



## INFLUENCE OF AROMATIC HYDROCARBONS POLYCYCLIC (HAPs) AND METALS IN AIR QUALITY AND PAMPLONA GENOTOXIC EFFECTS

## INFLUENCIA DE LOS HIDROCARBUROS AROMATICOS POLICICLICOS (HAPs) Y METALES EN LA CALIDAD DEL AIRE DE PAMPLONA Y SUS EFECTOS GENOTOXICOS

*Quijano Parra Alfonso \**;  
*Quijano Vargas Mónica Juliana\*\**, *Meléndez*  
*Gélvez Iván \*\*\**

\* Ph.D. en Química. Universidad de Pamplona, Pamplona-Colombia, Facultad de Ciencias Básicas, Grupo de Investigación en Química. alfonsoquijanoparra@gmail.com

\*\*Química. Especialista en Bioquímica. Facultad de Ciencias Básicas, Grupo de Investigación en Química. Universidad de Pamplona. mojuquiva@hotmail.com.

\*\*\* Ph.D.en Biología Molecular .Universidad de Pamplona, Pamplona- Colombia, Facultad de Ciencias Básicas, Grupo de Investigación en Biología Molecular.

### Abstract

Air toxics are pollutants that are known or suspected to cause adverse health effects , air pollutants differ in their physicochemical characteristics can be grouped into several categories : gaseous pollutants such as ozone , SO<sub>2</sub> , NO<sub>x</sub> , CO , Organic volatile , persistent organic pollutants , heavy metals and particulate matter ( PM<sub>10</sub> and PM<sub>2.5</sub> ) ( fine and ultrafine ) . In humans, inhalation is the most common route of access of air pollutants to the body, which is why the respiratory tract and lungs are usually involved in the process of translocation of the harmful agent in the blood and tissues, these contaminants can cause pulmonary and systemic effects including inflammation, tissue reconstruction , and carcinogenesis. Respirable particulate matter known as PM<sub>10</sub> and PM<sub>2.5</sub>, has the ability to penetrate and deposit in the tracheobronchial regions of the respiratory tract and alveolar. Studies related to emission sources of fine particulate matter (PM<sub>2.5</sub> ) find that vehicles that run on diesel and gasoline are a major source of particulate matter emissions . Regarding the effects on human health, especially respiratory diseases, respirable particulate matter is of concern as people passing by 20% of their time outdoors , long-term exposure to PM is associated with a higher incidence of increased lung cancer rate and cardiovascular disease. PM the damage occurs through oxidative stress, which is associated with abnormal levels of reactive oxygen species (ROS) are considered to be associated with carcinogenic processes. Oxidative DNA damage is very important in





carcinogenesis. The PM<sub>2.5</sub> contains mutagenic and carcinogenic PAHs that can cause oxidative DNA damage, leading to cardiovascular and reproductive effects. Respirable particulate matter PM<sub>2.5</sub> monitoring a team Partisol 2025 Plus with Palmflex quartz filters. The filters were subjected to ultrasonic extraction using dichloromethane as solvent. To identify PAHs in air Pamplona, the extracts were analyzed on an HP6890 gas chromatograph with FID detector plus . Comet assay was used to determine the genotoxic damage .In this paper we report the identification of a group of metals and PAHs found in PM<sub>2.5</sub> particulate matter air Pamplona. The PAHs in the air of Pamplona- Colombia were: Benzo ( a ) pyrene , Benzo ( c ) fluorene , Benzo ( b ) fluoranthene , Chrysene , Benzo ( k ) fluoranthene , classified as carcinogenic and probably carcinogenic to humans . It should be noted that the Benzo (a) pyrene in the air identified Pamplona, is probably the best known and potent carcinogen of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons, according to the International Agency for Research on Cancer ( IARC ) . Mutagenic and genotoxic activity induced by particulate matter (PM<sub>2.5</sub> ) in Pamplona can be attributed to emissions from diesel -powered engines and gasoline.

**Keywords:** polycyclic aromatic hydrocarbons, Genotoxicity, mutagenicity

## Resumen

Los tóxicos del aire son contaminantes que son conocidos o sospechosos de causar efectos adversos a la salud, los contaminantes del aire difieren en sus características fisicoquímicas, pueden estar agrupados en varias categorías: contaminantes gaseosos como: Ozono, SO<sub>2</sub>, NO<sub>x</sub> ,CO ,Compuestos Orgánicos Volátiles, contaminantes orgánicos persistentes, metales pesados y material particulado (PM<sub>10</sub> y PM<sub>2.5</sub>) (fino y ultrafino). En los humanos, la inhalación es la ruta más frecuente de acceso de los contaminantes atmosféricos al organismo, es por esto que el tracto respiratorio y los pulmones están generalmente involucrados en los procesos de translocación del agente nocivo por la sangre y los tejidos, estos contaminantes pueden causar efectos pulmonares y sistémicos que incluyen inflamación, reconstrucción de tejidos y carcinogénesis.

El material particulado fracción respirable conocido como PM<sub>10</sub> y PM<sub>2.5</sub>, tiene la capacidad de penetrar y depositarse en las regiones traqueo- bronquial y alveolar del tracto respiratorio .Estudios relacionados con las fuentes de emisión de las partículas finas (PM<sub>2.5</sub>) comprueban que los vehículos que funcionan con diesel y gasolina son una de las principales fuentes de emisión de material particulado .En cuanto a los efectos sobre la salud humana ,especialmente enfermedades respiratorias , el material particulado fracción respirable es el de mayor preocupación ya que la gente pasa cerca del 20% de su tiempo al aire libre ; a largo plazo la exposición al PM se ha asociado con una mayor incidencia del aumento de la tasa de cáncer de pulmón y enfermedades cardiovasculares .El daño del PM se produce a través del estrés oxidativo ,que es asociado con niveles anormales de especies reactivas de oxígeno (ROS) que se considera están relacionados con procesos carcinogénicos .El



daño oxidativo del ADN es muy importante en carcinogénesis . El  $PM_{2.5}$  contiene HAPs mutagenicos y carcinogénicos que pueden causar daño oxidativo del ADN, conducen a efectos cardiovasculares y reproductivos.

El material particulado fracción respirable  $PM_{2.5}$  se monitoreo con un equipo Partisol 2025 Plus con filtros de cuarzo Palmflex. Los filtros se sometieron a extracción por ultrasonido utilizando como solvente el Diclorometano. Para identificar los HAPs presentes en el aire de Pamplona, los extractos obtenidos se analizaron en un cromatografo de gases HP6890 plus con detector FID. Se utilizó el ensayo Cometa para determinar el daño genotóxico.

En este trabajo nosotros reportamos la identificación de un grupo de metales e HAPs encontrados en el material particulado  $PM_{2.5}$  del aire de Pamplona . Los HAPs presentes en el aire de Pamplona –Colombia fueron los siguientes: Benzo(a)pireno, Benzo(c) fluoreno, Benzo(b)fluoranteno, Criseno, Benzo(k)fluoranteno, clasificados como carcinogénicos y probablemente carcinogénicos para humanos. Es necesario señalar que el Benzo(a)pireno identificado en el aire de Pamplona, es probablemente el más conocido y potente carcinógeno de los Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos, según la Agencia Internacional de Investigación del Cáncer (IARC). La actividad mutagenica y genotoxica inducida por el material particulado ( $PM_{2.5}$ ) de Pamplona la podemos atribuir a las emisiones de los motores que funcionan con diésel y gasolina.

**Palabras clave:** Hidrocarburos aromáticos policíclicos, Genotoxicida, mutagenicidad



## 1. INTRODUCCION

La contaminación del aire por material particulado (PM) se considera un serio problema ambiental debido a la presencia en la atmósfera de materiales peligrosos tales como metales traza tóxicos (Shah et al,2006). Se ha demostrado que los metales asociados con PM aumentan las lesiones cardiopulmonares en los seres humanos (Shaheen et al,2005). Estudios epidemiológicos relacionados con los efectos en la salud de la contaminación ambiental del aire sugieren que esta puede ser la responsable del aumento de la tasa de cáncer de pulmón (Goldberg,et al,2001;Cohen & Pope,1995;Speizer,1983).

Los estudios epidemiológicos han informado las asociaciones entre los problemas de salud, especialmente enfermedades respiratorias y la exposición a partículas finas y ultrafinas ( $PM_{10}$  y  $PM_{2.5}$ ). Las partículas de la fracción respirable ( $PM_{10}$  y  $PM_{2.5}$ ) tienen la capacidad de penetrar y depositarse en las regiones traqueo-bronquial y alveolar del tracto respiratorio (Vinitketkumnun et al,2001).-La inhalación de concentraciones altas de las partículas en suspensión con un diámetro menor de  $2.5 \mu m$  ( $PM_{2.5}$ ) están asociadas con efectos adversos para la salud, incluyendo el aumento de problemas respiratorios, cáncer y mortalidad (Zmirou et al,2000).

En cuanto a los efectos sobre la salud humana, el material particulado (PM) fracción respirable es el de mayor preocupación, ya que a largo

plazo la exposición al PM se ha asociado con una mayor incidencia de enfermedades pulmonares, cardiovasculares y cáncer (Pope III,2002; B.Brunekreef & Holgate,2002).En las áreas urbanas los metales pesados provienen de las emisiones vehiculares y actividades industriales (Zheng ,et al2010) .Diferentes Hidrocarburos aromáticos y metales son considerados como probables o posibles carcinógenos humanos por la Agencia Internacional de Investigación del Cáncer (IARC,"1987). Los metales han sido asociados con un incremento de riesgo de cáncer pancreático exocrino (Amaral,et al,2011)..

La identificación y cuantificación de la exposición humana a estos compuestos mutagénicos y genotóxicos es imprescindible en la evaluación de los riesgos de la salud pública. Varios estudios evaluaron la actividad mutagénica de material particulado atmosférico, concluyendo que los compuestos mutagénicos se encuentra casi exclusivamente en las partículas de menos de  $2,0$  a  $3,3 \mu m$  de diámetro (Pagano,et al,1996;Claxton,et al,2001).

Las partículas  $PM_{10}$  y  $PM_{2.5}$  muestran mutagenicidad directa e indirecta y los hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAPs) son considerados como las principales causas de acción indirecta de mutagenicidad, mientras que los hidrocarburos aromáticos nitropolicíclicos(NPAHs) son considerados como las causas principales de la acción directa de la mutagenicidad (Wada et al,2001). La



mutagenicidad de las partículas emitidas por los tubos del escape de motores diesel (DEP) ha sido ampliamente estudiada (Riger, et al, 2011; Singh, et al, 2004; Mumford and Lewtas, 1984) y se ha demostrado su actividad mutagenica directa (Taga et al, 2005). Los estudios de mutágenos en el aire proporcionan algunas evidencias sobre el origen de estos. Debido a que un número de los estudios se produjo en sitios urbanos, varios investigadores indican que las fuentes móviles (automóviles, camiones, etc), contribuyen significativamente al nivel de mutágenos en el aire (Riger, et al, 2011; Fukino, 1982)

En un estudio (Riger, et al 2011) hallaron que las concentraciones en el aire de Pb, Zn, V y Cd se relacionan con la mutagenicidad de acción directa de materia orgánica en el material particulado. La mutagenicidad de las DEP ha sido investigada por algunos científicos (Riger, et al, 2011; Singh, et al, 2004; [24] y se ha demostrado que son directamente mutagénicas (Lingzhi, et al. 2007)

Aparte de su carcinogenicidad, los HAPs pueden ejercer sus efectos negativos sobre el organismo humano por la inducción de estrés oxidativo. Estos compuestos tienen la capacidad para entrar en ciclos redox, aumentar la formación de especies reactivas del oxígeno (ROS) y por lo tanto, causar estrés oxidativo. Las partículas sólidas en el PM son otra fuente de ROS, producido fundamentalmente como resultado de los procesos inflamatorios (Li, et

al, 1997; Donnelly, et, al, 1990). El estrés oxidativo resulta de un desequilibrio entre prooxidantes, incluyendo ROS y antioxidantes en el organismo que pueden afectar al ADN, los lípidos, así como proteínas (Klaunig and Kamendulis) y se considera que está involucrado en procesos carcinogénicos (Milaeva, 2011). En el aire de la región Nororiental de Colombia, no existe información en general sobre los niveles de genotoxicidad y su relación con los metales pesados e hidrocarburos Aromáticos Poli cíclicos (HAPs). En el presente estudio las partículas en suspensión (PM<sub>2.5</sub>) y los compuestos volátiles se recogieron en un equipo Partisol 2025 Plus durante el periodo comprendido entre Enero-Julio 2011 cerca de una vía muy transitada en Pamplona-Norte de Santander por vehículos que funcionan con diesel y gasolina. Estas muestras se analizaron para la detección de Hidrocarburos Aromáticos Poli cíclicos (HAPs) por Cromatografía de gases/FID, los metales pesados se determinaron por Absorción Atómica y se realizaron bioensayos para determinar su actividad genotóxica; las actividades gen tóxicas asociadas con el aire ambiente de Pamplona-Colombia, se evaluaron utilizando el ensayo cometa.

## 2. METODOLOGÍA

EL monitoreo del PM<sub>2.5</sub> se realizó con un equipo Partisol- Plus Model 2025-Air sampler. U.S.EPA. Reference designated PM<sub>2.5</sub> Method RFPS 0498-118 in accordance with 40CFR Part 53 de la Ruprecht-Patashnick.



Se realizó el monitoreo de la fracción respirable  $PM_{2.5}$  en Pamplona- Norte de Santander ubicada en la cordillera Oriental de Colombia, al sureste del Departamento Norte de Santander con coordenadas geográficas  $72^{\circ} 25'$  de longitud Oeste y  $7^{\circ} 20'$  de latitud Norte, a una altitud de 2300 msnm y una presión atmosférica de 583 mm de Hg; se instaló en la azotea de la Facultad de Ciencias Básicas de la Universidad de Pamplona el equipo Partisol 2025 Plus. Las muestras ambientales obtenidas con el muestreador Partisol 2025 Plus en muestreos de 24 horas, con una frecuencia de tres días se realizaron durante el período comprendido entre Enero-Julio del 2011.

Se escogió la Universidad de Pamplona en Pamplona-Colombia como sitio del muestreo de la fracción respirable  $PM_{2.5}$  por sus características particulares, ya que está ubicada en un sector residencial y en una vía que presenta un alto flujo vehicular, particularmente de tráfico pesado que utiliza como combustible el Diesel.

### **Análisis de metales.**

Para la detección de los metales presentes en el  $PM_{2.5}$  se utilizó un equipo de Espectrofotometría de Absorción Atómica (EAA) Perkin Elmer Analyst 300. Para realizar la curva de calibración se usaron patrones Analíticos de Merck.

Se utilizaron filtros de Teflón de 47 mm de diámetro, con un tamaño de poro de 2 micras. Para la extracción y el análisis de los elementos metálicos recolectados en

la localidad de Pamplona (Norte de Santander), se utilizó el método (EPA IO-3.2, 1999), que establece una digestión del 10% del área del filtro. La muestra se preparó por duplicado así: se tomaron al azar 20 filtros, se recortaron en pequeños trozos, se introdujeron en un erlenmeyer de 250 mL y se adicionaron 100 mL de ácido clorhídrico concentrado al 37%, el erlenmeyer se cubrió con un vidrio de reloj y se calentó suavemente durante 6 horas, hasta reducir el volumen a 25 mL. Se removió la solución anterior y se trasvaso a un erlenmeyer de 100mL, se adicionaron 10mL de agua destilada; para extraer los sólidos presentes, se calentó durante 15 minutos, el procedimiento de extraer los sólidos se repitió 3 veces. Se combinaron los extractos y se llevaron hasta casi sequedad, posteriormente se adicionaron 10mL de ácido clorhídrico concentrado al 37% y 10 gotas de ácido nítrico y se transfirieron a un balón aforado de 25mL. Este mismo procedimiento se realizó para el blanco. Se filtro la muestra con los metales y el blanco para eliminar cualquier material extraño presente.

### **Extracción de la Materia Orgánica de los filtros de $PM_{2.5}$**

La materia orgánica de los filtros de  $PM_{2.5}$  (HAPs) se extrae por ultrasonido (Banjoo & Nelson, 2005) en un baño ultrasónico (Branson 1510, modelo 1510R-MT); se utiliza diclorometano como solvente de extracción. Los filtros de  $PM_{2.5}$  se colocan en un vaso de precipitado con 20 ml del solvente por un periodo de 10 minutos a una temperatura de





23°C-24°C esta extracción se repite diez veces.- Un procedimiento común para el análisis de los HAPs consiste en la extracción seguido por el análisis instrumental, como la cromatografía de gases o la cromatografía líquida (Ping and Panuwat,2005)

Una vez obtenido el extracto orgánico, se lo concentra en un evaporador rotatorio de vacío, marca Heidolph modelo Laborota 400-1, a una temperatura de 30°C a 150 rpm; hasta aproximadamente 10 ml.

Posteriormente el extracto se transfirió a dos viales cada uno de 5ml. El extracto global se utiliza para la determinación de Hidrocarburos Aromáticos Poli cíclicos (HAPs) por Cromatografía de Gases y el otro para los ensayos muta génicos.

Las muestras de HAPs se secaron con Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, con el fin de eliminar el agua residual y preparar la muestra para el análisis cromatográfico. Se guardaron en frasco ámbar, manteniéndolas refrigeradas a 4 °C.

### **Detección de Hidrocarburos Aromáticos Poli cíclicos (HAPs)**

Para identificar los Hidrocarburos Aromáticos Poli cíclicos (HAPs) presentes en el PM<sub>2.5</sub> de Pamplona se utilizó un equipo de Cromatografía de Gases marca Agilent Technologies 6890A Plus Series II Hewlet-Packard Plus con detector FID (Flame Ionization Detector). La columna utilizada es Agilent DB-EUPAH 20m de longitud, 0.18mm de diámetro, 0.25µm de diámetro interno(5% phenyl methylpolysiloxane). Para la identificación de los HAPs se

utilizó el patrón de 16 hidrocarburos de Restek (catalogo # 31841 EPA Method 8310 PAH Mixture). La identificación cualitativa de los HAPs presentes en el extracto global se realizó de acuerdo a las siguientes condiciones: detector FID a 320°C Mezcla (mL/min): Aire 400 – H<sub>2</sub> 30 –N<sub>2</sub> 45. Se inyectó 1 µl, modo splitless a 320°C.

Temperatura inicial 45°C por 0.8 min y se incrementa de la siguiente manera: 45°C/min hasta 200°C, 2,50°C/min hasta 225°C, 3°C/min hasta 266°C, 5°C/min hasta 300°C, 10°C/min hasta 320°C durante 4,50min. Tiempo de análisis por muestra 41.21 min. Gas de arrastre Helio, flujo 20 mL/min. Temperatura del inyector 250 °C.

**Ensayo Cometa.** El ensayo cometa es una técnica altamente sensible para evaluar el daño y la reparación del ADN en cualquier tipo de célula eucariota. Este, en su versión alcalina, permite detectar roturas de simple cadena y sitios sensibles al álcali que se originan durante la reparación dando lugar a la formación de la cola del cometa(Ayala,2004)

En general el principio básico del ensayo, es la migración del ADN en una matriz de agarosa bajo condiciones de electroforesis. Luego, al ser observada la célula al microscopio, presenta la apariencia de un cometa, con una cabeza (región nuclear) y cola (formada por fragmentos nucleares que han migrado en dirección del ánodo) por lo que este ensayo es también conocido como ensayo Cometa, debido al patrón de migración del ADN que se produce en las células



dañadas.

### Extracción de linfocitos

Se toman 5 ml de sangre total fresca de una persona sana y se mezcla suavemente con 5 ml de PBS. En otro tubo diferente se adicionan 3 mL de Histopaque y 9 mL de sangre, se centrifuga durante 30 min a 2.300 rpm y se recoge la capa intermedia que es donde están los linfocitos

### Tratamiento

A 200  $\mu$ l de células, se adiciona 50  $\mu$ l del tratamiento o control (dosis:  $D_1= 50 \mu\text{g}$ ;  $D_2= 100 \mu\text{g}$ ;  $D_3= 200 \mu\text{g}$ ). Para el control positivo se utilizó  $\text{H}_2\text{O}_2$  25mM y para el control negativo PBS. Posteriormente se incuban estas dosis y controles durante 1h a 37°C. Se toma 75  $\mu$ l agarosa de punto de fusión normal (LMA) y se mezcla con 10  $\mu$ l de células tratadas. Seguidamente la mezcla anterior se adiciona a la lámina base e inmediatamente se coloca el cubre objeto y se lleva a incubación durante 6 min a 4°C. Después de cumplidos los 6 min a 4°C, se retira el cubre objeto y se adicionan otros 75  $\mu$ l de agarosa, se incuba durante 6 min a 4°C. Terminado este tiempo se quita el cubre objeto y se incuba durante 1h a 4°C en solución de trabajo de lisis. A continuación se lavan las placas con PBS y se colocan en una cámara de electroforesis (que contiene solución de trabajo de buffer de electroforesis) durante 30 minutos sin conectar a la fuente. Posteriormente se conecta la cámara durante 30 minutos a 300 Amperios. Culminado el tiempo se procede a retirar de la cámara las

placas; las cuales se lavan con solución neutralizante. Se dejan secar e inmediatamente se adiciona 30  $\mu$ l de bromuro de etidio y se cubre con un cubre objetos para la lectura de las células. Luego se observa en el microscopio de fluorescencia Olympus U-RFKT50 con el objetivo de 25X y se mide la migración del ADN de 200 células; contando con la reglilla hacia la derecha a partir del núcleo de la célula.

### Análisis estadístico.

Se determinó homogeneidad de varianzas usando la prueba de Levene. Si el comportamiento de los datos es paramétrico, se aplica Análisis de varianza (ANOVA). Si los datos son no paramétricos se utilizan las pruebas de Mann-Whitney y Wilcoxon. Se utilizó la prueba de Dunnett para determinar el nivel de significancia entre el tratamiento y control, así como la prueba de Tukey para comparaciones múltiples.

Los valores se expresan como la media  $\pm$  la desviación estándar ( $X \pm DS$ ) y las pruebas se consideraron significativas con una  $p \leq 0.05$ .

## 3. RESULTADOS Y DISCUSION

Como se observa en la tabla 1, el Fe es el metal que se encuentra en mayor concentración ( $23 \mu\text{g m}^{-3}$ ), seguido por el Pb, Zn y el K, que se encuentran entre 1 y  $6,5 \mu\text{g m}^{-3}$ . Los restantes metales (Ni, Mn y Cr) se encuentran en concentraciones por debajo de  $1 \mu\text{g m}^{-3}$ . Es de anotar que en el municipio de Pamplona la principal fuente de contaminación





atmosférica es el tráfico vehicular, porque en este municipio no existe ningún tipo de industria, lo que nos permite inferir que los metales pesados encontrados en el aire de Pamplona son emitidos básicamente por la combustión vehicular, estos resultados concuerdan con estudios realizados por otros autores (Kuo, et al,1998; Cancio, et al,2008; Mari, et al,2009; Wu, et al,2007).

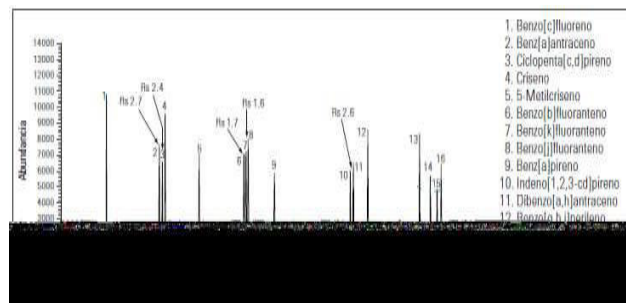
**Tabla 1.** Metales hallados en el material particulado PM<sub>2.5</sub> del Municipio de Pamplona Norte de Santander Colombia.

Met	Concentración $\mu\text{g m}^{-3}$
Ni	0.2729 $\pm$ 0,02
Mn	0.3385 $\pm$ 0,03
Cr	0.8854 $\pm$ 0,05
Pb	1.02 $\pm$ 0,2
Zn	2.45 $\pm$ 0,5
Fe	22.97 $\pm$ 0,8
K	6.51 $\pm$ 0,7

De igual manera compuestos de Pb han sido enumerados como posibles carcinógenos humanos sobre la base de datos de roedores [41].. Como se observa en la tabla 2, las muestras de aire analizadas muestran un alto potencial genotóxico, cuando se evaluó en el ensayo Cometa. Este resultado nos indica que existe un riesgo en la población expuesta, teniendo en cuenta que existe una correlación entre el incremento del daño en el ADN y cáncer en humanos [44]. Parte de la actividad mutagénica también la podemos atribuir al Cr y el Ni, los cuales son conocidos metales cancerígenos (Cancio, et al,2008). Ciertas formas de cromo hexavalente son conocidos carcinógenos respiratorios que inducen un amplio espectro de daño en el ADN. Los metales pesados causan estrés oxidativo y

pueden asociarse con formación de tumores en células mamarias.

Podemos observar en el cromatograma de la figura 1 los 16 HPAs que servirán para realizar la identificación de los diferentes HPAs presentes en el extracto global del PM<sub>2.5</sub> de Pamplona. Se tomó como referencia el cromatograma de la muestra patrón de 16 Hidrocarburos aromáticos poli cíclicos recomendados por la EPA (State of California EPA. 2008)]. El perfil cromatográfico del extracto global de los compuestos orgánicos presentes en el PM<sub>2.5</sub> de la ciudad de Pamplona utilizando como solvente de extracción diclorometano se muestra en la figura 2. Como se observa en este cromatograma, los hidrocarburos aromáticos poli cíclicos (HPAs) encontrados son: Benzo( c) fluoreno, Criseno (2B), Benzo(b)fluoranteno (2B), Benzo(k)fluoranteno (2B), Benzo(a)Pireno(1).



**Figura 1.** Cromátograma de la muestra patrón de 16 Hidrocarburos (Catalogo # 31841 EPA Method 8310 PAH Mixture)

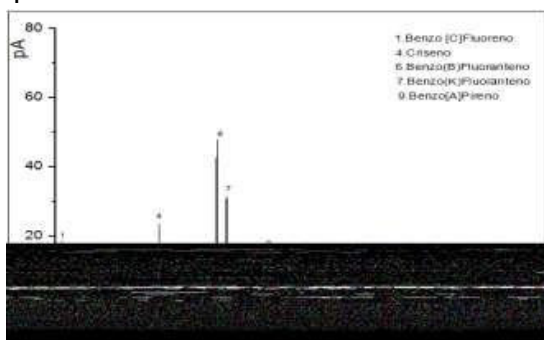
Es de anotar que estos HPAs provienen exclusivamente de la combustión de las fuentes móviles que circulan con diesel y gasolina, porque en el municipio no existe otra fuente de contaminación representativa.

Estos hallazgos nos indican que parte



de la genotoxicidad mostrada por el aire de Pamplona, es ocasionada por los HAPS encontrados, dado que existe suficiente evidencia que correlaciona la presencia de estos compuestos y el riesgo para la salud humana. Por ejemplo, el Benzo

(a) pireno está clasificado según la EPA [49] en el grupo 1 como carcinógeno para humanos; ,el Criseno,el Benzo (b) fluoranteno y el Benzo (k) fluoranteno se clasifican en el grupo (2B ) como posiblemente carcinogénicos para humanos.



**Figura 2.** Perfil Cromatográfico de la materia orgánica del PM<sub>2.5</sub> de Pamplona, extraída con Diclorometano.

**Tabla 2.** Daño del ADN en linfocitos de sangre periférica humana inducida por material particulado fracción respirable PM<sub>2.5</sub> de Pamplona Norte de Santander Colombia.

Dosis (µm)	Promedio de la longitud de cola en µm ± DS
50	108 ± 17
100	154 ± 20
150	162 ± 22
Control positivo	164 ± 21
Control negativo	41 ± 11

Se analizaron un total de 200 células en cada uno de los ensayos. Como control positivo se usó el peróxido de hidrogeno y como control negativo se utilizó dimetil-sulfoxido que fue el solvente usado para disolver las muestras.

#### 4. CONCLUSIÓN

- Existe un riesgo para la población expuesta, debido a que el PM del municipio de Pamplona muestra genotoxicidad , la cual probablemente se debe a los HAPs Benzo (a) Pireno,Criseno,Benzo(b) fluoranteno,Criseno,Benzo(k)fluoranteno así como a los metales (Cr, Ni, Pb) encontrados en la materia orgánica del PM<sub>2.5</sub> de esta localidad.

#### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Amaral,A.F.;M. Porta, D.T.Silverman ,R.L. Milne ,M.Kogevinas , N.Rothman, K.P.Cantor,B.P.Jackson , J.A.Pumarega,T.López,A.Carrato ,L.Guarner,F.X.Real & N.Malats,"Pancreatic cancer risk and levels of trace elements. *Gut*. Dec 19. [Epub ahead of print],2011

Banjoo D and P.Nelson,"Improved ultrasonic extraction procedure for the determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in sediments," *Journal of Chromatography A*,vol.1066,pp.9–18,2005

Brunekreef,B.; and S.T Holgate,"Air pollution and health,"

*Lancet*,vol.360,pp.1233–1242,2002

Cancio,J.J.;A.V.

Castellano,M.C.Hernández,R.G.Bethe



ncourt & E.M.Ortega," Metallic species in atmospheric particulate matter in Las Palmas de Gran Canaria," *Journal of Hazardous Materials*, vol.160, pp.521–528, 2008

Cohen, A.J & C.A.Pope," Lung cancer and air pollution", *Environ. Health Perspect*, vol.103 (Suppl), pp.219–224, 1995

Claxton, L.D.; S.Warren, R.Zweidinger & J.Crean," A comparative assessment of Boise, Idaho, ambient air fine particle samples using the plate and microsuspension *Salmonella* mutagenicity assays," *Sci. Total Environ*, vol.275, pp.95–108, 2001

Donnelly, K.C.; K.W. Brown, C.S. Anderson, G.C. Barbee & S.H. Safe," Metabolism and bacterial

mutagenicity of binary mixtures of benzo(a)pyrene and polychlorinated aromatic hydrocarbons," *Environ. Mol. Mutagen*, vol.16, pp.238–245, 1990

Fukino, H.; S.Mimura, K.Inoue & Y.Yamane," Mutagenicity of airborne particles," *Mutat. Res*, vol.102, pp.237–247, 1982

Klaunig, J.E and L.M.Kamendulis," The role of oxidative stress in carcinogenesis" *Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol*, vol.44, pp.239–267, 2004

Li, X.Y.; P.S.Gilmour, K. Donaldson & W.MacNee," In vivo and in vitro proinflammatory effects of particulate air pollution (PM10)," *Environ. Health Perspect*, vol.105 (Suppl. 5), pp.1279–1283, 1997

Lingzhi, B.; Ch.Shaopeng, W.Lijun, K.H.

Tom, W.Yuejin, Yu.Zengliang & An Xu," Mutagenicity of diesel exhaust particles mediated by cell-particle interaction in mammalian cells," *Toxicology*, vol.229, no 1–2, pp.91–100, 2007

Mari, M; M.Nadal, M.Schuhmacher, J.L. Domingo," Exposure to heavy metals and PCDD/Fs by the population living in the vicinity of a hazardous waste landfill in Catalonia, Spain: Health risk assessment," *Environment International*, vol.35, pp.1034–1039, 2009

Milaeva, E.R. "Metal-based antioxidants--potential therapeutic candidates for prevention the oxidative stress-related carcinogenesis: mini-review," *Curr Top Med Chem*, vol.11, no.21, pp.2703–13, 2011

Ping, L and H. Panuwat," Characterization of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) on lime spray dryer (LSD) ash using different extraction methods," *Chemosphere*, Vol.62, pp.265–274, 2006

Pope III, C.A.; R.T. Burnett, M.J.Thun, E.E.Calle, D. Krewski, K.Ito & G.D. Thurston GD," Lung cancer, cardiopulmonary mortality and long-term exposure to fine particulate air pollution," *J. Am. Med*, vol.287, no9, pp.1132–1141, 2002

Riger, C.J.; P.N.Fernandes, L.F.Vilela, A.A.Mielniczki-Pereira, D.Bonato, J.A.Henriques & E.C.Eleutherio," Evaluation of heavy metal toxicity in eukaryotes using a simple functional assay," *Metallomics*, vol.3, no.12, pp.1355–



6,2011

Singh, P.; D.M. DeMarini, C.A.J. Dick, V.J. V. Tabor, W.P. Ryan, T. Linak, T. Kobayashi & M.I. Gilmour, "Sample characterization of automobile and forklift diesel exhaust particles and comparative pulmonary toxicity in mice," *Environ. Health Perspect*, vol. 112, pp. 820–825, 2004

Wada, M.; H. Kido, N. Kishikawa, T. Tou, M. Tanaka M, J. Tsubokura, M. Shironita, M. Matsui, N. Kuroda & K. Nakashima, "Assessment of air pollution in Nagasaki city: determination of polycyclic aromatic hydrocarbons and their nitrated derivatives, and some metals," *Environ. Pollut*, vol. 115, pp. 139–147, 2001

