ESTUDIO DE LA INFLUENCIA DEL TRÁFICO VEHICULAR EN LAS CONCENTRACIONES DE HIDROCARBUROS AROMÁTICOS POLICÍCLICOS (PAHs) BIOACUMULADOS EN LÍQUENES DE LA FAMILIA PARMELIACEAE Y SU POTENCIAL DE EQUIVALENCIA TÓXICO, EN DOS SECTORES DE LA CIUDAD DE POPAYÁN.

Universidad del Cauca

LINA MARÍA ORTEGA FERNÁNDEZ.

DIANA MARCELA URIBE ANTE.

UNIVERSIDAD DEL CAUCA

FACULTAD DE INGENIERÍA CIVIL

PROGRAMA DE INGENIERÍA AMBIENTAL

POPAYÁN

2019

ESTUDIO DE LA INFLUENCIA DEL TRÁFICO VEHICULAR EN LAS CONCENTRACIONES DE HIDROCARBUROS AROMÁTICOS POLICÍCLICOS (PAHs) BIOACUMULADOS EN LÍQUENES DE LA FAMILIA PARMELIACEAE Y SU POTENCIAL DE EQUIVALENCIA TÓXICO, EN DOS SECTORES DE LA CIUDAD DE POPAYÁN.

Universidad del Cauca

Lina María Ortega Fernández.

Diana Marcela Uribe Ante.

Docente:

PhD. Nazly Efredis Sánchez Peña

UNIVERSIDAD DEL CAUCA

FACULTAD DE INGENIERÍA CIVIL

PROGRAMA DE INGENIERÍA AMBIENTAL

POPAYÁN

2019

TABLA DE CONTENIDO

GLOSARIO 8
INTRODUCCIÓN 10
1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA. 11
2. JUSTIFICACIÓN 12
3. OBJETIVOS. 13
3.1. Objetivo general. 13
3.2. Objetivos específicos. 13
4. MARCO DE REFERENCIA. 14
4.1. Marco teórico. 14
4.1.1. Hidrocarburos aromáticos policíclicos (PAHs). 14
4.1.2. Líquenes. 15
4.1.3. Reacción de combustión. 16
4.1.4. Límite de cuantificación (LOQ). 17
4.1.5. Límite de detección (LOD). 17
4.2. Estado del arte. 18
5. METODOLOGÍA. 23
5.1. Volumen de tráfico vehicular. 23
5.2 Determinación de la concentración de PAHs en líquenes de la familia Parmeliaceae. 23
5.2.1. Recolección e identificación de los líquenes pertenecientes a la familia Parmeliaceae. 24
5.2.2 Pretratamiento de las muestras. 27
5.2.3 Análisis de PAHs bioacumulados en líquenes de la familia Parmeliaceae. 29
5.3. Cálculo del Potencial de Equivalencia Tóxico (PET). 36
6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN. 38
6.1. Volumen de tráfico vehicular. 38
6.2. Concentración de PAHs bioacumulados en el líquenes de la familia Parmeliaceae. 40
6.2.1. Recolección e identificación de las muestras. 40
6.2.2 Optimización del método analítico. 43
6.2.3 Concentraciones de PAHs bioacumulados en líquenes de la familia Parmeliaceae en los dos sectores de estudio. 45

6.2.4. Comparación entre las concentraciones de PAHs encontradas en las zonas de estudio y el flujo vehicular. 50
6.2.5 Relación entre las concentraciones de PAHs bioacumulados en líquenes de la familia Parmeliaceae y las fuentes de emisión. 52
6.3. Potencial de Equivalencia Tóxico (PET). 55
7. CONCLUSIONES. 57
8. TRABAJOS FUTUROS. 58
RECONOCIMIENTO AL PRESENTE PROYECTO DE INVESTIGACIÓN. 59
BIBLIOGRAFÍA 60
ANEXOS. 68

TABLA DE TABLAS

Tabla 1.Lista de los 16 PAHs y sus propiedades físicas. (Modificado de Doel et al, 2005). 14
Tabla 2.Determinación taxonómica de las muestras de líquenes. Fuente: Soto, 2018. 24
Tabla 3.PAHs prioritarios con el patrón interno correspondiente. 29
Tabla 4. Iones de cuantificación y tiempos retención (TR) para los 16 PAHs. 35
Tabla 5.Valores del Factor de Equivalencia Tóxico (TEF de los 16 PAHs prioritarios. Nisbet & Lagoy (1992). 37
Tabla 6.Conteo vehicular en la vía panamericana. 38
Tabla 7.Conteo vehicular en la vía Popayán-San José de Isnos. 38
Tabla 8. Límite de cuantificación (LOQ), límite de detección (LOD), fase linear, intercepto, inclinación y coeficiente de correlación (R^2) de los 16 PAHs y del patrón subrogado. 43
Tabla 9. Porcentaje de recuperación (%REC), desviación estándar (SD) y porcentaje de desviación estándar relativa (%RSD). 44
Tabla 10. Promedios de concentraciones (media), máximo (max), mínimo (min), desviación estándar (SD) y el porcentaje de muestras en las que se detectó cada PAHs (% Muestra) en la vía panamericana. 46
Tabla 11.Promedios de concentraciones (Media), máximo (max), mínimo (min), desviación estándar (SD) y el porcentaje de muestras en las que se detectó cada PAHs (% Muestra) en la vía Popayán- San José de Isnos. 48
Tabla 12.Relaciones entre PAHs y las fuentes de emisión según diferentes autores. 52
Tabla 13.Valores de las relaciones entre PAHs y las fuentes de emisión en cada zona de estudio, vía panamericana (P) y Vía Popayán-San José de Isnos (VH). 53
Tabla 14.Suma de concentraciones PAHs por número de anillos (∑P y ∑VH) y porcentaje de anillos aromáticos (%P y %VH) en la vía panamericana (P) y Vía Popayán-San José de Isnos (VH). 54
Tabla 15.Potencial de equivalencia tóxico (PET) en la vía Panamericana (P) y Vía Popayán-San José de Isnos (VH). 55

TABLA DE FIGURAS

Figura 1.Liquen perteneciente a la familia Parmeliaceae. 16
Figura 2.Producción científica en revistas de alto impacto sobre el uso de biomonitores para determinar PAHs. 18
Figura 3.Etapas para la determinación de PAHs bioacumulados en el liquen. 23
Figura 4. Ubicación de las zonas de estudio en la ciudad de Popayán, departamento del Cauca (Colombia). (Tomado de ArcGis Online, 2019). 25
Figura 5.Infograma del pretratamiento de las muestras. 28
Figura 6.Tubo cónico con muestra centrifugada de liquen, patrón subrogado y solvente. 31
Figura 7.Extracto antes de concentrar y concentrado a 0,5 mL. 31
Figura 8.Infograma del proceso de extracción. 32
Figura 9. Columna cromatografica de adsorción, empacada. 33
Figura 10.Muestra antes y después de la evaporación. 34
Figura 11.Emisiones contaminantes por parte de automotor en la vía panamericana. 40
Figura 12.Emisiones contaminantes por parte de vehículo en la vía Popayán-San José de Isnos. 40
Figura 13.Sección 1 vía panamericana. 41
Figura 14.Sección 2 vía Panamericana. 41
Figura 15.Sección 2 vía Popayán- San José de Isnos 42
Figura 16.Sección 1 vía Popayán- San José de Isnos. 42
Figura 17. Porcentajes de PAHs en la vía panamericana. 47
Figura 18.Porcentajes de PAHs en la vía Popayán- San José de Isnos. 49
Figura 19.Comparación de las concentraciones entre la vía panamericana y Popayán- San José de Isnos. 50
Figura 20. Registro fotográfico de la emisión de partículas por quema en la vía Popayán-San José de Isnos. 51

TABLA DE ECUACIONES

Ec 1.Ecuación de LOQ 17
Ec 2.Ecuación de LOD 18
Ec 3.Cálculo de muestra de poblaciones finitas. 26
Ec 4.Ecuación del porcentaje de recuperación. 36
Ec 5.Ecuación del PET 36

TABLA DE ANEXOS

Anexo 1. Evidencias fotográficas del desarrollo de la investigación. 68
Anexo 2.Clasificación taxonómica. 70
Anexo 3.Distancias horizontales de cada sector de estudio. 73
Anexo 4. Formatos diligenciados de muestreo en campo. 75
Anexo 5. Optimización del método analítico. 81
Anexo 6.Resultados del conteo vehicular en el formato modificado de la ANI. 88
Anexo 7.Valores de concentraciones (ng/g) en los dos sectores de estudio..... 92
Anexo 8.Valores de concentraciones (ng/g) en líquenes enriquecidos y sin enriquecer..... 94
Anexo 9.Producto entre TEF y el valor de las concentraciones PAHs promedio. 95
Anexo 10. Certificados de participación en el evento CASAP 97

GLOSARIO

- Absorción: Paso de sustancias a través de la membrana celular, o tejidos especializados, del medio externo al medio interno (intracelular o extracelular) de un organismo vivo.
- Adsorción: Proceso por el cual los átomos, iones o moléculas de un gas o líquido son atrapadas o retenidas en una superficie. (RAI)
- Antropogénica: Procesos o materiales que son el resultado de actividades humanas a diferencia de los que tienen causas naturales sin influencia humana. (RAI)
- Bioacumulación: Proceso que se desarrolla en los seres vivos y que implica que estos organismos acumulen sustancias químicas hasta alcanzar una concentración más alta que las existentes en el medio ambiente. (Pérez & Gardey, 2016).
- Bioindicadores: Son organismos que responden a cierto nivel de contaminación por un cambio en su ciclo de vida o la acumulación de un contaminante en particular. (Domeño et al, 2006).
- Biomonitoreo: Es el uso de organismos para evaluar la contaminación ambiental, como el aire o el agua circundantes. Se puede hacer cualitativamente observando y notando los cambios en los organismos, o cuantitativamente midiendo la acumulación de productos químicos en los tejidos de los organismos.
- Carcinogénico: Es un agente físico, químico o biológico potencialmente capaz de producir cáncer al exponerse a tejidos vivos. (DRAE)
- Cromatografía: Técnica de separación de los componentes de una mezcla (fase móvil), mediante la cual los componentes de la misma se adsorben y distribuyen selectivamente sobre una fase estacionaria (sólido o líquido soportado en un sólido). (RAI)
- Eluyente: Disolvente utilizado en técnicas de cromatografía para extraer un componente que se quiere separar de otra fase. (RAI)
- Espectrometría de masas: Técnica que proporciona información de las estructuras químicas de una molécula o compuesto que en el proceso de ionización produce una familia de partículas positivas que se distribuyen según la masa de una manera característica de la especie que le dio origen. (RAI)
- Hifas: Red de filamentos que constituyen la estructura de los hongos pluricelulares. (Pérez, 2018).
- Liofilización: Proceso en el que se congela el producto y posteriormente se introduce en una cámara de vacío para realizar la eliminación del agua por sublimación. De esta

manera se elimina el agua desde el estado sólido al gaseoso del ambiente sin pasar por el estado líquido. Para acelerar el proceso se utilizan ciclos de congelación-sublimación con los que se consigue eliminar prácticamente la totalidad del agua libre contenida en el producto original, pero preservando la estructura molecular de la sustancia liofilizada. (RAI)

- Liquen epifito: Son aquellos que colonizan los troncos y ramas de los árboles y arbustos. (Calatayud et al, 2000).
- Mutagénico: Una sustancia o agente físico que causa mutaciones, es decir, que altera de forma permanente el ADN de las células. (GreenFacts)
- Teratogénico: Sustancia, agente físico u organismo que da como resultado defectos estructurales en el feto. (Lilley & Aucker, 2000)
- Ubicuo: Que está presente en todas partes al mismo tiempo. (DRAE)

INTRODUCCIÓN

Los hidrocarburos aromáticos policíclicos (PAHs) son un grupo de compuestos orgánicos que comprenden dos o más anillos aromáticos fusionados de origen petrogénico (derrames de petróleo) o pirogénico producto de la combustión incompleta a alta temperatura de procesos naturales (volcanes, incendios forestales, entre otros) o de procesos antropogénicos (incineración de residuos sólidos, generación de energía, calefacción doméstica, emisiones de vehículos y actividades industriales). Estos poseen propiedades carcinogénicas, mutagénicas, teratogénicas y toxicológicas que representan un riesgo elevado para la salud de los seres humanos (Kim et al, 2013); (Blasco et al, 2006). Con base en estas propiedades, la Agencia de Protección Ambiental de Estados Unidos (EPA) seleccionó un grupo de 16 PAHs como contaminantes prioritarios para monitoreo ambiental, conformado por: Naftaleno, acenaftileno, acenafteno, fluoreno, antraceno, fenantreno, Indeno[1,2,3-cd]pireno, criseno, pireno, benzo(a)pireno, fluoranteno, benzo(b)fluoranteno, benzo(k)fluoranteno, benzo(a)antraceno, dibenzo(a, h)antraceno, y benzo(g, h, i)perileno (USEPA, 1993).

Debido a la estructura molecular relativamente estable de los PAHs, estos tienden a persistir en el ambiente por largos períodos de tiempo; además, tienen características de ubicuidad por lo que suelen ser encontrados en diferentes esferas ambientales y pueden ser bioacumulados en organismos como los líquenes (Augusto et al. 2015).

Comunidades de líquenes de la familia Parmeliaceae han sido empleados como bioindicadores y/o biomonitores de contaminantes orgánicos como los PAHs para evaluar la concentración de estos compuestos en el aire, siendo las emisiones del tráfico por carretera la principal fuente (Malaspina et al, 2018; Guidotti et al, 2003; Nascimbene et al, 2014; Loppi et al, 2015; Studabaker et al, 2017; Puy et al, 2016).

En este contexto, el presente trabajo muestra un estudio llevado a cabo en la ciudad de Popayán (Colombia), teniendo en cuenta el tráfico vehicular que se desplaza por dos sectores de la ciudad (Vía panamericana y Vía Popayán - San José de Isnos), con el objetivo de estudiar su influencia en las concentraciones de PAHs bioacumulados en líquenes de la familia Parmeliaceae y su potencial de equivalencia tóxico. Con esto se abre un campo de investigación en Colombia en cuanto al biomonitoreo de PAHs, empleando líquenes representativos de las regiones de estudio.

1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.

La presencia de los PAHs en el aire es una preocupación creciente debido a sus efectos nocivos para la salud; teniendo en cuenta que una de las principales fuentes antropogénicas de estos contaminantes está relacionada con el flujo vehicular, Morales & Arias (2013) plantean que la contaminación asociada al tráfico por carretera producida por las emisiones de combustión deben ser estudiadas en las áreas urbanas de Colombia. Una de las metodologías utilizadas como alternativa de muestreo para el estudio de PAHs en zonas urbanas y rurales, es el uso de biomonitores y/o bioacumuladores que brinden información de los diferentes contaminantes presentes en el aire; para ello, los líquenes han sido empleados como biomonitores por su capacidad de acumulación de PAHs, debido a que estos absorben los contaminantes directamente del aire (Zhou et al, 2018)*;* además, el uso de estos organismos representa un bajo costo en el muestreo y son conocidos como buenos indicadores del estado de la calidad del aire (Loppi et al, 2015; Nascimbene et al, 2014; Studabaker et al, 2017; Guidotti et al, 2003; Blasco et al, 2006).

El vacío de información sobre la presencia de PAHs en la atmósfera y su potencial de equivalencia tóxico en áreas de la ciudad de Popayán, donde la instalación eléctrica es de difícil acceso y la inseguridad son inconvenientes para el uso de muestreadores de aire, es adecuado emplear los líquenes representativos de las zonas de estudio como una buena alternativa de muestreo; en consecuencia, este estudio se desarrolló con muestras de líquenes de la familia Parmeliaceae con el fin de identificar y determinar la concentración de PAHs bioacumulados en dos áreas de la ciudad (Vía panamericana y Popayán - San José de Isnos), teniendo en cuenta el volumen de tráfico vehicular en estos sectores. En este sentido, el presente proyecto dio respuesta a la pregunta de investigación: ¿Cuál es la influencia del tráfico vehicular en las concentraciones de PAHs bioacumulados en líquenes de la familia Parmeliaceae y el potencial de equivalencia tóxico en estos dos sectores de la ciudad de Popayán?

2. JUSTIFICACIÓN

Los PAHs son un grupo de compuestos orgánicos semivolátiles (COSV), que pueden ser producidos por la combustión incompleta de sustancias orgánicas, como los combustibles fósiles y biomasa (Mastral & Callen, 2000), tienen la capacidad de transportarse a largas distancias y depositarse hasta en los entornos más remotos de la tierra (Zhou, 2018), por lo que suponen un riesgo para la salud humana debido a las propiedades carcinogénicas y mutagénicas que poseen, como se mencionó con anterioridad. En general, el incremento de la toxicidad se relaciona con un aumento en el número de anillos aromáticos de su estructura molecular (Niu et al, 2019; Van der Wat & Forbes, 2015).

Los líquenes son bioacumuladores útiles para el monitoreo de COSV del aire, en particular los PAHs, debido a su capacidad para indicar la presencia de estos contaminantes en la atmósfera. La naturaleza lipófila de la superficie de los líquenes atrae fácilmente compuestos a fin, como los PAHs y facilita su captación, donde su incorporación en las células sería controlada metabólicamente (Van der Wat & Forbes, 2015). Diferentes estudios evaluaron el impacto de las emisiones del tráfico vehicular sobre la disposición de PAHs en la atmósfera y demostraron que los líquenes son eficientes bioacumuladores de PAHs tanto en la fase de vapor como en la fase sólida (Malaspina et al, 2018; Guidotti et al, 2003; Nascimbene et al, 2014; Loppi et al, 2015; Studabaker et al, 2017; Puy et al, 2016).

Las investigaciones mencionadas anteriormente fueron el soporte para desarrollar este estudio en dos sectores de la ciudad de Popayán, teniendo en cuenta la influencia del tráfico vehicular sobre la presencia de PAHs bioacumulados en líquenes de la familia Parmeliaceae. Debido a que no hay reportes de PAHs empleando líquenes como biomonitores en la ciudad de Popayán, surge la necesidad de desarrollar esta investigación para así brindar un diagnóstico preliminar de las concentraciones de estos contaminantes atmosféricos en las dos áreas de la ciudad y un aproximado del nivel de contaminación al que estarían expuestas las personas que transitan estas zonas. Este estudio representa un aporte para futuras investigaciones y un soporte para el monitoreo y control de la calidad de aire en la ciudad.

3. OBJETIVOS.

3.1. Objetivo general.

Estudiar la influencia del tráfico vehicular sobre las concentraciones de hidrocarburos aromáticos policíclicos (PAHs) bioacumuladas en líquenes de la familia Parmeliaceae y su potencial de equivalencia tóxico, en dos sectores de la ciudad de Popayán.

3.2. Objetivos específicos.

- Determinar el volumen de tráfico vehicular en los dos sectores de estudio (Vía panamericana y Popayán - San José de Isnos).
- Establecer las concentraciones de PAHs bioacumuladas en líquenes de la familia Parmeliaceae.
- Analizar el potencial de equivalencia tóxico (PET) de los PAHs asociados a líquenes de la familia Parmeliaceae para las dos zonas de investigación.

4. MARCO DE REFERENCIA.

4.1. Marco teórico.

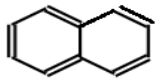
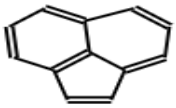
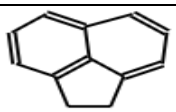
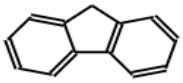
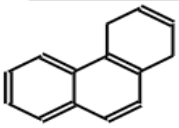
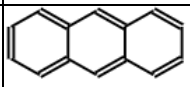
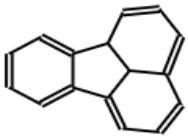
A continuación se presentan los fundamentos teóricos importantes en el desarrollo del presente trabajo.

4.1.1. Hidrocarburos aromáticos policíclicos (PAHs).

Los PAHs están presentes en el aire en forma gaseosa o particulada. Esta distribución en el ambiente depende de la volatilidad de los mismos. Las moléculas de PAHs altamente condensadas con cuatro o más anillos tienden a estar ligadas a partículas, mientras que los PAHs más pequeños permanecen principalmente en la fase gaseosa. (Blasco et al, 2006)

A continuación, se presenta una lista de los 16 PAHs establecidos por la EPA como prioritarios y sus propiedades físicas (Tabla 1).

*Tabla 1.*Lista de los 16 PAHs y sus propiedades físicas. (Modificado de Doel et al, 2005).

PAH	Formula estructural	Número de anillos	Formula química	Peso molecular	Punto de ebullición °C
Naftaleno [NAP]*		2	$C_{10}H_8$	128	218
Acenaftileno [ACY]		3	$C_{12}H_8$	152	265-275
Acenafteno [ACE]		3	$C_{12}H_{10}$	154	277
Fluoreno [FLU]		3	$C_{13}H_{10}$	166	295
Fenantreno [PHE]		3	$C_{14}H_{10}$	178	339
Antraceno [ANT]		3	$C_{14}H_{10}$	178	340
Fluoranteno [FLA)		4	$C_{16}H_{10}$	202	375

PAH	Formula estructural	Número de anillos	Formula química	Peso molecular	Punto de ebullición °C
Pireno [PYR]		4	$C_{16}H_{10}$	202	360
Benzo(a)Antraceno [B(A)A]		4	$C_{18}H_{12}$	228	435
Criseno [CRI]		4	$C_{18}H_{12}$	228	448
Benzo(b) Fluoranteno [B(B)F]		5	$C_{20}H_{12}$	252	481
Benzo(k) Fluoranteno [B(K)F]		5	$C_{20}H_{12}$	252	481
Benzo(a)Pireno [B(A)P]		5	$C_{20}H_{12}$	252	495
Indeno(1,2,3-cd)pireno [IND]		6	$C_{22}H_{12}$	276	536
Dibenzo(a,h)antraceno [D(AH)A]		5	$C_{22}H_{14}$	278	524
Benzo(g,h,i)Perileno [B(GHI)P]		6	$C_{22}H_{12}$	276	525

*Nomenclatura usada en el presente trabajo para cada PAH.

4.1.2. Líquenes.

Los líquenes son organismos complejos cuyos cuerpos vegetativos (talos) son el resultado de asociaciones simbióticas entre al menos un hongo heterótrofo (micobionte) y un socio fotosintético (fotobionte), el cual sintetiza los azúcares necesarios para el metabolismo,

liberando oxígeno en el proceso. Los fotobiontes pueden ser cianobacterias de color verde azulado procariotas y/o algas verdes unicelulares eucariotas; los micobiontes más comunes son hongos ascomicetos (Barrero & Pérez, 2003).

Los líquenes se encuentran entre los organismos más sensibles de la tierra, respondiendo como alerta temprana al estrés que presenta el medio ambiente, el cual puede ser producido por la contaminación del aire (Niemi & McDonald, 2004). A diferencia de las plantas, estos organismos no tienen raíces, dependiendo totalmente de la atmósfera para su nutrición, por lo tanto junto con los nutrientes terminan acumulando contaminantes atmosféricos que pueden causar su propia muerte y afectar la biodiversidad de los líquenes (Augusto et al, 2015). Estos organismos tienen la capacidad de captar PAHs, que se acumulan y permanecen en la capa de algas fotosintéticas de los líquenes y no dentro de las hifas del hongo o adheridas a la superficie del liquen. (Augusto et al, 2015).

Diferentes estudios han utilizado y demostrado que líquenes de la familia Parmeliaceae son adecuados biomonitores de la calidad del aire (Guidotti et al, 2003; Blasco et al, 2011; Nascimbene et al, 2014; Gomez et al., 2013). La figura 1 muestra un liquen perteneciente a esta familia.

*Figura 1.*Liquen perteneciente a la familia Parmeliaceae.

4.1.3. Reacción de combustión.

La combustión es una oxidación rápida que transcurre a temperaturas altas, transformando los alcanos en dióxido de carbono y agua. En este tipo de reacción se necesita poco control, excepto para moderar la temperatura y controlar la relación combustible/aire con el objetivo de conseguir una combustión eficiente. (Wade et al, 2004). A continuación se presenta la reacción global que se lleva a cabo en un proceso de combustión.

$$C_nH_{(2n+n)} + \text{exceso } O_2 \xrightarrow{\text{Calor}} nCO_2 + (n+1)H_2O$$

La combustión incompleta se debe generalmente a una mezcla deficiente de aire y combustible, tiempo de residencia insuficiente y temperatura insuficiente (Caillat et al, 2013). A partir de la gasolina y otros combustibles de los motores de explosión, se liberan cantidades significativas de compuestos orgánicos volátiles (COV) a la atmósfera. Los COV están formados por alcanos de cadena corta, alquenos, compuestos aromáticos y otros hidrocarburos, estos son contribuyentes importantes a la contaminación del aire y originan enfermedades cardíacas y respiratorias (Wade et al, 2004).

La volatilidad de la gasolina, es crucial para su uso en los motores de combustión interna, ya que el sistema de inyección lanza sólo una pequeña cantidad de gasolina en la válvula de admisión de aire según éste va entrando. Si la gasolina no se evapora rápidamente, llegaría al cilindro en forma de gotas, estas no pueden arder tan eficientemente como el vapor, por lo que el motor generaría humo (por combustión incompleta) y tendría un bajo rendimiento de recorrido por litro de gasolina (Wade et al, 2004).

4.1.4. Límite de cuantificación (LOQ).

El límite de cuantificación es la cantidad más pequeña de analito en una muestra que se puede determinar con precisión y exactitud aceptable, bajo las condiciones experimentales establecidas. El cálculo de este se realiza mediante la Ec.1 (RDC Nº 166, 2017).

$$LOQ = 10 * \left(\frac{\sigma}{IC}\right)$$

Ec 1.Ecuación de LOQ

Donde:

LOQ: Límite de cuantificación.

σ: Desviación estándar del intercepto con el eje Y.

IC: Inclinación de la recta de calibración.

4.1.5. Límite de detección (LOD).

El límite de detección es la cantidad más pequeña de un analito que se pueda cuantificar confiablemente por el instrumento, debe demostrarse obteniendo la menor cantidad de analito presente en una muestra que pueda detectarse, pero no necesariamente cuantificarse en las condiciones experimentales establecidas. Para realizar el cálculo del LOD se emplea Ec 2. (RDC Nº 166, 2017).

$$LOD = 3{,}3 * \left(\frac{\sigma}{IC}\right)$$

Ec 2.Ecuación de LOD

Donde:

LOD: Límite de detección.

σ: Desviación estándar del intercepto con el eje Y.

IC: Inclinación de la recta de calibración

4.2. Estado del arte.

Alrededor del 80 % de la producción científica en torno al uso de liquen como biomonitor de PAHs se ha publicado en los últimos 10 años (palabras claves: lichen, PAH or PAHs, 83 documentos). Esta dinámica creciente se observa en la figura 2 que muestra el número de artículos producidos en el transcurso del tiempo desde los años 80**.** (Tomado de: Base de datos de Scopus).

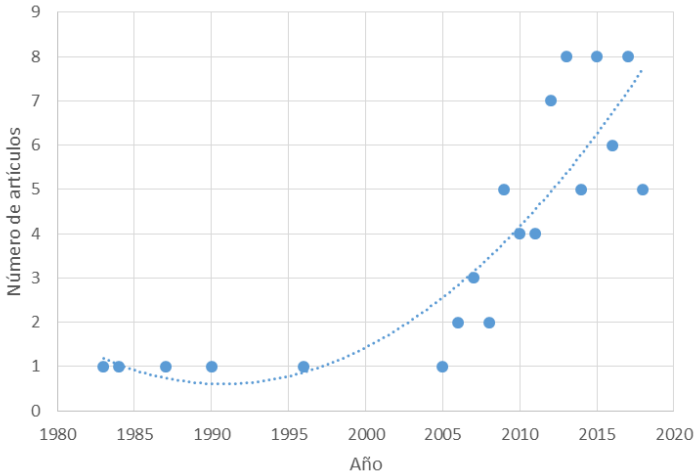


*Figura 2.*Producción científica en revistas de alto impacto sobre el uso de biomonitores para determinar PAHs.

A continuación, se presenta el estado del arte a partir de los artículos más relevantes en el tema de líquenes como biomonitores de PAHs y la influencia del tráfico vehicular sobre la presencia de estos compuestos, en diferentes ciudades alrededor del mundo.

Blasco et al., (2011) desarrollaron una investigación en la cadena montañosa “Los Pirineos”, donde emplearon seis especies diferentes de líquenes epífitos para determinar PAHs. A través de este trabajo se concluyó que los líquenes *E. prunastri y P. sulcata* de la familia

Parmeliaceae se pueden emplear eficientemente para evaluar los PAHs tanto petrogénicos como pirogénicos; además, el tráfico vehicular fue el mayor influyente en la bioacumulación de PAHs, principalmente de aquellos que poseen 4 o más anillos aromáticos, los cuales se forman a partir de procesos de combustión a muy alta temperatura.

La influencia que tiene el tráfico por carretera sobre las concentraciones de PAHs, también se evidenció en la cadena montañosa de Dolomitas (SE Alpes) en Italia, donde se utilizó el liquen epífito *Pseudevernia furfurácea* de la familia Parmeliaceae como biomonitor; de acuerdo a los resultados, tres de los compuestos más abundantes (fluoranteno, benzo [g, h, i] perileno y pireno) conformaron los PAHs característicos de combustión con 4-6 anillos aromáticos; además, determinaron que la toxicidad equivalente es mayor en el sector próximo a la vía, lo que confirma un mayor riesgo para la salud y la biota en un área de influencia cercana a la carretera (Nascimbene et al, 2014).

Los PAHs con más de 4 anillos aromáticos, en especial los de 5 y 6 anillos, fueron también encontrados en mayor concentración en un estudio realizado en la ciudad de Caracas, donde se empleó el liquen *Parmotrema sancti-angelii* (familia Parmeliaceae), los resultados obtenidos se asocian con los procesos de combustión a elevadas temperaturas, los cuales son característicos de las emisiones vehiculares y quema de vegetación (Gomez et al., 2013). Guidotti et al, (2003) encontraron resultados similares, los PAHs de 4 anillos (benzo (a) antraceno y criseno) provienen de la combustión de diésel, por tanto, las concentraciones de estos fueron más altas en sitios que presentan actividad vehicular por camiones de carga pesada.

Los líquenes también fueron analizados para determinar las tendencias de los PAHs en diferentes zonas, en las estribaciones de los Himalayas Indio, las zonas industriales se caracterizaron por tener concentraciones más altas de PAHs de 2, 5 y 6 anillos aromáticos, mientras que las áreas urbanas fueron dominadas por 4 anillos aromáticos, predominando el fluoranteno y acenaftileno; las relaciones moleculares de PAHs indican que la combustión fue la fuente de origen dominante de dichos contaminantes en el área industrial, mientras que los sitios urbanos mostraron un origen mixto de PAHs, tanto pirogénico como petrogénico (Shukla et al., 2012). Un estudio realizado en Italia con el liquen *Pseudevernia furfurácea* reafirma que los líquenes acumulan los PAHs en el aire de manera proporcional a la densidad del tráfico, siendo Fluoranteno y Pireno (4 anillos) los PAHs de mayor concentración (Guidotti et al, 2009). Augusto et al. (2009) también dan a conocer que los PAHs de 4 anillos se presentan principalmente en zonas urbanas y muestran una clara distinción entre el tipo de fuente de PAHs en una misma área: en el bosque se encuentra una mayor proporción de PAHs de 3 anillos aromáticos, la zona industrial por 5-6 y por 2 anillos aromáticos (petrogénico y pirógeno, respectivamente).

Los líquenes de la familia Parmeliaceae no son los únicos que han sido estudiados como bioacumuladores de PAHs, la familia Physciaceae también ha sido utilizada como biomonitor de la calidad del aire entre otras investigaciones como la desarrollada por Shukla

& Upreti (2009) donde estudiaron la distribución y el origen de los PAHs en el liquen *Phaeophyscia hispidula* (familia Physciaceae), en 9 cruces de caminos diferentes de Dehradun en la India. Los resultados demuestran que la concentración total de los 16 PAHs varió entre 3.38 a 25.01 μg/g, predominando fenantreno, pireno y acenaftileno (3-4 anillos), esto indicó que el tráfico vehicular es la principal fuente de contaminación de PAHs en la ciudad. En un estudio desarrollado por Shukla et al. (2009), en la región de Garhwal en la India, emplearon el mismo liquen; como resultado, las concentraciones de los PAHs oscilaban entre 0,683 ppm y 33,72 ppm; las mayores concentraciones fueron de fenantreno (3 anillos), naftaleno (2 anillos) y acenaftileno (3 anillos) aromáticos, las principales fuentes de PAHs eran la actividad vehicular y la combustión de madera, es decir, de origen pirogénico. Otra especie, *Sophodes Rinodina (Ach.)* Massal de esta misma familia, fue analizada como bioacumulador de PAHs en las zonas tropicales de la India, obteniendo concentraciones significativamente más altas de acenaftileno y fenantreno (3 anillos) indicando que el tráfico por carretera fue la principal fuente de contaminación de PAHs en la ciudad, también se concluyó que la concentración de benzo (a) antraceno y criseno (4 anillos) son más altos en los sitios que tiene influencia del tráfico pesado por camiones. (Satya et al, 2012).

En el Himalaya, Shukla et al (2013), desarrollaron una investigación con el liquen *Dermatocarpon vellereum* alrededor del valle de Rudraprayag en la India, a través de este estudio se determinó que la bioacumulación de PAHs de 2 y 3 anillos fue mayor en muestras encontradas a mayor altitud, mientras la bioacumulación de PAHs de 5 y 6 anillos fueron mayores a una altitud más baja, la cual se ve afectada principalmente por fuentes antropogénicas. Niu et al (2019) determina en una zona rural de China que dentro de las principales fuentes antropogénicas de PAHs, se encuentra la combustión de sólidos (madera, carbón, desechos orgánicos, pastizales, etc), identificando que la combustión de carbón doméstico y los incendios forestales emiten principalmente PAHs de 3 anillos aromáticos, mientras que la quema de paja, pastizales e incineración de residuos, emiten PAHs de 4 anillos aromáticos.

Otra tendencia de investigación sobre el uso de líquenes como biomonitores es el transplante de la especie a la zona de estudio. En las ciudades de Londres (Reino Unido) y Nápoles (Italia), se realizó el biomonitoreo de metales y PAHs mediante el trasplante de tres tipos de líquenes (*Pseudevernia furfurácea, Zopf var. furfuracea y Parmelia sulcata Taylor*), según los resultados, hubo un aumento de metales pesados y absorción de PAHs para ambas ciudades desde las zonas rurales hasta los centros urbanos, lo cual indica que el tráfico vehicular y las actividades antropogénicas son las principales fuentes de contaminación (Vingiani et al, 2015).

Por otra parte, diferentes autores han afirmado que los PAHs de 2-4 anillos bioacumulados en los líquenes, provienen principalmente de fuentes pirogénicas. Un estudio desarrollado por Fernández et al. (2011) en Caracas Venezuela utilizando el liquen *Pyxine coralligera*,

pudieron determinar que el naftaleno, acenaftileno, acenafteno y fluoranteno, (2, 3, 4 anillos aromáticos) tienen las concentraciones más altas en la mayoría de los lugares estudiados, las concentraciones totales de PAHs en esta investigación estuvieron en el rango de 0.24 a 9.08 µg / g, similares a las reportadas por otros trabajos en ciudades europeas y asiáticas, además se pudo concluir que las principales fuentes de PAHs están asociadas con la combustión de gasolina, diésel y derivados de petróleo.

En países estacionales como Italia y Portugal, se han estudiado las variaciones de las concentraciones de PAHs bioacumuladas en líquenes en época de invierno y verano, teniendo en cuenta las condiciones meteorológicas (Augusto et al, 2013) y ambientales que interfieren con la cinética y dinámica de transporte de los contaminantes, procesos de degradación de los PAHs promovidos por las altas temperaturas, los rayos UV y las condiciones oxidativas, los resultados muestran que las concentraciones de PAHs en invierno fueron mayores que en verano (Kodnik et al., 2015; Augusto et al., 2012).

El potencial de los líquenes como biomonitores de la presencia de PAHs se refleja en su capacidad para captar del aire los contaminantes tanto en forma de partícula como en la fase gaseosa (Zhou et al, 2018). El liquen folioso *Xanthoria parietina* fue empleado para estudiar la captación y acumulación de PAHs en fase gaseosa del Fluoranteno y Benzo (a) pireno (4 y 5 anillos); demostrando que los PAHs en fase gaseosa atraviesan fácilmente la superficie de los líquenes y se acumulan en la capa de algas fotosintética de los mismos (Augusto et al, 2015). El liquen *Parmotrema hypoleucinum* también fue estudiado como biomonitor de la presencia de PAHs en la región de Sines, ubicada en la costa suroeste de Portugal, las concentraciones de estos compuestos fueron mayores en la zona industrial respecto al área urbana, captando PAHs tanto en forma de partículas como en la fase de vapor del aire (Augusto et al, 2010). A pesar de que los PAHs en fase gaseosa atraviesan más fácil y se acumulan en el liquen, las especies *Hypogymnia* y *Letharia* de la familia Parmeliaceae estudiadas en 19 parques nacionales de Estados Unidos, mostraron una mayor acumulación de PAHs en fase de partículas y presentaron las mayores concentraciones de compuestos orgánicos semivolátiles. Además, las concentraciones de plaguicidas y PAHs fueron generalmente más altas en líquenes epifitos que en líquenes de roca y tundra (Schrlau et al, 2011).

Adicionalmente, los líquenes son considerados adecuados biomonitores de la calidad del aire, proporcionando información válida de las concentraciones de PAHs (Graney et al., 2017; Studabaker et al., 2017; Landis et al., 2019), un estudio logró demostrarlo realizando comparaciones entre la acumulación de los PAHs en el liquen con muestreadores de aire pasivos, los resultados mostraron una fuerte correlación lineal ($R = 0,96$, $P < 0,05$) entre los PAHs totales en líquenes y en los muestreadores de aire(Loppi et al., 2015). Augusto et al., (2013) compararon las concentraciones de PAHs encontradas en un muestreador activo convencional con las halladas en líquenes, traduciendo estas concentraciones en valores

equivalentes para el aire mediante ecuaciones, lo cual representó un acercamiento de los líquenes en los esquemas de monitoreo reglamentarios.

En la ciudad de Popayán, Colombia no se han reportado estudios de PAHs bioacumulados en líquenes, en este sentido esta investigación pretende brindar un diagnóstico inicial acerca de la calidad del aire en dos sectores de la ciudad, para así llenar un vacío de información sobre la influencia del tráfico vehicular en la bioacumulación de dichos contaminantes en el liquen de la familia Parmeliaceae, a la vez se pretende aportar información sobre la viabilidad de usar liquen como biomonitor en las condiciones de trópico de esta región.

5. METODOLOGÍA.

5.1. Volumen de tráfico vehicular.

Para determinar el volumen de tráfico vehicular en cada uno de los dos sectores de estudio se llevó a cabo el conteo de automotores durante siete días por 24 horas; para ello se utilizaron cámaras domo metálicas HD 720mp, marca dahua exterior, instaladas en la vía panamericana de acuerdo a las siguientes coordenadas geográficas 2°27'52.7"N 76°35'17.3"W, desde el lunes 15 de abril hasta el lunes 22 de abril de 2019 y en la vía Popayán-San José de Isnos según las coordenadas geográficas 2°26'25.7"N 76°35'05.9"W, desde el sábado 23 de febrero hasta el sábado 2 de marzo de 2019; la evidencia de la instalación de las cámaras en cada sector se encuentran en el anexo 1, apartado A. Para el procesamiento de los datos obtenidos a partir de las filmaciones y la clasificación de los vehículos (autos, motos, buses, camión de 2 ejes pequeño, camión de 2 ejes grande, tracto camión de 3, 4, 5 y mayores a 5 ejes) se empleó un formato modificado de volumen de tránsito y transporte de la agencia nacional de infraestructura (ANI). De este modo el conteo se realizó por monitoreo visual de las grabaciones y consolidación en el mencionado formato según su clasificación.

5.2 Determinación de la concentración de PAHs en líquenes de la familia Parmeliaceae.

La determinación de los PAHs bioacumulados en el liquen se divide en diferentes etapas esquematizadas a en la figura 3. A continuación se explicará cada una de las etapas.

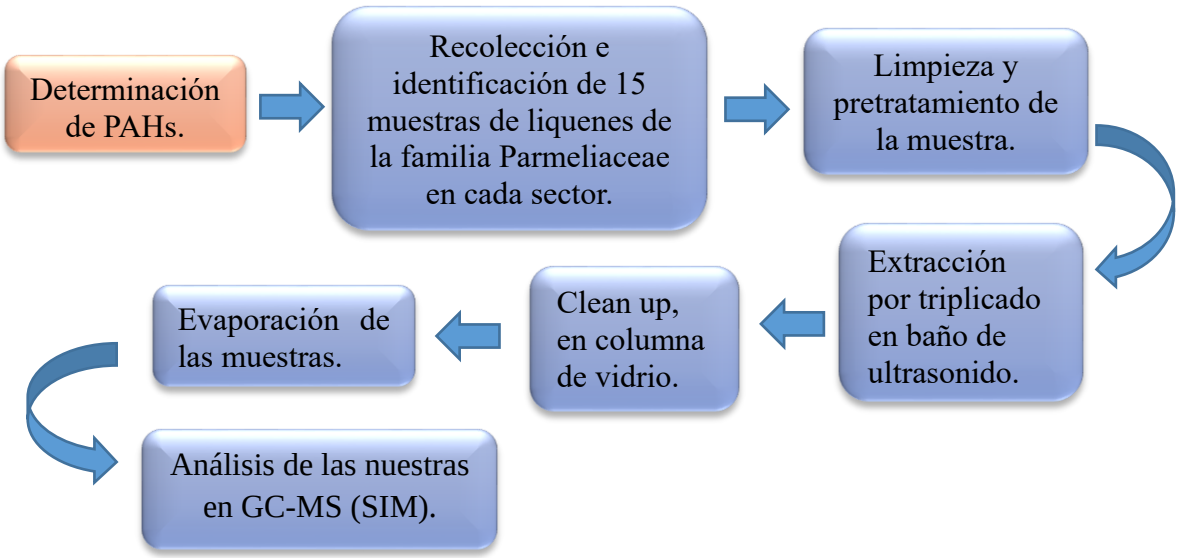


*Figura 3.*Etapas para la determinación de PAHs bioacumulados en el liquen.

5.2.1. Recolección e identificación de los líquenes pertenecientes a la familia Parmeliaceae.

Se seleccionaron dos zonas de estudio en la ciudad de Popayán, cada una de 1 Km de distancia; la primera zona en la vía Panamericana (Desde 2°27'51.9"N 76°35'19.1"W, hasta 2°28'13.6"N 76°34'57.2"W) y el segundo sector en la vía Popayán - San José de Isnos (Desde 2°26'17.4"N 76°35'19.5"W hasta 2°26'21.3"N 76°34'54.1"W); estos lugares fueron seleccionados estratégicamente de acuerdo a inspecciones en campo en donde se observó una aparente diferencia del tráfico vehicular en los dos sectores.

Como primera medida del trabajo en campo, se recolectaron muestras de los líquenes más representativos de cada zona de estudio, después fueron almacenados en bolsas de papel para conservar las muestras y llevarlas al Herbario de la Universidad del Valle "CUVC Luis Sigifredo Espinal-Tascón", donde el experto Edier Alberto Soto Medina (Ph.D.) realizó la determinación taxonómica de las muestras, establecidas en la tabla 2 (Soto, 2018; ver anexo 2), obteniendo así que la familia Parmeliaceae es la más representativa en cada una de las zonas.

Tabla 2.Determinación taxonómica de las muestras de líquenes. Fuente: Soto, 2018.

Código	Familia	Especie
M_1	Parmeliaceae	Hypotrachyna rhabdiformis (Kurok.) Hale
M_2	Physciaceae	Heterodermia obscurata (Nyl.) Trevis
M_2	Parmeliaceae	Hypotrachyna rhabdiformis (Kurok.) Hale
M_3	Parmeliaceae	Parmeliella sp.
M_4	Parmeliaceae	Parmotrema perlatum
M_5	Parmeliaceae	Punctelia columbiana Sérus.
M_6	Parmeliaceae	Hypotrachyna sp.
M_7	Parmeliaceae	Punctelia columbiana Sérus.
M_8	Parmeliaceae	Punctelia columbiana Sérus.

M_{1-8}: Muestras más representativas de las dos zonas de estudio.

En una visita de campo posterior, se escogieron y marcaron con una cinta roja los forófitos (medio de soporte donde se desarrolla el liquen) que cumplieron con las características recomendadas por Ciro & Botero (2010):

- Diámetro del tronco superior a 20 cm.

- Inclinación del tronco inferior a 20º respecto a la vertical.
- No constituir parte de formaciones arbóreas excesivamente cerradas o boscosas.
- Características morfológicas sanas de los árboles.

Los líquenes estudiados se recolectaron de los árboles a una altura mínima de 1,5 m por encima del suelo (Nascimbene et al, 2014).

En la figura 4 se muestra la localización específica de las dos zonas de estudio en la ciudad de Popayán.

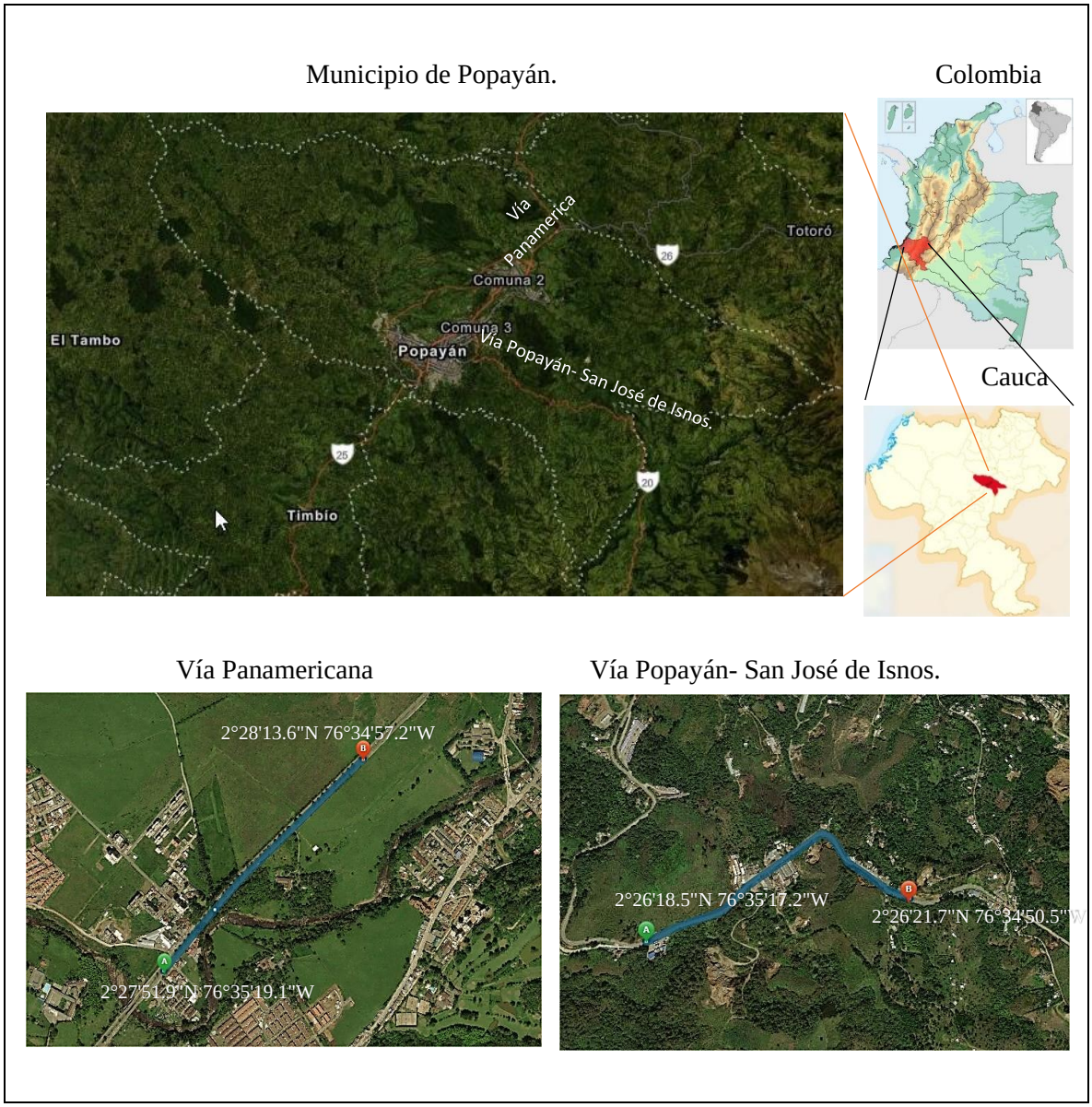


Figura 4. Ubicación de las zonas de estudio en la ciudad de Popayán, departamento del Cauca (Colombia). (Tomado de ArcGis Online, 2019).

Para determinar el número de muestras de líquenes pertenecientes a la familia Parmeliaceae que se recolectaron, se realizó una tercera inspección en campo para establecer el total de árboles que poseían el atributo a estudiar, los líquenes. Se midieron las distancias horizontales entre cada árbol con una cinta métrica (anexo 3) lo que sirvió como punto de referencia para señalar los árboles muestreados; adicionalmente, la empresa Ingeben realizó el levantamiento topográfico de cada zona con un dron Panton 4 pro plus (la evidencia del trabajo en campo se presenta en el anexo 1, apartado B), procesaron la información en el software pix 4D papper, posteriormente el plano de cada sector fue presentado en el programa AutoCAD, donde se señalaron los árboles que poseían el atributo. Después se determinó estadísticamente el tamaño de la muestra en cada sector de estudio empleando la fórmula para el cálculo de muestra de poblaciones finitas (Ec 3. Sánchez, 2008).

$$\boldsymbol{n} = \frac{z^2 \cdot P \cdot Q \cdot N}{E^{\mathbf{2}}(N-1) + z^2 \cdot P \cdot Q}$$

Ec 3.Cálculo de muestra de poblaciones finitas.

Donde:

z: Nivel de confianza del 98% (z=2).

P: Proporción de la muestra total que cumple con el atributo (99%).

Q: 1-P

E: Error de estimación (4%.)

N: Número total de árboles que poseen el atributo.

En la vía Popayán- San José de Isnos se encontraron 40 árboles que poseían el atributo (N=40), empleando la Ec.3, se obtiene que el tamaño de la muestra es:

$$\boldsymbol{n} = \frac{2^2 \cdot 0{,}99 \cdot 0{,}01 \cdot 40}{0{,}04^{\mathbf{2}}(40-1) + 2^2 x 0{,}99 \cdot 0{,}01}$$

n=15,5

De este modo se realizó la recolección de 15 muestras de líquenes pertenecientes a la familia Parmeliaceae, en la vía Popayán- San José de Isnos en los dos costados de la vía, como se mostrará más adelante en el apartado de resultados.

Análogamente se aplicó la Ec 3 para la vía panamericana con 37 árboles que poseían el atributo (N=37), obteniendo un número de muestras de 15 árboles. Dichas muestras se tomaron en el separador central de la vía panamericana, esquematizado en la sección de resultados.

Para la toma de muestras en campo se determinó un protocolo que garantizaba una captura adecuada y cuidado del organismo, este incluía guantes de nitrilo y tapabocas para evitar que la naturaleza de los líquenes se viera afectada, además de espátula, pinzas de acero inoxidable, cuchilla quirúrgica y bolsas de aluminio, previamente esterilizados en el laboratorio por medio de enjuagues con agua destilada y acetona (anexo 1, apartado C). La identificación del liquen se realizó teniendo en cuenta el informe del experto y algunas características específicas de los líquenes pertenecientes a la familia Parmeliaceae, tales como el color, forma del lóbulo y forma de crecimiento. La selección de los árboles a muestrear se realizó teniendo en cuenta la abundancia del liquen a estudiar en cada forófito.

Aproximadamente 2g de líquenes de la familia Parmeliaceae, de diferentes especies se recolectaron en cada árbol considerando las características mencionadas por Ciro & Botero (2010) y detalladas anteriormente. Para determinar este peso se empleó en campo una balanza electrónica HOPEX Ref ACS-N. Posteriormente cada muestra se almacenó en bolsas de aluminio que fueron rotuladas con el sitio de muestreo, un código que coincidía con el diligenciado en el formato de campo donde además se incluía información como, fecha de recogida, nombre de la persona que recolectó, el número de foto y número del árbol (ver anexo 4). Finalmente, las muestras fueron almacenadas en una nevera de icopor con gel refrigerante, para evitar alteraciones.

5.2.2 Pretratamiento de las muestras.

Después de la recolección y almacenamiento, las muestras se llevaron al laboratorio de análisis ambiental de la Universidad Federal de Paraná en Brasil, donde inicialmente con la ayuda de pinzas y bisturí (previamente esterilizados con acetona) se eliminaron manualmente los residuos de tierra, corteza de árbol, musgo, insectos y otros organismos que se encontraban adheridos al liquen. Las muestras limpias se pesaron en una balanza analítica Mettler Toledo, modelo XS205DU con una precisión de ±0,01mg; y se conservaron en bolsas de aluminio.

Con el fin de preservar las muestras y retirar el agua contenida en ellas, se procedió a liofilizarlas; inicialmente se dejaron en el congelador a -28°C durante 5 horas aproximadamente; posteriormente se dispusieron en el liofilizador (marca Liobras, modelo L101), el cual se limpió previamente con acetona para eliminar las impurezas. Las muestras se pesaron en la balanza analítica, para obtener así los valores de peso seco de cada una.

Las muestras liofilizadas se colocaron en un mortero de cerámica (previamente lavado con acetona), donde se realizó su trituración hasta obtener un polvo fino. Las muestras pulverizadas, se guardaron en frascos de vidrio ámbar con tapa de plástico, que fueron previamente calcinados en una mufla a 400°C durante 4 horas, se enjugaron con acetona para evitar contaminación de las muestras o aporte de analitos. Los frascos ámbar se taparon con

papel aluminio, después se colocó la tapa de plástico, posteriormente sobre esta tapa se selló con papel plástico para cubrir mejor la muestra y evitar interferencias del medio. Un resumen del proceso de pretratamiento de las muestras se presenta en la figura 5.

*Figura 5.*Infograma del pretratamiento de las muestras.

5.2.3 Análisis de PAHs bioacumulados en líquenes de la familia Parmeliaceae.

A continuación, se presenta el método utilizado para determinar las concentraciones de PAHs en líquenes. Cabe destacar que se desarrolló y optimizó el método en el laboratorio de análisis ambiental de la Universidad Federal de Paraná en Brasil (ver Anexo 5).

El método analítico empleado en este trabajo combina la extracción por ultrasonido de las muestras, el clean up en columna de vidrio, evaporación y análisis del extracto mediante cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (GC-MS). Inicialmente se establecieron los parámetros de linealidad del método analítico.

5.2.3.1. Parámetros de linealidad del método.

El límite de detección (LOD) y de cuantificación (LOQ) para cada PAHs se determinó mediante la recta de calibración; la linealidad del método se evaluó usando entre 5 y 7 concentraciones diferentes; por triplicado, en un intervalo entre 10 a 1000 µg/L a partir de soluciones preparadas con patrones estándar de los 16 PAHs (CRM48905, TCL PAH Mix, 1x1 mL, en diclorometano: benceno 1:1), con patrón interno (Semivolatile Internal Std Mix, CRM5M07296, 5x1 mL, en diclorometano) y diclorometano como solvente. La validez de la calibración se determinó con el coeficiente de correlación (R^2) y el porcentaje de desviación estándar relativa (%RSD).

Cada recta de calibración se construyó a partir de las razones entre el área del compuesto y el área del patrón interno (eje Y), versus las diferentes concentraciones (eje X). Los parámetros de la ecuación de la recta de calibración (intercepto e inclinación) para cada compuesto, fueron utilizados para el cálculo de las concentraciones (µg/L) de las muestras analizadas en los dos sectores de estudio. Estos se comparan con los límites de cuantificación (LOQ) y detección (LOD) calculados a partir de las ecuaciones 1 y 2 (Ec 1 y 2), que se encuentran en las mismas unidades, posteriormente se convierten a ng/g (peso seco) usando el peso total de la muestra procesada. En la tabla 3, se muestran los 16 PAHs prioritarios y los patrones internos correspondientes.

*Tabla 3.*PAHs prioritarios con el patrón interno correspondiente.

Patrón Interno	**PAHs**
Naftaleno-d8	Naftaleno
Acenafteno-d10	Acenaftileno
	Acenafteno
	Fluoreno

Patrón Interno	PAHs
Fenantreno-d10	Fenantreno
	Antraceno
	Fluoranteno
Criseno-d12	Pireno
	Benzo(a)antraceno
	Criseno
	p-terfenil-d14
Perileno-d12	Benzo(b)fluoranteno
	Benzo(k)fluoranteno
	Benzo(a)pireno
	Indeno(1,2,3-cd)pireno
	Dibenzo(a,h)antraceno
	Benzo(g,h,i)perileno

5.2.3.2. Extracción.

El análisis de PAHs en muestras sólidas mediante cromatografía, requiere de un tratamiento previo de la muestra para su disolución antes de realizar la detección. En este contexto, se realizó una extracción por baño de ultrasonido, que consiste en la "aplicación de la energía del sonido, creando un efecto de sonicación, originando vibraciones que proporcionan agitación de la muestra por generación de burbujas microscópicas que producen la rotura de las partículas sólidas" (Yebra & Cespón, 2007), facilitando y acelerando los procesos de disolución.

Inicialmente, se pesó 0,4 g, aproximadamente, de liquen pulverizado (peso seco) y se colocó en un tubo de vidrio cónico con tapa de papel aluminio, posteriormente se agregó 40µL de patrón subrogado con concentración final de 100 ng/g en el liquen (p-terfenil D14, 48418, 1x1 mL, en cloruro de metileno, marca Supelco) después se dejó secar la muestra en la campana de extracción. El patrón subrogado se usó para vigilar todo el proceso de tratamiento y análisis de las muestras, esto es posible ya que las áreas de los picos tanto de los PAHs como del patrón subrogado responden de forma similar a las interferencias del método y manipulación de las muestras. (Ferreira, 2007; Sánchez, 2014).

Para llevar a cabo la extracción, se utilizó 2 mL de hexano: diclorometano (3:2) grado analítico. Esta mezcla tiene baja polaridad por lo que es a fin con los PAHs. La mezcla se llevó a baño de ultrasonido durante 10 minutos; el equipo utilizado para este proceso es una lavadora ultra-sonica marca Unique. Posteriormente, la muestra se centrifugó en una centrífuga Macro IV, modelo EV: 025 durante 5 minutos a 3000 rpm. Una alícuota de 2 mL del extracto sobrenadante se depositó en un tubo de ensayo de rosca con tapa de plástico y se repitió la extracción por 2 veces más, obteniendo así un extracto combinado de 6 mL. La muestra obtenida luego del proceso de centrifugado se presenta en la figura 6.

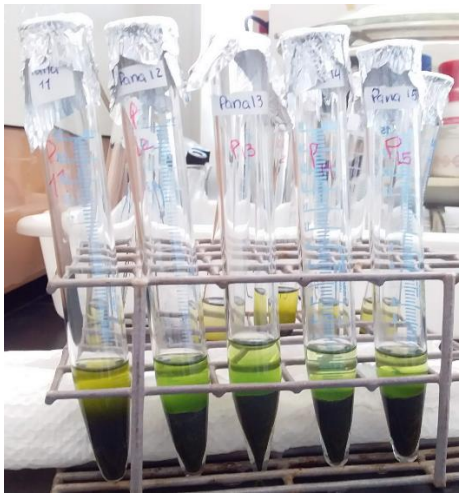
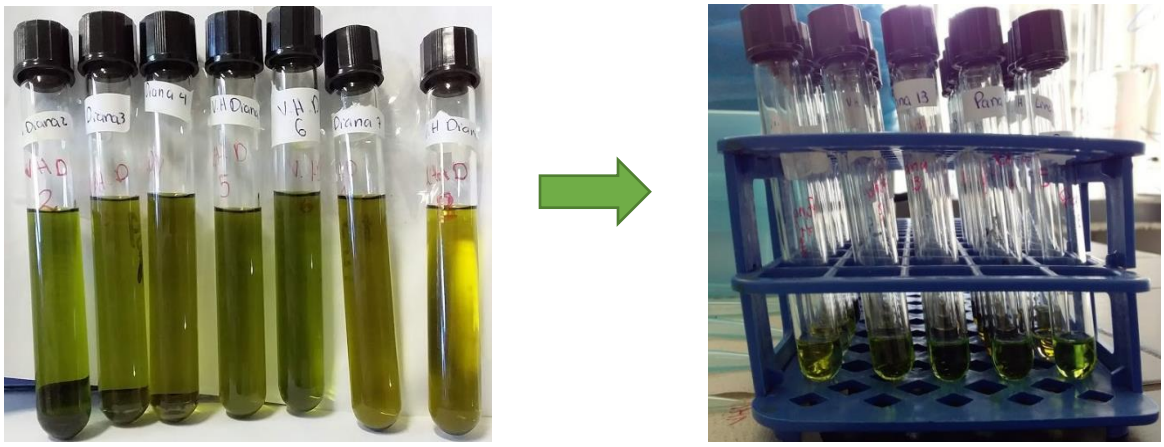


*Figura 6.*Tubo cónico con muestra centrifugada de liquen, patrón subrogado y solvente.

El extracto combinado (6 mL) se concentró hasta un volumen de 0,5 mL aproximadamente (figura 7) en un evaporador marca Christ, modelo RVC 2-18 CDplus a 60°C durante 20 minutos, permitiendo la evaporación de gran parte de los solventes y la concentración de los PAHs.



Antes Después

*Figura 7.*Extracto antes de concentrar y concentrado a 0,5 mL.

Un resumen de este proceso se presenta en la figura 8.

*Figura 8.*Infograma del proceso de extracción.

5.2.3.2. Clean Up o limpieza.

El clean up o limpieza consiste en la eliminación del mayor porcentaje de componentes de la muestra que puedan interferir en el análisis cromatográfico, es por ello que esta etapa es una de las más importantes.

La técnica empleada para el clean up fue cromatografía de adsorción en columna, utilizando una pipeta de vidrio de 10 mL, la cual se preparó con una fase estacionaria que contenía: lana de vidrio, 2g de sílica gel activada y 1 g de alúmina activada (activadas a 150°C por 2 horas, en una estufa marca Fanem, modelo Orion 515) como adsorbentes polares, además se agregó 0,5 g de sulfato de sodio anhídrido para adsorber la humedad del medio. El uso de estos compuestos polares permiten retener las interferencias de la muestra afines a su polaridad en la fase sólida; permitiendo a los PAHs (compuestos no polares) el paso por esta fase.

La selección de la fase móvil se hizo mediante ensayos previos (ver Anexo 5), de esta forma se determinó el eluyente más efectivo para este proceso, eligiendo así 15 mL de hexano: diclorometano en proporción 3:2, estos disolventes poseen baja polaridad por lo que arrastran fácilmente los PAHs a través de la columna.

La figura 9, muestra la columna cromatográfica empleada para el clean up de las muestras.

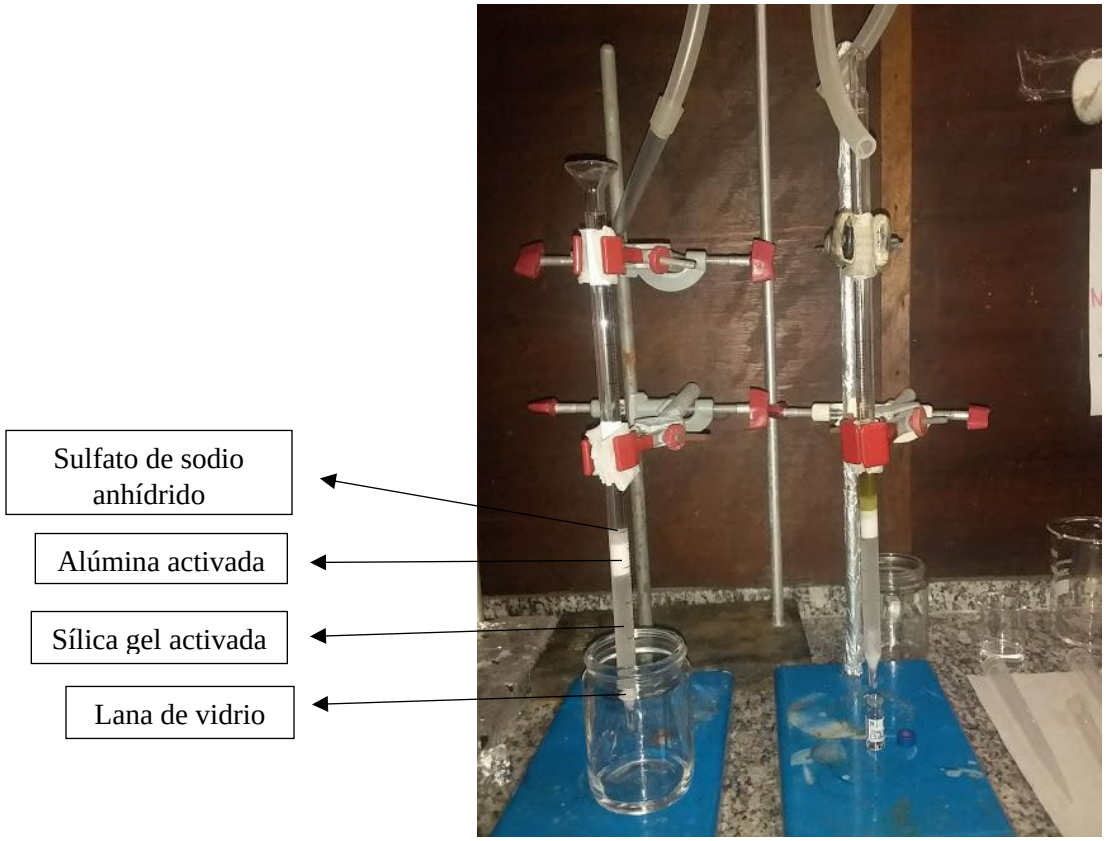


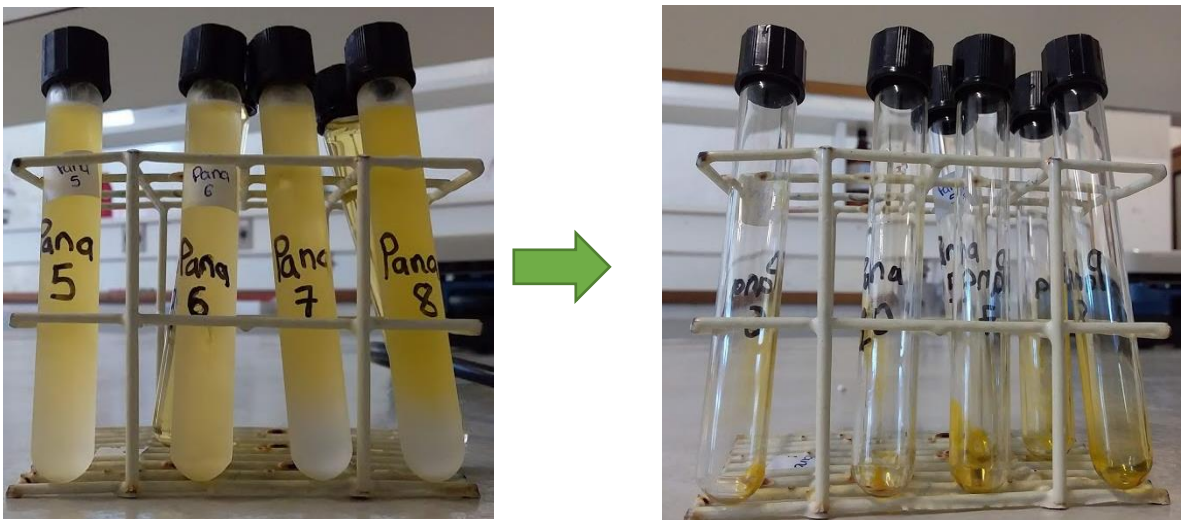
Figura 9. Columna cromatografica de adsorción, empacada.

La columna se empaca con hexano, bajo efecto del nitrógeno comprimido de alta presión con pureza del 99,999%, esta se encuentra lista cuando la sílica gel cambia de color blanco a transparente. Una vez se empacó la columna, se acondicionó con 15 mL de hexano: diclorometano en proporción 3:2. El volumen concentrado de la muestra (aproximadamente

0,5 mL) se pasa por la columna de clean up, seguido de la fase móvil. Finalmente, se recolectó 8 mL de muestra en un tubo de ensayo con rosca y tapa de plástico.

5.2.3.3. Evaporación de las muestras.

Para concentrar y tener un volumen exacto de muestra, se evaporan completamente los 8 mL de muestra recolectados del clean up en el evaporador marca Christ, modelo RVC 2-18 CDplus a 60°C durante 30 minutos, como se observa en la figura 10.



Antes Después

*Figura 10.*Muestra antes y después de la evaporación.

Cabe aclarar, que los eluyentes usados, diclorometano y hexano, tiene un punto de ebullición inferior (40°C y 68°C respectivamente) al de los PAHs, lo que permite una evaporación de los disolventes a temperaturas más bajas que la de los analitos.

Seguido de la evaporación, se adicionó 25µL de patrón interno, el cual se utiliza para determinar las variaciones en la lectura del cromatógrafo como respuesta a una posible contaminación en la columna del equipo, así como la eficiencia general del método de análisis. La concentración de patrón interno en cada muestra es de 100 ng/mL.

5.2.3.4. Análisis de muestras por cromatografía de gases acoplado a espectrometría de masas (GC-MS).

Las muestras sometidas a extracción, concentración, clean up y evaporación, se analizaron usando un cromatógrafo de gases GC-MS triple quadrupolo de marca Shimadzu modelo QP2010-TQ8040 con autosampler combi-PAL Shimadzu AOC5000 y espectrómetro de masas GCMS-TQ8040. El equipo inicialmente volatiliza 1µL de muestra en un inyector

caliente y posteriormente separa los compuestos usando una columna capilar DB-5Ms (30 m x 0,25 mm x 0,25 µm) como fase estacionaria y gas helio (alta pureza) como fase móvil.

El espectrómetro de masas operó en modo monitorización selectiva de iones (SIM), debido a que la muestra a analizar posee un gran número de interferentes que pueden afectar la señal de los PAHs en el equipo, el método SIM aporta mayor selectividad y sensibilidad al análisis (Sánchez, 2014). Los iones utilizados para la cuantificación de cada compuesto y los tiempos de retención se encuentran en la tabla 4.

Tabla 4. Iones de cuantificación y tiempos retención (TR) para los 16 PAHs.

PAHs	**Iones de cuantificación**	**Tiempo de Retención (min)**
NAP	128	9,82
ACY	152	15,37
ACE	152 + 154	16,04
FLU	165 + 166	18,03
PHE	178	21,71
ANT	178	21,91
FLA	202	26,35
PYR	202	27,17
B(A)A	228	31,94
CRI	228	32,06
p-terfenil d14	244	28,15
B(B)F	252 + 253	35,85
B(K)F	252 + 253	35,95
B(A)P	252 + 253	36,96
IND	276 + 278	42,11
D(AH)A	278 + 279	42,41
B(GHI)P	276 + 277	43,53

5.2.3.5. Repetitividad del método empleado para la determinación de PAHs en líquenes de la familia Parmeliaceae.

La evaluación de repetitividad del método empleado, para la determinación de PAHs en el liquen, se realizó con muestras de la familia Parmeliaceae, recolectadas en el parqueadero del campus del Centro Politécnico de la Universidad Federal de Paraná, Brasil. De esta manera, se analizaron 8 muestras de 0,4 g (peso seco) cada una de liquen pulverizado, de las cuales 5 fueron enriquecidas a una concentración de 100 ng/g con patrones estándar de los 16 PAHs y 3 muestras sin enriquecer. Cada muestra se analizó usando el método descrito anteriormente, desde el apartado de pretratamiento de las muestras, extracción, hasta análisis GC-MS. El porcentaje de recuperación (%REC), el porcentaje de desviación estándar relativa (%RSD) y la desviación estándar (SD) se encuentran establecidos en la tabla 9.

El porcentaje de recuperación (%REC) se calculó de acuerdo a la siguiente ecuación (Ec.4).

$$\%REC = \frac{C_{prom.} - C_{blanco}}{C_{real\ adic.}} * 100$$

Ec 4.Ecuación del porcentaje de recuperación.

Donde:

$\%REC$: Porcentaje de recuperación.

$C_{prom.}$: Concentración promedio de cada PAHs.

C_{blanco}: Concentración del blanco.

$C_{real\ adic.}$: Concentración real adicionada.

5.3. Cálculo del Potencial de Equivalencia Tóxico (PET).

El riesgo para la salud se evalúa debido a su propiedad carcinogénica empleando el Potencial de Equivalencia Tóxico (PET), de acuerdo a Ec 5. Este se calcula mediante el Factor de Equivalencia Tóxico (TEF), el cual se definió con el objetivo de caracterizar con mayor precisión las propiedades cancerígenas de los 16 PAHs prioritarios, comparando cada uno con el nivel del benzo(a)pireno, que presenta el mayor TEF junto con el dibenzo(a)antraceno (TEF=1).

$$PET = \Sigma\ (TEFi) * [PAH]\ i$$

Ec 5.Ecuación del PET

Donde:

PET: Potencial de equivalencia tóxico de la corriente gaseosa generada.

TEFi: Factor de equivalencia tóxico de cada uno de los diferentes PAH.

[PAH]i: Concentración total de cada PAH.

Los valores de TEF son presentados por Nisbet & Lagoy (1992) para cada uno de los 16 PAHs de acuerdo a su potencial cancerígeno, como se presenta en la tabla 5.

Tabla 5.Valores del Factor de Equivalencia Tóxico (TEF de los 16 PAHs prioritarios. Nisbet & Lagoy (1992).

PAHs	**TEF**
NAP	0,001
ACY	0,001
ACE	0,001
FLU	0,001
PHE	0,001
ANT	0,01
FLA	0,001
PYR	0,001
B(A)A	0,1
CRI	0,01
B(B)F	0,1
B(K)F	0,1
B(A)P	1
IND	0,1
D(AH)A	1
B(GHI)P	0,01

6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.

6.1. Volumen de tráfico vehicular.

Siguiendo los resultados del conteo vehicular realizado durante 7 días por 24 horas, registrados en el formato modificado de la ANI (anexo 6) se da a conocer a continuación los promedios de automotores que transitan por cada vía (tabla 6 y tabla 7), teniendo en cuenta el tipo de automotor a saber: motos, autos, buses, C2P: Camión de 2 ejes pequeño, C2G: Camión de 2 ejes grande, C3: Camión de 3 ejes, C4: Camión de 4 ejes, C5: Tracto camión de 5 ejes, >C5: Tracto camión de más de 5 ejes.

*Tabla 6.*Conteo vehicular en la vía panamericana.

Día	**Motos**	**Autos**	**Buses**	**C2P**	**C2G**	**C3**	**C4**	**C5**	**>C5**
Lunes	15238	23971	2149	674	583	8	0	0	3
Martes	22012	46293	4880	487	1913	16	3	5	16
Miércoles	20436	42903	4320	804	1358	12	0	4	12
Jueves	18834	39512	3544	778	510	7	0	0	13
Viernes	20730	45796	4679	763	1644	13	2	3	15
Sábado	19140	42465	4194	824	1204	11	5	5	9
Domingo	19558	44130	4438	831	1430	13	1	7	6
Lunes	9233	17755	2265	427	977	4	0	0	3
Promedio	18148	37853	3809	699	1202	11	1	3	10

*Tabla 7***.**Conteo vehicular en la vía Popayán-San José de Isnos.

Día	**Motos**	**Autos**	**Buses**	**C2P**	**C2G**	**C3**	**C4**	**C5**	**>C5**
Sábado	367	391	33	36	34	7	1	2	3
Domingo	1573	1654	128	89	126	11	0	2	22
Lunes	1805	1130	149	177	149	19	0	4	8
Martes	1551	1041	119	147	182	21	2	2	14
Miércoles	1777	1065	122	32	254	27	6	6	30

Día	Motos	Autos	Buses	C2P	C2G	C3	C4	C5	>C5
Jueves	2011	1189	137	26	283	16	2	5	24
Viernes	1997	1269	132	21	279	30	6	7	32
Sábado	1327	796	111	16	186	17	3	5	4
Promedio	1551	1067	116	68	187	19	3	4	17

Teniendo en cuenta los promedios por vehículo de cada sector se pudo determinar que la cantidad de motos, autos, buses, C2P, C2G son 11.7, 35.5, 32.7, 10.3 y 6.4, veces mayor respectivamente en la vía panamericana y C3, C4, C5,>C5 son 1.8, 1.8, 1.4 y 1.8, veces mayor respectivamente en la vía Popayán- San José de Isnos, según los resultados se puede evidenciar la diferencia de flujo vehicular en los dos sectores. Es decir, que el tráfico pesado predomina en la vía Popayán-San José de Isnos, aunque el flujo promedio de vehículos es mayor en la vía panamericana.

A pesar de los esfuerzos de las autoridades por implementar tecnologías limpias con alto rendimiento y bajo consumo de combustible (ley 1964 y 1972 de 2019), se ha evidenciado a partir de las filmaciones realizadas para el conteo vehicular, que los diferentes automotores siguen emitiendo gran cantidad de hollín cada vez que estos se encuentran en movimiento, como muestra de ello se presentan las figuras 11 y 12.

En Colombia, según el ministerio de transporte (MinTransporte, 2011) casi el 75 % de los vehículos de transporte intermunicipal de pasajeros por carretera utilizan combustible diésel, mientras que cerca del 23.5 % utilizan gasolina. Según estudios realizados en la ciudad de Bogotá en los días sin carro es donde se encuentran más contaminantes atmosféricos que un día de tránsito normal, en este sentido el médico Luis Jorge Hernández, de la Universidad de los Andes dice “El carro particular produce trancones, pero la contaminación es producida por el diésel, que es más sucio y es el más usado por la mayoría de automotores que circulan durante la jornada” (Altamar, 2018). Esto reafirma la preocupación creciente y los impactos negativos del uso de estos combustibles.

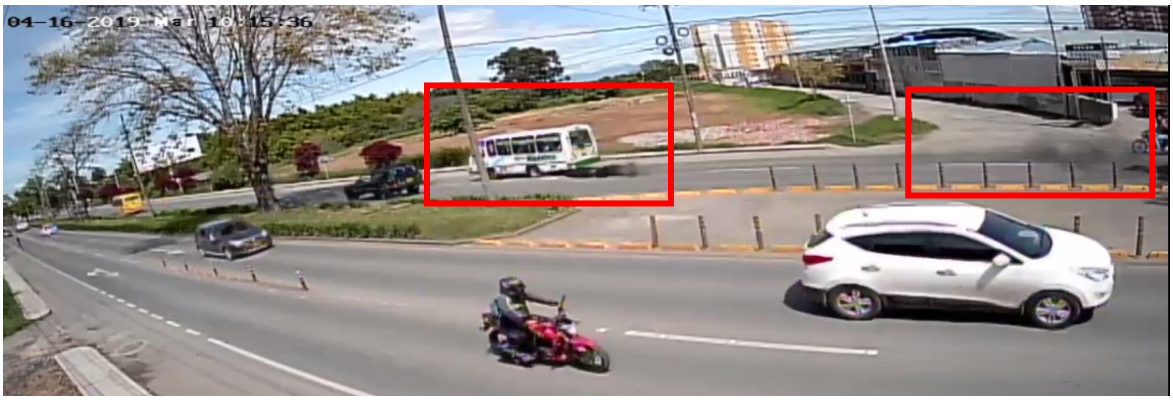


*Figura 11.*Emisiones contaminantes por parte de automotor en la vía panamericana.

*Figura 12.*Emisiones contaminantes por parte de vehículo en la vía Popayán-San José de Isnos.

6.2. Concentración de PAHs bioacumulados en el líquenes de la familia Parmeliaceae.

Para determinar la concentración de los aromáticos en el liquen se realizaron inicialmente dos pasos esenciales que corresponden a recolección de la muestra y el desarrollo del método analítico, a continuación se presentan estos resultados y además se presentan las concentraciones halladas de los aromáticos en cada uno de los sectores.

6.2.1. Recolección e identificación de las muestras.

Teniendo en cuenta la distribución entre los árboles que poseían líquenes de la familia Parmeliaceae (atributo) se presentan los 15 árboles muestreados en cada zona. En las figuras 13 y 14 se presenta la ubicación del total de los árboles que presentan el atributo en el sector de la vía panamericana, el recuadro alrededor del número significa que fue seleccionado dentro del muestreo. En las figuras 15 y 16 se presenta el mapa de la vía Popayán- San José de Isnos, con las mismas convenciones. En este último sector se recolectaron muestras en cada uno de los costados de la vía (costado izquierdo y derecho, anexo 3 y 4).

*Figura 13.*Sección 1 vía panamericana.

*Figura 14.*Sección 2 vía Panamericana.

*Figura 16.*Sección 1 vía Popayán- San José de Isnos.

*Figura 15.*Sección 2 vía Popayán- San José de Isnos

6.2.2 Optimización del método analítico.

Parámetros de calibración.

El límite de detección y de cuantificación, la fase linear para cada PAHs y del patrón subrogado, además de los parámetros de validación de la recta de calibración: intercepto, inclinación y coeficiente de correlación para el método analítico desarrollado en este trabajo de pregrado se presentan en la tabla 8.

Tabla 8. Límite de cuantificación (LOQ), límite de detección (LOD), fase linear, intercepto, inclinación y coeficiente de correlación (R^2) de los 16 PAHs y del patrón subrogado.

PAHs	**LOQ (µg/L)**	**LOD (µg/L)**	**Fase lineal (µg/L)**	**Intercepto**	**Inclinación**	**R^2**
NAP	8	3	10-1000	0,088	0,009	0,994
ACY	7	2	10-1000	0,044	0,015	0,999
ACE	9	3	10-1000	0,097	0,011	0,993
FLU	10	3	10-1000	0,066	0,012	0,993
PHE	2	1	10-1000	0,118	0,012	0,994
ANT	5	2	10-500	-0,061	0,013	0,999
FLA	3	1	10-500	-0,062	0,014	0,999
PYR	9	3	10-1000	0,198	0,011	0,992
p-Terphenyl-d14	16	5	25-500	-0,007	0,009	1
B(B)F	10	3	10-500	-0,073	0,011	0,999
B(K)F	3	1	10-500	-0,050	0,012	0,999
B(A)P	5	2	10-500	-0,103	0,011	0,997
IND	12	4	25-500	-0,145	0,009	0,993
D(AH)A	7	2	10-500	-0,109	0,010	0,994
B(GHI)P	8	3	10-500	-0,066	0,012	0,999
B(A)A	8	3	10-500	-0,026	0,010	0,999
CRI	10	3	10-500	0,005	0,011	0,999

La linealidad del método se determinó a partir de los coeficientes de correlación (R^2), presentando valores entre 0,993 y 0,999 para los 16 PAHs y 1 para el patrón subrogado (p-Terfenil-d14); lo que indica un buen ajuste en la recta de calibración en el intervalo de la fase linear estudiada para cada uno. La mayoría de los compuestos de menor número de anillos aromáticos (2 y 3) presentan un intervalo de fase lineal más amplio de 10-1000 µg/L con 7 puntos de concentraciones diferentes; la mayoría de los PAHs entre 4 y 6 anillos aromáticos fueron analizados en un intervalo de fase lineal de 10-500 µg/L, con 6 puntos diferentes de concentración; finalmente, solo 2 compuestos, entre ellos el patrón subrogado y uno de los PAHs de 6 anillos aromáticos (Indeno(1,2,3-cd)pireno) fueron analizados en un rango de fase lineal de 25-500 µg/L, con 5 puntos diferentes de concentración.

Repetitividad del método.

La repetitividad del método empleado desde la etapa de extracción hasta el análisis de los PAHs en el GC-MS se analizó por quintuplicado. El porcentaje de recuperación, la desviación estándar y el porcentaje de desviación estándar relativa, se encuentran en la tabla 9.

Tabla 9. Porcentaje de recuperación (%REC), desviación estándar (SD) y porcentaje de desviación estándar relativa (%RSD).

PAHs	**%REC**	**SD**	**%RSD**
NAP	12,1	-	-
ACY	16,4	14,8	49,7
ACE	16,9	15,7	57,9
FLU	25,2	16,6	38,0
PHE	37,4	20,3	25,6
ANT	32,5	10,2	17,2
FLA	33,5	20,2	22,1
PYR	24,7	7,4	8,3
p-Terphenyl-d14	34,3	5,7	10,4
B(B)F	40,5	9,0	11,3
B(K)F	38,8	8,2	12,1

PAHs	%REC	SD	%RSD
B(A)P	56,0	17,3	17,0
IND	57,6	44,0	39,9
D(AH)A	61,4	45,5	41,1
B(GHI)P	57,7	47,7	46,5
B(A)A	53,3	3,9	4,2
CRI	65,8	5,2	4,6

Los mayores porcentajes de recuperación (%REC > 50%) corresponden a los compuestos entre 4 y 6 anillos aromáticos, que son considerados como los PAHs de mayor persistencia en el liquen y en la atmósfera; debido a su mayor peso molecular, estos son altamente bioacumulables y se presentan principalmente en estado de partícula (García, 2005). Los PAHs de menor porcentaje de recuperación (%REC < 20%) corresponden a compuestos entre 2 y 3 anillos aromáticos que tienden a ser los más volátiles y de relativa baja persistencia (Herrera, 2019). Estos resultados de recuperación relativamente bajos para los de menor peso, pueden ser atribuidos a su fácil volatilización en el medio, además de los errores en el laboratorio como instrumentales y humanos; estos PAHs también obtuvieron los mayores porcentajes de variabilidad de todos los compuestos analizados (%RSD > 49%). El 50% de los compuestos poseen una variabilidad (%RSD) menor al 20%, indicando una precisión regular; el 35% del total de los compuestos son precisos o tienen una precisión aceptable (%RSD < 15%) (DANE, 2008).

Los resultados presentados en esta sección resaltan la necesidad de continuar trabajando en el método para llegar a una mayor optimización. No obstante, no es extraño encontrar dichos porcentajes de recuperación, teniendo en cuenta que la muestra corresponde a una matriz biológica que resulta compleja para su análisis, además de la manipulación de la muestra en cada etapa del proceso (pretratamiento, extracción, clean up, evaporación y análisis cromatográfico).

6.2.3 Concentraciones de PAHs bioacumulados en líquenes de la familia Parmeliaceae en los dos sectores de estudio.

Las concentraciones de los 16 PAHs para las 15 muestras en cada sector (vía panamericana y vía Popayán- San José de Isnos) se encuentran en el anexo 7, a partir de los datos ahí establecidos se calcularon los promedios de las concentraciones para cada área de estudio, además se determinaron los valores máximos, mínimos, la desviación estándar de los 16

PAHs y el porcentaje de muestras en las que se detectó cada PAHs, tabla 10 y tabla 11, respectivamente para la vía panamericana y la vía Popayán- San José de Isnos.

Tabla 10. Promedios de concentraciones (media), máximo (max), mínimo (min), desviación estándar (SD) y el porcentaje de muestras en las que se detectó cada PAHs (% Muestra) en la vía panamericana.

PAHs	**Media (ng/g)**	**Max (ng/g)**	**Min (ng/g)**	**SD (ng/g)**	**% Muestra**
NAP	<LOD	-	-	-	-
ACY	<LOD	-	-	-	-
ACE	<LOD	-	-	-	-
FLU	8	10	6	2,9	13
PHE	28	55	8	16,9	87
ANT	13	17	8	6,6	67
FLA	66	107	20	32,1	100
PYR	172	322	20	115,1	100
B(B)F	16	30	6	6,8	100
B(K)F	7	8	6	3,5	40
B(A)P	9	10	7	4,0	73
IND	16	17	15	6,5	20
D(AH)A	7	8	6	0,5	100
B(GHI)P	11	17	7	3,9	93
B(A)A	13	22	6	6,5	93
CRI	45	90	9	27,1	100
∑PAHs	**409**				

De acuerdo a los valores de PAHs promedio en la vía panamericana, se hallaron 13 de los 16 PAHs estudiados, los 3 primeros (naftaleno, acenaftileno y acenafteno) se encuentran en concentración menor al límite de detección (<LOD, tabla 8), esto se puede justificar debido a que el método analítico empleado para la cuantificación de los PAHs presenta los menores porcentajes de recuperación para estos tres compuestos como se mencionó anteriormente

(%REC < 17%, tabla 9). De acuerdo a las desviaciones estándar (SD) en la vía panamericana, existen variaciones significativas en las concentraciones de la mayoría de los compuestos, con valores mayores o cercanos a la mitad de los promedios de PAHs.

Cinco analitos de los 16 estudiados, fluoranteno, pireno, benzo(b)fluoranteno, dibenzo(a,h)antraceno y criseno, se encuentran en el 100% de las muestras analizadas para la vía panamericana, indicando el predominio de estos compuestos a lo largo del sector de estudio, esto puede atribuirse a que son compuestos de 4 y 5 anillos aromáticos, por lo que tienden a persistir en el ambiente y son fácilmente bioacumulados por el liquen (Guidotti et al. 2003; García, 2005), además son atribuidos a procesos de combustión (Nascimbene et al, 2014).

Las concentraciones de cada uno de los PAHs expresadas en porcentajes respecto al total, se presentan en la figura 17.

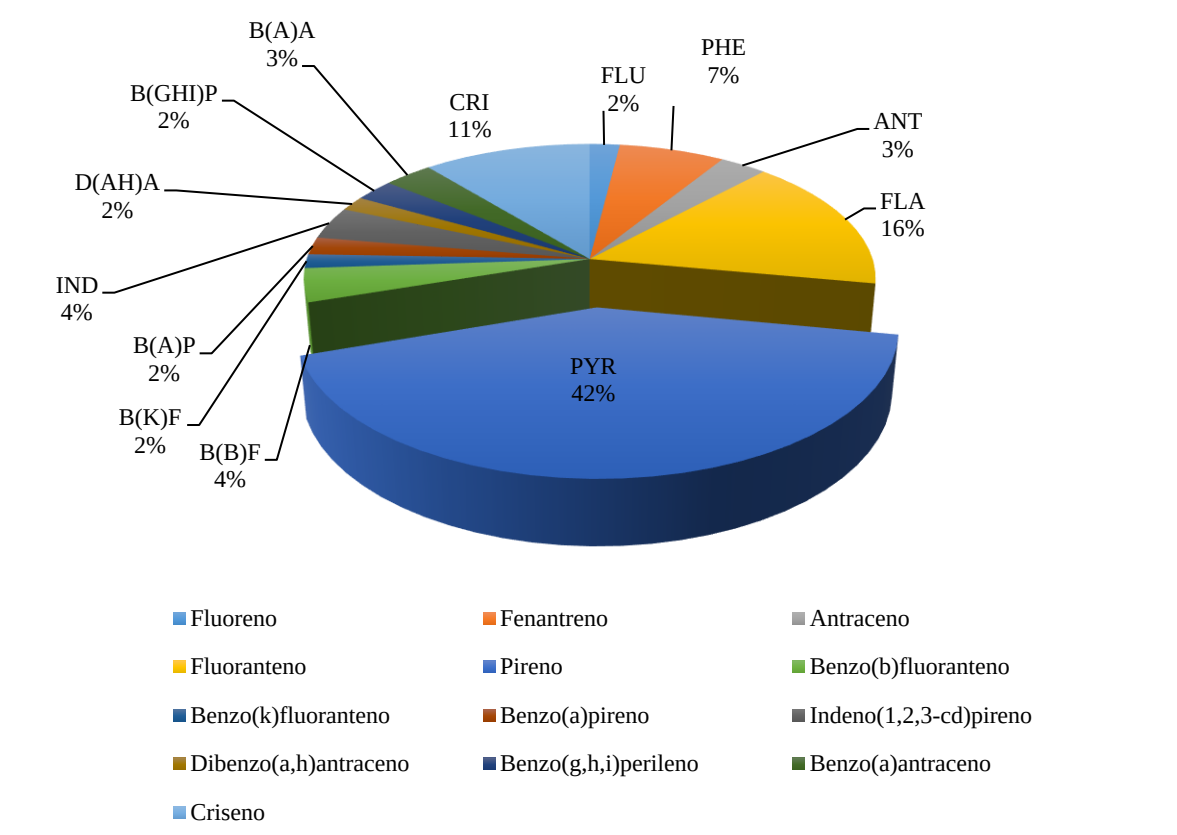


Figura 17. Porcentajes de PAHs en la vía panamericana.

Para la interpretación de los resultados que se mostrará a continuación, sobre los porcentajes de PAHs respecto al total, se ha considerado la recuperación mostrada por el método para cada compuesto.

De acuerdo a la figura 17, los PAHs predominantes en la vía panamericana son PYR y FLA, con 42% y 16%, respectivamente, estos son indicadores de motores diésel, junto con FLU, PHE y ANT que se encuentran en menores porcentajes (Miguel et al., 1998; Ho et al., 2002).

Las concentraciones promedio de PAHs presentes en la vía Popayán- San José de Isnos, se presentan en la tabla 11.

*Tabla 11.*Promedios de concentraciones (Media), máximo (max), mínimo (min), desviación estándar (SD) y el porcentaje de muestras en las que se detectó cada PAHs (% Muestra) en la vía Popayán- San José de Isnos.

PAHs	**Media (ng/g)**	**Max (ng/g)**	**Min (ng/g)**	**SD (ng/g)**	**% Muestra**
NAP	<LOD	-	-	-	-
ACY	<LOD	-	-	-	-
ACE	<LOD	-	-	-	-
FLU	8	-	-	2,1	7
PHE	15	38	7	10,2	87
ANT	10	21	6	5,7	27
FLA	37	98	9	21,6	100
PYR	74	309	29	75,4	93
B(B)F	12	28	7	6,1	93
B(K)F	10	13	7	3,7	13
B(A)P	10	15	7	4,9	27
IND	19	23	17	8,0	20
D(AH)A	8	16	6	2,6	100
B(GHI)P	11	17	6	5,4	27
B(A)A	10	18	6	5,9	60
CRI	18	50	7	13,0	80
∑PAHs	**241**				

Al igual que en la vía panamericana, se hallaron 13 de los 16 PAHs de estudio, los 3 primeros se encontraron por debajo del límite de detección (<LOD, tabla 8) y la mayoría de los PAHs presentan variaciones significativas en las concentraciones (SD), cercanas o mayores a la mitad de los promedios de PAHs.

Seis analitos de los 16 estudiados: fenantreno, fluoranteno, pireno, benzo(b)fluoranteno, dibenzo(a,h)antraceno y criseno, se encuentran en el 80% o más del total de las muestras analizadas en la vía Popayán- San José de Isnos. Estos compuestos se presentan en la mayoría de las muestras recolectadas en ambas vías de estudio. Por otro lado, para la vía Popayán-San José de Isnos, 9 de los 16 PAHs estudiados estaban presentes en menos del 30 % del total de muestras analizadas, lo que puede ser resultado de la heterogeneidad entre las muestras, atribuido al número de especies diferentes colectado por muestra.

Las concentraciones de los 16 PAHs expresadas en porcentajes respecto al total de PAHs en la vía Popayán- San José de Isnos, se encuentran representados en la figura 18.

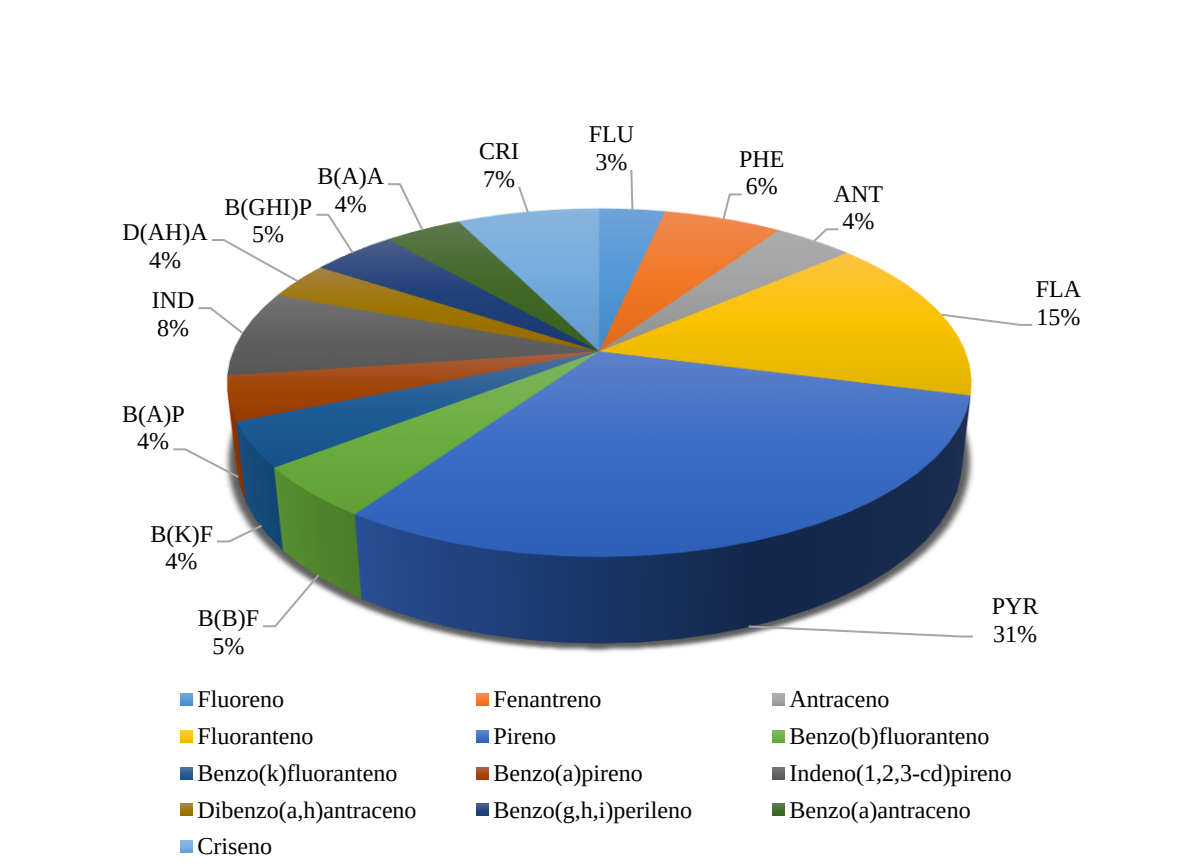


*Figura 18.*Porcentajes de PAHs en la vía Popayán- San José de Isnos.

Los PAHs predominantes en la vía Popayán-San José de Isnos son PYR con 31% y FLA con 15%, respecto al total de PAHs. Indicando, vehículos de motores diésel al igual que los compuestos predominantes en la vía panamericana (Miguel et al., 1998; Ho et al., 2002).

6.2.4. Comparación entre las concentraciones de PAHs encontradas en las zonas de estudio y el flujo vehicular.

La siguiente figura presenta una comparación entre las concentraciones de las dos áreas de estudio.

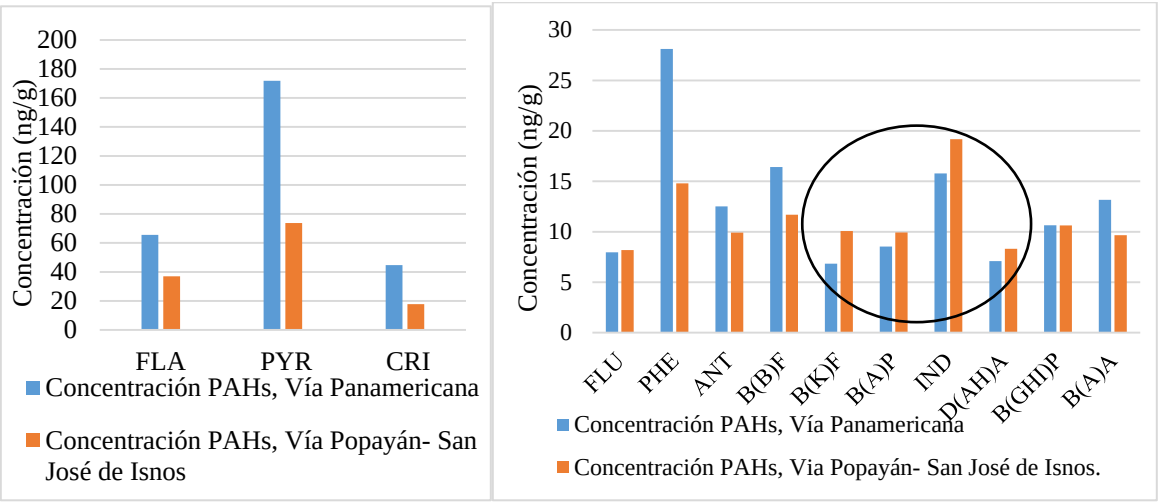


*Figura 19.*Comparación de las concentraciones entre la vía panamericana y Popayán- San José de Isnos.

De acuerdo a la figura 19, las mayores concentraciones de PAHs corresponden al sector de estudio de la vía panamericana, donde el total de PAHs es aproximadamente 1,7 veces mayor que en la vía Popayan-San José de Isnos, lo que se podría atribuir al tráfico vehicular predominante para la mayoría de automotores (tabla 6 y tabla 7). Esto indicaría una relación directa entre el tráfico vehicular y la presencia de estos contaminantes en la atmósfera (Nascimbene et al, 2014; Guidotti et al, 2003; Domeño et al, 2006; Blasco et al, 2006).

En ambos sectores predomina el FLA, PYR y CRI, indicadores de la combustión de diésel (Khalili et al. 1995; Miguel et al., 1998; Ho & Lee., 2002; Rogge et al. 1993), atribuido al tránsito de vehículos de carga pesada, específicamente por camiones (Upreti & Patel, 2012); adicionalmente, CRI también se origina por combustión de gas natural (Khalili et al. 1995) y PYR es un componente de los combustibles fósiles cuya disposición en la atmósfera está asociado con procesos de combustión (Domeño et al. 2006). PHE también es uno de los compuestos mayoritarios en la vía panamericana, lo que indica el tráfico como la principal fuente de contaminación en la ciudad, especialmente por camiones (Blasco et al., 2006).

Los compuestos B(K)F, B(A)P, IND y D(AH)A, PAHs de 5 y 6 anillos aromáticos, presentaron una mayor concentración en la vía Popayán-San José de Isnos, debido a que hay una mayor suspensión de partículas producto de las quemas a cielo abierto en este sector, cerca y en la carretera (figura 20), sumado a las partículas suspendidas por las emisiones del tubo de escape de los vehículos (Aguilar et al. 2007; Rogge et al. 1993). De acuerdo a lo

informado por Guidotti et al. (2003), los PAHs con alto peso molecular (5 y 6 anillos aromáticos) se adsorben exclusivamente en partículas en suspensión en la atmósfera, es decir que predominan en fase partícula.

En la vía Popayán- San José de Isnos las concentraciones de PAHs totales de las muestras 1-7 que fueron recolectadas en árboles del costado izquierdo son 1,9 veces mayor respecto al costado derecho de esta vía, esto se podría explicar debido a que en el costado izquierdo es donde hay la mayor cantidad de viviendas, además la vegetación de este sector no era tan abundante como la del costado derecho donde los árboles se encontraban rodeados de una mayor vegetación y a una distancia aproximada de 4 metros de la vía. En este sentido, se resalta la importancia de verificar la vegetación circundante al árbol para ser elegido dentro del muestreo.

No se descarta que en esta zona de la vía Popayán- San José de Isnos otra fuente importante de PAHs puede ser las actividades diarias que involucren combustión de las viviendas circundantes. Las concentraciones PAHs más altas corresponden a las muestras 3,4 y 5 (anexo 7) las cuales fueron recolectadas respectivamente en los árboles 13,12 y 11 (figuras 14 y 15, costado izquierdo) cercanos a las viviendas. Estas muestras se ven directamente afectadas por las actividades de los habitantes de estos lugares. En diferentes inspecciones en campo se pudo comprobar que en estos puntos aún cocinan con leña y realizan quemas a cielo abierto, lo que contribuyó a que la cantidad de PAHs bioacumulados en los líquenes de estas muestras fueran las más altas de toda esta vía (figura 20).

Figura 20. Registro fotográfico de la emisión de partículas por quema en la vía Popayán-San José de Isnos.

6.2.5 Relación entre las concentraciones de PAHs bioacumulados en líquenes de la familia Parmeliaceae y las fuentes de emisión.

Los líquenes han sido catalogados como adecuados biomonitores de la calidad del aire, ya que a diferencia de las plantas estos carecen de cutícula que limite la entrada de contaminantes; por ende, estos organismos absorben los contaminantes y nutrientes presentes en la atmósfera (Kodnik et al. 2015). Las concentraciones de PAHs encontradas en los líquenes se atribuyen a distintas fuentes y para determinar el origen de estas, diferentes autores han establecido relaciones entre estos contaminantes, como se muestra en la tabla 12.

*Tabla 12.*Relaciones entre PAHs y las fuentes de emisión según diferentes autores.

Relación	Valores	Fuentes	Referencia
PAHsComb/PAHsTot*	>0,7	Actividad vehicular, especialmente el escape del motor diésel.	Shukla et al., 2012
FLU/PYR	<1	Emisiones vehiculares y actividades humanas	Augusto et al. (2013)
PHE/ANT	<10	Combustión	Augusto et al. (2013); Shukla et al. 2012
	>10	Petrogénico	Yunker et al. (2002)
ANT/(ANT+PHE)	>0,1	Combustión	Yunker et al. (2002)
	<0,1	Petróleo	
FLU/(FLU+PYR)	>0,5	Combustión de hierba, madera o carbón.	Shukla et al. 2012; Yunker et al. (2002)
	0,4- 0,5	Combustión y emisiones de diésel, petróleo crudo de camiones diésel y automóviles	Yunker et al. (2002)
	<0,4	Petróleo	Yunker et al. (2002)
B(A)P/B(GHI)P	<0,6	No emisiones de tráfico	Puy et al. (2016)
	>0,6	Emisiones de tráfico	

*PAHsComb: Hidrocarburos aromáticos policíclicos de combustión; PAHsTot: Hidrocarburos aromáticos policíclicos totales.

A partir de las concentraciones promedio (tablas 10 y 11) se calculan las relaciones establecidas en la tabla 12, de acuerdo a los resultados obtenidos (Valor P, valor VH) se determina la fuente de emisión de los PAHs, como se indica en la tabla 13.

*Tabla 13.*Valores de las relaciones entre PAHs y las fuentes de emisión en cada zona de estudio, vía panamericana (P) y Vía Popayán-San José de Isnos (VH).

Relación	Valor P	Fuente (P)	Valor VH	Fuente (VH)
PAHsComb/PAHsTot	0,9	Actividad vehicular, especialmente el escape del motor diésel.	0,9	Actividad vehicular, especialmente el escape del motor diésel.
FLU/PYR	0,4	Emisiones vehiculares y actividades humanas	0,5	Emisiones vehiculares y actividades humanas
PHE/ANT	2,2	Combustión	1,5	Combustión
ANT/(ANT+PHE)	0,3	Combustión	0,4	Combustión
FLU/(FLU+PYR)	0,3	Petróleo	0,3	Petróleo
B(A)P/B(GHI)P	0,8	Emisiones de tráfico	0,9	Emisiones de tráfico

Teniendo en cuenta los valores de la tabla 13, la relación FLU/ (FLU+PYR), da como resultado una fuente petrogénica, debido a que en la mayoría de los casos la deposición atmosférica del petróleo puede estar vinculada a la emisión de aceites lubricantes sin quemar por el tubo de escape de los vehículos (Shukla et al.2009), adicionalmente durante la inspección en campo se pudo evidenciar la presencia de combustible derramado sobre las vías, generando con el paso de los vehículos la resuspensión de partículas de combustible, esto se evidenció especialmente en la vía Popayán- San José de Isnos, sobre la vía se encontró una vulcanizadora y recipientes con lubricantes abandonados (anexo 1, apartado D) lo que contribuye a la presencia de PAHs.

Siguiendo las relaciones de PAHsComb/PAHsTot; FLU/PYR; B(A)P/ B(GHI)P las emisiones se atribuyen al tráfico vehicular, especialmente dos de ellas confirman que la fuente principal de estas emisiones es ocasionada por combustión de diésel; según lo mencionado en el apartado de volumen de tráfico vehicular gran parte de los vehículos de transporte intermunicipal utilizan diésel como combustible, siendo este tipo de automotores

una de las principales fuentes de emisión de PAHs en la atmósfera. Las relaciones PHE/ANT; ANT/ (ANT+PHE) reportan la combustión como otra de las fuentes de PAHs, que pueden ser atribuidas a las actividades antropogénicas (quema de leña, pasto, carbón, entre otras), las cuales también generan gran cantidad de contaminantes atmosféricos, esto confirma lo encontrado durante las inspecciones en campo donde se pudo observar que en la vía Popayán-San José de Isnos se presentan cocinas con leña quemas de pasto y de elementos de hogar. Los vehículos son otra de las fuentes antropogénicas de combustión ya que estos realizan procesos de combustión interna a alta temperatura emitiendo contaminantes por el escape de los automotores.

La cantidad de anillos aromáticos que poseen los PAHs juegan un papel importante para determinar la relación entre la presencia de estos compuestos y el tráfico vehicular. En la tabla 14 se da a conocer la suma de PAHs promedio en cada sector, teniendo en cuenta la cantidad de anillos aromáticos, de acuerdo a la siguiente clasificación.

- 2 anillos: Naftaleno.
- 3 anillos: Acenaftileno. Acenafteno, Fluoreno, Fenantreno, Antraceno.
- 4 anillos: Fluoranteno, Pireno, Benz[a]antraceno, Criseno.
- 5 anillos: Benzo(b)fluoranteno, Benzo(k)fluoranteno, Benzo(a)pireno, Dibenzo(a,h)antraceno.
- 6 anillos: Indeno (1, 2,3-cd) pireno, Benzo(g,h,i)perileno.

*Tabla 14.*Suma de concentraciones PAHs por número de anillos (∑P y ∑VH) y porcentaje de anillos aromáticos (%P y %VH) en la vía panamericana (P) y Vía Popayán-San José de Isnos (VH).

Sector	**2 Anillos**	**3 Anillos**	**4 Anillos**	**5 Anillos**	**6 Anillos**
∑P (ng/g)	<LD	49	295	39	26
%P	-	12	72	10	6
∑VH (ng/g)	<LD	33	138	40	30
%VH	-	14	57	17	12

Diferentes investigaciones han empelado líquenes como biomonitores de la calidad del aire, en varias se menciona que los PAHs de 4 anillos aromáticos se presentan principalmente en zonas urbanas (Shukla et al. 2012; Augusto et al. 2009), además afirman que los PAHs con esta misma cantidad de anillos son provenientes de diésel (Guidotti et al, 2003). En el presente estudio la presencia de PAHs de 4 anillos aromáticos es mayoritaria en los dos sectores con un 72% (P) y 57%(VH) del total de aromáticos reportados. Guidotti et al, (2009) pudo determinar que los líquenes acumulan PAHs en la atmósfera de manera proporcional a la densidad del tráfico, siendo los de 4 anillos, aquellos con mayor concentración. Los PAHs

de combustión (4-6 anillos) representan más del 80% de los PAHs totales para las dos vías (88% -VP- y 86%-VH-), lo que confirma la influencia de la combustión en los dos sectores.

Teniendo en cuenta lo mencionado anteriormente cabe destacar que las condiciones topográficas de la vía Popayán-San José de Isnos es considerablemente diferente a las presentes en la vía panamericana, los vehículos que se desplazan por la vía hacia San José de Isnos deben esforzar más los automotores dado que la zona de estudio tiene una mayor pendiente que la vía panamericana, por lo tanto las emisiones serán mayores y el desgaste de los vehículos también. "Las emisiones de los vehículos se dan a través del tubo de escape, estas dependen de diferentes factores tales como las características del vehículo, su tecnología y sistema de control de emisiones; los vehículos más pesados tienden a emitir más contaminantes por kilómetro recorrido, además el mantenimiento del vehículo, la velocidad de circulación, la frecuencia e intensidad de las aceleraciones y las características del combustible juegan un papel determinante en las emisiones del escape" (Aguilar et al,2007). La baja calidad del combustible ha provocado un retraso en la inclusión de nuevas tecnologías para motores o industrias, que puede ser perjudiciales para el medio ambiente (Sánchez et al, 2018).

En Colombia según datos del Departamento Nacional de Planeación (DNP), indican que al año se registran 10.527 muertes y 67,8 millones de síntomas y enfermedades relacionadas con la contaminación del aire urbano (DNP, 2017). Según estas cifras, es de vital importancia que se tomen medidas pertinentes donde se logre que la flota de vehículos genere cero emisiones, para lograr esto se deben implementar nuevas tecnologías de transporte, como los vehículos eléctricos.

6.3. Potencial de Equivalencia Tóxico (PET).

Para el cálculo del PET se realizó la suma de los productos de cada concentración de PAHs y por su correspondiente TEF en cada muestra por sector (Anexo 9), a partir de estos resultados se determinó un valor del PET promedio, además de los valores máximos, mínimos y la desviación estándar en cada zona de estudio (tabla 15).

Tabla 15.Potencial de equivalencia tóxico (PET) en la vía Panamericana (P) y Vía Popayán-San José de Isnos (VH).

Sector	Media	Max	Min	SD
P	18	27	7	5,8
VH	13	39	6	8,5

El PET se calculó con el fin de realizar una evaluación del posible efecto cancerígeno de los PAHs producidos en cada sector de estudio; considerando que el nivel de concentración de los compuestos potencialmente cancerígenos encontrados en el liquen son una buena representación de aquellos encontrados en la atmósfera (Loppi et al., 2015; Augusto et al., 2013). Para determinar el PET, el B(A) P es utilizado como compuesto de referencia entre los PAHs con un valor de TEF=1, los otros PAHs tienen valores propios de TEF basados en su nivel cancerígeno (Soltani et al, 2015). De acuerdo a los valores de PET promedio en cada sector, se determina que el potencial de equivalencia tóxico en la vía panamericana fue 1.4 veces mayor que en la vía Popayán- San José de Isnos, lo que concuerda con el volumen de tráfico vehicular en esta vía que es considerablemente mayor, en consecuencia, presenta mayor toxicidad y riesgo para la salud.

A pesar de que el flujo vehicular en la vía panamericana es 20.4 veces mayor en un día promedio y la concentración de PAHs totales encontrados en esta vía superaron por 1.7 veces a los hallados en la vía Popayán-San José de Isnos, los valores de PET no son significativamente diferentes, debido a que los compuestos con mayor TEF (IND, B(A) P, D(AH)A, B(K)F) obtuvieron las más altas concentraciones en esta última vía, por ende al aplicar la fórmula del PET (Ec.5) se encontraron resultados relativamente similares entre los dos sectores de estudio. El predominio de los PAHs mencionados anteriormente en la vía Popayán-San José de Isnos podría ser explicado por el tráfico de los vehículos más pesados o por las actividades domésticas diarias donde se usan procesos de combustión ineficientes. Los resultados sugieren que aunque el volumen de tráfico vehicular puede ser un indicador de la presencia de potenciales cancerígenos, no necesariamente una vía con menor tráfico asegura un aire limpio. Se debe considerar otras fuentes y además del volumen de tráfico, el tipo de vehículo que transita por el sector junto con las condiciones topográficas.

7. CONCLUSIONES.

- El volumen de tráfico vehicular de motos, autos, buses, C2P, C2G es mayor en la vía panamericana y el flujo de tracto camiones de 3 ejes en adelante es mayor en la vía Popayán- San José de Isnos; es decir, que el tráfico pesado predomina en la vía Popayán-San José de Isnos, aunque el flujo promedio de vehículos totales es mayor 20.4 veces mayor en la vía panamericana.
- La concentración de PAHs total bioacumulados en líquenes de la familia Parmeliaceae en el sector de la vía panamericana es mayor que en la vía Popayán- San José de Isnos, predominando en ambos sectores el FLA, PYR y CRI como indicadores de la combustión de diésel, específicamente por camiones.
- Se concluye que existe una relación directa entre la concentración de PAHs y la cantidad de vehículos que transitan por cada uno de los sectores; ya que al comparar las dos zonas de estudio se evidenció que la vía panamericana al tener mayor tráfico vehicular presentó también mayor cantidad de PAHs totales bioacumulados en líquenes de la familia Parmeliaceae respecto a la vía Popayán- San José de Isnos
- El potencial de equivalencia tóxico (PET) en la vía panamericana fue 1.4 veces mayor respecto a la vía Popayán- San José de Isnos, sin embargo no es una diferencia significativa en comparación con el volumen de tráfico vehicular diario el cual es 20,4 veces mayor en la vía panamericana.
- El tráfico vehicular no necesariamente es el responsable de la presencia de compuestos potencialmente cancerígenos, para definir esto se debe considerar el tipo de vehículo, tipo de combustible, las condiciones de la vía y otras fuentes de combustión incompleta.

8. TRABAJOS FUTUROS.

A partir del presente trabajo se pudo determinar la necesidad de otros estudios futuros que aporten a la comprensión de la presencia de PAHs en ambientes urbanos y rurales. Estos estudios se mencionan a continuación:

- Realizar trabajos adicionales que contribuyan en la traducción de los valores de concentración de PAHs bioacumulados en los líquenes en equivalentes atmosféricos, para así poder utilizar la información con fines reglamentarios.

- Desarrollar una investigación en la ciudad de Popayán donde se compare la cantidad de PAHs bioacumulados en líquenes, con los obtenidos en muestreadores de aire pasivos.

- Llevar a cabo un estudio más amplio en la ciudad de Popayán donde se utilicen trasplantes de líquenes para el biomonitoreo de PAHs, teniendo en cuenta las variables atmosféricas.

- Estudiar diferentes alternativas que ayuden a mitigar el impacto ambiental de las emisiones del tráfico vehicular a la atmósfera.

RECONOCIMIENTO AL PRESENTE PROYECTO DE INVESTIGACIÓN.

El Comité científico del evento denominado "Congreso Nacional y Conferencia Internacional de Calidad de Aire y Salud Pública (CASAP)", que reúne a expertos del país y extranjeros en las áreas de calidad del aire, sostenibilidad y conservación de recursos, contaminación atmosférica, transporte, salud y efectos ambientales y gestión urbana, premió con el primer puesto a la comunicación en modalidad póster del presente trabajo presentada en este evento. El estudio fue premiado por su impacto y adecuado desarrollo experimental, además por su carácter interdisciplinar. (Anexo 10). Adicionalmente la editorial del CASAP publicará próximamente las memorias del evento, donde se podrá encontrar el artículo titulado "Influencia del tráfico vehicular en los niveles de hidrocarburos aromáticos policíclicos (PAHs) bioacumulados en el liquen Parmeliaceae y su potencial de equivalencia tóxico, en dos sectores de la ciudad de Popayán."

BIBLIOGRAFÍA

Aguilar, J. A., Echániz, G., Sandoval, P., Garibay, V., Iniestra, R., Allen, J., & Tejeda, D. (2007). Guía metodológica para la estimación de emisiones vehiculares en ciudades mexicanas. *Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales. Instituto Nacional de Ecología. Western Governors Association*.

Altamar, F. G. (26 de febrero de 2018). Diésel, aniquilador del medio ambiente. EL ESPECTADOR.

Augusto, S., Máguas, C., Matos, J., Pereira, M. J., Soares, A., & Branquinho, C. (2009). Spatial modeling of PAHs in lichens for fingerprinting of multisource atmospheric pollution. Environmental science & technology, 43(20), 7762-7769.

Augusto, S., Máguas, C., Matos, J., Pereira, M. J., & Branquinho, C. (2010). Lichens as an integrating tool for monitoring PAH atmospheric deposition: a comparison with soil, air and pine needles. *Environmental Pollution*, 158(2), 483-489.

Augusto, S., Pereira, M. J., Máguas, C., Soares, A., & Branquinho, C. (2012). Assessing human exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH) in a petrochemical region utilizing data from environmental biomonitors. *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A*, *75*(13-15), 819-830.

Augusto, S., Máguas, C., & Branquinho, C. (2013). Guidelines for biomonitoring persistent organic pollutants (POPs), using lichens and aquatic mosses–a review. *Environmental pollution*, 180, 330-338.

Augusto, S., Pereira, M. J., Máguas, C., & Branquinho, C. (2013). A step towards the use of biomonitors as estimators of atmospheric PAHs for regulatory purposes. *Chemosphere*, 92(5), 626-632.

Augusto, S., Sierra, J., Nadal, M., & Schuhmacher, M. (2015). Tracking polycyclic aromatic hydrocarbons in lichens: it's all about the algae. *Environmental pollution*, 207, 441-445.

Barreno Rodríguez, E., & Pérez-Ortega, S. (2003). *Líquenes de la reserva natural integral de Muniellos, Asturias*. KRK Ediciones.

Baumard, P., Budzinski, H., & Garrigue, P. (1998). Polycyclic aromatic hydrocarbons in sediments and mussels of the western Mediterranean sea. *Environmental Toxicology Chemistry*, 17, 765–776

Blasco, M., Domeño, C., & Nerín, C. (2006). Use of lichens as pollution biomonitors in remote areas: comparison of PAHs extracted from lichens and atmospheric particles sampled in and around the Somport tunnel (Pyrenees). *Environmental science & technology*, 40(20), 6384-6391.

Blasco, M., DomeÑo, C., Bentayeb, K., & Nerín, C. (2007). Solid-phase extraction clean-up procedure for the analysis of PAHs in lichens. *International Journal of Environmental and Analytical Chemistry*, 87(12), 833-846.

Blasco, M., Domeño, C., López, P., & Nerín, C. (2011). Behaviour of different lichen species as biomonitors of air pollution by PAHs in natural ecosystems. *Journal of Environmental Monitoring*, 13(9), 2588-2596.

Cabrerizo, A., Tejedo, P., Dachs, J., & Benayas, J. (2016). Anthropogenic and biogenic hydrocarbons in soils and vegetation from the South Shetland Islands (Antarctica). *Science of the Total Environment*, 569, 1500-1509.

Caillat, S., & Vakkilainen, E. (2013). Large-scale biomass combustion plants: An overview. In *Biomass Combustion Science, Technology and Engineering* (pp. 189-224). Woodhead Publishing.

Calatayud Lorente, V., Sanz Sánchez, M. J., & Sánchez Peña, G. (2000). Guía de líquenes epífitos.

Ciro, M. M. J., & Botero, L. R. B. (2010). Comunidades liquénicas como bioindicadores de calidad del aire del Valle de Aburrá. *Gestión y ambiente*, *13*(1), 97-110.

Coy, G; Bojaca, R; Duque, M. "Lineamientos De Control De Calidad Analítica". Colombia: Instituto de Hidrología, Meteorología y Estudios Ambientales IDEAM (2006).

De Santana, A. F. (2008). Determinación de compuestos orgánicos persistentes (COPS) en sedimentos del tramo submedio del Río Sao Francisco Estado de Bahía-Brasil (Doctoral dissertation, Universidade da Coruña).

Departamento Administrativo Nacional de Estadística DANE. (2008). Estimación E Interpretación del Coeficiente de Variación de la Encuesta Cocensal Censo General 2005 – Cgral. Recuperado de: https://www.dane.gov.co/files/investigaciones/boletines/censo/est_interp_coefvariacion.pdf

Departamento Nacional de Planeación DNP (2017). Los costos en la salud asociados a la degradación ambiental en Colombia ascienden a $20,7 billones. Recuperado de: https://www.dnp.gov.co/Paginas/Los-costos-en-la-salud-asociados-a-la-degradaci%C3%B3n-ambiental-en-Colombia-ascienden-a-%2420,7-billones-.aspx

Domeño, C., Blasco, M., Sánchez, C., & Nerín, C. (2006). A fast extraction technique for extracting polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) from lichens samples used as biomonitors of air pollution: Dynamic sonication versus other methods. *Analytica Chimica Acta*, 569(1-2) ,103-112.

Doel R, Lilley LC, Mann N, Rickeard DJ, Scorletti P, Stradling R, Zemroch PJ. (2005) Evaluation of automotive polycyclic aromatic hydrocarbon emissions, CONCAWE: Organización europea de empresas petrolíferas para la protección del medio ambiente y la salud. Report 4/05.Bruselas, Bélgica.

Fernández, R., Galarraga, F., Benzo, Z., Márquez, G., Fernández, A. J., Requiz, M. G., & Hernández, J. (2011). Lichens as biomonitors for the determination of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in Caracas Valley, Venezuela. *International Journal of Environmental and Analytical Chemistry*, 91(3), 230-240.

Ferreira V. (2007) Cromatografía: Fundamentos y práctica. Segunda edición. Zaragoza: Editorial Servicio de publicaciones de la Universidad de Zaragoza.

García-Martínez, M. (2005). *Los hidrocarburos policíclicos aromáticos asociados a combustibles fósiles: caracterización, análisis y remediación* (Doctoral dissertation, Minas).

Gómez Caicedo, H. D., del Valle Fernández Malavé, R., Galarraga Chacón, F., Hernández Maldonado, J., Roschman-González, A., & Escalona Trompiz, A. (2013). Biomonitoreo activo de hidrocarburos aromáticos policíclicos en el aire del valle de Caracas-Venezuela empleando el liquen Parmotrema sacti-angelii (Lynge) Hale. *Revista internacional de contaminación ambiental*, 29(4), 261-267.

Graney, J. R., Landis, M. S., Puckett, K. J., Studabaker, W. B., Edgerton, E. S., Legge, A. H., & Percy, K. E. (2017). Differential accumulation of PAHs, elements, and Pb isotopes by five lichen species from the Athabasca Oil Sands Region in Alberta, Canada. *Chemosphere*, 184, 700-710.

Greenfacts. Mutageno. Fecha de visita: 30/08/2019. De sitio web: https://www.greenfacts.org/es/glosario/mno/mutagen-mutagenico.htm

Guidotti, M., Stella, D., Dominici, C., Blasi, G., Owczarek, M., Vitali, M., & Protano, C. (2009). Monitoring of Traffic-Related Pollution in a Province of Central Italy with Transplanted Lichen Pseudoverniafurfuracea. *Bulletin of environmental contamination and toxicology*, 83(6), 852.

Guidotti, M., Stella, D., Owczarek, M., De Marco, A., & De Simone, C. (2003). Lichens as polycyclic aromatic hydrocarbon bioaccumulators used in atmospheric pollution studies. *Journal of Chromatography A*, *985*(1-2), 185-190.

Harvey, R. G. (1991). *Polycyclic aromatic hydrocarbons: chemistry and carcinogenicity*. CUP Archive.

Herrera, L. (28 de Enero de 2019). Hidrocarburos poliaromáticos y sus efectos tóxicos. Obtenido de Biota Et Scientia: https://biotaetscientia.com/2019/01/28/hidrocarburos-poliaromaticos-y-sus-efectos-toxicos/

Ho, K. F., & Lee, S. C. (2002). Identification of atmospheric volatile organic compounds (VOCs), polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) and carbonyl compounds in Hong Kong. *Science of the Total Environment*, *289* (1-3), 145-158.
J., Tretiach, M., Corana, F., Schiavo, F. L., Kodnik, D., Dainese, M., & Mannucci, B. (2014). Patterns of traffic polycyclic aromatic hydrocarbon pollution in mountain areas can be revealed by lichen biomonitoring: A case study in the Dolomites (Eastern Italian Alps). *Science of the Total Environment*, *475*, 90-96.

Khalili, N. R., Scheff, P. A., & Holsen, T. M. (1995). PAH source fingerprints for coke ovens, diesel and, gasoline engines, highway tunnels, and wood combustion emissions. *Atmospheric environment*, *29*(4), 533-542.

Kim, K. H., Jahan, S. A., Kabir, E., & Brown, R. J. (2013). A review of airborne polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) and their human health effects. *Environment international*, *60*, 71-80.

Kodnik, D., Carniel, F. C., Licen, S., Tolloi, A., Barbieri, P., & Tretiach, M. (2015). Seasonal variations of PAHs content and distribution patterns in a mixed land use area: a case study in NE Italy with the transplanted lichen Pseudevernia furfuracea. *Atmospheric environment*, *113*, 255-263.

Loppi, S., Pozo, K., Estellano, V. H., Corsolini, S., Sardella, G., & Paoli, L. (2015). Accumulation of polycyclic aromatic hydrocarbons by lichen transplants: comparison with gas-phase passive air samplers. *Chemosphere*, *134*, 39-43.

Malaspina, P., Casale, M., Malegori, C., Hooshyari, M., Di Carro, M., Magi, E., & Giordani, P. (2018). Combining spectroscopic techniques and chemometrics for the interpretation of lichen biomonitoring of air pollution. *Chemosphere*, *198*, 417-424.

Mastral, A. M., & Callen, M. S. (2000). A review on polycyclic aromatic hydrocarbon (PAH) emissions from energy generation. Environmental Science & Technology, 34(15), 3051-3057.

Miguel, AH, Kirchstetter, TW, Harley, RA y Hering, SV (1998). Emisiones en carretera de hidrocarburos aromáticos policíclicos en partículas y carbono negro de vehículos de gasolina y diésel. *Environmental Science & Technology*, *32* (4), 450-455.

MINTRANSPORTE (Ministerio de Transporte de Colombia). Diagnóstico de Transporte. (Bogotá D.C.: Grupo de Planificación Sectorial, 2011).

Morales-Pinzón, T. I. T. O., & Arias Mendoza, J. J. (2013). Vehicle fuel and sound contamination in the Pereira-Dosquebradas conurbation. *Luna Azul*, (37), 101-129.

Nascimbene, J., Tretiach, M., Corana, F., Schiavo, F. L., Kodnik, D., Dainese, M., &Mannucci, B. (2014). Patterns of traffic polycyclic aromatic hydrocarbon pollution in mountain areas can be revealed by lichen biomonitoring: A case study in the Dolomites (Eastern Italian Alps). *Science of the Total Environment, 475*, 90-96.

Niemi, G.J., McDonald, M.E., 2004. *Application of ecological indicators. Annu. Rev.Ecol. Evol. Syst. 35*, 89e111.

Nisbet, I. C., & Lagoy, P. K. (1992). Toxic equivalency factors (TEFs) for polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs). *Regulatory toxicology and pharmacology*, *16*(3), 290-300.

Niu, L., Zhou, Y., Xu, C., Zhang, C., Zhou, J., Zhang, X., & Liu, W. (2019). Solid fuel combustion as a major contributor of polycyclic aromatic hydrocarbons in rural China: Evidence from emission inventory and congener profiles in tree bark. *Environmental Pollution*, *246*, 621-629.

Landis, M. S., Studabaker, W. B., Pancras, J. P., Graney, J. R., Puckett, K., White, E. M., & Edgerton, E. S. (2019). Source apportionment of an epiphytic lichen biomonitor to elucidate the sources and spatial distribution of polycyclic aromatic hydrocarbons in the Athabasca Oil Sands Region, Alberta, Canada. Science of the Total Environment, 654, 1241-1257.

Lilley, L. L., & Aucker, R. (2000). *Farmacología en enfermería.* Madrid, España:Harcourt.

Pérez Porto Julián. (2018). Definición de hifas. 30/08/2019, de Definición.De. Sitio web: https://definicion.de/hifas/

Pérez Porto Julián; Gardey Ana. (2016). Definición de bioacumulación. 30/08/2019, de Definicion.De. Sitio web: https://definicion.de/bioacumulacion/

Puy-Alquiza, M. J., Reyes, V., Wrobel, K., Wrobel, K., Elguera, J. C. T., & Miranda-Aviles, R. (2016). Polycyclic aromatic hydrocarbons in urban tunnels of Guanajuato city (Mexico) measured in deposited dust particles and in transplanted lichen Xanthoparmelia mexicana (Gyeln.) Hale. *Environmental Science and Pollution Research*, *23*(12), 11947-11956.

Real Academia Española. (2018). Diccionario de la lengua española. Sitio web: http://www.rae.es/rae.html

Real academia de Ingeniería (2018). Diccionario Español de Ingeniería. Sitio web: http://diccionario.raing.es/

Resolución de la Junta Universitaria - RDC Nº 166. Agencia Nacional de Vigilancia Sanitaria – ANVISA. 24 de Julio de 2017.

Rogge, WF, Hildemann, LM, Mazurek, MA, Cass, GR y Simoneit, BR (1993). Fuentes de aerosol orgánico fino. 2. Automóviles sin catalizador y equipados con catalizador y camiones diesel de servicio pesado. *Ciencia y tecnología ambiental*, *27* (4), 636-651.

Rueda, I. (2017). Líquenes como bioindicadores de la calidad del aire. Facultad de Farmacia, Universidad Complutense. Link de acceso: http://147.96.70.122/Web/TFG/TFG/Memoria/IRENE%20MARES%20RUEDA.pdf

Sánchez, M. D. G. (2008). *Manual de marketing*. ESIC Editorial. Pag.158.

Sánchez, N. E. (2014). *Estudio de la formación de hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAP) en la pirólisis de acetileno y etileno* (Doctoral dissertation, Universidad de Zaragoza).

Sánchez, N. E., Sánchez, A. L., & Espinosa, P. M. (2018). Levels of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs) in Atmospheric Environment of Urban Areas in Latin America. *Polycyclic Aromatic Compounds*, *38*(2), 110-119.

Satya, Dalip K. Upreti & D. K. Patel (2012). Rinodina sophodes (Ach.) Massal.: a bioaccumulator of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in Kanpur City, India. Environmental Monitoring and Assessment, 184, 229-238

Schrlau, J. E., Geiser, L., Hageman, K. J., Landers, D. H., & Simonich, S. M. (2011). Comparison of lichen, conifer needles, passive air sampling devices, and snowpack as passive sampling media to measure semi-volatile organic compounds in remote atmospheres. *Environmental science & technology*, *45*(24), 10354-10361.

Semana. (2019). Vehículos eléctricos y reducción de emisiones, las apuestas para mejorar la calidad del aire en el país. Semana sostenible.

Shukla, V., & Upreti, D. K. (2009). Polycyclic aromatic hydrocarbon (PAH) accumulation in lichen, Phaeophyscia hispidula of DehraDun City, Garhwal Himalayas. *Environmental monitoring and assessment, 149*(1-4), 1-7.

Shukla, V., Upreti, D. K., Patel, D. K., & Tripathi, R. (2009). Accumulation of polycyclic aromatic hydrocarbons in some lichens of Garhwal Himalayas, India. *International Journal of Environment and Waste Management, 5*(1-2), 104-113.

Shukla, V., Patel, D. K., Upreti, D. K., & Yunus, M. (2012). Lichens to distinguish urban from industrial PAHs. Environmental chemistry letters, 10(2), 159-164.

Shukla, V., Upreti, D. K., Patel, D. K., & Yunus, M. (2013). Lichens reveal air PAH fractionation in the Himalaya. *Environmental chemistry letters, 11*(1), 19-23.

Studabaker, W. B., Krupa, S., Jayanty, R. K. M., & Raymer, J. H. (2012). Measurement of polynuclear aromatic hydrocarbons (PAHs) in epiphytic lichens for receptor modeling in the Athabasca Oil Sands Region (AOSR): A pilot study. In *Developments in Environmental Science* (Vol. 11, pp. 391-425). Elsevier.

Studabaker, W. B., Puckett, K. J., Percy, K. E., & Landis, M. S. (2017). Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons, dibenzothiophene, and alkylated homologs in the lichen Hypogymnia physodes by gas chromatography using single quadrupole mass spectrometry and time-of-flight mass spectrometry. *Journal of Chromatography A, 1492*, 106-116.

Soltani, N., Keshavarzi, B., Moore, F., Tavakol, T., Lahijanzadeh, A. R., Jaafarzadeh, N., & Kermani, M. (2015). Ecological and human health hazards of heavy metals and polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in road dust of Isfahan metropolis, Iran. *Science of the Total Environment*, *505*, 712-723.

Soto, E. (2018). *Determinación Taxonómica de líquenes.* Cali: Universidad del Valle.

The free dictionary (2019). The free dictionary by Farlex. Sitio web: https://es.thefreedictionary.com/absorci%C3%B3n

United States. Environmental Protection Agency (USEPA). Environmental Criteria, & Assessment Office (Cincinnati. (1993). *Provisional guidance for quantitative risk assessment of polycyclic aromatic hydrocarbons.* Environmental Criteria and Assessment Office, Office of Health and Environmental Assessment, US Environmental Protection Agency.

Upreti, D. K., & Patel, D. K. (2012). Rinodina sophodes (Ach.) Massal.: a bioaccumulator of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in Kanpur City, India. *Environmental monitoring and assessment*, *184*(1), 229-238.

USEPA-Environmental Protection Agency. Provisional guidance for quantitative risk assessment of polycyclic aromatic hydrocarbons. Washington, DC: Office of Research and Development; 1993 [EPA-600/R-93-089].

Usenko, S., Simonich, S. L. M., Hageman, K. J., Schrlau, J. E., Geiser, L., Campbell, D. H., & Landers, D. H. (2010). Sources and deposition of polycyclic aromatic hydrocarbons to western US national parks. *Environmental science & technology*, *44*(12), 4512-4518.

Van der Wat, L., & Forbes, P. B. (2015). Lichens as biomonitors for organic air pollutants. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, *64*, 165-172.

Vingiani, S., De Nicola, F., Purvis, W. O., Concha-Grana, E., Muniategui-Lorenzo, S., López-Mahía, P.,... & Adamo, P. (2015). Active biomonitoring of heavy metals and PAHs with mosses and lichens: a case study in the cities of Naples and London. *Water, Air, & Soil Pollution*, *226*(8), 240.

Wade, L. G., Pedrero, A. M., & García, C. B. (2004). *Química orgánica*. Madrid: Pearson Educación.

Yebra-Biurrun, M. C., & Cespón-Romero, R. M. (2007). Fast ultrasound-assisted extraction of copper, iron, manganese and zinc from human hair samples prior to flow injection flame atomic absorption spectrometric detection. Analytical and bioanalytical chemistry, 388(3), 711-716.

Yunker, M. B., Macdonald, R. W., Vingarzan, R., Mitchell, R. H., Goyette, D., & Sylvestre, S. (2002). PAHs in the Fraser River basin: a critical appraisal of PAH ratios as indicators of PAH source and composition. *Organic geochemistry*, *33*(4), 489-515.

Zhou, R., Yang, R., & Jing, C. (2018). Polycyclic aromatic hydrocarbons in soils and lichen from the western Tibetan Plateau: Concentration profiles, distribution and its influencing factors. *Ecotoxicology and environmental safety*, *152*, 151-158.

ANEXOS.

Anexo 1. Evidencias fotográficas del desarrollo de la investigación.

A. Instalación de cámaras en los dos sectores de estudio.

*Figura A1.*Instalación de cámara vía Popayán- San José de Isnos. (2°26'25.7"N 76°35'05.9"W).

*Figura A2.*Instalación de cámara vía Panamericana. (2°27'52.7"N76°35'17.3").

B. Levantamiento topográfico.

*Figura A 3.*Levantamiento topográfico con dron Panton 4 pro plus.

C. Evidencias del muestreo en campo

Figura A4. Muestreo en la vía Panamericana.

Figura A 5. Muestreo en la vía Popayán- San José de Isnos.

D. Hallazgos novedosos en la vía Popayán- San José de Isnos.

*Figura A 6.*Recipientes de hidrocarburos encontrados en la vía

*Figura A 7.*Vulcanizadora en la vía Popayán- San José de Isnos

Anexo 2. Clasificación taxonómica.

Universidad del Valle

Cali, Marzo 19 de 2019

Certificado.

Por medio de la presente certifico que realicé la determinación taxonómica de muestras de líquenes colectadas por la Profesora NAZLY EFREDIS SANCHEZ PEÑA**.**

Se presenta a continuación el listado de especies identificadas.

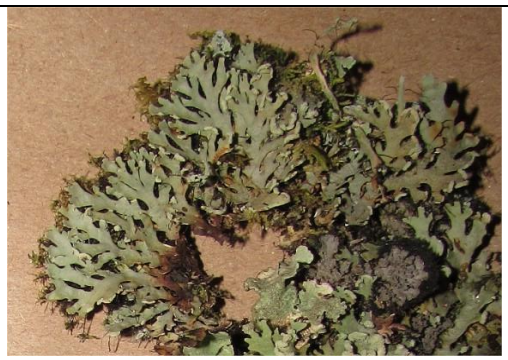
Código	Especie
M4	Parmotrema perlatum
M8	Punctelia columbiana Sérus.
M5	Punctelia columbiana Sérus.
M6	Hypotrachyna sp.
M1	Hypotrachyna rhabdiformis (Kurok.) Hale
M2	Heterodermia obscurata (Nyl.) Trevis
M2	Hypotrachyna rhabdiformis (Kurok.) Hale
M7	Punctelia columbiana Sérus.
M3	Parmeliella sp.

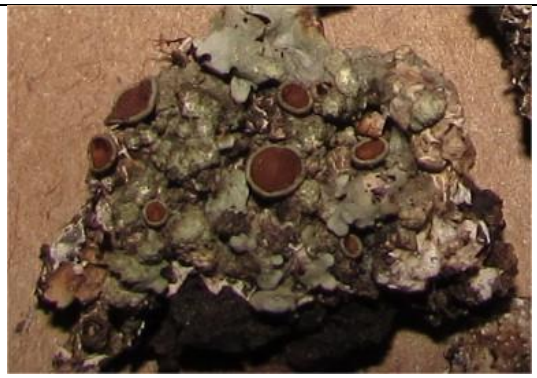
Atentamente,

Edier Alberto Soto Medina
CC. 14702091
Biólogo, Ph.D. Universidad del Valle
Tarjeta profesional 14702091

Imágenes de las especies identificadas.

Tabla A 1. Especies y fotos de los líquenes identificados.

Especie de liquen	**Foto**
Hypotrachyna rhabdiformis (Kurok.) Hale	
Heterodermia obscurata (Nyl.) Trevis	
Hypotrachyna rhabdiformis (Kurok.) Hale	

Parmeliella sp.	
Parmotrema perlatum	
Punctelia columbiana Sérus.	
Hypotrachyna sp.	

Anexo 3.Distancias horizontales de cada sector de estudio.

Tabla A2. Distancias horizontales en el costado derecho de la vía Popayán- San José de Isnos.

# Árbol	Distancia horizontal (m)
0-1	114,2
1-2	84,9
2-3	73,2
3-4	13,33
4-5	8,74
5-6	2,42
6-7	1,24
7-8	3,6
8-9	2,90
9-10	4,68
10-11	3,3
11-12	5
12-13	22,30
13-14	242,6
14-15	126,2
15-16	54
16-17	16,6
17-18	14,6
18-19	78
19-20	33,2
20-21	24,3
21-22	9,2
22-Km2	20,80

Tabla A3.Distancias horizontales en el costado izquierdo de la vía Popayán- San José de Isnos.

# Árbol	Distancia horizontal (m)
0-1	19,32
1-2	2,99
2-3	5,69
3-4	31
4-5	1,75
5-6	68,8
6-7	143,8
7-8	8,50
8-9	18,6
9-10	2,74
10-11	12,62
11-12	161,1
12-13	41,8
13-14	56,7
14-15	2,6
15-16	183,7
16-17	50,8
17-18	145,4
18-Km2	31,1

*Tabla A4.*Distancias horizontales en el separador central de la vía panamericana.

# Árbol	Distancia horizontal (m)
0-1	20,9
1-2	43,5
2-3	21,8
3-4	20,5
4-5	20,4
5-6	15,4
6-7	48,6
7-8	19,8
8-9	19,2
9-10	20,8
10-11	13,2
11-12	10,8
12-13	48,1
13-14	17,6
14-15	18,4
15-16	15,6
16-17	19,3
17-18	32,6
18-19	15,1
19-20	19,6
20-21	19
21-22	31,2
22-23	31,4
23-24	21,9

# Árbol	Distancia horizontal (m)
24-25	38,9
25-26	37,1
26-27	19,8
27-28	60,4
28-29	20,1
29-30	22,4
30-31	21,6
31-32	35,5
32-33	21,3
33-34	19,2
34-35	22,3
35-36	20,3
36-37	35,6

Anexo 4. Formatos diligenciados de muestreo en campo.

- **Formatos Vía Popayán- San José de Isnos**

Fecha	27 /04/2019
Muestreador	Lina Ortega
Lugar	Popayán- SJI costado izquierdo
# Muestra	1
# Árbol	18
Foto #	9:01-9:08
Observaciones	Líquenes de las especies: Hypotrachyna Rabdiformis, Parmotrema Perlatum, Hipotrachyna SP, Punctelia

Fecha	27 /04/2019
Muestreador	Lina Ortega
Lugar	Popayán- SJI costado izquierdo
# Muestra	2
# Árbol	14
Foto #	9:36-9:37
Observaciones	Líquenes de las especies: Hypotrachyna Rabdiformis, Parmotrema Perlatum, Punctelia

Fecha	27 /04/2019
Muestreador	Lina Ortega
Lugar	Popayán- SJI costado izquierdo
# Muestra	3
# Árbol	13
Foto #	427,223
Observaciones	Líquenes de las especies: Hypotrachyna Rabdiformis, Parmotrema Perlatum.

Fecha	27 /04/2019
Muestreador	Lina Ortega
Lugar	Popayán- SJI costado izquierdo
# Muestra	4
# Árbol	12
Foto #	10:12-10:13
Observaciones	Líquenes de las especies: Hypotrachyna Rabdiformis, Parmotrema Perlatum,

Fecha	27 /04/2019
Muestreador	Lina Ortega
Lugar	Popayán- SJI costado izquierdo
# Muestra	5
# Árbol	11
Foto #	10:34-10:36

Observaciones	Líquenes de las especies: Hypotrachyna Rabdiformis, Parmotrema Perlatum, Punctelia Columbiana

Fecha	27 /04/2019
Muestreador	Lina Ortega
Lugar	Popayán- SJI costado izquierdo
# Muestra	6
# Árbol	9
Foto #	11:04-11:05
Observaciones	Líquenes de las especies: Hypotrachyna Rabdiformis, Parmotrema Perlatum.

Fecha	27 /04/2019
Muestreador	Lina Ortega
Lugar	Popayán- SJI costado izquierdo
# Muestra	7
# Árbol	10
Foto #	11:38-11:39
Observaciones	Líquenes de las especies: Hypotrachyna Rabdiformis, Parmotrema Perlatum, Punctelia

Fecha	27 /04/2019
Muestreador	Diana Uribe
Lugar	Popayán- SJI costado derecho
# Muestra	8
# Árbol	19
Foto #	450-621-322
Observaciones	Líquenes de las especies: Parmotrema Perlatum

Fecha	27 /04/2019
Muestreador	Diana Uribe
Lugar	Popayán- SJI costado derecho
# Muestra	9
# Árbol	18
Foto #	829-849
Observaciones	Líquenes de las especies: Parmotrema Perlatum

Fecha	27 /04/2019
Muestreador	Diana Uribe
Lugar	Popayán- SJI costado derecho
# Muestra	10
# Árbol	15
Foto #	756
Observaciones	Líquenes de las especies: Parmotrema Perlatum, Hypotrachyna Rabdiformis

Fecha	27 /04/2019
Muestreador	Diana Uribe
Lugar	Popayán- SJI costado derecho
# Muestra	11
# Árbol	13
Foto #	758-048
Observaciones	Líquenes de las especies: Parmotrema Perlatum, Hypotrachyna Rabdiformis

Fecha	27 /04/2019
Muestreador	Diana Uribe
Lugar	Popayán- SJI costado derecho
# Muestra	12
# Árbol	12
Foto #	334-359
Observaciones	Líquenes de las especies: Parmotrema Perlatum, Hypotrachyna Rabdiformis

Fecha	27 /04/2019
Muestreador	Diana Uribe
Lugar	Popayán- SJI costado derecho
# Muestra	13
# Árbol	11
Foto #	252-309
Observaciones	Líquenes de las especies: Parmotrema Perlatum

Fecha	27 /04/2019
Muestreador	Diana Uribe
Lugar	Popayán- SJI costado derecho
# Muestra	14
# Árbol	2
Foto #	549-619
Observaciones	Líquenes de las especies: Parmotrema Perlatum, Hypotrachyna Rabdiformis

Fecha	27 /04/2019
Muestreador	Diana Uribe
Lugar	Popayán- SJI costado derecho
# Muestra	15
# Árbol	1
Foto #	11:55-11:57
Observaciones	Líquenes de las especies: Parmotrema Perlatum, Hypotrachyna Rabdiformis,Punctelia Columbiana

- **Formatos vía Panamericana**

Fecha	26 /04/2019
Muestreador	Lina Ortega
Lugar	Vía Panamericana
# Muestra	1
# Árbol	37
Foto #	7:19-7:20
Observaciones	Líquenes de las especies: Parmotrema SP, Hypotrachyna Rabdiformis

Fecha	26 /04/2019
Muestreador	Lina Ortega
Lugar	Vía Panamericana
# Muestra	2
# Árbol	36
Foto #	733-829
Observaciones	Líquenes de las especies: Parmotrema Perlatum, Hypotrachyna Rabdiformis,Punctelia

Fecha	26 /04/2019
Muestreador	Lina Ortega
Lugar	Vía Panamericana
# Muestra	3
# Árbol	35
Foto #	8:20
Observaciones	Líquenes de las especies: Parmotrema Perlatum, Hypotrachyna Rabdiformis,Punctelia

Fecha	26 /04/2019
Muestreador	Diana Uribe
Lugar	Vía Panamericana
# Muestra	4
# Árbol	11
Foto #	356-916
Observaciones	Líquenes de las especies: Parmotrema Perlatum,Punctelia Columbiana

Fecha	26 /04/2019
Muestreador	Diana Uribe
Lugar	Vía Panamericana
# Muestra	5
# Árbol	34
Foto #	732-837
Observaciones	Líquenes de las especies: Parmotrema Perlatum

Fecha	26 /04/2019
Muestreador	Lina Ortega
Lugar	Vía Panamericana
# Muestra	6
# Árbol	32
Foto #	8:36-8:46

Observaciones	Líquenes de las especies: Parmotrema Perlatum

Fecha	26 /04/2019
Muestreador	Diana Uribe
Lugar	Vía Panamericana
# Muestra	7
# Árbol	31
Foto #	824-214
Observaciones	Líquenes de las especies: Parmotrema Perlatum, Punctelia Columbiana

Fecha	26 /04/2019
Muestreador	Lina Ortega
Lugar	Vía Panamericana
# Muestra	8
# Árbol	29
Foto #	9:00
Observaciones	Líquenes de las especies: Parmotrema Perlatum, Hypotrac

Fecha	26 /04/2019
Muestreador	Diana Uribe
Lugar	Vía Panamericana
# Muestra	9
# Árbol	26
Foto #	832-859

Observaciones	Líquenes de las especies: Parmotrema Perlatum,

Fecha	26 /04/2019
Muestreador	Lina Ortega
Lugar	Vía Panamericana
# Muestra	10
# Árbol	22
Foto #	9:22-9:24
Observaciones	Parmotrema Perlatum, Hypotrachyna Rabdiformis,Punctelia

Fecha	26 /04/2019
Muestreador	Diana Uribe
Lugar	Vía Panamericana
# Muestra	11
# Árbol	21
Foto #	535,558,601
Observaciones	Líquenes de las especies: Parmotrema Perlatum,Punctelia Columbiana,Parmelia sp

Fecha	26 /04/2019
Muestreador	Lina Ortega
Lugar	Vía Panamericana
# Muestra	12
# Árbol	17
Foto #	9:40-9:41

Observaciones	Parmotrema Perlatum, Hypotrachyna Rabdiformis,Punctelia

Fecha	26 /04/2019
Muestreador	Diana Uribe
Lugar	Vía Panamericana
# Muestra	13
# Árbol	18
Foto #	436-024
Observaciones	Líquenes de las especies: Parmotrema Perlatum, Punctelia Columbiana

Fecha	26 /04/2019
Muestreador	Lina Ortega
Lugar	Vía Panamericana
# Muestra	14
# Árbol	3
Foto #	10:13
Observaciones	Líquenes de las especies: Parmotrema sp, Hypotrachyna Rabdiformis.

Fecha	26 /04/2019
Muestreador	Diana Uribe
Lugar	Vía Panamericana
# Muestra	15
# Árbol	1
Foto #	532-537-820
Observaciones	Líquenes de las especies: Parmotrema Perlatum,punctelia Columbiana, Hypotrachyna Rabdiformis

Anexo 5. Optimización del método analítico.

Para la optimización del método analítico se realizaron dos test (Test de columna clean up y test para determinación de la masa del liquen). A continuación, se describen los dos test mencionados, se presentan los resultados y se realiza la elección de la mejor alternativa para el desarrollo del método analítico empleado para el análisis de los PAHs en los líquenes.

a. Test de columna de clean up:

- Elección de la fase estacionaria empleada en la columna de clean up.

Se realizó el tratamiento de dos muestras, cada una de 0,2 g (peso seco) de liquen pulverizado de la familia Parmeliaceae, seguido de una doble extracción en baño de ultrasonido, cada una durante 10 minutos con 2 mL de hexano: diclorometano 3:2, luego se centrifugaron; obteniendo un extracto combinado de 3 mL por muestra, estos se concentraron a 1 mL. Uno de los extractos concentrados se pasó por la columna de clean up, empleando como fase estacionaria 2 g de sílica gel, 1 g de alúmina, 0,5g de sulfato de sodio anhídrido, con diclorometano como fase móvil. La segunda muestra se pasó por la columna de clean up, empleando como fase estacionaria 2 g de sílica gel activada y 1 g de alúmina activada (activadas a 150°C por 2 horas), 0,5g de sulfato de sodio anhídrido y diclorometano como fase móvil. Los resultados de las áreas obtenidas por el GC-MS de los 16 PAHs se presentan en la tabla A5.

PAHs/ ÁREAS	**S-A**	**SA-AA**
Naftaleno	1057	10376
Acenaftileno	603	5496
Acenafteno	ND	ND
Fluoreno	3688	5628
Fenantreno	25796	53118
Antraceno	2613	5540

Tabla A 5. Áreas de los PAHs obtenidos del extracto

PAHs/ ÁREAS	**S-A**	**SA-AA**
Fluoranteno	15442	63723
Pireno	17747	96205
Benzo(b)fluoranteno	7205	24520
Benzo(k)fluoranteno	5584	12646
Benzo(a)pireno	ND	45951
Indeno(1,2,3-cd)pireno	3669	13763
Dibenzo(a,h)antraceno	2972	13552
Benzo(g,h,i)perileno	5183	16816
Benzo(a)antraceno	3781	10798
Criseno	8583	16503

concentrado que pasó por la columna de clean up, empleando en la fase estacionaria: sílica gel y alúmina (S-A) y sílica gel activada y alúmina activada (SA-AA).

ND: No detectado

A continuación, se presenta la figura A8, donde se realiza un paralelo entre los dos tipos de columna.

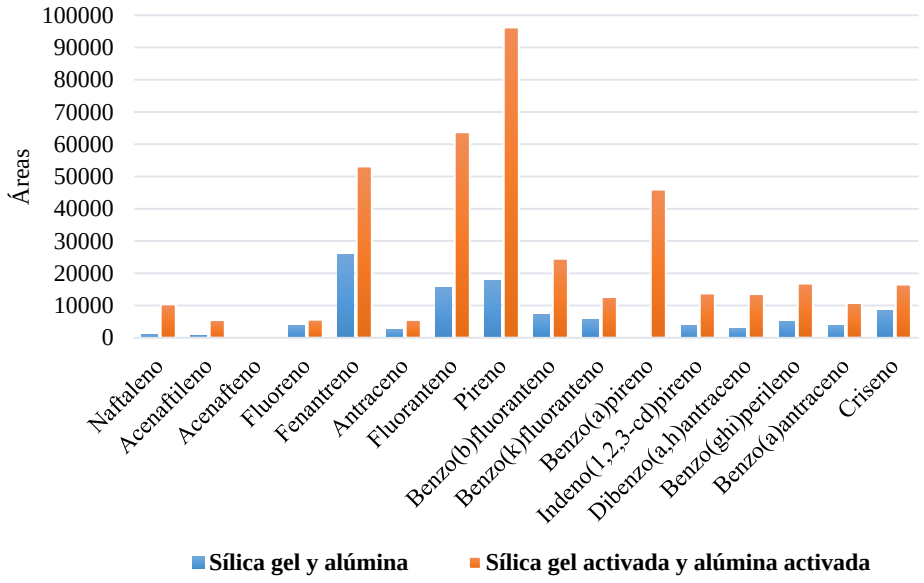


*Figura A8.*Comparación del test de los dos tipos de columnas, respecto a la fase estacionaria.

Se observa que la columna de clean up con silica gel activada y alúmina activada como fase estacionaria presenta mayor afinidad con los PAHs de interés, por ende, mejores resultados.

- Selección de la fase móvil empleada en la columna de clean up.

El tratamiento de las dos muestras de líquenes de la familia Parmeliaceae empleadas para esta evaluación se realizó análogamente al test descrito anteriormente. La primera muestra se pasó por la columna de clean up, empleando como fase estacionaria 2 g de sílica gel activada y 1 g de alúmina activada, con diclorometano como fase móvil. La segunda muestra se pasó por la columna de clean up, utilizando como fase estacionaria 2 g de sílica gel activada y 1 g de alúmina activada, con hexano: diclorometano 3:2 como fase móvil. Los resultados obtenidos por el GC-MS de las dos muestras se presentan en la tabla A6.

*Tabla A 6.*Áreas de los PAHs del extracto concentrado que pasó por la columna de clean up, empleando como fase móvil diclorometano y hexano: diclorometano 3:2.

PAHs/ÁREAS.	**Diclorometano**	**Hexano: Diclorometano**
Naftaleno	10376	2708
Acenaftileno	5496	2420
Acenafteno	-	1012
Fluoreno	5628	7358
Fenantreno	53118	107176
Antraceno	5540	7415
Fluoranteno	63723	144292
Pireno	96205	175495
Benzo(b)fluoranteno	24520	41117
Benzo(k)fluoranteno	12646	14022
Benzo(a)pireno	45951	52957
Indeno(1,2,3-cd)pireno	13763	19065
Dibenzo(a,h)antraceno	13552	16084
Benzo(g,h,i)perileno	16816	25327
Benzo(a)antraceno	10798	11374
Criseno	16503	44384

La figura A9, presenta un paralelo respecto a la fase móvil de los dos tipos de columna.

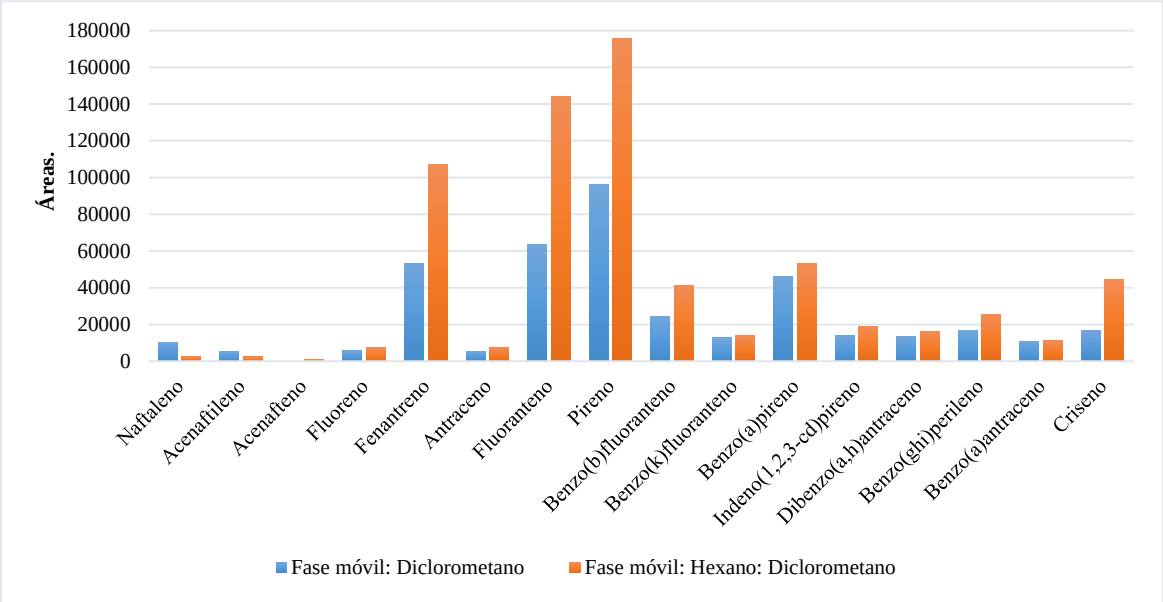


*Figura A 9.*Comparación de los dos tipos de columnas de clean up, empleando como fase móvil diclorometano o hexano: diclorometano.

La figura A9 muestra el tipo de fase móvil empleada en la columna del clean up, presentando mejores resultados utilizando hexano: diclorometano 3:2.

b. Test para la determinación de la masa del liquen.

Dos muestras de líquenes pulverizados de la familia Parmeliaceae fueron evaluadas, tomando diferentes cantidades de masa, una muestra con 0,3 g (peso seco) y otra con 0,4 g (peso seco), el tratamiento de las dos muestras se realizó de forma similar al test anterior, con 3 extracciones en baño ultrasónico, cada una con 2 mL de hexano: diclorometano 3:2, se centrifugó, obteniendo un extracto combinado de 6 mL, se concentró a 0,5 mL y se pasó por la columna de clean up, empleando como fase estacionaria 2 g de sílica gel activada y 1 g de alúmina activada, con hexano: diclorometano 3:2 como fase móvil. Los resultados de los PAHs obtenidos para 0,3 g y 0,4 g (peso seco) de liquen se presentan en la tabla A7.

*Tabla A 7.*Concentración de los PAHs en 0,3 g y 0,4 g (peso seco) de liquen.

PAHs/ Concentración (µg/L)	**0,3 g**	**0,4 g**
Naftaleno	<LOD	<LOD
Acenaftileno	<LOD	<LOD

PAHs/ Concentración (µg/L)	0,3 g	0,4 g
Acenafteno	<LOD	<LOD
Fluoreno	<LOD	<LOQ
Fenantreno	23,6	59,0
Antraceno	6,8	9,8
Fluoranteno	43,8	69,2
Pireno	27,3	54,0
Benzo(b)fluoranteno	14,6	20,3
Benzo(k)fluoranteno	6,3	7,2
Benzo(a)pireno	64,6	76,6
Indeno(1,2,3-cd)pireno	17,6	19,4
Dibenzo(a,h)antraceno	12,2	13,0
Benzo(ghi)perileno	8,8	11,5
Benzo(a)antraceno	<LOQ	<LOQ
Criseno	<LOQ	11,2

A continuación, la figura A10 compara las concentraciones de los PAHs en las dos muestras de liquen (0,3 g y 0,4 g peso seco).

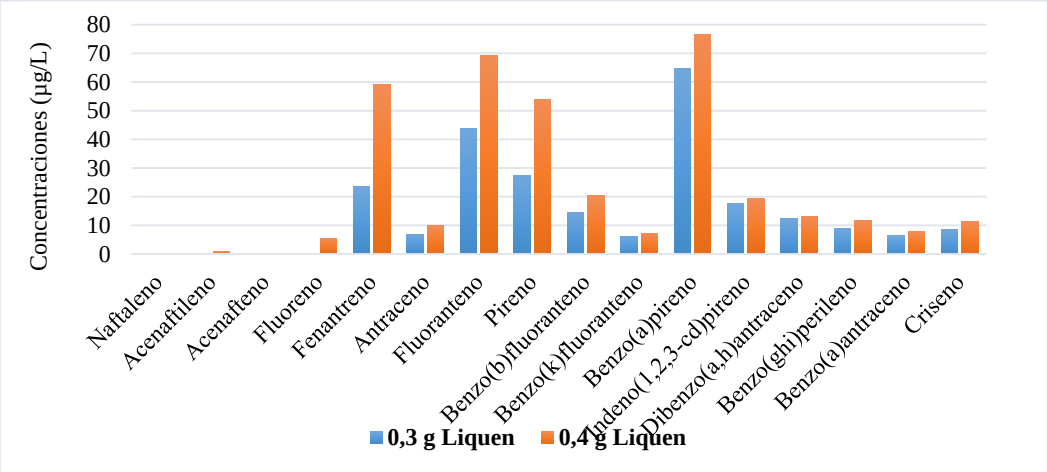


*Figura A 10.*Concentraciones de os PAHs analizados en 0,3 g y 0,4 g (peso seco) del liquen.

La concentración presenta una relación directa con la cantidad de muestra tomada para el análisis, por ende, la mayor concentración se obtuvo empleando 0.4 g (peso seco) de liquen.

De acuerdo a los dos test realizados, se logró optimizar el método analítico para los 16 PAHs prioritarios, el cual se empleó en el tratamiento de las muestras estudiadas en esta investigación. La optimización, permitió mejorar el clean up de la muestra utilizando como fase estacionaria silica gel activada y alúmina activada, y como fase móvil hexano: diclorometano 3:2; además de mejorar la lectura de las concentraciones de PAHs aumentando la cantidad de muestra, 0,4 g (peso seco) de liquen pulverizado.

Anexo 6. Resultados del conteo vehicular en el formato modificado de la ANI.

Tabla A8. Conteo vehicular de un día en la vía Popayán- San José de Isnos

FECHA:	25 de Febrero de 2019			DIA			MIERCOLES				
				SENTIDO: Popayán- San José de Isnos			Aforador: Lina Ortega				
HORA	PERIODO	MOTOS	AUTOS	BUSES	C2P	C2G	C3	C4	C5	>C5	TOTAL PERIODO
12:00 a 1:00 AM	00 a 15		1	1							2
	15 a 30	1	1	1							3
	30 a 45		2								2
	45 a 00		6	1	2	3					12
1:00 a 2:00 AM	00 a 15		7			3					10
	15 a 30	2	1	1	1						5
	30 a 45		4			3					7
	45 a 00			2							2
2:00 a 3:00 AM	00 a 15		1								1
	15 a 30		1								1
	30 a 45		3		1						4
	45 a 00	2	1								3
3:00 a 4:00 AM	00 a 15	2	2			1				1	6
	15 a 30		2	1	2		1				6
	30 a 45		4		2		1				7
	45 a 00	4	1		1						6
4:00 a 5:00 AM	00 a 15	2									2
	15 a 30	8	4	2	1	2					17
	30 a 45	10	2			3					15
	45 a 00	10	13	1	1						25
5:00 a 6:00 AM	00 a 15	13	6								19
	15 a 30	34	10	4		2					50
	30 a 45	48	14	1							63
	45 a 00	74	16	3	4	1					98
6:00 a 7:00 AM	00 a 15	49	32	21	3	1				2	108
	15 a 30	18	6	2		2					28
	30 a 45	30	15	2							47
	45 a 00	36	16		5	3					60
7:00 a 8:00 AM	00 a 15	38	23	2		6					69
	15 a 30	15	12		4	2	1				34
	30 a 45	39	15	4	3	1					62
	45 a 00	24	23	3	2	1					53
8:00 a 9:00 AM	00 a 15	28	16		4						48
	15 a 30	40	23	1	5						69
	30 a 45	30	27	3		4					64
	45 a 00	40	9	1	1	3					54
9:00 a 10:00 AM	00 a 15	16	16	2	4	1					39
	15 a 30	20	20	2	8	3	1				54
	30 a 45	27	13	2	5	1	1				49
	45 a 00	23	14	3	4	5					49
10:00 a 11:00 AM	00 a 15	22	16	1	4						43
	15 a 30	27	16	1	4	3	3			1	55
	30 a 45	19	16	2	2	1	1				41
	45 a 00	16	15	2	5	1					39
	00 a 15	20	22	2	3	3					50

11:00 a 12:00 AM	15 a 30	28	3		2	4	1				38
	30 a 45	30	15	1	5	1	1				53
	45 a 00	34	20	3	3	1					61
1:00 a 2:00 PM	00 a 15	32	13			1	1		2	1	50
	15 a 30	35	23	3	1	1					63
	30 a 45	28	17	2	2	3			1		53
	45 a 00	35	21	2	3		1				62
2:00 a 3:00 PM	00 a 15	49	30	6	4	5					94
	15 a 30	31	15		3	2					51
	30 a 45	24	16	2	2						44
	45 a 00	34	17	3	2	4	1				61
3:00 a 4:00 PM	00 a 15	30	24	4	3	1	1				63
	15 a 30	34	19	2	2	2	1				60
	30 a 45	36	20	3	2	2				1	64
	45 a 00	41	21	5			1				68
4:00 a 5:00 PM	00 a 15	25	13	1	5						44
	15 a 30	21	22	1	3	4					51
	30 a 45	33	16	2	5	1					57
	45 a 00	21	14	3	3	3					44
5:00 a 6:00 PM	00 a 15	26	13	2	4	3					48
	15 a 30	29	24	1	7	3	2			1	67
	30 a 45	28	27	3	7						65
	45 a 00	33	32	1	1	3					70
6:00 a 7:00 PM	00 a 15	38	17	2		1					58
	15 a 30	21	24	3	3	1					52
	30 a 45	26	18		3	2					49
	45 a 00	34	22	3	1	2					62
7:00 a 8:00 PM	00 a 15	26	16	2						1	45
	15 a 30	20	16		1	1					38
	30 a 45	17	9			1					27
	45 a 00	12	10	2	2	3					29
8:00 a 9:00 PM	00 a 15	15	11		3	4					33
	15 a 30	13	6		4	4			1		28
	30 a 45	19	11	1	1	1					33
	45 a 00	8	6		2	2					18
9:00 a 10:00 PM	00 a 15	14	5	1	1	1					22
	15 a 30	5	5								10
	30 a 45	7	9			4					20
	45 a 00	6	6	3		3					18
10:00 a 11:00 PM	00 a 15	4	9	2	4						19
	15 a 30	4	9			4					17
	30 a 45	4	4	1	1	1					11
	45 a 00	2	6	1		2					11
11:00 a 12:00 PM	00 a 15	2	1	1		4					8
	15 a 30	2	3	1	1	1					8
	30 a 45	1	2	1		3					7
	45 a 00	1	3	1		1					6
	SUMATORIA	1805	1130	149	177	149	19	0	4	8	3441

Tabla A 9. Conteo vehicular de un día en la vía Panamericana.

FECHA:	25 de Febrero de 2019			DIA			MIERCOLES			AFORADOR	
				SENTIDO: Popayán- San José de Isnos			Aforador: Lina Ortega				
HORA	PERIODO	MOTOS	AUTOS	BUSES	C2P	C2G	C3	C4	C5	>C5	TOTAL PERIODO
12:00 a 1:00 AM	00 a 15		1	1							2
	15 a 30	1	1	1							3
	30 a 45		2								2
	45 a 00		6	1	2	3					12
1:00 a 2:00 AM	00 a 15		7			3					10
	15 a 30	2	1	1	1						5
	30 a 45		4			3					7
	45 a 00			2							2
2:00 a 3:00 AM	00 a 15		1								1
	15 a 30		1								1
	30 a 45		3		1						4
	45 a 00	2	1								3
3:00 a 4:00 AM	00 a 15	2	2			1				1	6
	15 a 30		2	1	2		1				6
	30 a 45		4		2		1				7
	45 a 00	4	1		1						6
4:00 a 5:00 AM	00 a 15	2									2
	15 a 30	8	4	2	1	2					17
	30 a 45	10	2			3					15
	45 a 00	10	13	1	1						25
5:00 a 6:00 AM	00 a 15	13	6								19
	15 a 30	34	10	4		2					50
	30 a 45	48	14	1							63
	45 a 00	74	16	3	4	1					98
6:00 a 7:00 AM	00 a 15	49	32	21	3	1				2	108
	15 a 30	18	6	2		2					28
	30 a 45	30	15	2							47
	45 a 00	36	16		5	3					60
7:00 a 8:00 AM	00 a 15	38	23	2		6					69
	15 a 30	15	12		4	2	1				34
	30 a 45	39	15	4	3	1					62
	45 a 00	24	23	3	2	1					53
8:00 a 9:00 AM	00 a 15	28	16		4						48
	15 a 30	40	23	1	5						69
	30 a 45	30	27	3		4					64
	45 a 00	40	9	1	1	3					54
9:00 a 10:00 AM	00 a 15	16	16	2	4	1					39
	15 a 30	20	20	2	8	3	1				54
	30 a 45	27	13	2	5	1	1				49
	45 a 00	23	14	3	4	5					49
10:00 a 11:00 AM	00 a 15	22	16	1	4						43
	15 a 30	27	16	1	4	3	3			1	55
	30 a 45	19	16	2	2	1	1				41
	45 a 00	16	15	2	5	1					39
11:00 a 12:00 AM	00 a 15	20	22	2	3	3					50
	15 a 30	28	3		2	4	1				38
	30 a 45	30	15	1	5	1	1				53

	45 a 00	34	20	3	3	1					61
1:00 a 2:00 PM	00 a 15	32	13			1	1		2	1	50
	15 a 30	35	23	3	1	1					63
	30 a 45	28	17	2	2	3			1		53
	45 a 00	35	21	2	3		1				62
2:00 a 3:00 PM	00 a 15	49	30	6	4	5					94
	15 a 30	31	15		3	2					51
	30 a 45	24	16	2	2						44
	45 a 00	34	17	3	2	4	1				61
3:00 a 4:00 PM	00 a 15	30	24	4	3	1	1				63
	15 a 30	34	19	2	2	2	1				60
	30 a 45	36	20	3	2	2				1	64
	45 a 00	41	21	5			1				68
4:00 a 5:00 PM	00 a 15	25	13	1	5						44
	15 a 30	21	22	1	3	4					51
	30 a 45	33	16	2	5	1					57
	45 a 00	21	14	3	3	3					44
5:00 a 6:00 PM	00 a 15	26	13	2	4	3					48
	15 a 30	29	24	1	7	3	2			1	67
	30 a 45	28	27	3	7						65
	45 a 00	33	32	1	1	3					70
6:00 a 7:00 PM	00 a 15	38	17	2		1					58
	15 a 30	21	24	3	3	1					52
	30 a 45	26	18		3	2					49
	45 a 00	34	22	3	1	2					62
7:00 a 8:00 PM	00 a 15	26	16	2						1	45
	15 a 30	20	16		1	1					38
	30 a 45	17	9			1					27
	45 a 00	12	10	2	2	3					29
8:00 a 9:00 PM	00 a 15	15	11		3	4					33
	15 a 30	13	6		4	4			1		28
	30 a 45	19	11	1	1	1					33
	45 a 00	8	6		2	2					18
9:00 a 10:00 PM	00 a 15	14	5	1	1	1					22
	15 a 30	5	5								10
	30 a 45	7	9			4					20
	45 a 00	6	6	3		3					18
10:00 a 11:00 PM	00 a 15	4	9	2	4						19
	15 a 30	4	9			4					17
	30 a 45	4	4	1	1	1					11
	45 a 00	2	6	1		2					11
11:00 a 12:00 PM	00 a 15	2	1	1		4					8
	15 a 30	2	3	1	1	1					8
	30 a 45	1	2	1		3					7
	45 a 00	1	3	1		1					6
	SUMATORIA	1805	1130	149	177	149	19	0	4	8	3441

Anexo 7.Valores de concentraciones (ng/g) en los dos sectores de estudio.

*Tabla A 10.*Concentraciones de las 15 muestras en la vía Panamericana. (P1-15)

PAHs	P_1	P_2	P_3	P_4	P_5	P_6	P_7	P_8	P_9	P_{10}	P_{11}	P_{12}	P_{13}	P_{14}	P_{15}
Naftaleno	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOQ	<LOD
Acenaftileno	<LOD	<LOD	<LOQ	<LOD	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
Acenafteno	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOQ	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
Fluoreno	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOD	10,1	<LOQ	<LOQ	5,8	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOD	<LOD	<LOQ	<LOD
Fenantreno	39,4	21,8	11,9	<LOQ	54,8	33,8	27,8	41,8	28,8	34,4	42,4	7,8	8,9	12,0	<LOQ
Antraceno	13,1	7,8	8,1	<LOQ	14,0	12,0	16,9	16,0	13,0	9,5	14,8	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ
Fluoranteno	107,3	45,0	40,5	29,7	92,6	93,9	70,7	94,5	93,9	85,7	107,0	33,2	32,7	36,0	20,3
Pireno	244,9	140,2	52,6	48,1	322,3	262,6	130,1	301,8	303,2	305,4	254,3	57,6	71,7	62,2	20,3
Benzo(b)fluoranteno	29,5	12,8	11,0	11,8	19,8	21,2	15,8	24,5	25,1	17,4	19,5	9,8	11,5	10,3	6,0
Benzo(k)fluoranteno	8,1	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	6,3	5,9	6,9	7,1	<LOQ	6,6	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ
Benzo(a)pireno	10,3	9,7	7,1	7,1	8,1	7,9	9,4	9,3	<LOQ	8,1	9,2	<LOQ	7,4	<LOQ	<LOQ
Indeno(1,2,3-cd)pireno	15,4	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	16,6	15,4	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ
Dibenzo(a,h)antraceno	7,5	7,5	7,0	6,8	6,4	7,3	8,2	7,0	6,4	6,4	7,3	7,0	7,2	7,8	6,6
Benzo(g,h,i)perileno	17,2	11,4	8,9	8,6	11,6	9,5	13,8	11,3	10,8	8,7	13,9	6,8	8,9	7,4	<LOQ
Benzo(a)antraceno	20,4	9,3	6,6	7,0	16,6	17,2	13,4	20,4	21,6	15,3	15,4	5,9	7,9	7,4	<LOQ
Criseno	83,6	29,1	22,6	20,2	38,7	69,7	41,8	78,1	89,9	67,9	54,9	17,8	24,0	23,2	8,7
∑	596,8	294,5	176,0	139,3	595,0	541,7	370,4	632,9	599,9	558,8	545,3	145,9	180,2	166,5	61,9

*Tabla A 11.*Tablas de concentraciones de las 15 muestras en la vía Popayán –San José de Insnos (VH1-15).

PAHs	**VH_1**	**VH_2**	**VH_3**	**VH_4**	**VH_5**	**VH_6**	**VH_7**	**VH_8**	**VH_9**	**VH_{10}**	**VH_{11}**	**VH_{12}**	**VH_{13}**	**VH_{14}**	**VH_{15}**
Naftaleno	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
Acenaftileno	<LOQ	<LOD	<LOQ	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOQ	<LOD
Acenafteno	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
Fluoreno	<LOD	<LOQ	8	<LOQ	<LOD	<LOD	<LOQ	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
Fenantreno	8	16	38	30	9	<LOQ	8	11	7	9	15	9	<LOD	18	13
Antraceno	<LOQ	7	21	6	6	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ
Fluoranteno	24	51	98	57	25	18	24	52	22	29	43	28	9	36	38
Pireno	47	35	309	159	50	37	48	69	44	88	52	33	<LOD	29	33
Benzo(b)fluoranteno	8	9	28	14	19	12	9	10	10	9	10	9	<LOQ	7	11
Benzo(k)fluoranteno	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	13	7	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ
Benzo(a)pireno	<LOQ	<LOQ	<LOQ	7	15	<LOQ	<LOQ	10	<LOQ	7	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ
Indeno(1,2,3-cd)pireno	<LOQ	<LOQ	18	<LOQ	23	17	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ
Dibenzo(a,h)antraceno	7	7	10	7	16	12	7	10	7	7	6	7	6	7	7
Benzo(g,h,i)perileno	<LOQ	6	17	<LOQ	12	7	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ
Benzo(a)antraceno	6	10	18	8	16	9	6	<LOQ	<LOQ	7	<LOQ	6	<LOQ	<LOQ	<LOQ
Criseno	15	14	50	28	26	14	14	<LOQ	14	14	10	7	<LOQ	<LOQ	7
∑	116	155	**614**	**316**	**232**	133	117	162	103	170	136	99	16	97	109
∑ VH_{1-7}	**1683**														
∑ VH_{8-15}	**891**														

Anexo 8.Valores de concentraciones (ng/g) en líquenes enriquecidos y sin enriquecer.

*Tabla A 12.*Concentraciones de líquenes enriquecidos (M1-M5) y sin enriquecer (B1-B3).

CONCENTRACIONES	**B1**	**B2**	**B3**	**Concentración media B1-B3**	**M1 (ug/L)**	**M2 (ug/L)**	**M3(ug/L)**	**M4(ug/L)**	**M5(ug/L)**
Naftaleno	<LOD	<LOD	<LOD	-	19,359	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
Acenaftileno	<LOD	0,62	6,43	3,523	41,439	4,559	38,827	34,671	29,516
Acenafteno	<LOD	<LOD	<LOD	-	45,031	1,960	31,991	29,741	26,765
Fluoreno	0,45	<LOD	6,03	3,242	62,611	16,859	45,684	45,569	47,299
Fenantreno	17,04	15,46	25,97	19,488	82,893	44,028	83,667	91,612	94,392
Antraceno	6,41	6,85	8,21	7,156	60,667	41,198	63,871	65,813	63,976
Fluoranteno	36,89	33,73	42,38	37,667	103,719	92,503	68,183	74,780	117,108
Pireno	63,46	37,41	47,19	49,355	86,641	83,716	86,675	85,553	101,991
p-Terphenyl-d14	125,05	104,29	142,81	124,050	48,337	61,282	53,342	51,090	60,338
Benzo(b)fluoranteno	14,72	14,73	13,52	14,322	64,688	80,973	78,943	82,151	89,190
Benzo(k)fluoranteno	5,58	6,96	5,22	5,919	58,450	59,899	71,811	73,641	76,098
Benzo(a)pireno	11,23	12,45	12,29	11,990	83,955	93,940	128,740	107,293	94,271
Indeno(1,2,3-cd)pireno	17,40	19,46	17,34	18,067	68,416	80,120	155,921	159,702	86,800
Dibenzo(a,h)antraceno	12,12	13,08	12,09	12,429	68,466	79,875	158,858	161,272	84,829
Benzo(g,h,i)perileno	10,96	10,78	9,10	10,281	61,165	69,169	152,539	156,602	73,247
Benzo(a)antraceno	6,94	6,53	7,46	6,980	87,086	93,924	89,257	95,833	95,115
Criseno	2,09	14,26	11,21	9,188	111,984	111,880	113,960	123,658	111,122

Anexo 9. Producto entre TEF y el valor de las concentraciones PAHs promedio.

*Tabla A 13.*Producto entre la concentración de cada PAHs y el factor de TEF (BaPeq) en la vía Panamericana.

PAHs	**P1**	**P2**	**P3**	**P4**	**P5**	**P6**	**P7**	**P8**	**P9**	**P10**	**P11**	**P12**	**P13**	**P14**	**P15**
Naphthalene	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
Acenaphthylene	<LOQ	<LOD	<LOQ	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOQ	<LOD
Acenaphthene	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
Fluorene	<LOD	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOD	<LOD	<LOQ	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
Phenanthrene	0,0	0,022	0,012	<LOQ	0,055	0,034	0,028	0,042	0,029	0,034	0,042	0,008	0,009	0,012	<LOQ
Anthracene	0,1	0,078	0,081	<LOQ	0,140	0,120	0,169	0,160	0,130	0,095	0,148	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ
Fluoranthene	0,1	0,045	0,040	0,030	0,093	0,094	0,071	0,094	0,094	0,086	0,107	0,033	0,033	0,036	0,020
Pyrene	0,2	0,140	0,053	0,048	0,322	0,263	0,130	0,302	0,303	0,305	0,254	0,057	0,072	0,062	0,020
Benzo[b]fluoranthene	3,0	1,279	1,099	1,177	1,980	2,123	1,582	2,462	2,514	1,744	1,950	0,978	1,155	1,034	0,602
Benzo[k]fluoranthene	0,8	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	0,634	0,593	0,693	0,713	<LOQ	0,657	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ
Benzo[a]pyrene	10,3	9,687	7,067	7,138	8,143	7,933	9,446	9,342	<LOQ	8,095	9,222	<LOQ	7,437	<LOQ	<LOQ
Indeno[1,2,3-cd]pyrene	1,5	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	1,657	1,540	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ
Dibenz[a,h]anthracene	7,5	7,538	6,970	6,795	6,409	7,341	8,166	6,968	6,407	6,405	7,291	6,952	7,181	7,811	6,614
Benzo[ghi]perylene	0,2	0,114	0,089	0,086	0,116	0,095	0,138	0,113	0,108	0,087	0,139	0,068	0,089	0,074	<LOQ
Benz[a]anthracene	2,0	0,928	0,655	0,699	1,656	1,720	1,339	2,040	2,156	1,532	1,534	0,593	0,789	0,737	<LOQ
Chrysene	0,8	0,291	0,226	0,201	0,387	0,697	0,418	0,781	0,899	0,679	0,549	0,178	0,240	0,232	0,087
PET	**27**	**20**	**16**	**16**	**19**	**21**	**24**	**25**	**13**	**19**	**22**	**9**	**17**	**10**	**7**

*Tabla A 14.*Producto entre la concentración de cada PAHs y el factor de TEF (BaPeq) en la vía Popayán- San José de Isnos.

PAHs	**VH1**	**VH2**	**VH3**	**VH4**	**VH5**	**VH6**	**VH7**	**VH8**	**VH9**	**VH10**	**VH11**	**VH12**	**VH13**	**VH14**	**VH15**
Naphthalene	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
Acenaphthylene	<LOQ	<LOD	<LOQ	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOQ	<LOD
Acenaphthene	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
Fluorene			0,008												
Phenanthrene	0,008	0,016	0,038	0,030	0,009		0,008	0,011	0,007	0,009	0,015	0,009		0,018	0,013
Anthracene		0,065	0,208	0,060	0,063										
Fluoranthene	0,024	0,051	0,098	0,057	0,025	0,018	0,024	0,052	0,022	0,029	0,043	0,028	0,009	0,036	0,038
Pyrene	0,047	0,035	0,309	0,159	0,050	0,037	0,048	0,069	0,044	0,088	0,052	0,033		0,029	0,033
Benzo[b]fluoranthene	0,807	0,925	2,786	1,358	1,918	1,203	0,891	0,959	1,000	0,851	0,989	0,916		0,663	1,102
Benzo[k]fluoranthene					1,291	0,723									
Benzo[a]pyrene				6,980	15,330			10		7,367					
Indeno[1,2,3cd]pyrene			1,829		2,262	1,662									
Dibenz[a,h]anthracene	7,248	7,112	9,562	7,027	16,137	11,587	7,456	10,123	6,968	7,350	6,403	7,196	6,416	7,078	6,926
Benzo[ghi]perylene		0,063	0,166		0,124	0,072									
Benz[a]anthracene	0,587	0,998	1,772	0,826	1,634	0,921	0,636			0,669		0,645			
Chrysene	0,151	0,139	0,502	0,280	0,263	0,142	0,142		0,136	0,141	0,101	0,068			0,066
PET	**9**	**9**	**17**	**17**	**39**	**16**	**9**	**21**	**8**	**17**	**8**	**9**	**6**	**8**	**8**

Anexo 10. Certificados de participación en el evento CASAP

VII CONGRESO COLOMBIANO Y CONFERENCIA INTERNACIONAL
CALIDAD DE AIRE Y SALUD PÚBLICA

CENTRO DE EDUCACIÓN CONTINUADA

UNIVERSIDAD DEL NORTE

La **Universidad del Norte** por intermedio del **Centro de Educación Continuada**

Certifica que

LINA MARIA ORTEGA FERNANDEZ

Identificado(a) con el documento No.1002970977

Presentó en modalidad de poster el trabajo titulado:

"Influence of vehicular traffic on levels of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) bioaccumulated in lichen Parmeliaceae and its toxic equivalence potential, in two sectors of the city of Popayán-Cauca."

Realizado en la ciudad de Barranquilla, los días 14, 15 y 16 de agosto de 2019

Elisama Dugarte Coll
Directora del CEC

Martha González Robles
Directora de Registro

VII CONGRESO COLOMBIANO Y CONFERENCIA INTERNACIONAL
CALIDAD DE AIRE Y SALUD PÚBLICA

CENTRO DE EDUCACIÓN CONTINUADA

UNIVERSIDAD DEL NORTE
Vigilada Mineducación

La **Universidad del Norte** por intermedio del **Centro de Educación Continuada**

Certifica que

DIANA MARCELA URIBE ANTE

Identificado(a) con el documento No.1061796596

Presentó en modalidad de poster el trabajo titulado:

"Influence of vehicular traffic on levels of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) bioaccumulated in lichen Parmeliaceae and its toxic equivalence potential, in two sectors of the city of Popayán-Cauca."

Realizado en la ciudad de Barranquilla, los días 14, 15 y 16 de agosto de 2019

Elisama Dugarte Coll
Directora del CEC

Martha González Robles
Directora de Registro