

BIOMONITOREO ACTIVO DE HIDROCARBUROS AROMÁTICOS POLICÍCLICOS EN EL AIRE DEL VALLE DE CARACAS-VENEZUELA EMPLEANDO EL LIQUEN *Parmotrema sancti-angelii* (LYNGE) HALE

Henry David GÓMEZ CAICEDO^{1*}, Raiza DEL VALLE FERNÁNDEZ MALAVÉ¹,
Federico GALARRAGA CHACÓN¹, Jesús HERNÁNDEZ MALDONADO²,
Antonio ROSCHMAN-GONZÁLEZ³ y Andrés ESCALONA TROMPIZ⁴

¹ Laboratorio de Geoquímica Ambiental, Centro de Geoquímica, Instituto de Ciencias de la Tierra, Facultad de Ciencias, Universidad Central de Venezuela. Apartado 3895, Caracas 1010-A, Venezuela

² Fundación Instituto Jardín Botánico de Venezuela Dr. Tobías Lasser, Jardín Botánico de Caracas, Universidad Central de Venezuela. Apartado 2156, Caracas 1010-A, Venezuela

³ Centro de Microscopía Electrónica, Facultad de Ciencias, Universidad Central de Venezuela. Apartado 47140, Caracas 1041-A, Venezuela

⁴ Escuela de Química, Facultad de Ciencias, Universidad Central de Venezuela. Apartado 21827, Caracas 1020-A, Venezuela

*Autor responsable; geo_henry_david@hotmail.com

(Recibido enero 2012, aceptado julio 2013)

Palabras clave: contaminación atmosférica, hidrocarburos aromáticos policíclicos, monitoreo biológico, líquenes, trasplante

RESUMEN

El objetivo de este trabajo fue determinar la capacidad del líquen identificado como *Parmotrema sancti-angelii* (Lyngé) Hale, para caracterizar y cuantificar los hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAP) presentes en el aire de la ciudad de Caracas. Los líquenes fueron trasplantados desde una zona suburbana hacia seis localidades en la ciudad, donde estuvieron expuestos por un periodo de cuatro meses. Fueron estudiados dieciséis (16) HAP, de los cuales trece (13) estuvieron sobre el límite de cuantificación. La concentración total de HAP estuvo en el rango de 2553 ng/g a 7654 ng/g. Los líquenes mostraron un enriquecimiento en compuestos de alto peso molecular (5 y 6 anillos), asociados estos a las partículas atmosféricas comúnmente generadas en los procesos de combustión. La relación Fen/Ant sugiere un aporte marcadamente pirogénico y la relación Ind/Ind+B[g,h,i]P indica la presencia de HAP provenientes de la quema de vegetación en todas las localidades.

Key words: air pollution, polycyclic aromatic hydrocarbons, biological monitoring, transplanted lichen

ABSTRACT

The aim of this work was to determine the ability of the lichen *Parmotrema sancti-angelii* (Lyngé) Hale to characterize and quantify polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) present in the air of the Caracas city. The lichens were transplanted from a suburban area to six locations in the city, where they were exposed for a period of four months. Sixteen

(16) PAHs were studied which only thirteen (13) were above the limit of quantification. The total concentration of PAHs ranged from 2553 to 7654 ng/g. The lichens showed an enrichment in high molecular weight compounds (5 and 6 rings) for the studied locations, associated with atmospheric particles commonly generated by combustion processes. The ratio Fen/Ant suggests a remarkable pyrogenic origin and the ratio Ind/Ind+B[g,h,i] P indicates the presence of PAHs from burning vegetation in all locations.

INTRODUCCIÓN

Los hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAP) constituyen una familia particular de compuestos formados por dos o más anillos aromáticos condensados (Orozco *et al.* 2004). Diversas investigaciones han demostrado la capacidad que tienen de generar cáncer en los seres humanos (Lawerys 1994, Vives *et al.* 2001). Estudios realizados en diferentes partes del mundo destacan el uso de los líquenes como potenciales indicadores biológicos de contaminación atmosférica por compuestos orgánicos, debido a que el líquen es un organismo que toma sus nutrientes sólo desde el aire para su sobrevivencia. El empleo de este tipo de organismos permite abaratar costos y cubrir mayores áreas en comparación con los equipos de monitoreo convencionales. Otra de las ventajas que presentan los líquenes, es que biomonitorizan HAP presentes tanto en la fase gas de la atmósfera como los adsorbidos en las partículas que sobre ellos son depositadas; de modo que el espectro de biomonitorización de HAP en líquenes resulta más amplio que el correspondiente a las partículas atmosféricas a las cuales se asocian los HAP de mayor peso molecular (Migaszewski *et al.* 2002, Shukla y Upreti 2008, Blasco 2008, Augusto *et al.* 2009, Guidotti *et al.* 2003, 2009, Shukla *et al.* 2010).

Aunque existe documentación internacional sobre el tema y es reconocida la importancia de determinar estos compuestos en el aire, en Venezuela es escasa la información. En el año 2011 fue publicado el estudio piloto de los HAP presentes en distintas localidades de la ciudad de Caracas. En aquel caso las localidades fueron seleccionadas de acuerdo con la presencia del género *Pyxine coralligera* Malme, por lo que no se habían hecho en el país estudios en los cuales el monitoreo de líquenes fuera de tipo activo (trasplante del líquen de una zona poco intervenida por el hombre a la zona de estudio) para la determinación y cuantificación de los HAP. En este sentido, el presente trabajo fue realizado con el objetivo de aportar información sobre dicho aspecto. En éste, se identificó y empleó el líquen *Parmotrema sancti-angelii* (Lyngé) Hale en un monitoreo de tipo activo debido a la ausencia de esta especie en las zonas a evaluar.

La importancia del estudio radica en la necesidad de estudiar la calidad del aire en la ciudad capital de Venezuela por la influencia desfavorable de contaminantes como los HAP sobre los ecosistemas, y en especial sobre los seres humanos, así como de apoyar el desarrollo de una metodología que sea viable en términos operativos, económicos y que a la vez represente una alternativa con pocas limitaciones. El análisis químico de estos organismos (en este caso diversas especies autóctonas de la zona en estudio) expuestos en la ciudad de Caracas, permitirá conocer indirectamente la concentración de los hidrocarburos aromáticos policíclicos, caracterizando así la zona de estudio en términos de estas especies químicas.

MATERIALES Y MÉTODOS

Área de estudio y muestreo

Caracas es un área urbana típica, tiene una extensión territorial de 650 km² y una población de 3 220 540 habitantes (sin incluir ciudades periféricas). Posee 1 246 910 vehículos (aproximadamente el 24 % del parque automotor en circulación de Venezuela) (Instituto Nacional de Estadística 2010).

El clima de Caracas es de tipo intertropical de montaña con precipitaciones que varían entre los 900 y 1300 mm anuales en la ciudad, y hasta los 2000 mm en algunas partes de la cordillera.

La especie *Parmotrema sancti-angelii* (Lyngé) Hale fue seleccionada como bioindicador por su abundancia en las zonas adyacentes a la ciudad de Caracas y por su morfología y textura que facilita la captación de partículas atmosféricas. En diciembre de 2009 fueron colectadas las muestras de líquenes desde las ramas de los árboles a más de un metro sobre el nivel del suelo, en un área suburbana (USB), ubicada a una altura de aproximadamente 1190 msnm, con condiciones microclimáticas similares a las presentes en la ciudad de Caracas.

Las muestras de líquenes fueron trasplantadas por un periodo de cuatro meses a las cinco estaciones pertenecientes a la red de control de calidad del aire

del Ministerio del Poder Popular para el Ambiente (Minamb): CORE 5, El Cementerio, El Silencio, Bello Campo y Los Ruices, con diferentes niveles de tráfico vehicular (MARN 2005). Adicionalmente, fue incluida la localidad de El Cafetal, debido a que esta estación presentó la mayor concentración total de HAP reportada en el trabajo de Fernández *et al.* (2011). La **figura 1** señala los diferentes puntos de muestreo en el mapa. Adicionalmente una muestra testigo (sin trasplantar) fue analizada e identificada como muestra de referencia.

Tratamiento físico y químico de los líquenes

Al término del periodo de exposición los líquenes fueron recolectados y, una vez en el laboratorio y empleando una lupa binocular y pinzas de acero, fueron sometidos a limpieza para quitar los residuos o materiales que pudieran haber quedado adheridos (restos de corteza de árbol, insectos y restos de otros líquenes). Seguidamente fueron pulverizados y secados a 40 °C durante 48 horas para permitir la deshidratación. Un total de 2 g de líquen fue colocado en un vial de vidrio y se adicionó 30 mL de la mezcla hexano:diclorometano (3:2, v/v) y fueron sometidos a un baño de ultrasonido, este proceso se repitió dos veces y los filtrados respectivos se unieron y fueron luego concentrados. A todos los solventes les fue agregado sulfato de sodio anhidro para remover la humedad (Guidotti *et al.* 2009).

La purificación del extracto fue realizada en una minicolumna de vidrio (1 cm × 20 cm) rellena con una

suspensión de sílica gel en *n*-hexano (0.06-0.2 mm), activada a 80 °C durante 16 horas. Posterior al empacado de la columna fueron añadidos 2 mL del extracto orgánico, reconstituidos en su respectivo solvente de origen. La elución fue iniciada con 20 mL de hexano, para separar los compuestos saturados. Los analitos fueron eluidos de la columna con 40 mL de mezcla hexano:diclorometano (3:2, v/v) para obtener la fracción de los compuestos aromáticos; el procedimiento fue seguido mediante una lámpara de UV y de esta manera pudo apreciarse claramente su elución (método 3630 de la US-EPA, United States Environmental Protection Agency). Dicho eluato fue recolectado y el solvente rotoevaporado. Ambas fracciones fueron transferidas a viales de 5 mL de capacidad con 500 µL de acetonitrilo.

Análisis instrumental

Las alícuotas de las fracciones aromáticas de los líquenes fueron inyectadas al cromatógrafo líquido de alta eficiencia Hewlett Packard, modelo 1100 (método 8310 de la US-EPA), con bomba cuaternaria y automuestreador; detector de fluorescencia modelo 1046 A y detector UV (conectados en serie), columna de fase reversa C18, 799250D-584 Lichrospher 100 RP-18 (5 µm, 250 x 4 mm), marca HP. El análisis fue hecho a un flujo constante de 1.00 mL/min, volumen de inyección de 25.0 µL y temperatura de inyección entre 27 y 30 °C. El gradiente de la mezcla acetonitrilo:agua empleado fue 70:30 (0-15 min), 85:15 (15-20 min) y 100:0 (20:35 min). La duración

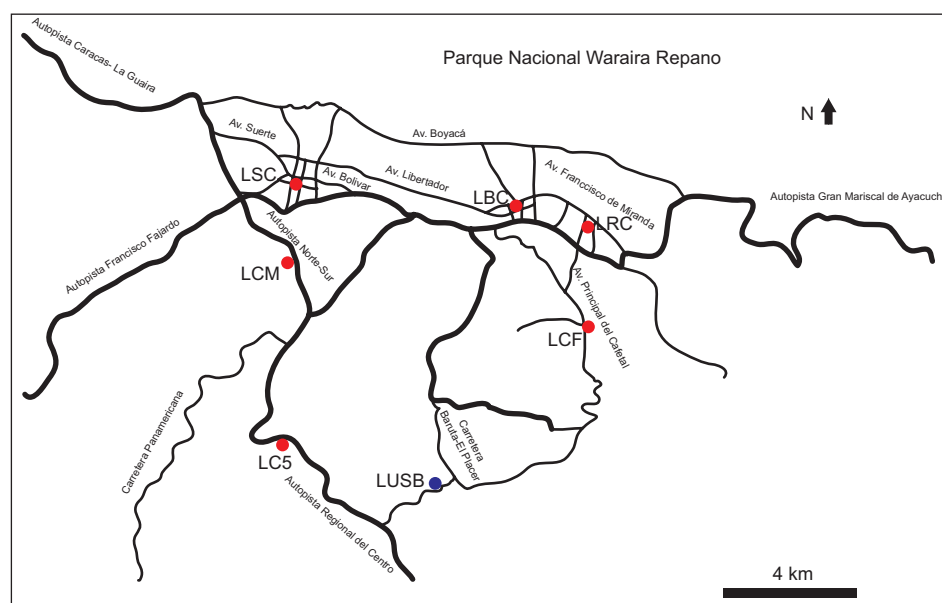


Fig. 1. Croquis de la ciudad de Caracas, señalando las estaciones de muestreo y las principales vías de tránsito vehicular

de la corrida fue de 35 min. La detección y cuantificación de los HAP se realizó empleando los detectores de UV y FL conectados en serie. La longitud de onda para la absorbancia UV fue de 254 nm, mientras que para el detector de fluorescencia fueron empleadas como longitud de excitación 340 nm y de emisión 425 nm, con un tiempo de respuesta de 2 segundos. El sistema de adquisición de datos empleado fue ChemStation versión A.05.02 (*Agilent Technologies*).

La mezcla estándar (*Standard mix*) para la preparación de los patrones fue preparada a partir de la conformada por los dieciséis (16) HAP de 200 µg/mL c/u en acetonitrilo (PNA-550JM). A partir de ésta, fueron preparadas soluciones con concentraciones en el rango entre 0.4 y 10 µg/mL, para realizar la curva de calibración correspondiente.

Análisis de recuperación

El análisis de recuperación fue realizado agregando 0.3 mL de la solución de 9 µg/mL de los 16 HAP (*Standard mix*) a alícuotas de aproximadamente 1.5 g de líquenes. La concentración resultante de cada HAP en la muestra fue de aproximadamente 1.8 µg/g. La prueba de recuperación fue realizada con la finalidad de evaluar el sesgo o error sistemático en el tratamiento químico de las muestras, teniendo en cuenta el amplio rango de propiedades fisicoquímicas de los compuestos bajo estudio. Los valores de recuperación para los HAP de bajo peso molecular fueron muy bajos, sin embargo se muestran los resultados obtenidos.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Caracterización de HAP en líquenes en la ciudad de Caracas y comparaciones con otros estudios

En el **cuadro I** se indican los resultados para la concentración promedio de los HAP en el líquen *Parmotrema sancti-angelii* (Lynge) Hale, en cada

una de las localidades evaluadas, después de cuatro meses de exposición.

La concentración total de los HAP (Σ HAP) en Caracas, varía desde 2553 y 7654 ng/g de peso seco, con un valor promedio de 4144 ng/g. A nivel nacional no abundan estudios previos, a excepción del realizado por Fernández *et al.* (2011), donde empleando el líquen *Pyxine* sp. en un monitoreo pasivo, se reportan valores similares a los encontrados en el presente estudio.

Sin embargo, al comparar los resultados obtenidos con aquellos reportados por diversos investigadores se tiene que los valores más altos para la Σ HAP corresponden Shukla y Upreti (2008) y Shukla *et al.* (2010) en una ciudad de la India, valores éstos que fluctúan entre 683 y 33720 ng/g. Adicionalmente, las concentraciones de fenantreno, pireno y acenaftileno fueron significativamente altas, indicando que la fuente principal de contaminación en la ciudad es el tráfico automotor.

Para el caso de la ciudad de Caracas, los HAP identificados en altas concentraciones fueron: fenantreno, acenaftileno y pireno, e indenopireno y benzo (k) fluoranteno en lo que respecta a los de más alto peso molecular. La presencia de estos últimos compuestos en altas concentraciones y por ende las relaciones entre ellos (alrededor de 1.00) evidencian un origen pirogénico asociado a la quema de vegetación ocurrida durante la etapa de muestreo (Ortiz *et al.* 2007).

Adicionalmente, se observa que los valores obtenidos para los HAP de combustión (HAP_{comb}) fueron más elevados en áreas de mucho tráfico según los datos suministrados por el Ministerio del Ambiente (MARN 2005). Los resultados obtenidos corroboran que en la ciudad de Caracas dominan aquellos compuestos con más de cuatro (4) anillos, asociados a procesos de combustión a elevadas temperaturas y característicos de las emisiones vehiculares y quema de vegetación (**Fig 2**).

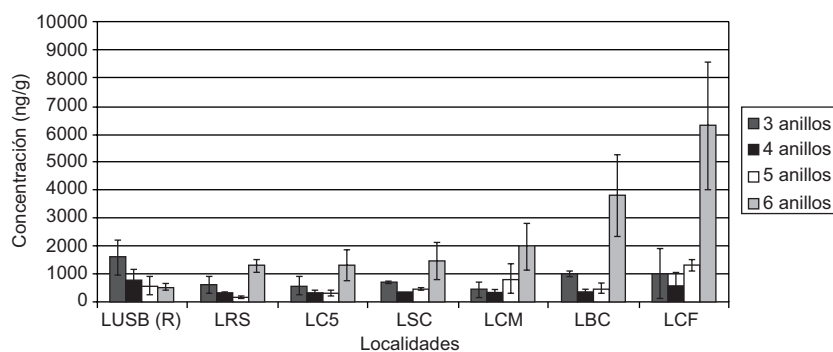


Fig. 2. Perfil de concentraciones para los HAP

CUADRO I. CONCENTRACIONES PROMEDIO DE COMPUESTOS HAP INDIVIDUALES (ng/g PESO SECO) Y ΣHAP

	LUSB	LRC	LC5	LSC	LCM	LBC	LCF
Aci	469	304	285	296	<LC	338	498
Fen	532	273	273	254	262	344	387
Ant	587	208	210	187	257	304	412
Fluo	<LC	<LC	<LC	<LC	<LC	<LC	36
Pir	437	124	122	142	192	134	360
BaA	<LC	<LC	<LC	<LC	<LC	<LC	53
Cri	338	157	158	173	158	185	193
BbF	<LC	<LC	155	122	129	114	174
BkF	<LC	<LC	110	131	247	211	395
BaP	<LC	<LC	144	<LC	<LC	<LC	189
IP	509	1269	1297	1443	1983	3650	4166
DbA	566	149	158	95	640	285	359
BghiP	<LC	69	19	<LC	<LC	155	432
Total HAP	3438	2553	2931	2843	3868	5720	7654
Total HAP _{comb}	1850	1768	2163	2106	3349	4734	6357
Fen/Ant	0.90	1.28	1.28	1.47	1.44	1.13	1.15
Ind/Ind+B[g,h,i]P	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	0.96	0.91

<LC: bajo el límite de cuantificación

Relaciones expuesto/testigo y análisis de varianza

Frati *et al.* (2005) proponen el empleo de la relación expuesto/testigo (relación E/T), calculada en términos de la concentración de un metal en el líquen, antes y después de ser expuesto, como una herramienta para medir el grado de acumulación de estos en el líquen. Con base en este criterio fueron determinadas y graficadas dichas relaciones para cada uno de los compuestos bajo estudio. Los resultados obtenidos indican que en general los HAP son acumulados en el líquen. Destacándose de forma clara que el compuesto indenopireno domina al compararlo con los hidrocarburos de bajo peso molecular, ubicándose en la categoría de alta acumulación (**Fig. 3**)

A fin de determinar la variabilidad en las concentraciones de los compuestos bajo estudio en las diferentes localidades de la ciudad, se llevó a cabo un análisis estadístico del tipo ANOVA de 1-Factor (aná-

lisis de varianza) con un nivel de confianza de 95 %. Los resultados se señalan en el **cuadro II**. En ellos se nota que los hidrocarburos de alto peso molecular son significativamente diferentes entre las localidades por ser los valores de $p < 0.05$. Estas diferencias son atribuibles al hecho de que existen variabilidades en la distribución de las partículas (PTS) en la ciudad como fue reportado por Fernández *et al.* 2011.

Los resultados analíticos y estadísticos del presente estudio destacan la utilidad de la especie *Parmotrema sancti-angelii* (Lyng) Hale para evaluar la contaminación por HAP en la ciudad de Caracas.

CONCLUSIÓN

La concentración total de los HAP (ΣHAP) en Caracas, varía desde 2553 a 7654 ng/g de peso seco, con un valor promedio de 4144 ng/g. La relación

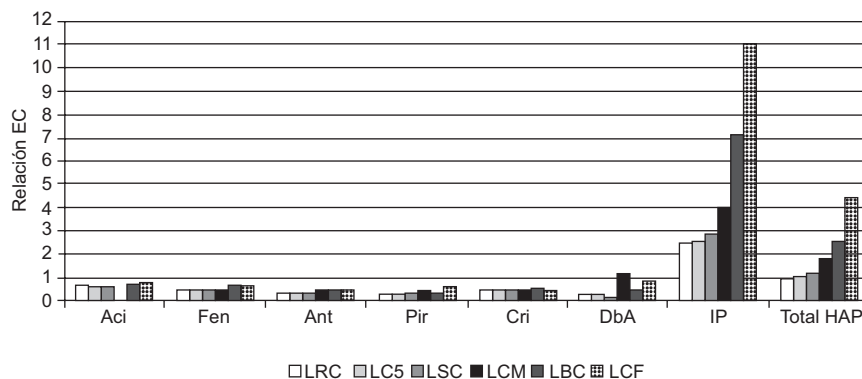


Fig. 3. Relaciones expuesto a control para los HAP individuales y totales en las localidades

CUADRO II. VALOR PROBABILIDAD DE SIGNIFICANCIA (p) DE UN ANOVA DE 1-FACTOR (ANÁLISIS DE VARIANZA) CON UNA CONFIANZA DE 95%

ANOVA 1-Factor para HAP (Factor localidad)	p
Acenaftileno	0.0773
Fenantreno	0.5654
Antraceno	0.3983
Fluoranteno	0.0799
Pireno	0.4255
Criseno	0.1356
Benzo [a] antraceno	0.0001 *
Benzo [b] fluoranteno	0.0060 *
Benzo [k] fluoranteno	0.0000 *
Benzo [a] pireno	0.2650
Dibenzo [a,h] antraceno	0.0321 *
Benzo [g,h,i] perileno	0.0001 *
Indeno [1,2,3-cd] pireno	0.0004 *

Fen/Ant sugiere un aporte marcadamente pirogénico y la relación Ind/Ind+B[g,h,i]P indica la presencia de HAP provenientes de la quema de vegetación en todas las localidades. Los resultados obtenidos corroboran que en la ciudad de Caracas dominan aquellos compuestos con más de cuatro (4) anillos, asociados a procesos de combustión a elevadas temperaturas y característicos de las emisiones vehiculares y quema de vegetación. Asimismo, los resultados analíticos y estadísticos del presente estudio destacan la utilidad de la especie *Parmotrema sancti-angelii* (Lynge) Hale para evaluar la contaminación por HAP en la ciudad de Caracas

AGRADECIMIENTOS

A la Ing. Jennifer Parra y al Ing. Carlos García del Ministerio del Poder Popular para el Ambiente (MARN) por el apoyo logístico en el uso de las estaciones de monitoreo de calidad del aire de dicha institución en la ciudad de Caracas. Al Lic. Wilbert Hurtado por su incondicional colaboración durante la etapa de muestreo y en la concreción de esta investigación. Al Dr. Andrés Escalona por su apoyo en los análisis por HPLC. Al Ing. Carlos Pérez por su apoyo en la edición de las figuras.

REFERENCIAS

- Augusto S., Máguas C., Matos J., Pereira M. y Branquinho C. (2009). Lichens as an integrating tool for monitoring PAH atmospheric deposition: A comparison with soil, air and pine needles. *Environ. Pollut.* 158, 483-489.
- Blasco M., Domeño C. y 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). *Environ. Sci. Technol.* 40, 6384-6391.
- Blasco M., Domeño C. y Nerín C. (2008). Lichens biomonitoring as feasible methodology to assess air pollution in natural ecosystems: Combined study of quantitative PAHs analyses and lichen biodiversity in the Pyrenees Mountains. *Anal. Bioanal. Chem.* 391, 759-771.
- Blasco M. (2008). Evaluación analítica de líquenes como biomonitores de la contaminación atmosférica en ecosistemas naturales a través de la determinación de PAHs. Tesis de doctorado. Departamento de Química Analítica. Centro Politécnico Superior. Universidad de Zaragoza. Zaragoza. España. 367 pp.
- Chang K., Fang G., Chen J. y Wu Y. (2006). Atmospheric polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in Asia: A review from 1999 to 2004. *Environ. Pollut.* 142, 388-396.
- Domeño C., Blasco M., Sánchez C. y 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. *Anal. Chim. Acta* 569, 103-112.
- Fernández R., Galarraga F., Benzo Z., Márquez G., Fernández A., Réquíz M. y Hernández J. (2011). Lichens as biomonitors for the determination of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in Caracas Valley, Venezuela. *Intern. J. Environ. Anal. Chem.* 91, 230-240.
- Guidotti M., Stella D., Owczarek M., De Marco A. y De Simone C. (2003). Lichens as polycyclic aromatic hydrocarbon bioaccumulators used in atmospheric pollution studies. *J. Chromatogr. A* 985, 185-190.
- Guidotti M., Stella D., Dominici C., Blasi G., Owczarek M., Vitali M. y Protano C. (2009). Monitoring of Traffic-Related Pollution in a Province of Central Italy with Transplanted Lichen *Pseudovernia furfuracea*. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 83, 852-858.
- Lehndorff E. y Schwark L. (2004). Biomonitoring of air quality in the Cologne Conurbation using pine needles as a passive sampler—Part II: polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH). *Atmos. Environ.* 38, 3703-3808.
- Linsinger T. (2008). Use of recovery and bias information in analytical chemistry and estimation of its uncertainty contribution. *Trends Anal. Chem.* 27, 916-923.
- MARN-PDVSA (2005). Informe de la calidad del aire en las principales ciudades de Venezuela (periodo enero-agosto). Dirección General de Calidad Ambiental, Ministerio del Ambiente y los Recursos Naturales-Petróleos de Venezuela Sociedad Anónima. Informe técnico. Caracas.

- Migaszewski Z., Galuszka A. y Paslawski P. (2002). Polynuclear aromatic hydrocarbons, phenols, and trace metals in selected soil profiles and plant bioindicators in the Holy Cross Mountains, South - Central Poland. *Environ. Inter.* 28, 303-313.
- Owczarek M., Guidotti M., Blasi G., De Simone C., De Marco A. y Spadoni M. (2001). Traffic pollution monitoring using lichens as bioaccumulators of heavy metals and polycyclic aromatic hydrocarbons. *Fres. Environ. Bull.* 10, 42-45.
- Ortiz, R., Siebe, C., Díaz, G. y Cram, S. (2007). Fuentes de hidrocarburos en suelos orgánicos. *Terra Latinoamericana*, 105-113.
- Peltonen K. y Kuljukka T. (1995). Air sampling and analysis of polycyclic aromatic hydrocarbons. *Review. J. Chromatogr. A* 710, 93-108.
- Puckett K. y Finegan E. (1980). An analysis of the element content of lichens from Northwest Territories, Canada. *Can. J. Bot.* 58, 2073-2089.
- Rehagen M., Müller A., Massolo L., Herbarth O. y Ronco A. (2005). Polycyclic aromatic hydrocarbons associated with particles in ambient air from urban and industrial area. *Sci. Total Environ.* 348, 199-210.
- Satya, Upreti D. y Patel D. (2012). *Rinodina sophodes* (Ach.) Massal.: a bioaccumulators of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in Kanpur City, India. *Environ. Monit. Assess.* 184, 229-238.
- Shukla V. y Upreti D. (2008). Polycyclic aromatic hydrocarbon (PAH) accumulation in lichen, *Phaeophyscia hispidula* of DehraDun City, Garhwal Himalayas. *Environ. Monit. Assess.* DOI 10.1007/s10661-008-0225-6.
- Shukla V., Upreti D., Patel D. y Tripathi R. (2010). Accumulation of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in some lichens of Garhwal Himalayas, India. *Int. J. Environment and Waste Management* 5, 104-113.
- United States-Environmental Protection Agency (2009). *Wastes - Hazardous Waste - Test Methods* [en línea]. <http://www.epa.gov/osw/hazard/testmethods/sw846/20/12/2011>.
- Wei S., Karthikeyan S. y Balasubramanian R. (2006). Health risk assessment of occupational exposure to particulate-phase polycyclic aromatic hydrocarbons associated with Chinese, Malay and Indian cooking. *J. Environ. Monit.* 8, 369-376.