los años 60, en Alemania, cuando utilizan esta técnica para estudiar su morfología. Al pasar del tiempo y del aumento de la contaminación con la llegada progresiva de los automóviles y construcción de empresas industriales, el enfoque se centró en el estudio de los líquenes como biomonitores de la contaminación ambiental. Una de las técnicas de instrumentación analítica utilizada para este fin fue y aún sigue siendo la microscopía electrónica. [1]

La contaminación atmosférica es un hecho que perjudica de manera significativa al medio ambiente y a los seres vivos que en él habitan. Las partículas atmosféricas en sus diversidades de tamaño como las $PM_{2,5}$, PM_{10} y PTS, son importantes contaminantes. Estas partículas son captadas en equipos especiales y costosos llamados muestreadores de aire los cuales son ubicados en ciudades de gran tráfico vehicular y de actividad industrial. En este mismo orden de ideas, aparecen como alternativa para monitorear las concentraciones de metales pesados presentes en el aire, los organismos llamados líquenes, como bioindicadores de contaminación atmosférica. Los líquenes reúnen una serie de características que los hacen atractivos al estudio de la contaminación del aire, tales como: son fáciles de muestrear y no requieren de altos costos para sus análisis. [1]

Además de las características antes mencionadas de los líquenes, cabe mencionar que algunas especies son resistentes en ambientes extremos. Aparecen en los lugares más extremos debido a su capacidad de permanecer en estado

metabólicamente inactivo durante largos periodos de tiempo, en los cuales pueden soportar las condiciones más duras imaginables tales como temperaturas extremas [2]. Esto permite el estudio de las propiedades ambientales del lugar donde éstos se encuentren.

La microscopía electrónica para el estudio de estos organismos sigue siendo utilizada, permitiendo observar la morfología de las partículas que se depositan en ellos, así como su composición elemental y de esta manera evaluar la calidad del aire del lugar donde habitan o bien aportar en cuanto a capacidad de biomonitoreo de distintas especies.

En Venezuela, se han realizado diversos estudios sobre el estudio de partículas en el aire, siendo el más reciente en el año 2011. En la mayoría de estos estudios, evaluar la calidad del aire ha sido el objetivo de interés.

Cabe destacar que actualmente en Venezuela, han aumentado las construcciones de viviendas y el flujo vehicular, principalmente en la ciudad de Caracas, lo que implica el incremento de la contaminación en la ciudad, siendo estas las dos principales fuente de contaminación actualmente.

La motivación de este trabajo nace de la necesidad por conocer la morfología, el tamaño y la composición química de las partículas existentes en la ciudad de Caracas para cumplir los objetivos de una línea de investigación que se desarrolla desde el 2005 en ésta ciudad, por la profesora Raiza Fernández y que se puede cumplir fácilmente, aplicando la técnica de MEB-EDX.

2. Objetivos

2.1 Objetivo general

- ❖ Aplicar la técnica de MEB/EDX en el estudio de la morfología, tamaño y composición química del material depositado sobre los líquenes *Parmotrema sp.* y *Pyxine sp.*

2.2 Objetivos específicos

- ❖ Determinar el tratamiento preliminar de la muestra de líquenes, adecuado para la aplicación de MEB/EDX.
- ❖ Caracterizar morfológica y químicamente las partículas depositadas en los biomonitores señalados, mediante MEB/EDX.
- ❖ Proponer el origen de las partículas encontradas en los biomonitores.

3. Revisión Bibliográfica

Para comprender completamente los términos que se manejan en este trabajo, es importante conocer el significado y entender ciertos conceptos, los cuales se definen a continuación.

3.1 Atmósfera terrestre

La atmósfera terrestre es la esfera geoquímica más externa de la tierra, está formada por una mezcla de gases, vapores y partículas, principalmente lo que más abunda es el nitrógeno y oxígeno con pequeñas cantidades de gases nobles, dióxido de carbono y vapor de agua, pero son llamados únicamente atmófilos los gases nobles y el nitrógeno. Para su estudio se divide en diversas capas atendiendo a la distribución vertical de temperaturas (tropósfera, estratósfera, mesósfera, termósfera, exósfera). En nuestro estudio nos enfocaremos a la capa más interna, la tropósfera, capa atmosférica donde se produce la mayor parte de los fenómenos meteorológicos porque concentra el vapor de agua y la mayor parte de los gases de la atmósfera. La atmósfera contiene siempre cantidades de materia que impurifica el aire de la tropósfera debido a la participación del hombre, teniendo gran importancia geoquímica. [3]

3.2 Contaminación atmosférica

La contaminación atmosférica se refiere a la presencia de uno o más contaminantes en la atmósfera, que es: cualquier sustancia presente en el aire que, por su naturaleza, es capaz de modificar los constituyentes naturales de la atmósfera, pudiendo alterar sus propiedades físicas o químicas; y cuya concentración y período de permanencia en la misma pueda originar efectos nocivos sobre la salud de las personas y el ambiente en general. [4]

Atendiendo al decreto 638 del MARN, las partículas totales suspendidas (PTS) son entonces contaminantes atmosféricos, pues modifican las propiedades tanto físicas como químicas de la atmósfera.

3.3 Calidad del aire

La finalidad de determinar la calidad del aire es proteger la salud pública, de los efectos perjudiciales asociados a los contaminantes aéreos. Los criterios de calidad del aire son las conexiones cuantitativas entre el grado de contaminación del aire con componentes particulares y las reacciones de estos sobre los humanos, animales, plantas y materiales.

La calidad del aire está determinada por su composición. La presencia o ausencia de varias sustancias y sus concentraciones son los principales factores determinantes de la calidad del aire. Debido a esto, la calidad del aire se expresa mediante la concentración o intensidad de contaminantes, la presencia de microorganismos, o la apariencia física. Ejemplos de contaminantes que son importantes indicadores de la calidad del aire son el dióxido de azufre y las partículas de polvo y suciedad. La apariencia física del aire se puede medir, por ejemplo, determinando la turbidez del aire. [5]

3.4 Biomonitor

Proporciona información cuantitativa del estado de un ecosistema. Un biomonitor también es un bioindicador, a excepción de que este cuantifica el impacto o resultado eventual en un organismo o ecosistema. [6]

Por lo que se habla de cualquier organismo que reaccione ante todos los cambios ambientales que haya en la zona es un biomonitor, siendo efectivo para el estudio de la calidad del aire.

3.5 Bioindicador

Proporciona una medida de contaminación, la cual puede ser comparada con una medida de un instrumento. Los bioindicadores proporcionan información de la calidad del ambiente y de la condición real de un organismo o ecosistema. [6]

Cabe destacar, que los bioindicadores responden a la contaminación alterando su fisiología, es decir, síntomas particulares en respuesta a la contaminación existente en la zona.

3.6 Bioacumulador

Son organismos que acumulan a los contaminantes en sus tejidos. Ellos pueden ser menos sensibles, o de hecho no afectados por la contaminación del aire pero son, sin embargo, buenos indicadores de la exposición del ecosistema a la contaminación. [6]

La atención se centra entonces en bioacumuladores resistentes que puedan proporcionar información acerca de la contaminación del ambiente donde se encuentran, siendo de interés para estudios de contaminación por metales pesados, por ejemplo, por ser estos muy dañinos tanto para el ambiente como para los seres vivos.

3.7 Líquenes

Los líquenes son organismos formados por una asociación entre un hongo y un alga, una simbiosis, en la cual el hongo proporciona resistencia y el alga que vive en su interior es la que proporciona los nutrientes para ambos mediante fotosíntesis. Tal conformación se muestra en la figura 1.

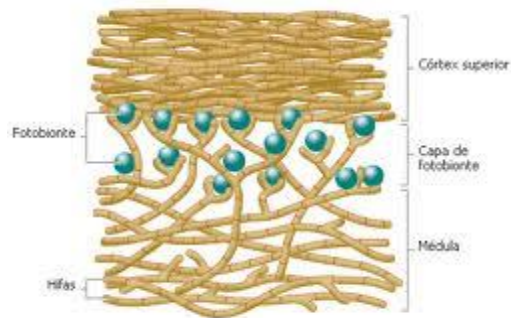


Figura 1. Estructura interior de los líquenes. [7]

3.7.1 Tipos de líquenes

Por su aspecto externo se puede distinguir tres grupos:

3.7.1.1 Crustáceos: viven íntimamente unidos a la superficie de las rocas o de las cortezas.

3.7.1.2 Foliáceos: de forma aplanada y lobulada, se fijan al sustrato por medio de unos cordones especiales de hifas llamadas rizinas.

3.7.1.3 Fruticulosos: tienen forma de arbusto y se fijan al sustrato por una base muy estrecha.

El éxito de esta simbiosis se ve reflejado en la alta resistencia que muestran los líquenes al ser expuestos a condiciones que no son las más adecuadas, como por ejemplo: alta contaminación, temperaturas extremas o cambios climáticos condiciones en las que otros sistemas no resistirían.

En la figura 2 se puede observar fotos referenciales a la clasificación de los líquenes por su aspecto.

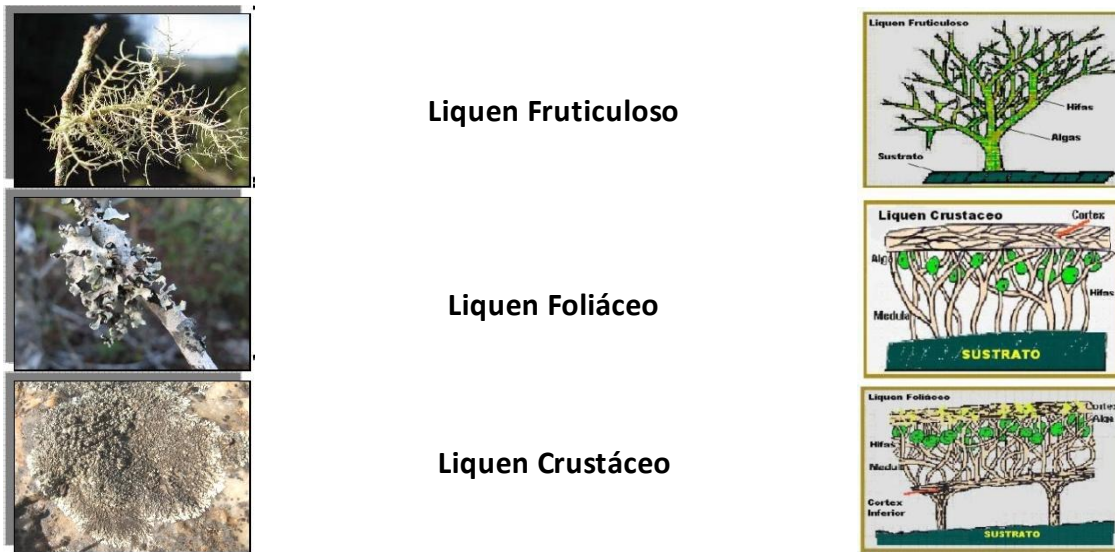


Figura 2. Fotografías y dibujos con sus detalles de las principales formas liquénicas. [8]

3.8 Partículas

Una partícula es la menor porción de un cuerpo la cual conserva sus características químicas. Puede tratarse tanto de elementos como de moléculas, es decir, elemental o compuesta. Una de las clasificaciones de partículas viene definida por su tamaño, encontrándose una infinidad; un ejemplo de ello son las partículas totales suspendidas (PTS), que son partículas con un tamaño de 10 μm a 30 μm o las partículas PM10 que van desde 2,5 μm a 10 μm .

Estas partículas al estar presentes en el aire, las respiramos y se albergan en nuestro sistema respiratorio, causando efectos adversos a la salud. Esta es una de las razones principales de los diferentes estudios en lo que a partículas se refiere.

3.9 Microscopía electrónica de barrido (MEB).

La microscopía electrónica de barrido permite la observación y caracterización de materiales orgánicos e inorgánicos heterogéneos con una resolución del orden de los nanómetros (nm). [9]

Un microscopio electrónico de barrido (MEB), consta de varios elementos: (1) cañón de electrones, (2) lente condensador, (3) lente final, (4) bobinas deflectoras, (5) detector de electrones secundarios, (6) muestra, (7) tubo de rayos catódicos. (Ver figura 3)

3.9.1 Funcionamiento del MEB

En el MEB (figura 3) se produce un haz de electrones de alta energía por un cañón de electrones (1), el cual a su vez, está compuesto por un cátodo (filamento), un ánodo y el cilindro de Wehnelt, el tamaño de este haz será modificado y direccionado por un sistema de lentes condensadoras (2,3). Las Bobinas deflectoras (4) permiten realizar un barrido del haz de electrones sobre la muestra; luego este haz interacciona con (6) la muestra que emite electrones secundarios y llegan al (5) detector de electrones secundarios (fotomultiplicador), el cual convierte esa señal en una eléctrica y la transmite al tubo de rayos catódicos (7) o a un monitor que a su vez transforma esta señal eléctrica en una imagen. La imagen obtenida contiene la información de la morfología de la muestra analizada.

Es posible obtener información de la composición química de la muestra si el microscopio posee un detector dispersivo de energía de rayos-x característicos EDX.

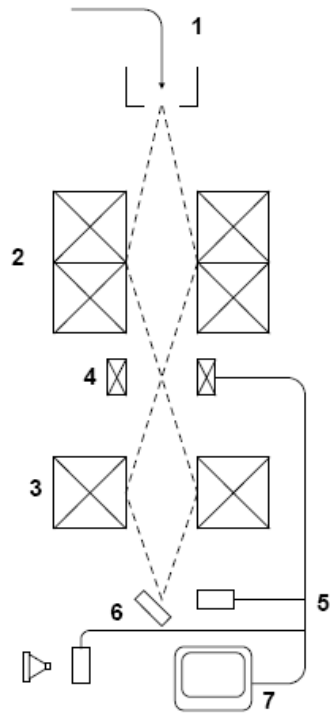


Figura 3. Esquema de un MEB.

3.9.2 Preparación de la muestra para su observación mediante MEB.

La muestra debe cumplir con ciertos requisitos para ser analizada mediante MEB, ésta debe ser conductora, estable al haz de electrones y representativa.

No todas las muestras a analizar son conductoras eléctricamente, por lo que aquellas muestras que no lo son, se tiene la necesidad de hacerles un tratamiento anterior al análisis por MEB. Este tratamiento consiste en cubrirla con un material conductor, tal como el oro, para analizar su morfología. Por otro lado, para realizar el análisis químico la muestra debe cubrirse con carbono para evitar afectar el análisis elemental.

4. Antecedentes

Diversas investigaciones referentes al estudio de la calidad del aire usando biomonitores se han realizado en las últimas dos décadas, utilizando diferentes técnicas de estudio, entre ellas la microscopía electrónica.

Purvis *et. al.* (2000) estudiaron la bioacumulación de plomo por el líquen *acarospora smaragdula*. La recolección de las muestras se hizo de postes de concreto adyacentes a las minas de fundición, en Rumania, en un perímetro de 500m. Las técnicas utilizadas fueron microscopía óptica y la microscopía electrónica de barrido. El Pb fue detectado en todas las zonas del líquen a excepción de la capa del fotobionte, atribuyéndose a que el Pb es móvil en condiciones de acidez y que éste se aloja en el córtex. Encontraron además, que el Pb se encontraba en su mayoría asociado con el S, lo que dificultaba su análisis, pues las señales de estos dos elementos se solapaban. [10]

Vingiani *et. al.* (2003) estudiaron la contaminación existente en Nápoles, Italia, usando líquenes y musgo como biomonitores. Fueron expuestos a partir de julio de 1999 y se recolectaron en dos momentos sucesivos; en el final de la temporada seca y durante la estación húmeda. El análisis se llevó a cabo mediante microscopía electrónica de barrido, la cual arrojó resultados que permitieron afirmar que el contenido de azufre y nitrógeno en el líquen aumenta durante todo el período de exposición, mientras que el nivel de carbono no cambió significativamente después de 10 semanas de exposición. Para el musgo la acumulación de azufre se limitó al período seco, mientras que el contenido de nitrógeno y de carbono disminuye con la exposición. [11]

Williamson *et. al.* (2004) aplicaron la microscopía electrónica de barrido con energía dispersiva de rayos X para el estudio de partículas en el líquen *Hypogymnia physodes*. Fue evaluada como una técnica complementaria para el análisis químico de los contaminantes en el aire. El período de exposición fue de 2 meses, estacionados en la fundición de cobre y antiguo pueblo minero de Karabash, se compararon con los de un sitio de control a 30 km al sur. La materia particulada en muestras de Karabash (715 análisis) mostró mayores niveles de S, Pb, Cu, Sn y Zn en comparación con el control (598 análisis). Los análisis de la superficie del talo de del líquen revelaron altos niveles de Cu, Zn, Fe y Pb asociados con los productos orgánicos en las muestras de Karabash en comparación con el control, con una pérdida proporcional de K, la cual se infiere es debida a una tensión de consiguiente aumento de la permeabilidad de la membrana celular. [12]

Quijada (2006) analizó la concentración de los elementos Pb, Cu, Zn, Cd, Ni, V y Cr en líquenes. Se utilizaron las especies *Ramalina sp.* y *Pyxine sp.*, la primera permitió observar la acumulación de contaminación por líquenes y la segunda, observar la variabilidad de los contaminantes en la ciudad a lo largo de la transecta que va desde Propatria hasta El Marqués. El análisis fue hecho mediante ICP-OES, determinando las concentraciones de los metales antes mencionados. Encontró un incremento en la concentración de los elementos Cr y Pb en la especie *Ramalina sp.* con respecto a los controles, ubicados en la USB, luego de un período de exposición tres meses. En cuanto a los líquenes de la transecta, se encontró un enriquecimiento relativo de metales en Propatria y los valores más altos de concentración de plomo en Plaza Venezuela y Parque Carabobo. [13]

Ramos (2006) caracterizó partículas menores a 10 μm (PM10) y partículas atmosféricas suspendidas totales (PTS) de la zona de El Silencio, Caracas. Fueron colectadas 9 muestras, de las cuales 5 se recolectaron en filtros de cuarzo y se analizaron partículas PM10 y las otras 4 se recolectaron en filtros de fibra de vidrio y se

analizaron partículas PTS. Estas muestras fueron tomadas en la torre sur del Centro Simón Bolívar, piso 4 del Ministerio de Ambiente, con un captador de alto volumen respectivo para PTS y PM10. Utilizó un microscopio electrónico de barrido de 20 kV para su caracterización morfológica y una microsonda de electrones (EPMA) para el análisis químico. Encontró que hay fuentes de tipo tanto natural como antrópico. Por fuentes naturales: partículas de morfología prismática, que presentaron diferente composición, (Na, Cl); (Na, Cl, K); (K, Al, Si, O, Mg) y (Ca, Mg, O); partículas de morfología laminar, con la siguiente composición (Si, Mg, Fe, Ca, Al, K, Ti, O) y las irregulares (Ca, Si, Al, O). Además de partículas posiblemente biológicas. Por fuentes antrópicas: partículas de morfología esféricas espongiiformes (S, Fe, Al y/o Pb), esféricas lisas (Fe, Pb, Ti, Al, O, Ca, C), rectangular (S, Ca, O) y agregado de partículas carbonosas (C y en menor proporción otros elementos). [14]

Raggio *et. al.* (2007) estudiaron la resistencia de los líquenes *Rhizocarpon geographicum* recogido en el Sistema Central (Sierra de Gredos) y *Xanthoria elegans*, recolectada en Sierra Nevada al ser expuestos al espacio exterior durante 16 días. Al volver a la Tierra se evaluó la supervivencia de los líquenes a través de medidas de fluorescencia de la clorofila, que proporciona una idea de la viabilidad y estado del aparato fotosintético. Tras un período de reactivación en el laboratorio de 24 horas se observó que el metabolismo no había sufrido daños, es decir, los líquenes resistieron la exposición espacial en estado de latencia y posteriormente no tuvieron problema para reactivarse. [2]

La evaluación del impacto de la exposición espacial se completó con un análisis por microscopía electrónica de barrido del estado de las células de los talos liquénicos, observándose que la mayoría se encontraban en buen estado. [2]

Perelman *et. al.* (2007) estudiaron cortezas de *Morus alba* con el fin de evaluar la contaminación existente en la población de Mendoza, tanto en el área urbana como periurbana. Se recolectaron 20 muestras, que fueron digestadas con una solución de

ácido nítrico (30ml) y aforando a 100ml, para luego filtrar. El filtrado se analizó mediante un espectrómetro de emisión en plasma inductivamente acoplado (ICP-OES) operando en modo axial. Los resultados que obtuvieron, les permitió concluir que la mayor contaminación es producida por la actividad antropogénica. En el área urbana encontraron los mayores valores de Zn y Pb, mientras que el área periurbana se caracterizaba por la presencia de Hg. [15]

Zuloaga (2008) estudió partículas PM10 que fueron recolectadas por el Ministerio de Ambiente entre los meses de Abril a Octubre de 2007 en las estaciones Los Ruices, El Cementerio, Bello Campo y CORE5 en la ciudad de Caracas con un Partisol 2000H durante 24 horas en el filtro de cuarzo (WHA), las cuales fueron analizadas empleando la norma COVENIN 2465 para Pb mediante la técnica de espectroscopía de emisión atómica de plasma inductivamente acoplado con argón (ICP/OES) y plasma de acoplamiento inductivo de masa (ICP/MS) para obtener concentraciones de As, Cd, Cr y Pb y para el Hg absorción atómica con vapor frío (FIMS), la exactitud del método del tratamiento de este tipo de muestras fueron evaluadas a través del análisis de estándares certificadas de partículas atmosféricas (A3 SPEX certiperp y 2583 NIST) no encontrándose diferencias significativas. [16]

Díaz (2008) evaluó la eficacia de los líquenes para estudios de contaminación atmosférica usándolos como bioacumuladores. Comparó dos géneros diferentes, *Parmotrema sp.* y *Physcia sp.*, siendo este último el menos eficiente, utilizando las técnicas de ICP-OES y MEB para tal estudio. Se estudiaron 48 muestras, 24 de cada género que fueron recogidas de la urbanización Los Guayabitos, en la zona de Baruta, Municipio El Hatillo. Fueron preservados a 4°C por 5 días y transplantados a las estaciones de Calidad de Aire del Ministerio del Ambiente, ubicadas en la ciudad de Caracas, específicamente en el sector de Los Ruices, Bello Campo, Tazón y El Cementerio. Fueron colectados en dos grupos: un primer grupo a los tres meses (12 del género *Parmotrema sp.* y 12 del género *Physcia sp.*) y otro a los seis meses (12 del

género *Parmotrema sp.* y 12 del genero *Physcia sp.*). Determinó que a los tres meses de exposición se encontraban las siguientes concentraciones promedio ($\mu\text{g.g}^{-1}$) de los metales en el género *Parmotrema sp.*: Cd 10, Cr 83, Cu 492, Ni 77, Pb 417, V 18, Zn 566, mientras que en el género *Physcia sp.*: Cd 7, Cr 21, Cu 622, Ni 73, Pb 287, V 11, Zn 167. A los seis meses los valores de concentración promedio ($\mu\text{g.g}^{-1}$) de los metales en el género *Parmotrema sp.* fueron: Cd 18, Cr 224, Cu 1209, Ni 159, Pb 995, V 37, Zn 1342, mientras que en el género *Physcia sp.*: Cd 19, Cr 39, Cu 737, Ni 159, Pb 995, V 18, Zn 315. [1]

Hurtado (2010) empleó los líquenes para evaluar contaminación por fuentes fijas (industrias), enfocándose en la empresa Minera Loma de Níquel C.A. Se realizó un monitoreo de tipo activo: fueron trasplantados líquenes *Parmotrema sancti angelii* (Lyngé) Hale desde la Universidad Simón Bolívar hasta los alrededores de la población minera de Tiara (5 puntos en una transecta). Las técnicas usadas fueron las de de espectrometría de absorción atómica de llama (AAS), Espectrometría de Emisión Óptica por Plasma Inductivamente Acoplado (ICP-AES) y el Analizador Directo de Mercurio DMA-80. Se obtuvo evidencia de 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 explotación minera. [17]

Rosato (2010) recolectó muestras de rocas colonizadas por líquenes en la zona de Tandil y una muestra de los alrededores de Balcarce. Fueron observados bajo microscopio estereoscópico, óptico y microscopio electrónico de barrido ambiental (MEBA). En las observaciones realizadas con MEBA se observó que estas especies afectan solo la parte más superficial de la roca, pero que igualmente causan "micropitting", que son perforaciones de 1 a $5\mu\text{m}$ debidas a la acción mecánica de las hifas.[18]

Díaz (2011) caracterizó Partículas Totales Suspendidas (PTS) en distintas zonas de la ciudad de Mérida. Se analizaron nueve filtros de fibra de vidrio, que fueron tomados en el período de Junio y Julio de 2009, utilizando un equipo colector de alto volumen, encontrándose concentraciones por debajo del límite permitido ($75\mu\text{g}/\text{m}^3$) según las normas COVENIN de calidad del aire. Se hizo análisis de EDX a las muestras empleando un microscopio electrónico de barrido (MEB) obteniéndose la composición química elemental cualitativa de partículas individuales, las cuales se clasificaron en grupos generales por zonas de estudio. De acuerdo a los resultados del estudio morfológico llevado a cabo por MEB se estableció que la forma, tamaño y composición química de las partículas atmosféricas no están correlacionados entre sí. Se determinó que la morfología de las PTS de la zona de El Valle (fragmentos de aristas o bordes bien definidos) es totalmente diferente a las colectadas en las otras dos zonas (aglomerados de partículas redondeadas), lo que puede implicar distintos mecanismos de formación de las partículas. Se encontró que el material particulado muy posiblemente provenga de la litología asociada a las zonas estudiadas, ya que elementos tales como O, Na, Mg, Al, Si, K, Ca y Fe son comunes para ambos. El resto de los elementos observados, P, S, Ti y Zn quizás sean de origen antropogénico y su incorporación al material particulado posiblemente dependa del tiempo de residencia de las PTS en la atmósfera. [5]

Bosch-Roig *et. al.* (2013) estudiaron las partículas existentes en líquenes ubicados en la iglesia Santos Juanes, Valencia, España. Utilizaron tres tipos de líquenes, *Candelariella sp.*, *Lecanora sp.* y *Caloplaca sp.*. Se tomaron también líquenes de la Sierra de Albarracín a 40 km de la iglesia, como zona de control. La caracterización de las partículas se hizo utilizando un MEB-EDX y ICP-MS. El estudio mostró un alto contenido de Cu y Pb en las especies utilizadas, además de la presencia de los elementos V, Cr, Mn, Co, Ni, Cu, Zn, As, Rb, Sr, Mo, Cd, Sb, Ba, Pb, Bi y U. [19]

Tabla 1. Resumen de antecedentes

Autor,(año),Lugar	Elementos estudiados	Especie usada para el estudio	Técnica aplicada	Resultados
Purvis <i>et. al.</i> (2000) Rumania	Pb	Liquen: <i>acarospora smaragdula</i>	M.E.B. M.O	Pb asociado a azufre
Vingiani <i>et. al.</i> (2003) Nápoles	S, N, C	Líquenes y musgo	M.E.B.	Líquenes: S y N en aumento. C no cambia luego de 10 sem. Musgo: S sólo en periodo seco. N y C disminuye con la exposición.
Williamson <i>et. al.</i> (2004) Karabash	S, Pb, Cu, Sn, Zn, Fe y K	Liquen <i>hipogimnya physodes</i>	M.E.B./E.D.X	Mayores niveles de: S, Pb, Cu, Sn y Zn

Autor,(año),Lugar	Elementos estudiados	Especie usada para el estudio	Técnica aplicada	Resultados
Quijada (2006) Caracas	Pb, Cu, Zn, Cd, Ni, V y Cr	Líquenes <i>Ramalina sp.</i> y <i>Pyxine sp.</i>	I.C.P./O.E.S.	<i>Ramalina: Cr y Pb</i> <i>Pyxine:</i> mayores niveles de metales en Propatria. Pb en Pza. Venezuela. y Parque Carabobo.
Ramos (2006) Caracas	PTS PM ₁₀	Filtros de cuarzo, filtros de fibra de vidrio, HI-VOL	M.E.B. E.P.M.A.	Fuentes naturales y antrópicas con diferente morfología
Raggio <i>et. al.</i> (2007) Sierra Nevada	Resistencia de líquenes en el espacio	Líquenes: <i>rhizocarpon geographicum</i> y <i>xantoria elegans</i>	Fluorescencia de la clorofila M.E.B	No hay modificaciones significativas

Autor,(año),Lugar	Elementos estudiados	Especie usada para el estudio	Técnica aplicada	Resultados
Perelman <i>et. al.</i> (2007) Mendoza	Contaminación existente	Corteza de <i>morus alba</i>	I.C.P.- O.E.S	Mayor contaminación por actividad antropogenica. Área urbana: Zn y Pb Área periurbana: Hg
Zuloaga (2008) Caracas	PM ₁₀	HI-VOL Filtros cuarzo	I.C.P.-O.E.S. I.C.P:-M.S.	No se encontraron diferencias
Díaz (2008) Caracas	Cd, Cr, Cu, Ni, Pb, V y Zn	<i>Parmotrema sp.</i> y <i>phiscya sp.</i>	I.C.P.-O.E.S. M.E.B.	Aumento en la concentración en cada uno de los líquenes usados
Hurtado (2010) Caracas	Cd, As, Al, Co, Hg, Fe, Mg, Mn, Ni y Ti	<i>Parmotrema sancti angeli</i>	A.A.S. I.C.P.-A.E.S. Analizador directo de mercurio	Cd y As: N/D Correlacion entre los metales, asociados a la explotación minera

Autor,(año),Lugar	Elementos estudiados	Especie usada para el estudio	Técnica aplicada	Resultados
Rosato (2010) Tandil, Balcarce	Acción de líquenes en las rocas	Líquenes	M.E. M.O. M.E.B.A.	Líquenes causan micropitting por acción mecánica de las hifas
Diaz (2011) Merida	PTS	Filtros de fibra de vidrio HI-VOL	M.E.B./E.D.X.	Concentración debajo de las normas. Partículas con formas
Bosch-Roig <i>et al.</i> (2013) España	Metales pesados	Líquenes	MEB-EDX ICP-MS	Alto contenido de Cu y Pb

5.1 Zona de estudio

La zona de estudio escogida fue la estación del Ministerio del poder Popular para el ambiente del Cementerio, ubicada en el edificio de Malariología del Ministerio de Sanidad entre la Av. Principal de El Cementerio y la Av. Roosevelt, a 910m sobre el nivel del mar, la cual es transitada regularmente por personas y vehículos automotores. En sus alrededores hay varios talleres de herrería y múltiples construcciones de viviendas y edificios.

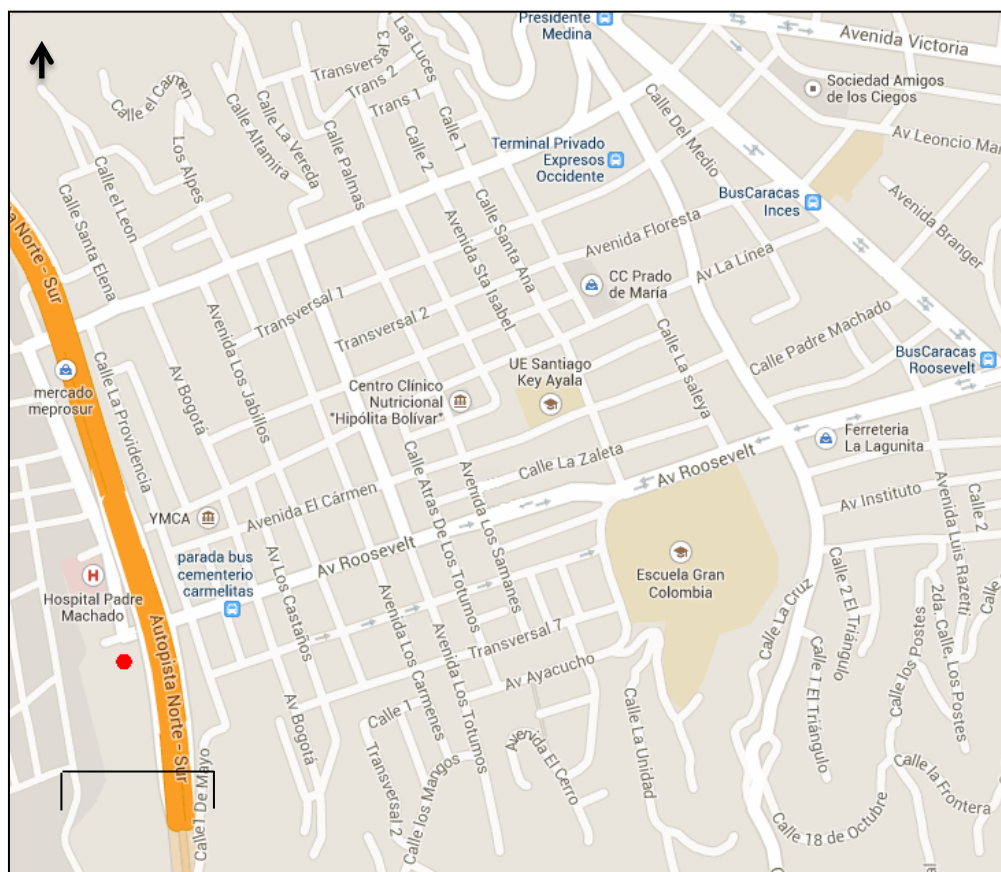


Figura 4. Zona de estudio. (●)

5.2 Metodología experimental

5.2.0 Instrumental analítico

Microscopio electrónico de barrido (MEB) FEI ambiental, operando a 10KV

Microscopio electrónico de barrido (MEB) QUANTA 259 FEG, operando a 20 kV

5.2.1 Determinación del tratamiento preliminar de las porciones de las muestras de líquenes.

Primeramente se recolectó una muestra de líquen *Parmotrema* sp. proveniente del Cementerio del Este. Se utilizaron dos métodos de preparación de las muestras para ser observadas mediante microscopía electrónica de barrido (MEB): el primero con los líquenes sin lavar y el segundo lavándolos con agua.

Para el primer método, se colocó un pedazo del líquen sobre el portamuestra utilizando teipe conductor doble cara, para luego observar mediante MEB.

Para el segundo método, se tomó un pedazo del líquen y se colocó en un beacker con agua destilada, dejándolo en ultrasonido por aproximadamente 1 minuto. Luego se dejó secar a temperatura ambiente y se colocó en el portamuestra y se observó mediante MEB.

En este estudio se observaron 5 porciones del líquen, tanto del borde como de la parte central. En ambos casos, líquen lavado y sin lavar, se analizaron tanto la parte posterior como la anterior del organismo y el análisis fue llevado a cabo en un MEB FEI ambiental, operando a 10KV. La nomenclatura utilizada para cada espécimen se indica en la tabla 2

Tabla 2. Nomenclatura de las muestras utilizadas para la determinación del tratamiento preliminar de las porciones de líquen a ser observadas por MEB.

Nomenclatura	Observación
A	Parte anterior, porción lavada
B	Parte posterior, porción lavada
C	Parte anterior, porción sin lavar

Nomenclatura	Observación
D	Parte posterior, porción sin lavar
E	Parte anterior, muestra sin lavar. Porción de comparación

Para la caracterización tanto morfológica como química de las partículas, la metodología experimental constó de tres etapas, que fueron:

5.2.2 Etapa de precampo.

En esta etapa se recorrieron varias localidades de la ciudad de Caracas. Esto para determinar la zona donde se recolectarían los líquenes en estudio. Las localidades recorridas fueron:

- ❖ Parque Miranda (Parque del Este)
- ❖ Parque los Caobos
- ❖ Jardín Botánico
- ❖ El Placer
- ❖ Cercanías del Jardín Topotepuy (Los Guayabitos)

Esta etapa se realizó entre 10/08/12 y 22/11/12, y se encontró que en las primeras dos localidades sólo se encontraba una de las especies propuestas para el estudio. En el Jardín Botánico se hallaban las dos especies, sin embargo, estaban completamente expuestas al tránsito automotor. En las dos últimas localidades se encontraron ambas especies y en las mejores condiciones, El Placer y las cercanías del Jardín Topotepuy, pues su aspecto mostraba que el aire era muy limpio, aunado a ello, la afluencia vehicular era muy poca. En las figuras 5 se muestra el aspecto de los líquenes e indirectamente la calidad del aire local.



Figura 5,6. Fotografías de líquenes tomados en El Placer y en las cercanías del Jardín Topotepuy. (fig. 5 *Pixyne Coccoes*, fig. 6 *Parmotrema Sancti-Angeli*.)

Debido a lo explicado anteriormente, las especies encontradas tanto en El Placer como en las cercanías del Jardín Topotepuy fueron las escogidas para realizar el estudio. Cabe destacar que estas localidades están muy próximas entre sí y que las condiciones atmosféricas no varían significativamente.

5.2.3 Etapa de campo.

La etapa de campo se realizó en El Placer y en las cercanías del Jardín Topotepuy. Se recolectaron 9 ejemplares de la especie *Pyxine Coccoes*. y 2 de la especie *Parmotrema Sancti-Angeli*. en El Placer y una más de la especie *Parmotrema Sancti-Angeli*. en las cercanías del Jardín Topotepuy, en total se recogieron 12 muestras.

Para retirar los líquenes del sustrato se utilizó una espátula metálica, y se colocaron las especies en bolsas de papel, cada una debidamente identificada, para su preservación, tal como se muestra en la fig 7.

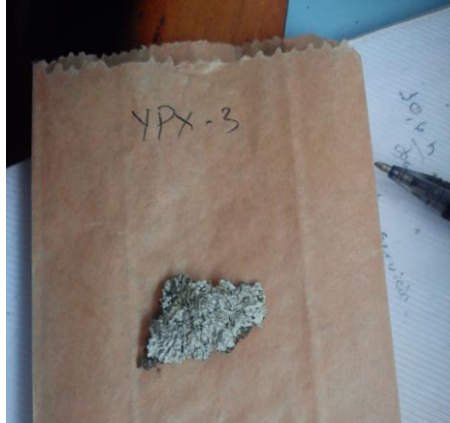


Fig. 7 Preservación de las muestras

Las muestras recolectadas, se trasladaron a la estación del Ministerio del Poder Popular para el Ambiente, ubicada en edificio de Malariología del Ministerio de Sanidad. Entre la Av. principal de El Cementerio y la Av. Roosevelt, donde estuvieron en exposición por 3 meses. Las muestras fueron colocadas en un equipo muestreador de aire que se encontraba fuera de funcionamiento, colocándole dos puntos de silicón en la parte inferior de cada muestra para adherirla al equipo y evitar que se salieran de sitio, como se muestra en la figura 8.



Figura 8. Colocación de las muestras en el sitio de estudio

Este tipo de muestreo en el que las muestras son llevadas de su sitio original a otro donde se va a realizar el estudio se conoce como muestreo activo.

Esta etapa se realizó con la ayuda del profesor Jesús Hernández, biólogo dedicado al estudio de los líquenes en la Fundación Instituto Botánico de Venezuela.

5.2.4 Tratamiento para el estudio de las muestras mediante MEB.

De acuerdo a los resultados observados de las muestras utilizadas para la determinación del método de preparación, se decidió realizar la caracterización de los líquenes sin lavar con agua. Esto siguiendo el siguiente procedimiento:

Se tomó la muestra de líquen y se retiró cuidadosamente del sustrato para evitar que éste fuera analizado, pues no es objeto de estudio en este trabajo. Se colocó un pedazo del líquen sobre el portamuestra utilizando teipe conductor doble cara, para luego observar mediante MEB.

Para este análisis fue utilizado un MEB QUANTA 259 FEG, operando a 20 kV.

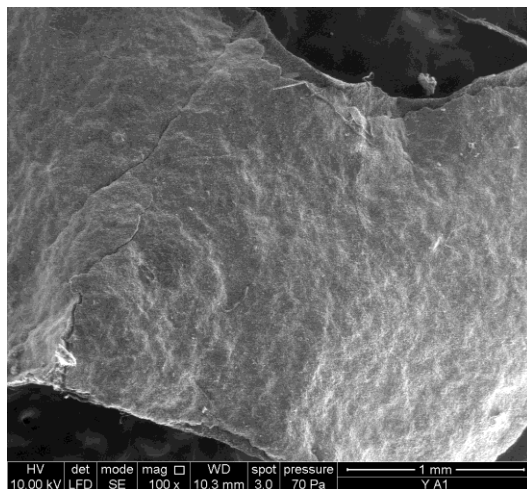
6. Resultados y discusión

Una vez terminada la metodología experimental, se procedió al análisis y discusión de los resultados, que sigue a continuación.

6.1 Tratamiento preliminar de las porciones de las muestras de líquenes.

Para la determinación del método de preparación de las porciones de la muestra, el cual se mencionó en la sección 5.2.1., se realizaron 5 análisis (ver tabla 2), los cuales arrojaron los siguientes resultados:

En la figura 9 se puede apreciar la fotografía de la porción A y su composición correspondiente, se encontró que hay un 91,4% atómico (At) asociado a componentes naturales del material biológico (C, O, N), teniendo entonces un 8,5% At relacionado con partículas no propias del líquen (Al, P, S, Ca). La cantidad de partículas encontradas sobre el líquen fue baja.



<i>Elemento</i>	<i>At %</i>
<i>C</i>	56,9
<i>O</i>	31,8
<i>N</i>	2,7
<i>Al</i>	0,5
<i>P</i>	0,6
<i>S</i>	0,4
<i>Ca</i>	7,0

Figura 9. Fotografía de una zona de la porción A y valores obtenidos del análisis elemental. Lavada, parte anterior.

La figura 10 (a), muestra la presencia de partículas no propias del liquen. La figura 10(b) corresponde a un aumento de la zona indicada en la figura 10(a) y el análisis elemental de tal porción, mostrado en la tabla 3, indicó que se trata de un aluminosilicato.

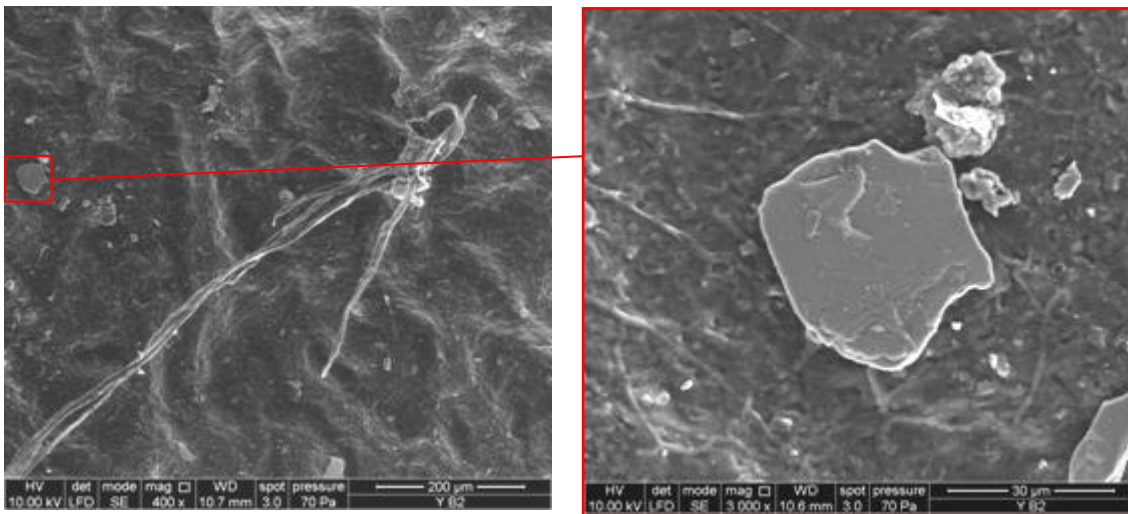


Figura 10. (a) y (b) Fotografías de una zona de la porción B. Lavada, parte posterior

Tabla 3. Valores obtenidos del análisis elemental. Porción B.

<i>Elemento</i>	<i>At %</i>
<i>C</i>	39,6
<i>O</i>	39,7
<i>Na</i>	0,4
<i>Al</i>	9,0
<i>Si</i>	8,9
<i>K</i>	2,3

En la figura 11 (a), se observa la presencia de partículas no asociadas al organismo; así como parte de la morfología propia del liquen, tal es el caso de la figura 11 (b), que su análisis elemental indicó un 93,5% At en componentes biológicos según la tabla 4.

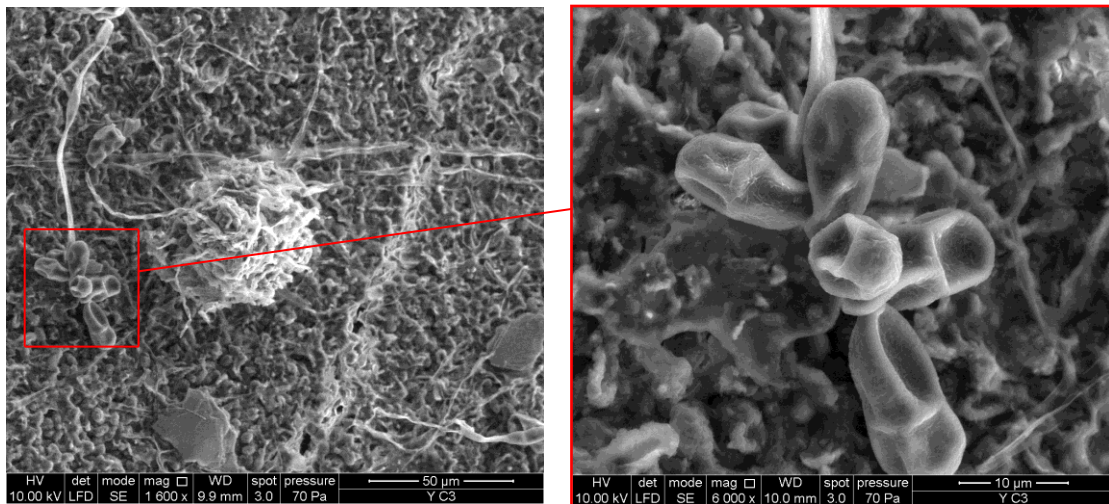


Figura 11. (a) y (b). Fotografías de una zona de la porción C. No lavada, parte anterior.

Tabla 4. Valores obtenidos del análisis elemental. Porción C.

<i>Elemento</i>	<i>At %</i>
<i>C</i>	60,8
<i>N</i>	4,9
<i>O</i>	27,8
<i>Al</i>	1,0
<i>Si</i>	1,2
<i>P</i>	1,0
<i>S</i>	0,7
<i>K</i>	1,6
<i>Ca</i>	0,9

En la figura 12 (a) se puede apreciar una gran cantidad de partículas no asociadas al organismo. La figura 12 (b) corresponde a un aumento de la zona indicada en la figura 12(a), y su análisis elemental indica la presencia de un aluminosilicato, cuya composición se evidencia en la tabla 5.

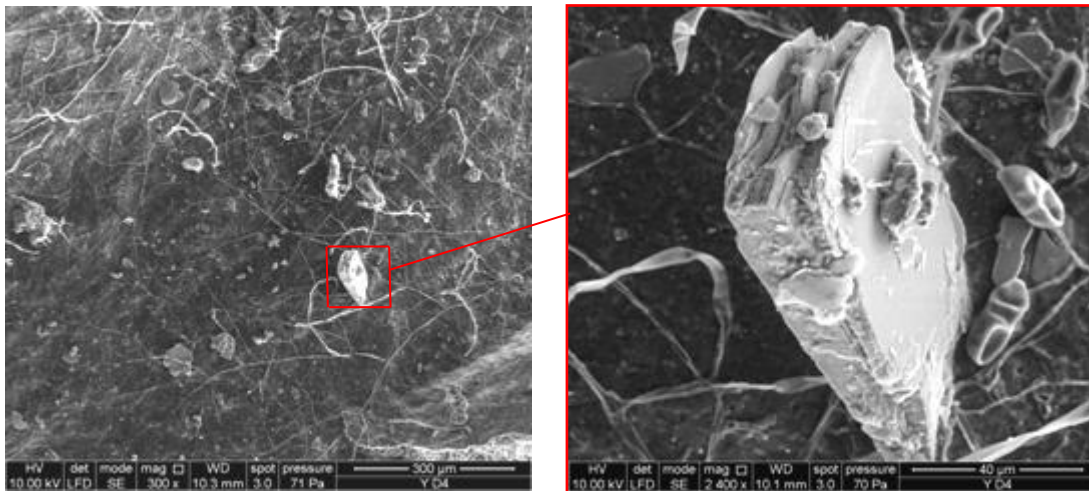


Figura 12. (a) y (b). Fotografías de una zona de la porción D. No lavada, parte posterior.

Tabla 5. Valores obtenidos del análisis elemental. Porción D.

<i>Elemento</i>	<i>At %</i>
<i>C</i>	25,1
<i>O</i>	38,6
<i>Na</i>	0,1
<i>Mg</i>	1,0
<i>Al</i>	11,4
<i>Si</i>	16,2
<i>K</i>	7,5

La figura 13 (a) y (b) muestran la presencia de partículas depositadas sobre el líquen, no propias del organismo. El análisis elemental indicó la presencia de aluminosilicatos, mostrado en la tabla 6.

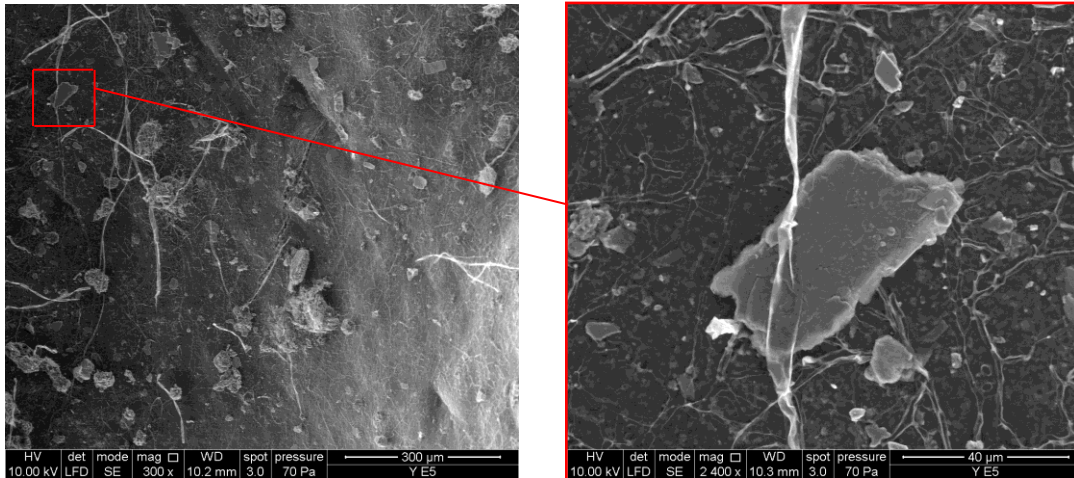


Figura 13. (a) y (b). Fotografías de una zona de la porción E.

Tabla 6. Valores obtenidos del análisis elemental. Porción E.

<i>Elemento</i>	<i>At %</i>
<i>C</i>	36,8
<i>O</i>	38,8
<i>Na</i>	2,6
<i>Al</i>	10,8
<i>Si</i>	10,9

Los valores mostrados en las tablas 3 a la 6, reflejan que el entorno donde se encontraban los líquenes puede considerarse limpio, ya que los valores en porcentaje de los elementos son relativamente bajos, y además el análisis elemental realizado indica que hay poca variedad de compuestos.

Las muestras A y B, muestras lavadas, presentan una disminución importante del número de partículas encontradas en ellas en comparación con las muestras C y D, muestras no lavadas. La tendencia a la disminución de la cantidad de partículas encontradas sobre los líquenes lavados permite concluir que la manera más adecuada para observar una muestra líquénica es sin hacer lavado previo con agua.

Éstos resultados también indican que posiblemente la lluvia tiene el mismo efecto sobre la cantidad de materiales depositados en los líquenes, es decir que influye en la cantidad de partículas contenidas en la superficie de los mismos, por lo tanto la época del año en la que se realice la recolección de muestras (sequía o un periodo lluvioso) debe de tomarse en cuenta al realizar este tipo de estudios. Otros autores reflejan este mismo tipo de idea, por ejemplo Zuloaga (2008) [16] indica “Se puede inferir que la fuente de emisión más importante de partículas inhalables en la ciudad de Caracas durante todo el año es la densidad vehicular y en la época de sequía los incendios en el parque nacional El Ávila”, esta conclusión refleja la importancia climática en la calidad del aire, es decir, la época del año en la cual se colectan las muestras influirá en los resultados obtenidos.

6.2 Caracterización química y morfológica de las partículas depositadas en los biomonitores *Parmotrema sp.* y *Pyxine sp.*

Una vez determinado cual es el tratamiento adecuado de las muestras para la observación de las mismas mediante MEB, se procedió a su caracterización.

6.2.1. Caracterización química.

La caracterización morfológica y química se realizó con los líquenes recolectados en El Placer y en las cercanías del Jardín Topotepuy tal y como se indicó en la sección 5.2.2. De un total de 12 muestras recolectadas se analizaron 7 muestras, de las cuales 3 son de la especie *Parmotrema Sancti-Angeli*. y 4 son *Pyxine Coccoes*. Estas muestras, luego fueron colocadas en la estación del Ministerio del Poder Popular para el Ambiente para su posterior estudio.

En la tabla 7 se muestran los resultados obtenidos para un área de *Parmotrema Sancti-Angeli* la cual será denominada PT1-A; los números indican las zonas analizadas según se indica en la figura 14.

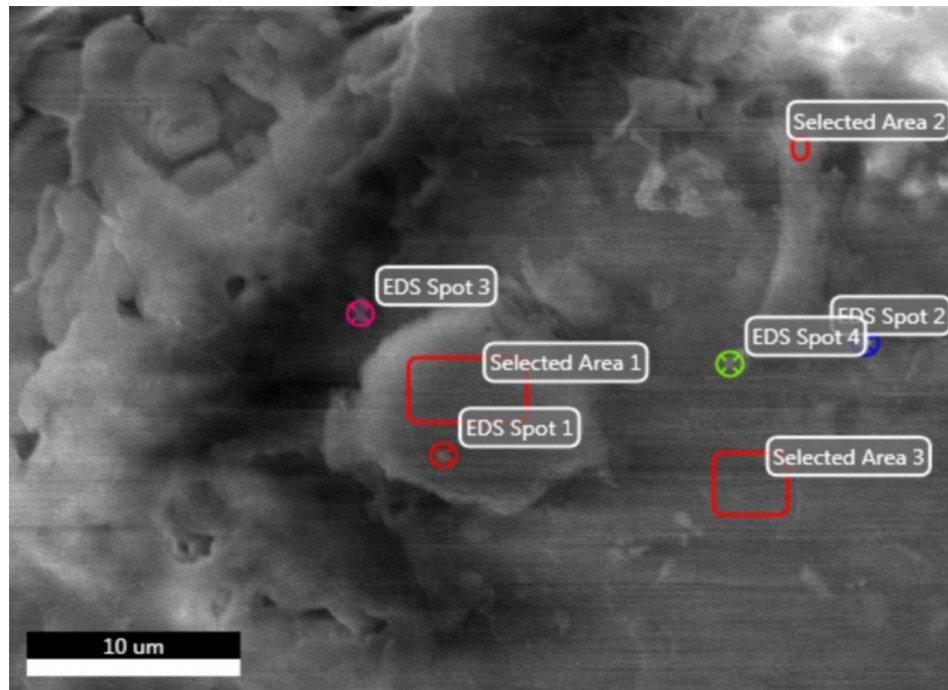


Figura 14. Fotografía de un área de la muestra PT1-A

En las áreas analizadas mostradas en la figura 14, no fue posible encontrar partículas con forma definida.

Tabla 7. Análisis elemental de la muestra PT1-A. (Valores expresados en %Atómico)

Área	O	Si	P	K	Cl	Ca	Al	Na	Mg	As
1	83,9	7,2	6,5	2,4	-	-	-	-	-	-
2	90,9	-	-	2,0	4,6	2,4	-	-	-	-
3	86,9	3,3	-	1,8	2,5	1,4	4,0	-	-	-
4	79,7	1,8	-	-	3,6	-	2,6	7,9	4,4	-
5	82,1	2,9	-	3,4	8,2	3,4	-	-	-	-
6	84,5	2,6	-	2,1	3,0	2,3	3,2	-	-	2,2
7	78,7	5,4	-	2,0	3,2	1,6	4,4	-	4,8	-

En la tabla 8 se muestran los resultados obtenidos para un área de *Parmotrema Sancti-Angeli* la cual será denominada PT1-B; los números indican las zonas analizadas según se indica en la figura 15.

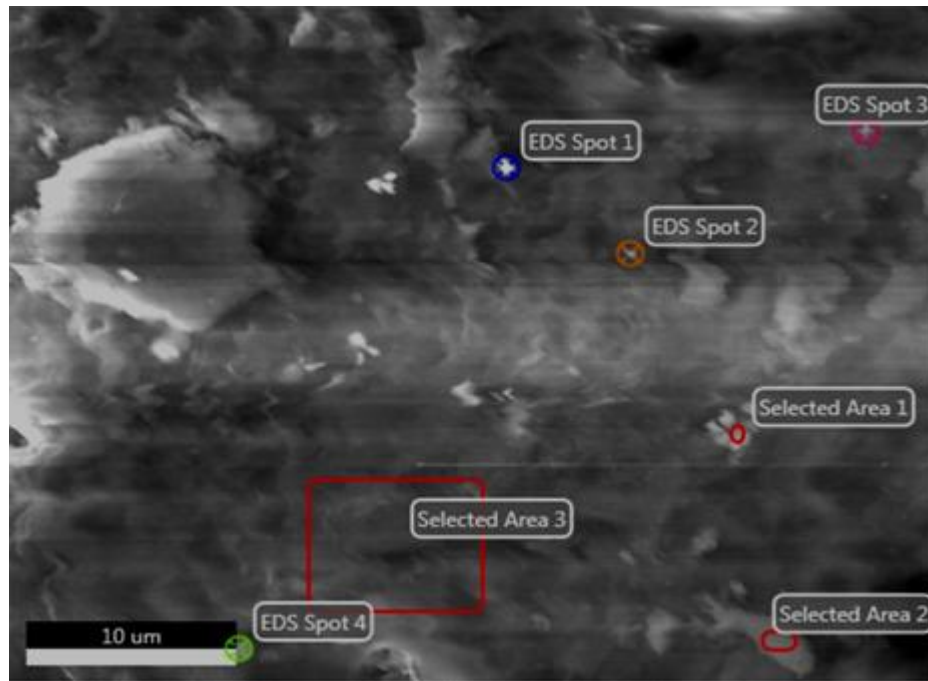


Figura 15. Fotografía de un área de la muestra PT1-B

En las áreas analizadas mostradas en la figura 15, no fue posible encontrar partículas con forma definida.

Tabla 8. Análisis elemental de la muestra PT1-B. (Valores expresados en %Atómico)

Área	O	Si	K	Cl	Ca	Al	Na	Mg	Mo	S	Fe
1	79,8	3,3	1,7	3,6	1,6	2,7	-	3,8	-	1,5	2,0
2	91,8	-	2,2	5,2	-	-	-	-	0,7	-	-
3	90,4	-	1,8	5,8	1,9	-	-	-	-	-	-
4	78,9	6,6	2,3	3,3	-	5,6	-	3,4	-	-	-
5	80,9	-	2,2	6,4	2,1	-	8,4	-	-	-	-
6	81,1	2,8	3,3	9,3	2,8	-	-	-	0,8	-	-
7	75,6	5,7	2,5	4,7	1,9	6,1	-	3,5	-	-	-

En la tabla 9 se muestran los resultados obtenidos para un área de *Parmotrema Sancti-Angeli* la cual será denominada PT1-C; los números indican las zonas analizadas según se indica en la figura 16.

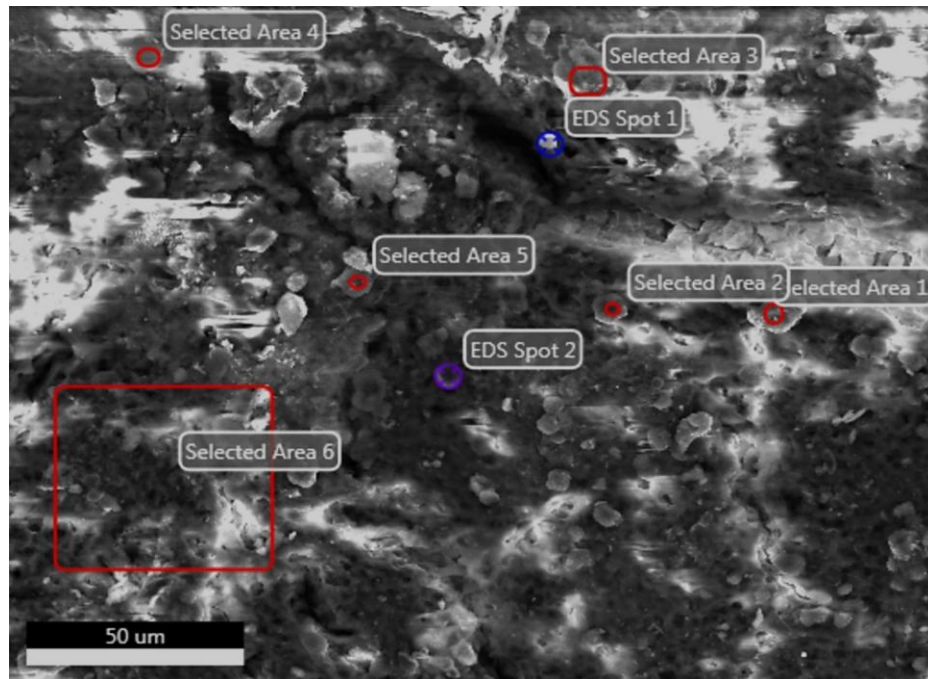


Figura 16. Fotografía de un área de la muestra PT1-C

En las áreas analizadas mostradas en la figura 16, no fue posible encontrar partículas con forma definida.

Tabla 9. Análisis elemental de la muestra PT1-C. (Valores expresados en %Atómico)

Área	O	Si	P	K	Cl	Ca	Al	Mg	Mo
1	84,9	2,6	2,0	1,6	-	1,1	2,9	4,1	0,8
2	91,6	-	-	2,7	5,7	-	-	-	-
3	91,5	1,6	-	2,0	3,0	1,9	-	-	-
4	92,2	4,6	-	-	3,2	-	-	-	-
5	83,0	6,7	-	2,2	3,8	-	4,2	-	-
6	90,5	-	-	-	3,4	6,1	-	-	-
7	82,7	3,1	-	2,7	5,5	2,4	2,9	-	0,8
8	88,0	4,4	-	1,6	2,3	-	3,7	-	-

En la tabla 10 se muestran los resultados obtenidos para un área de *Parmotrema Sancti-Angeli* la cual será denominada PT1-D; los números indican las zonas analizadas según se ve en la figura 17.

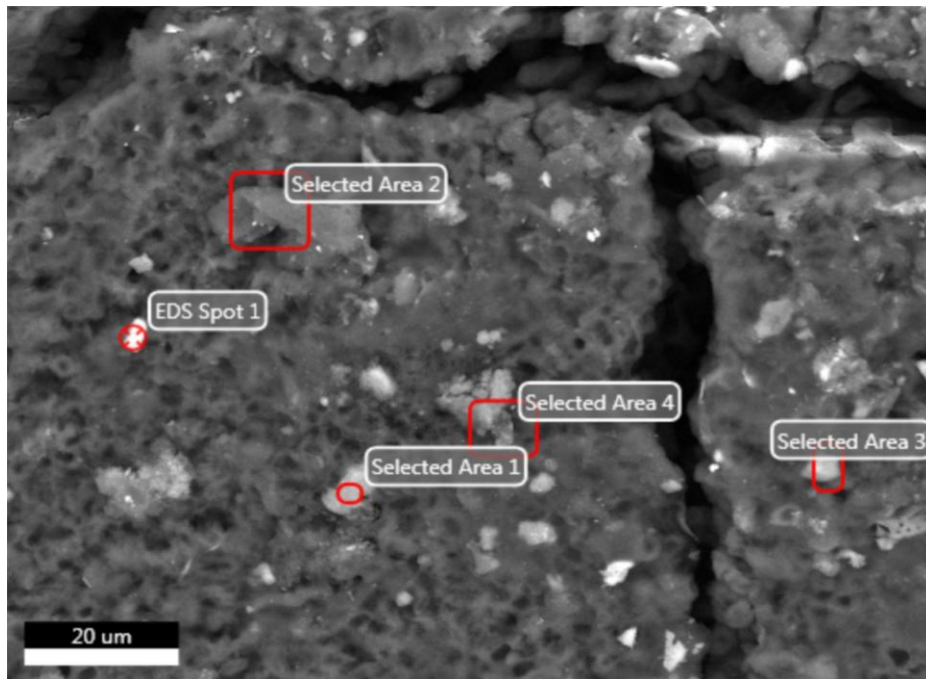


Figura 17. Fotografía de un área de la muestra PT1-D

En las áreas analizadas mostradas en la figura 17, no fue posible encontrar partículas con forma definida.

En la tabla 11 se muestran los resultados obtenidos para un área de *Parmotrema Sancti-Angeli* la cual será denominada PT2-A; los números señalan las zonas analizadas según se indica en la figura 18.

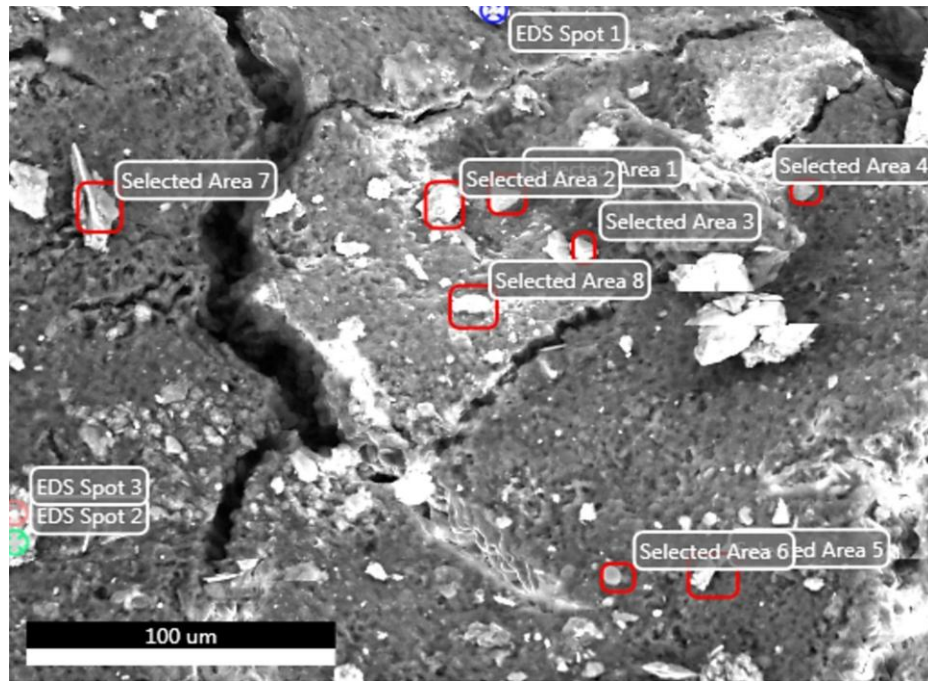


Figura 18. Fotografía de un área de la muestra PT2-A

En las áreas analizadas mostradas en la figura 18, no fue posible encontrar partículas con forma definida.

Tabla 11. Análisis elemental de la muestra PT2-A. (Valores expresados en %Atómico)

Área	O	Si	P	K	Cl	Ca	Al	Na	Mg	Sr	Ru	Br
1	85,3	2,9	-	4,0	2,0	5,9	-	-	-	-	-	-
2	82,0	8,2	-	1,6	-	0,8	4,7	-	2,2	-	0,4	-
3	86,0	-	2,1	2,2	3,0	2,3	-	-	4,5	-	-	-
4	83,3	-	-	6,6	2,7	7,4	-	-	-	-	-	-
5	86,2	2,2	-	1,9	2,5	1,9	-	5,3	-	-	-	-
6	86,0	4,6	-	1,6	1,7	3,2	3,0	-	-	-	-	-
7	93,7	-	-	1,8	2,7	1,8	-	-	-	-	-	-
8	89,2	1,9	0,9	1,2	1,8	1,3	-	-	3,4	0,4	-	-
9	91,6	1,9	-	1,8	3,2	1,6	-	-	-	-	-	-
10	80,2	2,6	1,8	1,6	3,1	2,0	-	5,1	3,7	-	-	-
11	84,9	8,5	-	1,2	1,4	1,0	-	-	2,1	-	-	0,8

En la tabla 12 se muestran los resultados obtenidos para un área de *Parmotrema Sancti-Angeli* la cual será denominada PT2-B; los números indican las zonas analizadas según se indica en la figura 19.

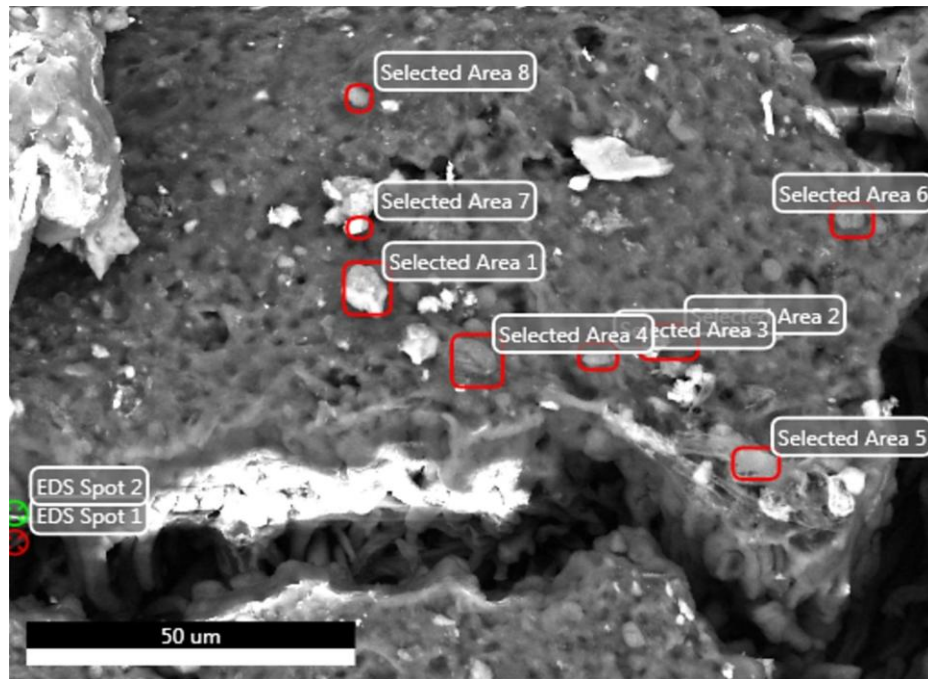


Figura 19. Fotografía de un área de la muestra PT2-B

En las áreas analizadas mostradas en la figura 19, no fue posible encontrar partículas con forma definida.

Tabla 12. Análisis elemental de la muestra PT2-B. (Valores expresados en %Atómico)

Área	O	Si	P	K	Cl	Ca	Al	Na	Mg	S	Mo	Br	Fe
1	79,2	1,9	1,5	1,6	2,9	1,9	2,4	4,8	3,6	-	-	-	-
2	77,1	3,3	1,2	1,7	2,6	1,5	3,7	5,3	3,7	-	-	-	-
3	85,6	1,8	1,7	1,9	3,0	1,3	-	-	4,7	-	-	-	-
4	78,8	1,7	4,5	-	1,4	3,2	-	-	7,9	1,8	-	0,7	-
5	-	-	-	49,0	1,0	49,9	-	-	-	-	-	-	-
6	88,9	-	-	5,4	2,0	3,2	-	-	-	-	0,3	-	-
7	89,0	4,6	-	1,9	1,5	-	2,6	-	-	-	0,5	-	-
8	84,3	1,6	-	1,2	2,7	-	2,3	-	5,7	2,0	-	-	-
9	76,8	2,1	2,8	2,8	4,6	2,0	2,6	-	6,2	-	-	-	-
10	71,8	21,6	-	-	-	-	3,6	2,2	-	-	-	-	0,7

En la tabla 13 se muestran los resultados obtenidos para un área de *Parmotrema Sancti-Angeli* la cual será denominada PT3-A; los números señalan las zonas analizadas según se indica en la figura 20.

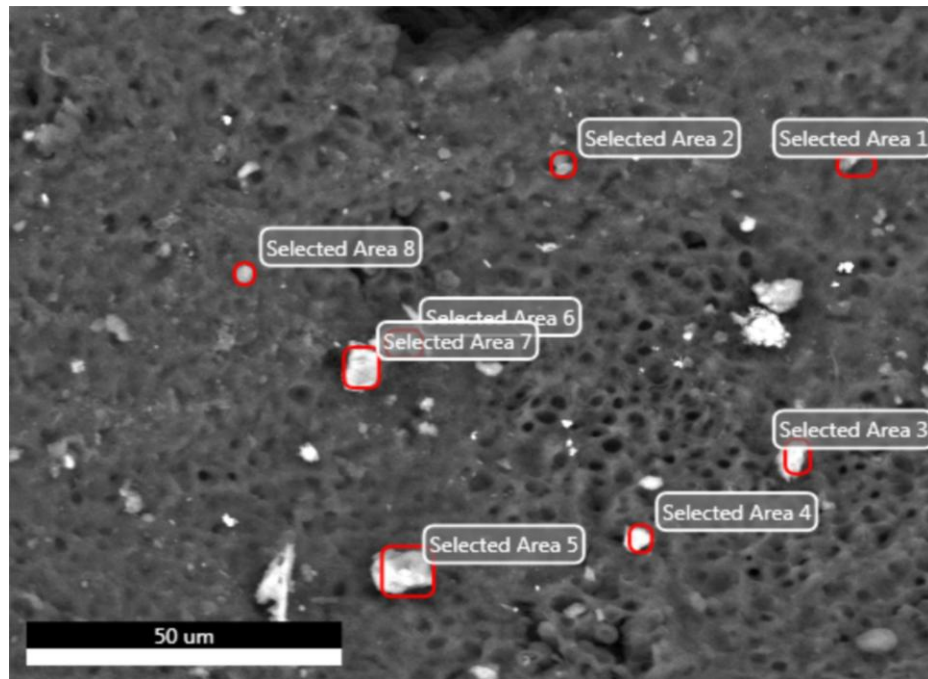


Figura 20. Fotografía de un área de la muestra PT3-A

En las áreas analizadas mostradas en la figura 20, no fue posible encontrar partículas con forma definida.

Tabla 13. Análisis elemental de la muestra PT3-A. (Valores expresados en %Atómico)

Área	O	Si	K	Cl	Ca	Al	Na	Mg	Mo	Br
1	90,0	-	2,0	-	3,5	-	-	4,5	-	-
2	89,3	-	2,3	-	3,8	-	-	4,7	-	-
3	89,0	2,3	1,8	-	2,7	-	-	4,2	-	-
4	89,6	-	1,8	1,2	2,7	-	-	4,1	0,6	-
5	83,9	2,0	1,6	1,2	2,4	-	4,9	2,9	-	1,0
6	94,0	-	2,0	-	4,0	-	-	-	-	-
7	89,4	-	1,7	1,2	2,9	-	-	4,2	0,5	-
8	87,7	-	2,1	-	3,6	2,0	-	3,9	0,8	-

En la tabla 14 se muestran los resultados obtenidos para un área de *Parmotrema Sancti-Angeli* la cual será denominada PT3-B; los números señalan las zonas analizadas según se indica en la figura 21.

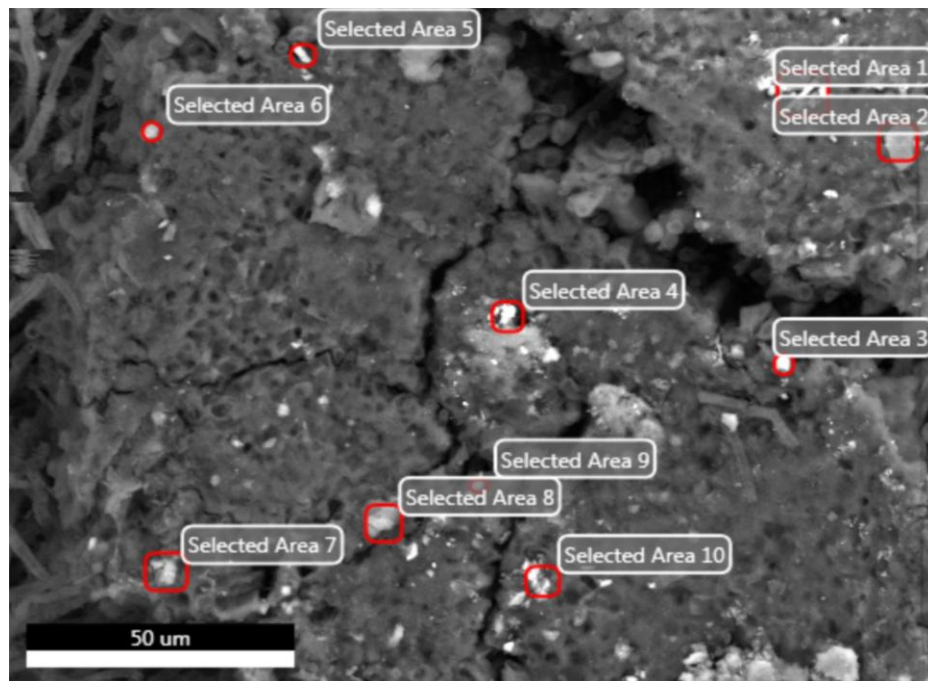


Figura 21. Fotografía de un área de la muestra PT3-B

En las áreas analizadas mostradas en la figura 21, no fue posible encontrar partículas con forma definida.

Tabla 14. Análisis elemental de la muestra PT3-B. (Valores expresados en %Atómico)

Área	O	Si	P	K	Cl	Ca	Al	Na	Mg	Mo	Br	Fe
1	83,6	2,0	-	1,9	1,0	2,7	-	4,4	2,6	0,6	1,1	-
2	82,3	4,4	-	1,6	1,2	3,2	4,7	-	2,6	-	-	-
3	81,3	-	2,8	7,4	-	6,1	-	-	-	2,4	-	-
4	81,8	-	-	6,1	2,7	8,6	-	-	-	0,9	-	-
5	94,2	-	-	3,0	-	2,3	-	-	-	0,5	-	-
6	93,5	-	-	3,4	-	3,2	-	-	-	-	-	-
7	92,7	-	-	3,6	-	3,7	-	-	-	-	-	-
8	93,1	-	-	3,0	-	3,9	-	-	-	-	-	-
9	79,3	6,4	-	2,1	1,3	2,5	5,4	-	1,8	-	-	1,2
10	92,6	-	-	2,6	-	4,7	-	-	-	-	-	-

En la tabla 15 se muestran los resultados obtenidos para un área de *Pyxine Cocos* la cual será denominada PX1-A; los números señalan las zonas analizadas según se indica en la figura 22.

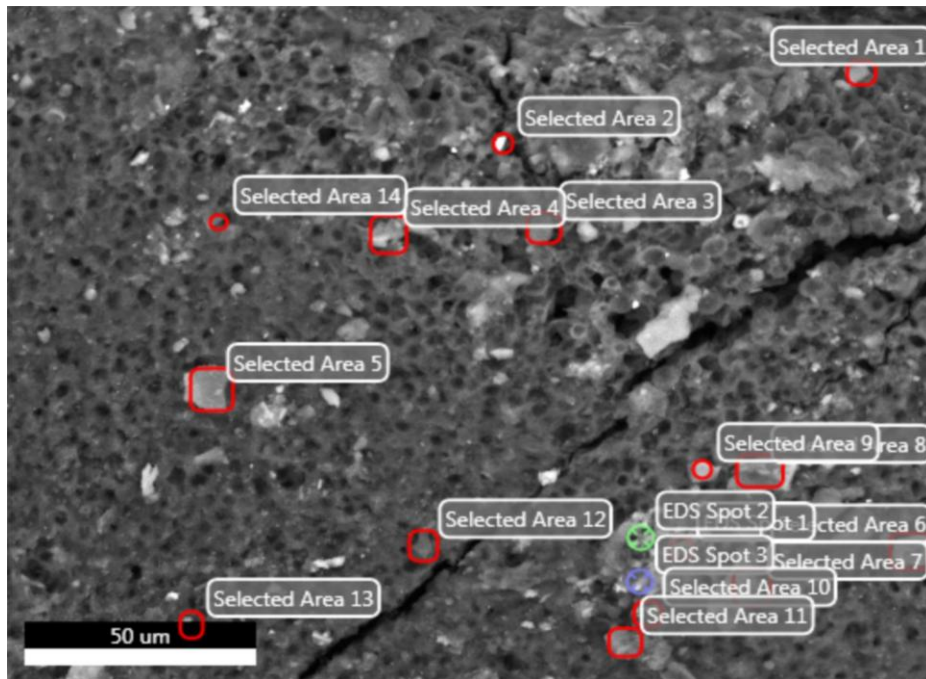


Figura 22. Fotografía de un área de la muestra PX1-A

En las áreas analizadas mostradas en la figura 22, no fue posible encontrar partículas con forma definida.

Tabla 15. Análisis elemental de la muestra PX1-A. (Valores expresados en %Atómico)

Área	O	Si	P	K	Cl	Ca	Al	Mg	Na	Mo	Br	Fe
1	82,0	2,7	1,3	1,3	0,5	1,9	3,2	2,5	3,9	0,6	-	-
2	83,3	6,6	1,6	2,0	-	3,1	2,6	-	-	0,7	-	-
3	79,0	6,4	1,7	4,5	-	4,1	3,7	-	-	0,6	-	-
4	73,0	15,3	-	2,0	-	2,3	-	-	-	-	-	2,9
5	79,6	18,3	-	2,2	-	-	-	-	-	-	-	-
6	70,7	29,3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
7	71,5	14,2	-	-	-	-	12,7	-	-	-	-	1,6
8	85,4	7,4	-	2,9	-	3,7	-	-	-	-	0,7	-
9	87,1	2,7	-	5,1	-	4,5	-	-	-	0,6	-	-
10	68,0	12,8	-	1,1	-	1,1	6,7	1,9	2,6	0,5	-	5,4
11	73,0	13,6	1,3	2,6	-	4,6	5,0	-	-	-	-	-
12	61,2	14,5	2,6	4,8	-	8,6	5,8	-	-	1,8	-	-
13	62,6	22,6	-	2,6	-	-	7,5	-	-	-	-	2,4
14	63,4	17,1	1,0	3,2	-	3,7	5,5	-	-	0,8	-	4,7
15	90,1	1,6	-	3,8	-	4,4	-	-	-	-	-	-
16	95,6	-	-	4,4	-	-	-	-	-	-	-	-
17	76,1	12,6	1,6	2,4	-	2,2	3,6	1,5	-	-	-	-

En la tabla 16 se muestran los resultados obtenidos para un área de *Pyxine Cocos* la cual será denominada PX1-B; los números señalan las zonas analizadas según se indica en la figura 23.

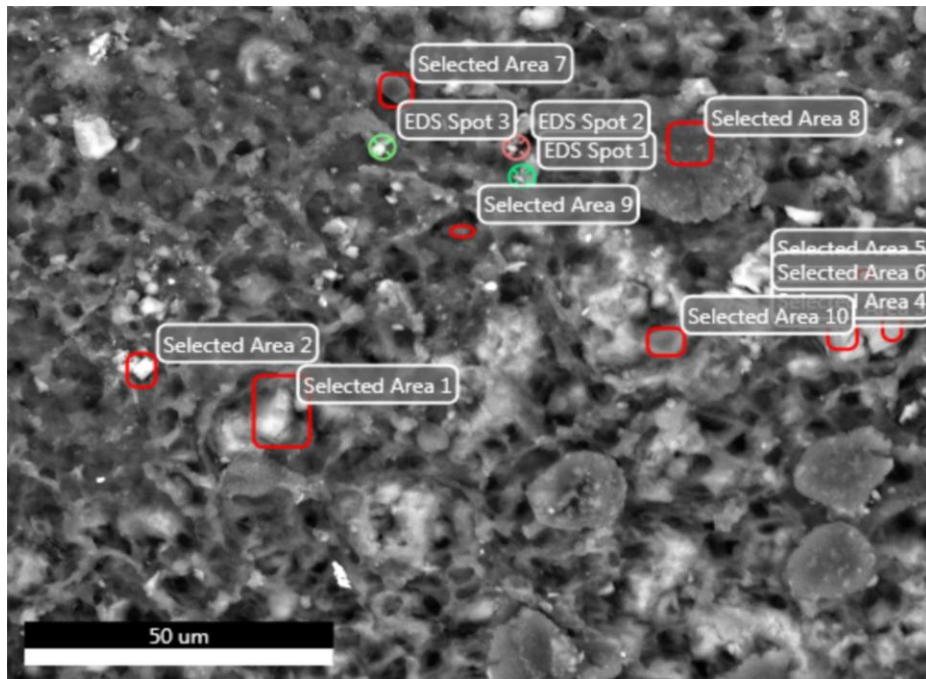


Figura 23. Fotografía de un área de la muestra PX1-B

En las áreas analizadas mostradas en la figura 23, no fue posible encontrar partículas con forma definida.

Tabla 16. Análisis elemental de la muestra PX1-B. (Valores expresados en %Atómico)

Área	O	Si	P	K	Ca	Al	Na	Mo	Br	S
1	81,5	1,2	-	-	17,3	-	-	-	-	-
2	69,6	8,5	-	2,3	7,3	3,3	1,6	-	-	7,5
3	73,3	4,2	0,4	1,1	20,0	-	-	0,2	0,5	-
4	76,7	-	-	-	23,3	-	-	-	-	-
5	90,9	2,6	-	-	6,5	-	-	-	-	-
6	82,2	6,4	-	-	10,6	-	-	0,3	0,6	-
7	91,2	6,3	-	2,5	-	-	-	-	-	-
8	85,1	7,4	-	-	1,8	4,9	-	0,9	-	-
9	90,5	5,3	-	2,0	2,2	-	-	-	-	-
10	88,0	4,1	2,9	2,4	2,6	-	-	-	-	-
11	87,8	4,3	2,6	2,2	2,4	-	-	0,7	-	-
12	87,1	2,8	-	-	10,1	-	-	-	-	-
13	78,1	0,9	-	-	21,0	-	-	-	-	-

En la tabla 17 se muestran los resultados obtenidos para un área de *Pyxine Coccoes* la cual será denominada PX2-A; los números señalan las zonas analizadas según se indica en la figura 24.

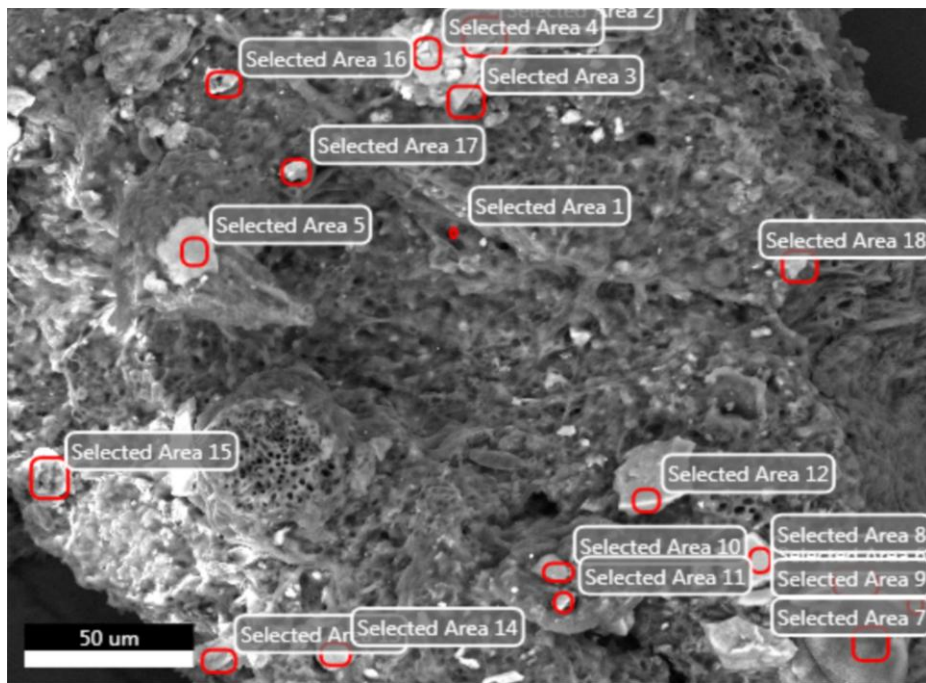


Figura 24. Fotografía de un área de la muestra PX2-A

En las áreas analizadas mostradas en la figura 24, no fue posible encontrar partículas con forma definida.

Tabla 17. Análisis elemental de la muestra PX2-A. (Valores expresados en %Atómico)

Área	O	Si	P	K	Cl	Ca	Al	Mg	Na	Mo	S	Br	Fe
1	73,1	-	-	8,3	0,2	18,2	-	-	-	0,3	-	-	-
2	62,7	17,8	-	2,8	-	-	13,3	-	2,5	-	-	-	1,0
3	66,7	12,7	-	6,2	-	1,5	9,4	-	-	-	-	-	2,9
4	66,7	13,9	-	6,7	-	-	10,1	-	-	-	-	-	2,5
5	77,7	10,2	-	3,4	-	-	8,7	-	-	-	-	-	-
6	60,4	23,0	-	-	-	3,2	1,2	-	2	-	-	-	-
7	68,9	0,1	6,9	-	5,4	11,6	-	-	-	-	7,0	-	-
8	55,8	19,8	-	6,3	-	-	18,0	-	-	-	-	-	-
9	64,1	20,3	-	-	-	2,7	1,3	-	3	-	-	-	-
10	79,9	4,6	1,4	1,3	-	1,3	5,1	2,4	3,9	-	-	-	-
11	79,3	4,3	1,0	1,3	0,6	1,4	4,5	2,6	4,3	0,6	-	-	-
12	71,4	25,5	-	-	-	1,5	-	-	-	-	-	-	1,6
13	96,2	-	-	-	-	3,8	-	-	-	-	-	-	-
14	81,8	6,7	-	1,7	-	2,2	7,6	-	-	-	-	-	-
15	95,4	-	-	1,6	-	3,0	-	-	-	-	-	-	-
16	81,9	4,4	1,2	1,9	0,7	2,4	4,1	2,7	-	0,6	-	-	-
17	91,0	1,6	-	1,5	-	2,1	-	2,4	-	0,6	-	0,8	-
18	92,0	-	-	2,5	-	4,3	-	-	-	-	-	1,2	-

En la tabla 18 se muestran los resultados obtenidos para un área de *Pyxine Coccoes* la cual será denominada PX2-B; los números señalan las zonas analizadas según se indica en la figura 25.

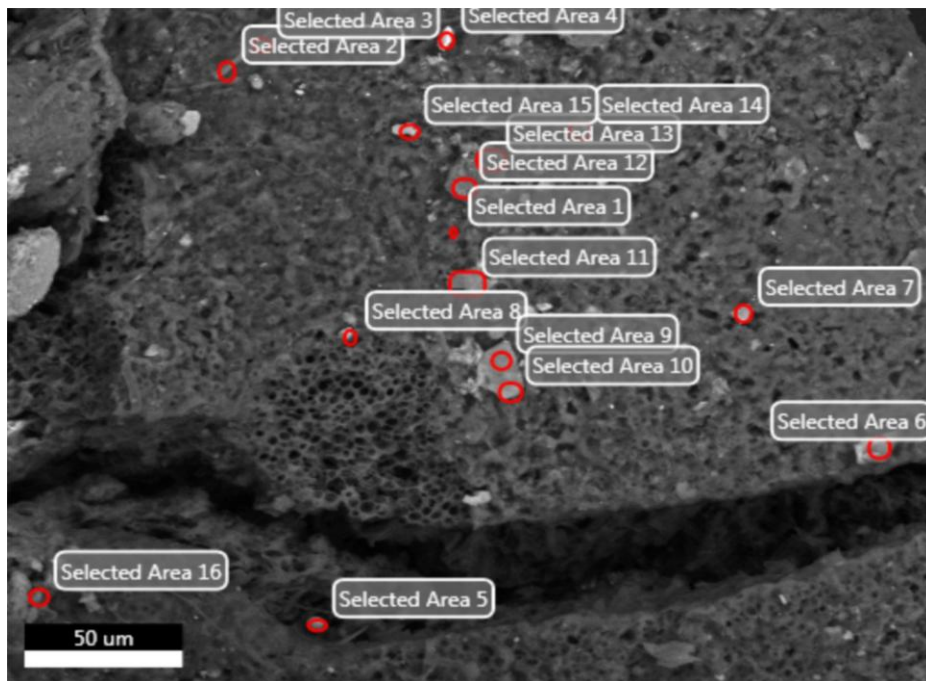


Figura 25. Fotografía de un área de la muestra PX2-B

En las áreas analizadas mostradas en la figura 25, no fue posible encontrar partículas con forma definida.

Tabla 18. Análisis elemental de la muestra PX2-B. (Valores expresados en %Atómico)

Área	O	Si	P	K	Cl	Ca	Al	Na	Mo	Br	Fe
1	93,8	-	-	2,3	-	3,3	-	-	0,6	-	-
2	93,1	-	-	2,6	-	3,5	-	-	0,9	-	-
3	89,4	4,7	-	2,4	-	3,1	-	-	-	-	-
4	80,5	7,9	-	2,0	-	3,4	5,6	-	0,6	-	-
5	87,7	1,9	-	1,7	-	1,9	-	5,1	0,6	1,0	-
6	85,0	3,4	-	3,6	-	6,0	1,2	-	0,8	-	-
7	66,5	2,8	2,6	9,1	2,1	13,5	1,0	-	2,3	-	-
8	93,7	-	-	2,3	-	3,2	-	-	0,7	-	-
9	87,0	5,1	-	1,9	-	2,4	2,9	-	0,8	-	-
10	86,7	2,2	-	2,1	-	2,8	-	5,5	0,8	-	-
11	91,1	2,5	-	2,1	-	2,5	-	-	0,8	1,0	-
12	92,7	-	-	2,9	-	4,4	-	-	-	-	-
13	64,8	16,5	-	3,5	-	3,0	7,9	-	1,9	-	2,4
14	87,0	8,5	-	1,6	-	2,2	-	-	0,6	-	-
15	90,7	2,9	-	2,6	-	3,8	-	-	-	-	-
16	80,8	6,9	-	1,9	-	1,5	4,9	4,0	-	-	-

En la tabla 19 se muestran los resultados obtenidos para un área de *Pyxine Coccoes* la cual será denominada PX3; los números señalan las zonas analizadas según se indica en la figura 26.

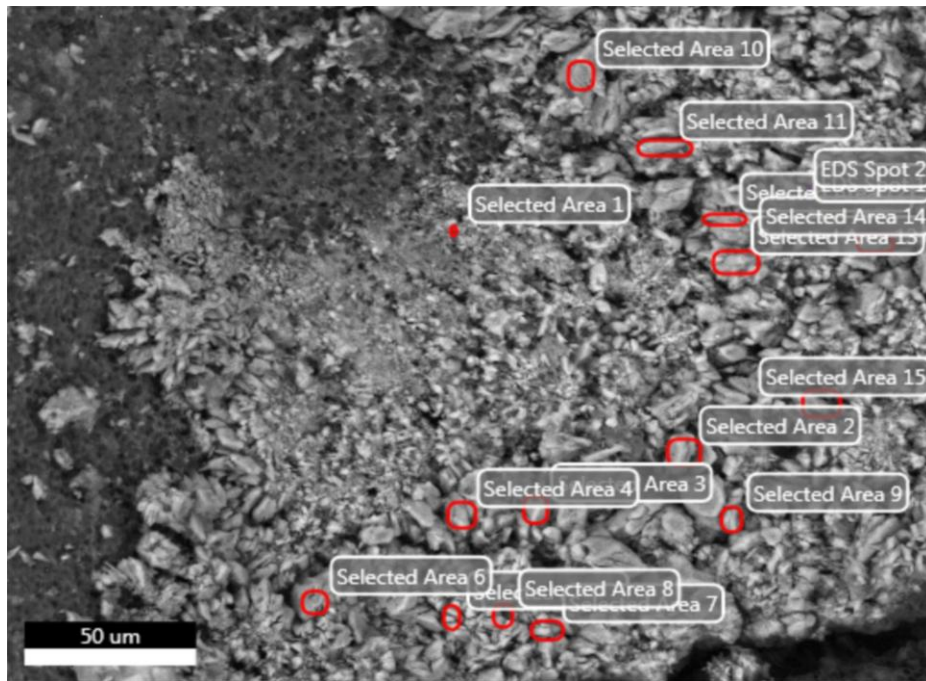


Figura 26. Fotografía de un área de la muestra PX3

En las áreas analizadas mostradas en la figura 26, no fue posible encontrar partículas con forma definida.

Tabla 19. Análisis elemental de la muestra PX3. (Valores expresados en %Atómico)

Área	O	Si	K	Cl	Ca	Al	Mo
1	88,8	-	1,3	-	9,9	-	-
2	82,6	4,2	0,8	-	7,9	4,5	-
3	85,3	-	-	-	14,7	-	-
4	82,0	-	-	-	18,0	-	-
5	54,6	-	-	0,1	45,2	-	0,1
6	85,2	-	-	-	14,8	-	-
7	79,4	-	-	-	20,6	-	-
8	83,1	-	-	-	16,9	-	-
9	81,9	-	-	-	18,1	-	-
10	85,6	-	-	-	14,4	-	-
11	82,8	-	-	-	17,2	-	-
12	83,3	-	-	-	16,7	-	-
13	82,1	-	-	-	17,9	-	-
14	81,7	-	-	-	18,3	-	-
15	84,5	-	-	-	15,5	-	-
16	79,2	1,2	-	-	19,6	-	-
17	79,4	-	-	-	20,6	-	-

En la tabla 20 se muestran los resultados obtenidos para un área de *Pyxine Cooes* la cual será denominada PX4-A; los números señalan las zonas analizadas según se indica en la figura 27.

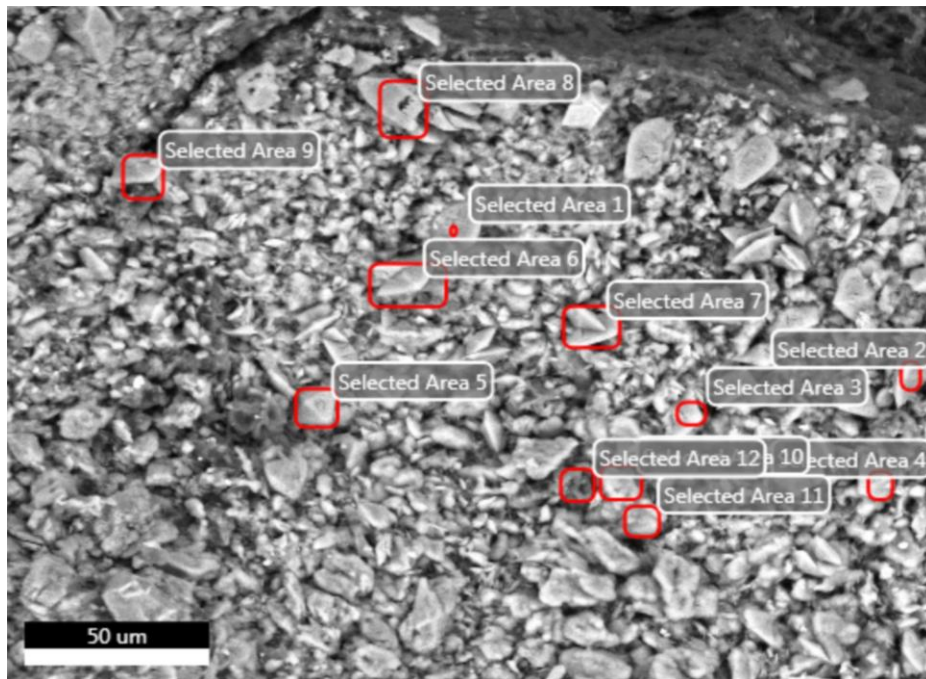


Figura 27. Fotografía de un área de la muestra PX4-A

En las áreas analizadas mostradas en la figura 27, se encontraron morfologías de tipo prisma, como se puede apreciar en el área 6 y en toda la fotografía.

Tabla 20. Análisis elemental de la muestra PX4-A. (Valores expresados en %Atómico)

Área	O	Si	Ca	Al
1	71,5	1,2	26,7	0,6
2	82,2	-	17,8	-
3	77,4	-	22,6	-
4	80,6	-	19,4	-
5	79,5	-	20,5	-
6	75,5	1,6	21,1	1,8
7	77,9	-	22,1	-
8	78,4	-	21,6	-
9	73,0	0,3	26,7	-
10	82,2	-	17,8	-
11	76,8	-	23,2	-
12	79,2	1,2	19,6	-

En la tabla 21 se muestran los resultados obtenidos para un área de *Pyxine Cocos* la cual será denominada PX4-B; los números indican las zonas analizadas según se indica en la figura 28.

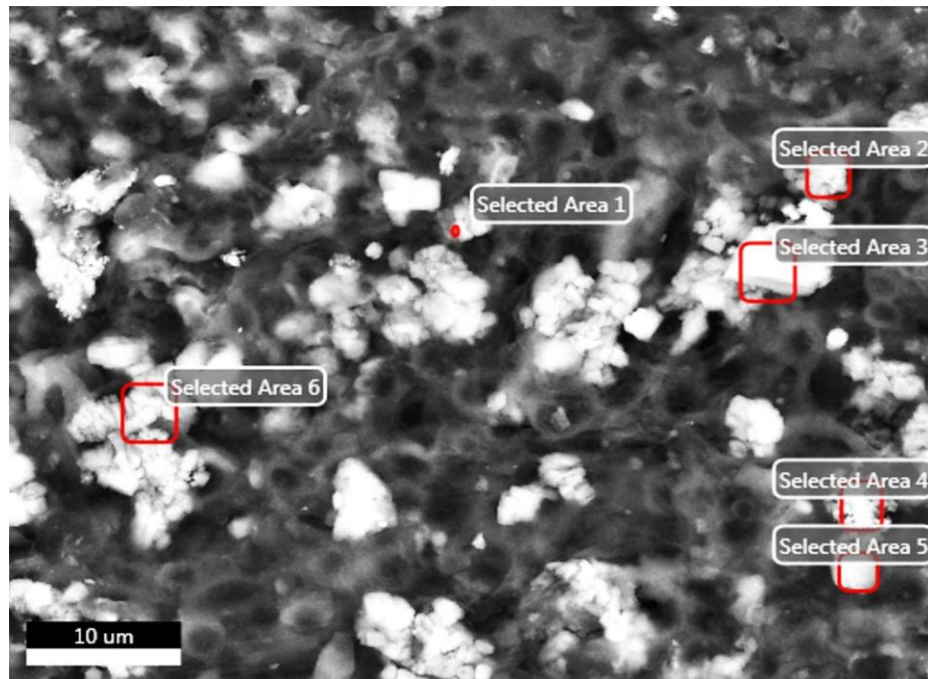


Figura 28. Fotografía de un área de la muestra PX4-B

En las áreas analizadas mostradas en la figura 28, no fue posible encontrar partículas con forma definida.

Tabla 21. Análisis elemental de la muestra PX4-B. (Valores expresados en %Atómico)

Área	O	Si	K	Ca	Mo	Br
1	89,4	-	-	10,6	-	-
2	88,8	-	-	11,2	-	-
3	76,1	-	-	23,9	-	-
4	91,0	3,3	-	5,7	-	-
5	92,4	-	5,4	-	2,2	-
6	85,7	-	-	13,3	0,4	0,5

A continuación, en la tabla 22, se muestra un resumen cualitativo, resultado del análisis elemental realizado en cada una de las muestras:

Tabla 22. Resumen cualitativo del análisis elemental de las muestras

Muestra	O	Si	Ca	Al	K	S	Mo	Br	P	Cl	Mg	Fe	Na	As	Sr	Rh	Ru
PT1	√	√	√	√	√	√	√	X	√	√	√	√	√	√	X	X	X
PT2	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	X	√	X	√
PT3	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	X	X	X	X
PX1	√	√	√	√	√	√	√	√	√	X	X	X	√	X	X	√	X
PX2	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	X	X	X	X
PX3	√	√	√	√	√	X	√	X	X	√	X	X	X	X	X	X	X
PX4	√	√	√	√	X	X	√	√	X	X	X	X	X	X	X	X	X

X: no detectado, √: detectado.

PT: *Parmotrema Sancti-Angeli*, PX: *Pyxine Coccoes*.

La tabla 23 muestra la frecuencia con que se detectaron los elementos, en base a 7 muestras y 165 análisis realizados.

Tabla 23. Frecuencia de elementos detectados en base a muestras y análisis realizados

Elemento	Muestras	Análisis
O	7	164
Si	7	101
Ca	7	143
Al	7	56
K	6	111
S	5	5
Mo	7	45
Br	5	12
P	5	28
Cl	5	57
Mg	4	34
Fe	4	14
Na	5	20
As	1	1
Sr	1	1
Rh	1	1
Ru	1	1

En base a los datos mostrados en las tablas 22 y 23, se puede decir que los elementos As, Sr, Ru y Rh, que fueron detectados sólo en un análisis (0,6%), es decir sólo en 1 análisis en una sola de las muestras. Este resultado no es significativo estadísticamente, por lo que pueden ser descartados.

6.2.2. Posibles fuentes de los elementos encontrados.

Para este análisis sólo se tomarán en cuenta los elementos detectados en la mayoría de las muestras, según se explicó anteriormente.

Los elementos Al, Si, O y Ca están presentes en todas las muestras.

La presencia de Al y Si puede atribuirse a la presencia de aluminosilicatos, que son de origen natural, como por ejemplo, los feldespatos. Ortoclasa (KAlSi_3O_8), albita ($\text{NaAlSi}_3\text{O}_8$) y Anartita ($\text{CaAl}_2\text{Si}_2\text{O}_8$).

El Ca, posiblemente sea de origen antrópico y su fuente puede ser las construcciones de edificios y viviendas aledañas al sitio de estudio.

Los compuestos de azufre (S), son provenientes de una fuente antrópica, como el yeso, que es utilizado como material de construcción en edificios, para el enyesado de paredes, molduras y vaciados de todas clases [14]. Dado que se aplicó un muestreo activo a los líquenes y se trasplantaron a la zona de caracas de El Cementerio, el origen de este elemento pudiera ser también automotor.

Los compuestos de cloro (Cl), son de origen natural y forman sales, siendo el compuesto más común el cloruro de sodio (NaCl) llamado halita. [14]

El molibdeno (Mo), es un metal que se usa como materia prima para obtener aleaciones, entre la que destacan los aceros más resistentes. Alrededor de las dos terceras partes de este metal se usa para ese fin [20]. Cercano al sitio de estudio se encuentran varios talleres de herrería, siendo estos talleres la posible fuente.

El bromo (Br), se utiliza en la preparación de ciertas tinturas y de dibromoetano (bromuro de etileno), un componente antidetonante para la gasolina. Por lo que su origen, posiblemente, sea antrópico y proveniente del tráfico automotor. [21]

Los compuestos comerciales más importantes de fósforo (P), son el ácido fosfórico y sus sales, llamadas fosfatos. La mayoría de los compuestos fosforados se usan como fertilizantes [22]. Por tal motivo, una fuente posible de este elemento sea por el uso de fertilizantes que generalmente usan las personas para mantener las plantas decorativas y las flores, ya que cercano al sitio de estudio se encuentra un cementerio.

El magnesio (Mg), forma compuestos divalentes, entre los cuales se encuentran el carbonato de magnesio ($MgCO_3$), que se usa como material aislante y refractario, el cloruro de magnesio ($MgCl_2 \cdot 6H_2O$), usado para el tratamiento del algodón y los tejidos de lana, en la fabricación de papel y en cementos y cerámicas [23]. Sin embargo, el magnesio compone muchos minerales, por ejemplo dolomita, que por erosión de los suelos o montañas y las corrientes de vientos, pudo depositarse en los líquenes, siendo entonces de origen natural.

El hierro (Fe) en su forma metálica tiene un uso limitado. La mayoría del hierro se usa en formas procesadas como hierro forjado y acero. Con el proceso de oxidación, el hierro puede ser más lábil y depositarse en las muestras.

La mayoría de los elementos analizados en el estudio están relacionados con la construcción de edificios, viviendas, enrejados y cerámicas. Esto permite decir que posiblemente el origen de esos elementos sea fundamentalmente antrópico. Otros elementos como el azufre y el bromo, se relacionan con el tránsito vehicular siendo de igual manera de origen antrópico.

Por otra parte, el Pb no fue detectado en ningún análisis, dato peculiar, puesto que en los trabajos de Quijada (2006), Ramos (2006), Díaz (2008) y Zuloaga (2008), que fueron realizados en la ciudad de Caracas, si fue hallado. Este hallazgo es

importante, por ser el Pb un elemento dañino para la salud de los seres vivos. La no determinación del plomo (Pb), está relacionada directamente con la eliminación de la gasolina con plomo, que era usada como combustible para los vehículos que transitan la ciudad.

6.2.3. Caracterización morfológica.

En las muestras analizadas para este estudio se encontraron algunas pocas morfologías, es decir, muy poca variabilidad en cuanto a morfología definida, que se puede observar en las siguientes figuras:



Figura 30. Morfología irregular

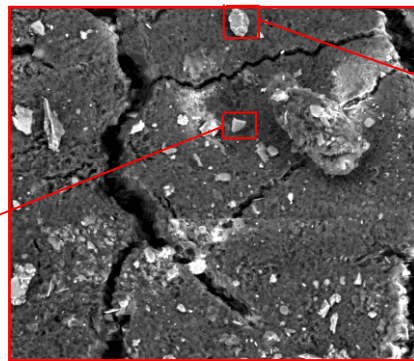


Figura 29. Fotografía de la muestra PT2

100 µm

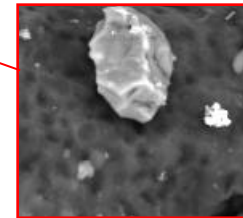


Figura 31. Morfología irregular

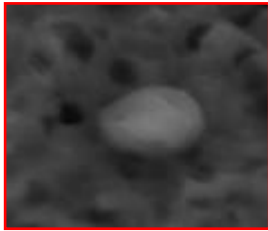


Figura 33. Morfología esférica esponjiforme

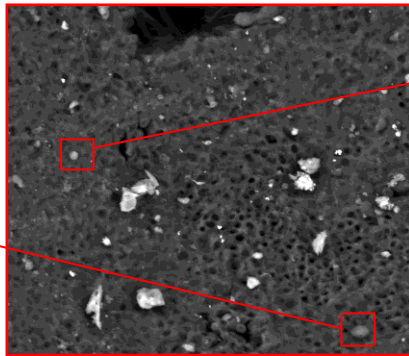


Figura 32. Fotografía de la muestra PT3

— 50 μm

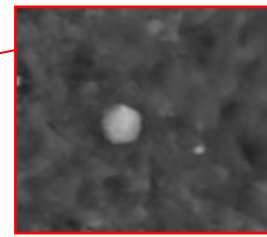


Figura 34. Morfología esférica



Figura 36. Morfología posiblemente biológica

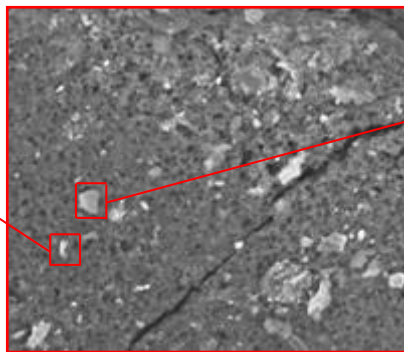


Figura 35. Fotografía de la muestra PX1

— 50 μm

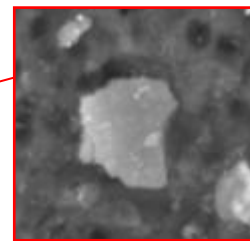


Figura 37. Morfología laminar (Facetada)

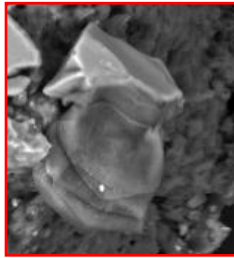


Figura 39. Morfología irregular

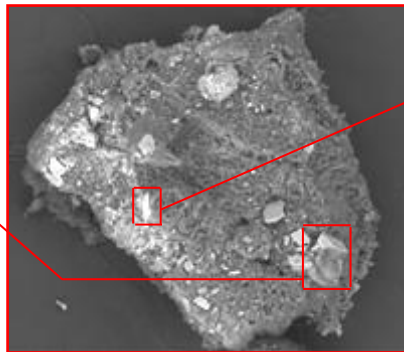


Figura 38. Fotografía de la muestra PX1

— 50 μ m

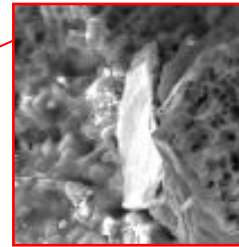


Figura 40. Morfología irregular

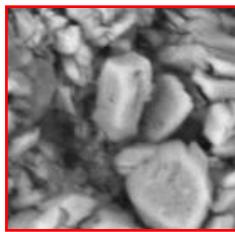


Figura 42. Morfología rectangular

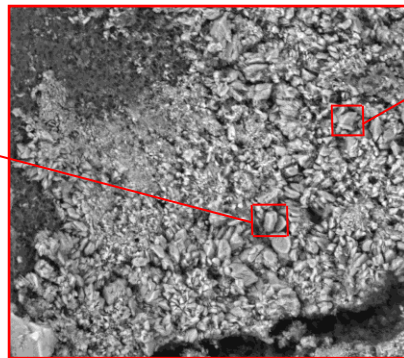


Figura 41. Fotografía de la muestra PX3

— 50 μ m

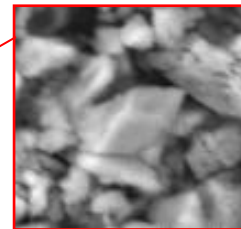


Figura 43. Morfología irregular

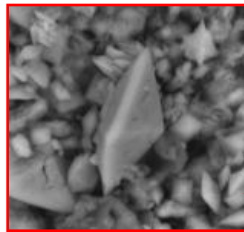


Figura 45. Morfología prismática

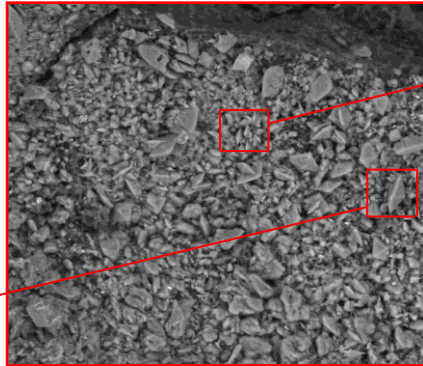


Figura 44. Fotografía de la muestra PX4

— 50 µm

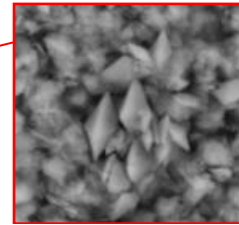


Figura 46. Morfología prismática

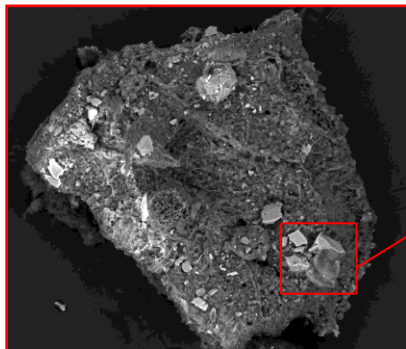


Figura 47. Fotografía de la muestra PX2

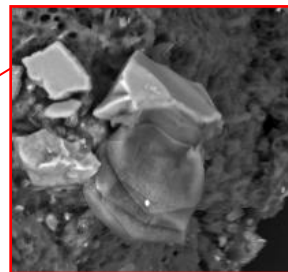


Figura 48. Extracto de la muestra PX2

— 25 µm

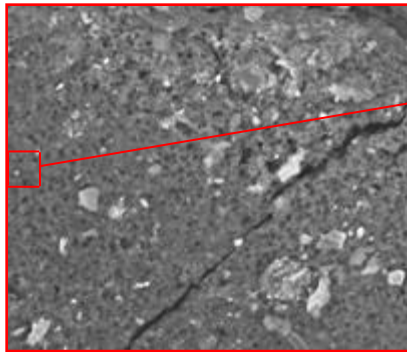


Figura 49. Fotografía de la muestra PX1

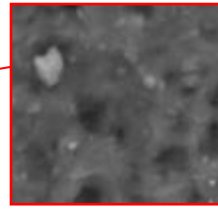


Figura 50. Extracto de la muestra PX1

— 5 μm

Las figuras 26-43, muestran las diferentes morfologías encontradas en las muestras, en las que se pueden observar algunas morfologías y variedad de tamaño de partículas, que va aproximadamente, desde 5 μm hasta 60 μm (ver figuras 44-47).

A continuación se muestra una tabla comparativa entre las diferentes morfologías encontradas en este trabajo y el de Ramos (2006) [24]:

Tabla 24. Morfologías encontradas en esta investigación y por Ramos (2006).

Morfología\Autor	Sancler (2014)	Ramos (2006)
Laminar (hojuelas)	X	√
Laminar	√	√
Agregado de cristales	X	√
Agregado de partículas carbonosas	X	√
Rectangular	√	√
Esférica lisa	√	√
Cubos con caras estriadas	√	√

Morfología\Autor	Sancler (2014)	Ramos (2006)
Prisma hexagonal	X	√
Esféricas espongiiformes	√	√
Aglomerado prismático	X	√
Cubos	X	√
Posiblemente biológico	√	√
Irregular	√	√

√: observado

X: no observado

Al observar la tabla 24, se aprecia claramente que no todas las morfologías observadas en el trabajo de Ramos (2006) fueron observadas en este trabajo, es decir, la variabilidad de partículas fue mayor en el trabajo de Ramos (2006), esto se debe principalmente por dos motivos, la diferencia en cuanto a tiempo y a la zona de estudio, que aunque es en la misma ciudad, implica necesariamente un cambio a nivel de contenido de partículas y morfología, producto de la diferencia temporal en los estudios. Además de esto, se tiene que el análisis realizado por Ramos (2006), fue utilizando filtros de cuarzo y filtros de fibra de vidrio, mientras que en este estudio se utilizaron líquenes. Mostrando de esta manera, la influencia que tienen sobre los resultados parámetros tales como: sitio de estudio y tipo de soporte utilizado.

7. Conclusiones

1. La microscopia electrónica de barrido acoplada con un detector de rayos X, es una herramienta adecuada para el estudio de partículas depositadas en líquenes, permitiendo analizar su morfología y composición elemental.
2. El lavado de los líquenes con agua, disminuye el contenido de partículas depositadas en estos, por lo que para el análisis de partículas en líquenes éstos no deben lavarse.
3. Se detectaron elementos de origen natural, antrópico y mixto, como por ejemplo, K, S y Fe, respectivamente. Se encontraron también Si, Ca, Al, Mo, Br, P, Cl, Mg y Na.
4. La mayor cantidad de las partículas de origen antrópico se atribuyen a la construcción de edificios y viviendas. De igual manera hay un aporte a la contaminación por parte del tránsito vehicular, siendo estas las dos principales fuentes de contaminación.
5. De acuerdo con la observación de las muestras mediante MEB no se encontró variedad en cuanto a morfología. Por lo que no se pudo establecer una relación clara en cuanto a morfología-composición se refiere.
6. El tamaño de partícula encontrado tiene una gran variabilidad, que va desde 5 μm hasta 60 μm .

8. Recomendaciones.

1. No lavar los líquenes al hacer este tipo de estudio, pues de esta manera se disminuye el contenido de partículas.
2. Tomar en cuenta la época en la que se realizará el estudio, pues la condición climática es un factor importante, ya que influye directamente en los resultados que se obtienen; y hacer el estudio un año completo

9. Bibliografía.

- [1] Díaz José. Aplicación de los líquenes Parmotrema sp. y Physcia sp. como biomonitores de contaminación por metales pesados, en algunas localidades de la Ciudad de Caracas. TEG. Caracas, Universidad Central de Venezuela. 2008.
- [2] Raggio Q. J., Vivas R. M., García S. L., Pintado V. A. Publicación: Líquenes en ambientes extremos: la Antártida como puerta al espacio. Sierra Nevada. 2007.
- [3] Berner E. K., Berner R. A. The global water cycle: Geochemistry and Environment. Editorial Prentice Hall. (1st edition). Englewood Cliffs. 1987.
- [4] MARN. Decreto N° 638. Normas sobre calidad del aire y control de la contaminación atmosférica. 1995.
- [5] Díaz Ricardo. Caracterización química y morfológica de partículas totales suspendidas (PTS) en el centro de la ciudad de Mérida. TEG. Mérida Universidad de Los Andes. 2011.
- [6] P. Bosch-Roig, D. Barca, G. M. Crisei, C. Lalli. Publicación. Lichens as bioindicators of atmospheric heavy metal deposition in Valencia, Spain. España. 2013
- [6] Bealey W. J., Long S., Spurgeon D. J., Leith I., Cape J. N. Revista: using science to create a better place: review and implementation study of biomonitoring for assessment of air quality outcomes. Environment Agency. Bristol. 2008.
- [7] Imagen de la estructura interna de los líquenes. [Citado 8-09-2014]
<<http://www.google.co.ve/imgres?q=estructura+interna+de+los+liquenes/>>

[8] Fotografías y dibujos con sus detalles de las principales formas líquénicas.

[Citado 8-09-2014]

<<http://www.scribd.com/doc/12275013/El-Sorprendente-Mundo-de-Los-Liquenes>>

[9] Goldstein Joseph I., Newbury Dale E., Echlin Patrick, Joy David C., Lyman Charles E., Lifshin Eric, Sawyer Linda, Michael Joseph R. Scanning electron microscopy and X-Ray microanalysis (3rd edition). Kluwer Academic/Plenum publishers. New York. 2003.

[10] Purvis O., Williamson B., Bartok K., Zoltani N. Bioaccumulation of lead by the lichen *Acarospora smaragdula* from smelter emissions. New Phytologist; international journal of plant science. Volume 147. 2000. Issue 3

[11] Vingiani S., Adamo P., Giordano S. Sulphur, nitrogen and carbon content of sphagnum capillifolium and pseudovernia furfuracea exposed in bags in the Naples urban area. Publicación en Nápoles, Italia. 2003.

[12] Williamson M., Purvis O., Udachin V. SEM-EDX analysis in the source apportionment of particulate matter on *Hypogymnia physodeslichen* transplants around the Cu smelter and former mining town of Karabash. Science of the Total Environ, volume 322. 2004.

[13] Quijada Melesio. Líquenes como biomonitores de contaminación por metales pesados (Pb, Cu, Zn, Cd, Ni, V y Cr) en la ciudad de Caracas-Venezuela. TEG. Caracas. Universidad Central de Venezuela. 2006.

[14] Ramos Jully. Caracterización morfológica y química de partículas atmosféricas (PM10) en el Silencio, Caracas, Venezuela. TEG. Caracas. Universidad Central de Venezuela. 2006.

[15] Perelman P., Martinez E., Moreno G., Castro M., Faggi A. El uso de corteza de mora (*morus alba*) como biomonitor para detectar contaminación en la ciudad de Mendoza. Argentina. Artículo: Hologramática. Facultad de Ciencias Sociales. UNLZ. Año IV, número 7, V1 (2007).

[16] Zuloaga Mariangelina. Estudio de los elementos As, Cd, Cr, Hg, y Pb asociados a partículas inhalables PM10 en el valle de Caracas, Venezuela. TEG. Caracas. Universidad Central de Venezuela. 2008.

[17] Hurtado Wilbert. Evaluación de la calidad del aire en los alrededores de la población minera de tiara empleando líquenes como biomonitores de metales. TEG. Caracas. Universidad Central de Venezuela. 2010.

[18] Rosato Vilma M. Observaciones con microscopia electrónica de barrido ambiental (MEBA) de rocas metamórficas de Tandil y Balcarce colonizadas por líquenes. Publicación en 1ª reunión Materiales Tecnológicos en Argentina. 2010.

[19] Usos del molibdeno [Citado 08-09-2014]

<http://www.molymet.cl/es/productos/20-usos-del-molibdeno.html>

[20] Usos del bromo [Citado 08-09-2014]

<http://herramientas.educa.madrid.org/tabla/6usos/br6.html>

[21] Usos del fósforo [Citado 08-09-2014]

<http://herramientas.educa.madrid.org/tabla/6usos/p6.html>

[22] Usos del magnesio [Citado 08-09-2014]

<http://herramientas.educa.madrid.org/tabla/6usos/mg6.html>

[23] Ramos J., Fernández R., Urbina de Navarro C., Barrios C., De Abrisqueta A., Conde M., Díaz F., Guajardo N., Morfología y composición química de partículas atmosféricas en una zona urbana de Venezuela. Acta microscópica Vol 16 No 1-2.2007.