

**UNIVERSIDAD METROPOLITANA  
ESCUELA GRADUADA DE ASUNTOS AMBIENTALES  
SAN JUAN, PUERTO RICO**

**EVALUACIÓN DE PLANTAS CON POTENCIAL FITORREMEDIADOR DE  
HIDROCARBUROS AROMÁTICOS POLICÍCLICOS DE LA  
CIÉNAGA LAS CUCHARILLAS**

Requisito parcial para la obtención del  
Grado de Maestría en Ciencias en Gerencia Ambiental  
en Conservación y Manejo de Recursos Naturales

Por:  
José Iván Marengo Santiago

21 de noviembre de 2008

## **DEDICATORIA**

*A Dios todo poderoso,  
quien me ciñe de poder  
y quien hace perfecto mi camino.*

*Gracias Dios.*

*A mis padres,*

*Iván e Iris,*

*por su amor,*

*apoyo incondicional,*

*consejos y paciencia.*

*Los amo con todo mi corazón.*

## AGRADECIMIENTOS

Agradezco de manera especial a toda mi familia por apoyarme, por sus oraciones y por darme ánimo en todo momento, los amo. Gracias a mis hermanas Buby y Gordi por apoyarme en todos mis estudios. A mi prima Vicky, quien me ayudó incondicionalmente y me abrió las puertas de su pequeña morada, pero grande en apoyo y amor, eres canal de bendición.

Sincero agradecimiento a la Dra. Beatriz Zayas, por ayudarme y dirigirme en todo el proceso de la investigación, mil gracias. Al comité graduado, Dr. Juan C. Musa, y al Prof. Carlos Morales, por darme su ayuda en el proceso. Al Dr. Wilberto Hernández, por sus comentarios acertados en la elaboración y desarrollo del trabajo.

Mil gracias a Sujey Carro y Christian Vélez, por darme su apoyo y su amistad, por darme ánimo, vivieron conmigo grandes momentos. Agradezco a la gente buena de la Escuela de Asuntos Ambientales por darme ánimo en el proceso, en especial a Nilda Rivera y Alex Rodríguez por su ayuda incondicional.

Agradecido de manera muy especial a mi amiga Lymari Calero Toledo. Gracias por creer en mí, apoyarme, darme nuevos bríos y por siempre escucharme en todo momento. A mi amiga Lesly Colón, mi apoyo incondicional, oído presto a escuchar. Gracias, porque siempre apareces llena de luz para alegrarme el día. A mi amiga Yahaitza Gildelrubio, eres mis gotitas de alegría, gracias. A mis amigas de siempre, Julie y Lizy González, gracias, mis amigas del alma. Mil gracias a la familia Quiles Greó, por su gran cariño y apoyo incondicional. A todos, gracias, han sido de gran bendición para mi vida.

## TABLA DE CONTENIDO

LISTA DE TABLAS.....	vii
LISTA DE FIGURAS.....	viii
LISTA DE APÉNDICES.....	xi
RESUMEN.....	x
ABSTRACT.....	xi
CAPÍTULO I: INTRODUCCIÓN.....	1
Trasfondo del problema de estudio.....	1
Problema de estudio.....	5
Importancia del estudio.....	5
Preguntas de investigación.....	8
Objetivos.....	8
CAPÍTULO II: REVISIÓN DE LA LITERATURA.....	9
Trasfondo histórico.....	9
Marco conceptual o teórico.....	12
Caracterización de los PAHs.....	12
Fuentes generadoras de PAHs.....	13
Metabolismo de compuestos xenobióticos.....	14
Distribución ambiental de los PAHs.....	15
PAHs en humanos.....	15
PAHs en zonas marinas.....	17
PAHs en la atmósfera.....	18
PAHs en suelo.....	18
PAHs en las plantas.....	20
Técnicas ambientales para remover PAHs.....	22
Bioremediación.....	22
Fitoremediación.....	24
Estudio de Caso.....	27
CAPÍTULO III: MARCO LEGAL.....	29

CAPÍTULO IV: METODOLOGÍA.....	34
Área de estudio.....	34
Descripción de la población o muestra.....	35
Manejo de las muestras.....	36
Análisis de datos.....	37
CAPÍTULO V: RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	38
Resultados.....	38
Discusión de los resultados.....	42
CAPÍTULO VI: CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	47
Conclusiones.....	47
Recomendaciones.....	49
Limitaciones.....	50
LITERATURA CITADA.....	52

## LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Plantas de mayor abundancia que se encontraban en áreas visiblemente contaminadas con potencial fitorremediador.....	66
Tabla 2. Características de las plantas que se tomaron en consideración en el estudio....	67
Tabla 3. Límites permitidos por las pertinentes agencias reguladoras.....	68

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1. <i>Ludwigia erecta</i> .....	70
Figura 2. <i>Cyperus elegans</i> .....	71
Figura 3. Vista aérea de la Ciénaga Las Cucharillas.....	72
Figura 4. Área de la Ciénaga las cucharillas donde se tomaron las muestras.....	73
Figura 5. Análisis estadístico del contenido de PAHs en las muestras de la Ciénaga Las Cucharillas.....	74
Figura 6. Cromatograma de los 16 PAHs de importancia prioritaria por la EPA.....	75

## LISTA DE APÉNDICES

Apéndice 1. Estructuras configuracionales de los Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos .....	77
Apéndice 2. Cadenas de custodia.....	79
Apéndice 3. Resultados por Pace del Caribe Laboratories Inc.....	81
Apéndice 4. Cromatogramas de los análisis químicos.....	89



## RESUMEN

Los humedales son ecosistemas de gran valor ecológico y se encuentran distribuidos en todas partes del mundo. Uno de los humedales que tiene gran importancia en Puerto Rico es la Ciénaga Las Cucharillas, que se ha visto amenazado por deposición de contaminantes orgánicos como los hidrocarburos aromáticos policíclicos. Sin embargo, para la remediación de contaminantes en la naturaleza contamos con la técnica de fitorremediación. Por eso, tenemos como objetivos, evaluar el perfil de la flora de la Ciénaga Las Cucharillas para identificar plantas con potencial fitorremediador de los PAHs. Analizar la presencia de PAHs en las plantas seleccionadas y discutir los factores que puedan afectar la permanencia o transporte de los contaminantes orgánicos en la flora del humedal. Por eso se tomó en consideración, después de las visitas al humedal y comparando con la literatura científica, para la recolección de muestras, el antiguo cauce del Río Bayamón. Estas muestras fueron almacenadas y enviadas a los laboratorios “Pace Analytical del Caribe, Inc.” Obtuvimos como resultados un 16% de plantas que presentan capacidad fitorremediadora; como *Cyperus elegans* y *Ludwigia erecta*. Los análisis químicos demostraron estar por debajo del límite de detección de la EPA (SW-846, 8270C) de 330 µg/kg. Los factores que pudieran afectar la presencia de PAHs en las plantas son: la efectividad varía de acuerdo a la especie de las plantas, periodos de lluvias, la capacidad de degradarse el contaminante, el tiempo en que la planta procesa y la transformación mediante microorganismo. Debido a esta situación, es importante que se sigan elaborando trabajos investigativo para obtener conocimientos de plantas fitorremediadoras que ayuden a la conservación y manejo del humedal.

## ABSTRACT

Wetlands are ecosystems of great ecological value and are distributed around the world. One of the wetlands that have great significance in Puerto Rico is the Ciénaga Las Cucharillas, which has been threatened by deposition of organic pollutants such as polycyclic aromatic hydrocarbons. However, for the remediation of contaminants in the nature have a phytoremediation technique. Therefore, we have as goals; assess the flora profile of the Ciénaga Las Cucharillas to identify plants with phytoremediate potential of PAHs. Analyze the presence of PAHs in selected plants and discuss the factors that affect the retention or transport of organic pollutants in the wetland flora. We take into consideration, after visits to a wetland and comparing with the scientific literature, for the samples collection, the old riverbed of the Rio Bayamón. These samples were stored and shipped to laboratories Pace Analytical del Caribe, Inc.” Obtained as a result 16% of plants that present phytoremediate capacity; like *Cyperus elegans* and *Ludwigia erecta*. Chemical analysis showed to be below the detection limit of the EPA (SW-846, 8270C) of 330 mg / kg. Factors that could affect the presence of PAHs in the plants are: the effectiveness varies with the species of plants, periods of rain, the ability to degrade the contaminant, the time that the plant processes and the transformation by microorganism. Due to this situation, is important to continue to develop scientific research to gain knowledge of phytoremediate plants to assist the natural resource management.

# CAPÍTULO I

## INTRODUCCIÓN

### **Trasfondo del problema**

Los humedales son ecosistemas que pueden ser encontrados en la mayor parte del mundo, en especial en áreas costeras, y gozan de gran valor ecológico. En el Caribe hay un sin número de humedales en las costas, y en Puerto Rico contamos con muchos de ellos. Estos ecosistemas tienen características bien particulares de las cuales podemos mencionar suelos saturados con agua estancada la mayor parte del año. Además cuenta con una vegetación y/u organismos que se adaptan a dichas condiciones húmedas (NOAA, 2005).

Estos humedales poseen un gran valor ecológico como socioeconómico. Desde el punto de vista de importancia ecológica proveen hábitculo, alimento y protección a una gran variedad de especies de animales como peces, aves, mamíferos, reptiles e invertebrados. Una de las funciones principales de los humedales es que filtran el agua, ya que remueven el exceso de partículas sólidas, nutrientes en exceso y varios contaminantes; proporcionando aguas más limpia a la biodiversidad que se beneficia del mismo (NOAA, 2005).

Dentro de la importancia socio-económica, los humedales tienen uso directo e indirecto de sus recursos. Proporcionan leña, materiales de construcción y madera para la producción de carbón, como una fuente de alimento y plantas medicinales. Entre los usos indirectos podemos mencionar el que juegan un papel como criaderos para especies de peces y crustáceos de importancia comercial. Además, los humedales actúan como

protección contra tormentas, estabilizan la zona costera, controlan las inundaciones, entre otras (NOAA, 2005).

En Puerto Rico, en el área metropolitana, contamos con un humedal llamado la Ciénaga Las Cucharillas, que cuenta con una extensión de 1,236 cuerdas y se encuentra ubicado entre los pueblos de Cataño, Guaynabo y Bayamón (Batista, 2005). Actualmente, la ciénaga se ha transformado en un humedal herbáceo que sirve de hogar para una gran diversidad de especies de plantas, aves, aves acuáticas, peces, mamíferos, reptiles y anfibios que componen tanto la conformación vegetativa como la población animal (Morales, 2001; Batista, 2005). En particular, la importancia de la Ciénaga Las Cucharillas, es que protege a las comunidades aledañas de inundaciones, ya que ayuda a absorber el exceso de agua. También reduce los niveles de contaminación generados por las actividades industriales, comerciales y residenciales en la zona. Ayuda a reducir, absorbiendo, los contaminantes atmosféricos generados por las plantas generadoras, las refinerías y los automóviles que pasan por las carreteras cercanas a la ciénaga (Morales, 2001; Batista, 2005).

Sin embargo, a pesar de su gran importancia y función, el humedal se ha visto amenazado por otros factores externos. Entre estas amenazas podemos mencionar la presión del desarrollo urbano, la contaminación por descargas sanitarias e industriales, como por la disposición ilegal de desperdicios sólidos. Además, está fuertemente amenazada por la erosión y la sedimentación, a causa de la deforestación por el incontrolado crecimiento urbano; que a la vez ha causado el cambio en el flujo del agua como resultado de los proyectos de construcciones no planificados. Esto tiene como

resultado el que afecta la interacción entre el ambiente y el humano en nuestra sociedad (Morales, 2001).

Anteriormente, ésta ciénaga, como tantos otros humedales en Puerto Rico, fue destruida o degradada por orden del gobierno para el año 1873. Esto, ya que consideraban a los humedales criaderos de mosquitos, fuentes de mal olor, o lugares apropiados para el desarrollo de actividades agrícolas e industriales o áreas de construcciones de residencias. Actualmente, a pesar de que se han hecho estudios de conservación y manejo de la Ciénaga Las Cucharillas, ésta todavía es impactada por los factores anteriormente mencionados, causando así que haya más contaminación en el área. Uno de los factores que causa mayor contaminación son las descargas sanitarias e industriales. Este factor es de gran cuidado, ya que deposita en el humedal grandes cantidades de compuestos orgánicos, que pueden ser devastadores tanto para la conservación de la ciénaga como para la población aledaña a la misma.(Morales, 2001)

Entre los contaminantes que podemos encontrar en la Ciénaga Las Cucharillas se encuentran los compuestos orgánicos. Una de las familias de compuestos orgánicos que mayor importancia tienen son los Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos [Polycyclic Aromatics Hydrocarbons (PAHs, por sus siglas en inglés)]. Estos compuestos tienen propiedades cancerígenas y genotóxicas (Maccubbin et al., 1990), que si no se le da la importancia adecuada pueden causar efectos adversos en la población humana, animal y vegetal.

Los PAHs contienen átomos de hidrógenos y carbonos con sustituyentes tales como nitrógeno, azufre, cloro y oxígeno, los cuales forman compuestos aromáticos heterocíclicos. También presentan la característica o propiedades de que son ubicuos en

el ambiente natural (Muller et al., 1996). Los PAHs son moléculas que se fijan fuertemente en el suelo y en la cadena de lípidos de los seres vivos debido a su propiedad de liposolubilidad e hidrofobicidad (Cernigla, 1992). El interés en el análisis directo de PAHs va aumentando cada vez más. Esto, debido a sus propiedades cancerígenas, enlazada a que estos contaminantes ambientales se originan de una variada gamma de fuentes naturales (biogénicas y geoquímicas) y antropogénicas (Muller et al., 1996; Maziarz et al., 2005).

Por lo tanto, es de suma importancia identificar plantas con potencial fitorremediador de PAHs, que ayuden absorber estos compuestos orgánicos para la conservación de la vida humana, como la conservación de los recursos naturales que componen la conformación vegetativa y animal de la Ciénaga Las Cucharillas.

A pesar de que se han hecho y están haciendo esfuerzos y estudios para su conservación como reserva natural, falta mucho más que estudiar en ella. Debido a que este humedal ha sido muy contaminado por descargas de aguas usadas al canal de la ciénaga, salidas de las industrias y emisiones atmosféricas de las plantas generadoras de Energía Eléctrica de Puerto Nuevo y Palo Seco (Álvarez et al., 1994; Seguinot, 1998; Consorno & Asociados, 2001), hay que hacer estudios de plantas que tengan potencial fitorremediador de contaminantes. Esto con el propósito de colaborar con la conservación del humedal, para así alargar la vida, importancia y función, como para la biodiversidad que en ella habitan y para las comunidades circundantes que se benefician de tan importante recurso natural.

## **Problema del estudio**

El Instituto Nacional de Estándares y Tecnología identificó 660 sustancias pertenecientes a la familia de los PAHs, de las cuales de 30 a 50 las podemos encontrar regularmente en el ambiente (Grimmer, 1983; US DHHS, 1995; Sander & Wise, 1997). La Agencia de Protección Ambiental (EPA) ha determinado que los PAHs son moléculas altamente recalcitrantes que pueden persistir en el ambiente por su hidrofobicidad y 16 de estos son considerados de prioridad para propósitos regulatorios en el ambiente (Hodgeson, 1990; Cernigla, 1992). Debido a sus propiedades cancerígenas y enlazadas a que estos contaminantes ambientales se originan tanto de fuentes naturales como antropogénicas, el interés en el análisis directo de PAHs va aumentando cada vez más (Muller et al., 1996; Maziarz et al., 2005).

Los estudios de presencia de los Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos que se encuentran en las plantas han sido muy escasos y el conocimiento científico referente a este tema en particular es limitado, por lo cual hay la necesidad de investigación de estos compuestos orgánicos. Además, los estudios que se pueden encontrar han sido desarrollados en otros países, por lo que Puerto Rico no cuenta con información científica aplicable a nuestro entorno.

## **Importancia del estudio**

Según el Programa del Estuario de la Bahía de San Juan (2000), uno de los más importantes recursos naturales que ha beneficiado a los residentes del Área Metropolitana, así como a toda la isla de Puerto Rico, es la Ciénaga Las Cucharillas. Esta importancia se debe al valor de sus recursos naturales, además de sus puertos,

playas, áreas históricas y recreacionales. Este humedal está localizado entre los municipios de Cataño, Bayamón y Guaynabo. La ciénaga cubre aproximadamente 500 hectáreas y consiste mayormente de plantas herbáceas, mangles y áreas abiertas de agua. Este humedal herbáceo es habitáculo para muchas especies de peces y aves, también como componente para el ciclo de nutrientes y contaminantes asimilados que vienen de áreas urbanas (SJBEP, 2000).

Dada su importancia, se han hecho estudios de fuentes de contaminación que afectan la ciénaga, que han impactado tanto al humedal como a la comunidad que la rodea (Seguinot, 1998). Estos estudios han encontrado que las mayores fuentes de contaminación incluyen descargas de aguas usadas al canal de la ciénaga, salidas de las industrias (Consorno & Asociados, 2001), emisiones atmosféricas de las plantas generadoras de Energía Eléctrica de Puerto Nuevo y Palo Seco (Álvarez et al., 1994), entre otras.

Todas estas actividades ayudan a un incremento de los PAHs, que al estar disponible en el aire y ser depositados en el suelo y en el agua (Banforth & Singleton, 2005), pueden ser absorbidos por los peces, animales y por las plantas (Kipopoulou et al., 1999). Esto puede ocasionar serios problemas en la salud humana y ambiental, ya que la rápida absorción de los PAHs por los humanos resulta en un alto potencial para la biomagnificación en la cadena alimentaria (Bamforth & Singleton, 2005), lo cual causará efectos devastadores en la población.

En años recientes, las emisiones de contaminantes orgánicos, como los PAHs, han estado aumentando considerablemente. A nivel mundial, se han propuesto disminuir los contaminantes orgánicos persistentes, ya que esto fue asignado y regulado por la



Convención de Estocolmo, y también fue incluido en el comité de las Naciones Unidas y Europeas (Nadal et al., 2004). Esto se debe a que las comunidades que rodean las instalaciones de las plantas químicas han reflejado un aumento en su incidencia de cáncer y tienen otras repercusiones adversas en la salud (Kaldor et al., 1984; Pan et al., 1994; Lin et al., 2001; Yang et al., 2002).

Aunque se han hecho investigaciones en diferentes áreas de extracción e identificación de los PAHs, tanto en sedimentos, agua y diferentes especies de peces, todavía en plantas es muy poca la que han experimentado (Parrish et al., 2005), y en Puerto Rico no hay datos científicos que sustente la presencia de los PAHs encontrados en la vegetación.

Puesto que los PAHs son contaminantes ambientales que tanto los animales, peces y plantas pueden absorberlos y ser consumidos por el humano mediante la cadena alimentaria (Bamforth & Singleton, 2005), en Puerto Rico se debe hacer un estudio para la identificación de estos compuestos orgánicos que pueden afectar la salud ambiental como la humana. La Ciénaga Cucharillas es el lugar ideal ya que está rodeada de plantas industriales, zonas urbanas y emisiones atmosféricas (Álvarez et al., 1994; Consorno & Asociados, 2001).

### **Preguntas de investigación**

- ¿Qué plantas de la conformación vegetativa que rodea la Ciénaga Las Cucharillas, podría tener el potencial para ser utilizadas como fitoacumuladoras o fitorremediadoras de los Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos?

- ¿Cuáles Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos se encuentran presentes en las plantas seleccionadas de la conformación vegetativa de la Ciénaga Las Cucharillas?

### **Objetivos**

- Evaluar el perfil de la flora de la Ciénaga Las Cucharillas para identificar plantas con potencial fitorremediador de Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos que abundan en áreas de alta contaminación en la Ciénaga las Cucharillas.
- Analizar la presencia de PAHs en las plantas seleccionadas con potencial fitorremediador de conformación vegetativa que rodea la Ciénaga Las Cucharillas.
- Discutir factores que puedan afectar la permanencia o transporte de los PAHs en la flora de la Ciénaga Las Cucharillas.

## **CAPÍTULO II**

### **REVISIÓN LITERARIA**

#### **Trasfondo histórico**

En el pasado, los humedales (ciénaga, pantanos y manglares) se consideraban de muy poco valor económico ya que eran tachados como terrenos de emanar mal olor y como criaderos de mosquitos que transmitían enfermedades (Batista, 2005). Para finales de los años 1930 y principios de los 1940, con la problemática de la enfermedad la malaria, muchos de los manglares en Puerto Rico fueron drenados y/o vendidos. Esto se da bajo el mandato del gobierno de los Estados Unidos (Miranda & Casta, 1997), quien impulsó en el 1940 la Ley de Tierras de Puerto Rico, Ley Número 26 de 12 de abril de 1941, en la cual le permitía al Secretario del Departamento de Transportación y Obras Públicas vender los terrenos cubiertos por los humedales. Aparte de que los humedales fueron drenados y/o vendidos, también estos terrenos fueron invadidos, se desarrollaron establecimientos industriales, comerciales y complejos residenciales (Adam & Hefner, 1999).

Para el 1978, cambió la mentalidad del gobierno de Puerto Rico, y hay un esfuerzo agresivo de planificación de zona costera, por lo cual se establece una nueva política para la conservación de los humedales. Estos ecosistemas fueron reconocidos como áreas de mayor valor ecológico por su flora y fauna silvestre. Además, se toman en consideración como áreas de mitigación de inundaciones, zonas de amortiguamiento, áreas reductoras de contaminación como también áreas para recreación, investigación y educación (DRNA, 2003; Batista, 2005).

Uno de los humedales más estudiados en Puerto Rico es la Ciénaga Las Cucharillas la cual cuenta con una extensión territorial de 1,236 cuerdas, y está ubicada en el área metropolitana entre los pueblos de Cataño, Guaynabo y Bayamón (Batista, 2005). Este humedal ayuda a reducir, absorbiendo, los contaminantes atmosféricos generados por las plantas generadoras, las refinerías y los automóviles que pasan por las carreteras cercanas a la ciénaga (Morales, 2001; Batista, 2005). Este humedal ha sido muy contaminado por descargas de aguas usadas al canal de la ciénaga, salidas de las industrias y emisiones atmosféricas de las plantas generadoras de Energía Eléctrica de Puerto Nuevo y Palo Seco (Álvarez et al., 1994; Seguinot, 1998; Consorno & Asociados, 2001).

Entre los contaminantes que podemos encontrar en la Ciénaga Las Cucharillas se encuentran algunos compuestos orgánicos. Uno de los compuestos orgánicos que mayor importancia tienen son los Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos (PAHs), los cuales fueron descubiertos para los años 1775 (Crosby, 1998). Para finales del siglo XVIII, se creía que los PAHs fueron las primeras sustancias químicas identificadas como compuestos orgánicos que causan cáncer (Sawyer et al., 2003). Para el 1933, el primer PAH que se reconoció como cancerígeno fue el benzo (a) pireno, y fue aislado de procesos mediados por carbón (Fessenden & Fessenden, 1994).

Más tarde, en el siglo XX, se generaron mayores preocupaciones por estos compuestos orgánicos, ya que los cargamentos de petróleo que se transportan vía mar, y se derraman, afectan la vida marina. Por lo tanto, para los años 1970, aumentó significativamente las investigaciones de efectos ambientales y biológicos causadas por los derrames de petróleo (Albers, 1995). Estas investigaciones han determinado que las

moléculas xenobióticas son contaminantes ambientales prevalecientes que se derivan principalmente de procesos de combustión incompleta que involucra la quema de carbón, combustible y materiales. El interés en el análisis directo de PAHs va aumentando cada vez más debido a sus propiedades cancerígenas. Además, que éstos contaminantes ambientales se originan de una variada gamma de fuentes naturales (biogénicas y geoquímicas) y antropogénicas (Mueller et al., 1996; Maziarz et al., 2005).

Desde los tempranos años sesenta han sido monitoreadas las concentraciones de los policíclicos aromáticos en el ambiente en algunos países desarrollados (Grimeer, 1983, US DHHS, 1995). Estudios de estas moléculas xenobióticas fueron conducidos en grandes ciudades y en centros industriales donde las emisiones de PAHs generadas por los vehículos, calefacción doméstica o combustión incompleta son más perceptibles. Sin embargo, en las pasadas décadas, los PAHs han atraído más atención de muchos científicos a nivel internacional, ya que éstos son absorbidos por las plantas. Éstas presentan la capacidad de ser usadas como un indicador cualitativo y cuantitativo de niveles de PAHs en el ambiente (Slaski et al. 2000).

Cunningham y colaboradores (1996), establecieron que las plantas pueden extraer contaminantes del suelo. En el 1996 se estudió el uso de plantas para la disminución de PAHs en el suelo. Estos estudios confirmaron hallazgos previos, donde se estableció que las plantas, como las gramíneas, atrapan los contaminantes orgánicos con mayor facilidad (Sangabriel et al., 2006). Estas plantas poseen como característica el que tienen un sistema radicular fibroso y extenso, lo que le permite mayor área de extensión superficial de raíz y mayor penetración en el suelo, permitiéndole estar en contacto con los PAHs

(Aprill & Sims, 1990). Para confirmar que las plantas absorbieron éstos compuestos xenobióticos, se realizaron análisis por cromatografía de gases-espectrometría de masas.

Ya que la contaminación de suelo y agua con los aromáticos policíclicos se ha extendido como resultado de derrames de petróleo por rupturas en tuberías, mal manejo de los contenedores y por varios procesos industriales (Leahya & Colwell, 1990; O'Rourke & Connolly, 2003), se recomienda una estrategia de fitorremediación. La fitorremediación es una herramienta ambientalmente amigable y menos costosa para restaurar suelos contaminados con hidrocarburos aromáticos (Cunningham et al.1996).

### **Caracterización de los PAHs**

Los Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos, son una clase de compuestos orgánicos que consisten de dos o más anillos de benceno y/o moléculas pentacíclicas (cinco anillos) arregladas en estructuras configuracionales (Apendice 1), linear, angular o conglomerada (Slaski et al., 2000; Bamforth & Singleton, 2005). Los PAHs contienen átomos de hidrógenos de carbonos y algunas veces con sustituyentes tales como nitrógeno, sulfuro, cloruro y oxígeno, formando compuestos aromáticos heterocíclicos. También presentan la característica o propiedades de que son ubicuos en el ambiente natural (Muller et al., 1996).

La familia de los PAHs incluye 660 sustancias, las cuales fueron identificadas por el Instituto Nacional de Estándares y Tecnología, de los cuales aproximadamente de 30 a 50 de ellos comúnmente se encuentran en el ambiente (Grimmer, 1983; US DHHS, 1995; Sander & Wise, 1997). Según Cernigla (1992), los PAHs son moléculas altamente recalcitrantes que pueden persistir en el ambiente por su hidrofobicidad (baja solubilidad

al agua). Debido a que los PAHs tienen propiedades cancerígenas, y que se originan de unas variadas fuentes naturales y antropogénicas, ha ido aumentando cada vez más el interés de estos (Muller et al., 1996; Maziarz et al., 2005).

### **Fuentes generadoras de PAHs**

Los procesos naturales proveen una fuente de Hidrocarburos de Policíclicos Aromáticos mediante erupciones volcánicas y fuegos forestales (Blummer, 1976). Estas fuentes no antropogénicas consumen más energía, y la concentración de PAHs es mayor en los suelos (Jones et al., 1989) y en los sedimentos (Christensen & Zhang, 1993; Lima et al., 2003), por lo que ha tenido su importancia por más de un siglo (Krauss et al., 2005). En Canadá, los fuegos forestales liberaron alrededor de 2000 toneladas de PAHs por un año, la cual es la principal fuente natural de liberación de PAHs (Slaski et al., 2000).

Mediante estos episodios, los PAHs son transportados por el aire cruzando grandes áreas geográficas atrapadas dentro de partículas de polvo (Slaski et al., 2000). Además, los PAHs pueden tener un origen geoquímico, ya que son formados durante pirolisis (la descomposición térmica de un material en ausencia de oxígeno o cualquier otro agente oxidante). Como resultado, la exposición de sedimentos, puede ocurrir dado los procesos y cambios físico-químicos que se generan en aquellos sedimentos donde estos contaminantes han sido depositados (Blummer, 1976).

Las fuentes antropogénicas son la principal causa de contaminación ambiental y es el foco primordial de muchos programas de remediación (Bamforth & Singleton, 2005). Los PAHs naturalmente ocurren en combustibles como el petróleo y el carbón,

pero también son formados durante la combustión incompleta de materiales combustibles orgánicos como el “diesel”, gasolina, madera y vegetación (Freeman & Cattell, 1990; Lim et al., 1999). La gran mayoría de los PAHs que se encuentran en los ambientes templados del hemisferio norte resultan de las actividades humanas como la quema de combustible, gasificación del carbón, o la refinería de aceite (Howsam & Jones, 1998).

Debido a la combustión incompleta de la quema de carbón y madera, se han encontrado niveles atmosféricos de PAHs entre los  $60 \mu\text{g}/\text{m}^3$  hasta  $3\text{mg}/\text{m}^3$  en el aire (Freeman & Cattell, 1990). Esto se debe a la condensación de los radicales etilénicos en la fase gaseosa para formar grandes compuestos policíclicos (Lane, 1989; Strosher, 1996). La emisión de PAHs por vía aérea es la ruta principal para transportar los mismos por largas distancia (Juhasz et al., 2000). Fuentes claves de PAHs pueden originarse por derrames de petróleo y diesel, y de procesos industriales como es la licuación y gasificación durante la producción de carbón (Cerniglia, 1984).

### **Metabolismo de compuestos xenobióticos**

Los Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos son considerados xenobióticos (compuestos químicos ajenos a un organismo vivo), esto debido a sus propiedades físico-químicas (Connell, 1990), y son metabolizados de la misma manera que otros compuestos xenobióticos (Slaski et al., 2000). La metabolización de estos compuestos químicos consiste principalmente en tres pasos, los cuales son bioactivación, metabolización a través de la conjugación y la excreción de conjugados (Martinoia et al., 1993). Primero, la bioactivación consiste en la reducción y oxidación de los compuestos, donde puede aumentar la toxicidad de los PAHs. La metabolización a través de la



conjugación con los aminoácidos, oligopéptidos y/o hexosas y pentosas. Segundo, la degradación de los compuestos xenobióticos ocurre por la exposición de PAHs aéreos en algunas plantas leñosas. Un ejemplo de esto es la habilidad de las plantas para metabolizar pireno (Huckelhoven et al., 1997), donde este PAH es transformado en una mezcla de complejos de carbohidratos conjugados, mientras el “1-hydroxypyrene methyl ether” fue el principal metabolito acumulado en la planta *Digitalis purpurea*. El tercer paso consiste en el metabolismo de xenobióticos el cual involucra la excreción del compuesto conjugado del citoplasma, lo cual transporta el conjugado “glutathione S” (derivado de aminoácido), que a su vez transporta las toxinas a la vacuola, y se piensa que los conjugados de PAHs son secuestrados de la misma manera (Slaski et al., 2000).

### **Distribución ambiental de los PAHs**

Los PAHs son ampliamente distribuidos en suelos y sedimentos, en el agua y atmósfera. Ellos han sido detectados también en sedimentos marinos como en San Diego Bay, California (Coates et al., 1996; Coates et al., 1997), y en el Océano Pacífico Central (Ohkouchi et al., 1999), en sedimentos costeros (Tam et al., 2002), en suelos que trabajan con gas (Ellis et al., 1991; Lundstedt et al., 2003), en suelos contaminados con aguas servidas (Wild et al., 1990). Además, también los podemos encontrar en acuíferos y aguas, y en depósitos atmosféricos (Lim et al., 1999), ampliamente distribuidos en el reino animal (Vives et al., 2001) y en plantas (Mackova et al., 1997; Kucerová et al., 1998).

## **PAHs en humanos**

En años anteriores se ha determinado mediante estudios la acción biológica de los PAHs en organismos (Vives et al., 2001). Los PAHs, están ampliamente distribuidos en el reino animal debido a su capacidad de metabolización, pero se encuentran en mayor concentración entre los humanos, debido a que estamos más expuestos ya sea por vía cutánea, por inhalación o ingestión (Vives et al., 2001). Una vez estos contaminantes orgánicos son absorbidos, estos se alojan en diferentes órganos y tejidos, mayormente aquellos que tengan mayor cantidad de lípidos. Ya dentro del organismo, ocurre un proceso de oxidación enzimática especialmente en el hígado, que es mediado por el sistema de oxidasa de función mixta, que los transforma en sustancias químicas epóxidas y en dihidrodioles, las cuales constituyen la forma genotóxicamente activa de los PAHs, y forman aductos covalentes con proteínas y ácidos nucleicos celulares o intercalación con la cadena de RNA y DNA (Koss & Tesseraux, 1999; Vives et al., 2001).

Entonces, los aductos con DNA dan lugar a una mutación genética, de potenciales consecuencias tumorígenas malignas para los seres humanos expuestos, y a la vez aumentan los riesgos de malformaciones en embriones y fetos (Vives et al., 2001). Por lo tanto, los PAHs son promutágenos que tienen la capacidad de activarse metabólicamente sobre el material genético (Environmental Health Criteria, 1998).

Debido a que los PAHs pueden ser ingeridos a través de los alimentos, diferentes estudios han puesto de manifiesto la composición y concentración de PAHs presentes en una variada gamma de éstos. En general, los productos ahumados son los que presentan mayor contenido de benzo (a) pireno, en especial los pescados ahumados. Sin embargo, Bartle (1991), destacó que entre los alimentos no ahumados, los que contienen mayor

cantidad de grasas, son los que tienen mayores niveles de PAHs; en especial los aceites de todo tipo, pero mayormente los de origen vegetal (Vives et al., 2001).

### **PAHs en zonas marinas**

En todas las zonas marinas como son los océanos y las zonas costeras, como en la de los ríos, en los suelos y en los sedimentos, los policíclicos aromáticos están ampliamente distribuidos (Botello et al., 1995). Esto se debe mayormente a derrames de petróleo o combustible, pero los desechos municipales e industriales como la biosíntesis por microorganismos, son fuentes de aporte de estos contaminantes (Neff, 1979; NRC, 1985). Según los estudios, los sedimentos marinos contienen elevadas concentraciones de PAHs que van desde 0.5 hasta 50,000 ng g<sup>-1</sup>, regularmente en áreas con actividad industrial, como también los depositados mediante el lento proceso de sedimentación del material suspendido, los cuales tienen gran afinidad para adherirse en los sistemas acuáticos (Bayona et al., 1993).

Si los compuestos aromáticos policíclicos son depositados en los sedimentos marinos, se inhiben los procesos de degradación biológica y de oxidación fotoquímica (Botello et al., 1995). Estos contaminantes pueden persistir y acumularse en el sedimento, alcanzando concentraciones de hasta 1000 veces superiores a las encontradas en la columna de agua (Botello et al., 1995).

Los compuestos aromáticos que pueden ser encontrados son mayormente los de cuatro y cinco anillos de benceno condensados, que por sus características hidrofóbicas, ayudado por su elevado peso molecular se precipitan, lo cual hace que se dificulte evaluarlos en dilución (Botello et al., 1995). Botello y colaboradores (1995),

concluyeron que el riesgo del aporte de PAHs de alto peso molecular al ecosistema marino está estrechamente vinculado con su integración a los sedimentos. Esto se debe a que estos compuestos establecen relación con organismos bentónicos (bivalvos) de hábitos filtrados como el ostión, o también de hábitos detritívoros como el camarón (Botello et al., 1995).

### **PAHs en la atmósfera**

Como se ha mencionado anteriormente, los hidrocarburos aromáticos policíclicos son compuestos semivolátiles que se forman de la fusión de dos o más anillos de benceno que son hidrofóbicos, pero tienen la capacidad de adherirse en las partículas atmosféricas (Múgica et al., 2004). Diversos estudios se han realizado sobre la presencia de estos compuestos en atmósferas urbanas, ya que se reconoce su potencial riesgo en la salud (Caricchia et al., 1999; Harrison et al., 1996; Rocha et al., 1999; Castellano et al., 2003). Una vez realizado el estudio, se pudo encontrar un promedio de 7.84 ng/m<sup>3</sup>, de los cuales el más abundante fue el benzo (g,i,h) perileno, comúnmente asociado con emisiones vehiculares (Dichut et al., 2000). Sin embargo, en las partículas atmosféricas, hubo mayor representación del benzo (a) pireno con un promedio del 6% del total de PAHs (Múgica et al., 2004).

El transporte de contaminantes orgánicos incluyendo los PAHs en la vegetación desde la atmósfera y el suelo han sido examinadas (Simonich et al., 1995; Wagrowski et al., 1997; Howsam et al., 2001; Sung et al., 2002). Por lo cual está establecido que el transporte a las plantas es determinado por la relación suelo/agua, agua/raíces de las plantas, atmósfera/hojas y suelo/atmósfera (Schroll et al., 1994).

## PAHs en suelo

El suelo es un importante reservorio para los PAHs en la vegetación (Ribes et al., 2003), por lo cual la acumulación de PAHs en las plantas ha sido examinada en varios ambientes (Allard et al., 2005). Estos incluyen en pastos en campos enmendados anteriormente contaminados con PAHs provenientes de aguas servidas (Smith et al., 2001), vegetación que se encuentra en carreteras muy transitadas (Crépineau et al., 2003), en huertos domésticos (Fismes et al., 2002), biota después de un derrame de aceite (Brandt et al., 2002) y en frutas y vegetales en áreas cercanas a zonas industrializadas que emiten contaminantes a la atmósfera (Kipopoulou et al., 1999; Samsøe-Petersen et al., 2002; Wennrich et al., 2002).

El uso de análisis químico de muestras de suelos, sin determinar los efectos en biota, puede sobreestimar los contaminantes peligrosos (Alexander et al., 2000). Por otro lado, igual que cuando la toxicidad no puede ser observada, los contaminantes pueden ser acumulados en biota y pueden ser transferidos a través de la cadena alimentaria con efectos potencialmente adversos (Allard et al., 2005).

Una combinación de análisis químico de contaminantes y ensayos de su toxicidad es frecuentemente usado para evaluar impacto ambiental de suelos contaminados, tomando en consideración la evaluación integrada de que estos compuestos orgánicos son atrapados por la biota. Esto puede incluir plantas y gusanos que pueden ser consumidos por predadores (Allard et al., 2005). Entre las plantas podemos mencionar al centeno (*Lolium perenne*), trébol blanco (*Trifolium repens*), rábano (*Raphanus sativus*), y como organismo del suelo al gusano oligochaete *Enchytraeus crypticus*. La asociación de contaminantes de la atmósfera con el suelo matriz, por la tanto, tiende a ocurrir durante

su envejecimiento y reduce su biodisponibilidad (Hatzinger et al., 1995; Allard et al., 2005; Northcott et al., 2001) y limita su acumulación en las plantas y gusanos (Gao et al., 2004).

### **PAHs en plantas**

Estudios recientes indicaron que las plantas presentan la capacidad de transformar estos compuestos xenobióticos a un estado menos tóxico (Mackova et al., 1997; Kucerová et al., 1998). La exposición de las plantas a los PAHs puede ocurrir a través de numerosas vías (Meudec et al., 2006). En áreas urbanas e industriales, en cultivos y vegetación silvestre, pueden ser contaminadas por deposición atmosférica en las hojas, o por contacto por las raíces con las partículas del suelo (Simonich & Hites, 1995). Los PAHs fueron detectados en varias categorías alimenticias como los vegetales (lechugas, zanahorias, papas, repollos, espinacas o apio, entre otros) (Kipopoulou et al., 1999; Fismes et al., 2002).

De hecho, las plantas crecen en atmósferas o sustratos contaminados por PAHs, ya que presentan la capacidad de absorber estos compuestos a través de las raíces o por la cutícula, y los bioacumulan en sus tejidos (Kipopoulou et al., 1999; Fismes et al., 2002). En ambientes marinos, una de las principales fuentes de PAHs son los derrames de aceites accidentales, que contaminan la vegetación de las costas, en particular los mangles o pantanos (Meudec et al., 2006).

El conocimiento que tenemos de este proceso es limitado (Chroma et al., 2002); sin embargo, el principal problema para el análisis de contaminantes orgánicos en plantas viene por la complejidad de su matriz (Meudec et al., 2006). Las plantas están

conformadas por tejidos que tienen estructuras en particular, pero depende de la especie y la edad de la planta, también de su riqueza de pigmentos, aceites esenciales, alcoholes y ácidos grasos. Además, las plantas contienen compuestos naturales estructuralmente similares a los PAHs, mejor conocidos como reguladores de crecimientos (auxina como ácido naftaleno acético) (Meudec et al., 2006).

Sin embargo, el proceso de remoción de PAHs del suelo en plantas está ya propuesto por López-Martínez y colaboradores (2005). Este mecanismo está desarrollado mediante la técnica de fitorremediación para la transformación de moléculas orgánicas xenobióticas a las cuales pertenece la familia de policíclicos aromáticos. El mecanismo propuesto se divide en tres etapas y será discutido a continuación.

En la Etapa I hay reacciones de oxidación, reducción e hidrólisis, en la cual las moléculas xenobióticas transforman parte de sus estructuras, formándose metabolitos polares e hidrosolubles. Esto es mediante dos intervenciones enzimáticas, amino oxigenasas y citocromos P450 (CYTP450), que ejercen su función en el retículo endoplásmico que introducen en la molécula orgánica un átomo de oxígeno que proviene del oxígeno molecular. De acuerdo a su localización, estas reacciones se dividen en microsómicas, citosólicas y mitocondriales. Esto tiene gran importancia en que las reacciones de oxidación de las moléculas xenobióticas pueden ser tanto consecutivas como simultáneas (López-Martínez et al., 2005).

Estudios en plantas han demostrado que éstas tienen formas solubles de la misma enzima (CYTP450) intracelular y promueve la desintoxicación. También se ha demostrado que las enzimas pueden ser inducidos por algunos contaminantes como por ejemplo los hidrocarburos aromáticos (Robineau et al., 1998; Werck et al., 2000).

López-Martínez y colaboradores (2005) propone que en la Etapa II, la conjugación actúa en los mecanismos de desintoxicación, ya que une a los aminoácidos, carbohidratos, proteínas y péptidos a un contaminante. Esto es mediante la enzima transferasa, por lo cual hace que transforme la molécula xenobióticas a un compuesto menos tóxico e hidrofílico, por lo que hay mayor movilidad del contaminante a las vacuolas. Una vez llega a la vacuola es más fácilmente ser sometida a oxidaciones posteriores (López-Martínez et al., 2005).

La Etapa III, López-Martínez y colaboradores (2005), establecieron que los contaminantes orgánicos una vez ya transformados y alojados en la vacuola, quedan encapsulados en la misma. Esto se produce mediante la inducción de las enzimas desintoxicadoras como las lacasas, peroxidases y el propio CYTP450, entre otras (Jakoby & Zeigler, 1990; Varazashvili et al., 2001; Gunter y Martinoia, 2002; Harvey et al., 2002).

### **Técnicas Ambientales para remover PAHs**

Existen dos alternativas que son de gran ayuda para poder mantener o restaurar nuestros ecosistemas que han sido contaminados, estas son la biorremediación y la fitorremediación. Según Massol (2000), la biorremediación es una estrategia ecológicamente aceptable para la restauración de lugares impactados por contaminantes, y generalmente es considerada por su gran diversidad de opciones biológicas. Por otro lado, la fitorremediación es nombrada como una tecnología verde, la cual tiene una gran aceptación social, ya que se puede desarrollar un programa remediador con plantas para las áreas impactadas transformándola en una ambientalmente beneficiosa.



## **Biorremediación**

La biorremediación tiene como objetivo el inmovilizar y/o transformar los contaminantes a sustancias beneficiosas, usando microorganismos como bacterias u hongos (Dugay et al., 2002). Esta estrategia biorremediadora es una solución a problemas de contaminación, ya que los contaminantes que afectan el recurso son descompuestas en formas compatibles con la naturaleza (Massol, 2000).

Los PAHs son de conocimiento particular por sus propiedades tóxicas, mutagénicas y carcinogénicas (Menzie et al., 1992), y pueden ser encontrados o bioacumulados en organismos acuáticos (Lotufo, 1998). Aunque los PAHs son persistentes por su alta hidrofobicidad, una variedad de microorganismos como las bacterias y hongos pueden degradarlos, lo cual es de interés para estudios de biorremediación en especial cuando están presentes en áreas contaminados. También los contaminantes orgánicos en el ambiente están asociados con procesos bióticos y abióticos, incluyendo la volatilización, fotooxidación, oxidación química, bioacumulación, y transformación microbiana (Daane et al., 2001).

Trabajos recientes indican que la estimulación de actividad microbiana en la rizófora de las plantas puede también estimular la biodegradación de varios compuestos orgánicos tóxicos (Anderson et al., 1994; Boyle & Shann, 1995; Reilley et al., 1996; Schwab & Banks, 1994; Siciliano & Germida, 1999; Walton & Anderson, 1990; Wetzel et al., 1996). La rizófora del suelo tiende a ser descrita como la zona del suelo bajo la influencia directa de las raíces de las plantas y usualmente se extiende a algunos milímetros desde la superficie de las raíces y es un ambiente dinámico para microorganismos (Curl & Truelove, 1986). La producción de material mucilaginoso y la

exudación de una variedad de compuestos orgánicos solubles por las raíces de las plantas juegan un rol importante en la colonización de las raíces y el mantenimiento de crecimiento microbiano en la rizófora (Daane et al., 2001).

Los humedales son ecosistemas que tienen una alta actividad biológica y ellos apoyan a biotransformar los compuestos químicos (Kadlec & Knight, 1995). Entre los microorganismos que presentan la capacidad de transformar los PAHs en compuestos menos tóxicos están las bacterias *Paenibacillus validus* y *Arthrobacter oxydans*. Numerosos estudios han demostrado la importancia de la rizófora junto con la interacción de microorganismos (como las bacterias, en especial Gram negativo) en la degradación de contaminantes orgánicos (Daane et al., 2001).

La biorremediación de los PAHs de bajo peso molecular es usualmente efectiva, pero la degradación de compuestos de bajo peso molecular puede ser limitada por su baja solubilidad y una fuerte absorción (Potter et al., 1999, Spriggs et al., 2005). La biodegradación de PAHs puede disminuir con el aumento del tamaño de la molécula. También disminuye con una serie de homólogos con el aumento del número de “alkylados” (Kennicutt, 1988).

Un modelo conceptual presentado por Thomas y colaboradores (2003), presenta que el crecimiento de las raíces de las plantas y la comunidad microbiana asociada aumenta la biodegradación de contaminantes de aceites no procesados. Banks y colaboradores (2003), también concluye que la estimulación de microorganismos en la rizófora aumenta el número y la actividad microbiana resultando en un realce de la degradación de hidrocarburos.

## **Fitorremediación**

La complejidad de la bioquímica y fisiología de las plantas puede tener cierto potencial para la fitorremediación (Meagher, 2000). La fitorremediación principalmente utiliza plantas para limpiar o enmendar suelos contaminados, para alcanzar una mineralización completa de los compuestos a productos finales no tóxicos, a través de procesos bioquímicos (Meagher, 2000). La fitorremediación es relativamente no invasiva y provee una opción remediativa de bajo costo (White et al., 2005). Esta técnica es considerada particularmente importante para contaminantes orgánicos persistentes (POPs, por sus siglas en inglés) y relativamente recalcitrantes, como son los hidrocarburos aromáticos policíclicos, cuales son resistentes a la degradación en suelos (Jones et al., 1999).

Compuestos orgánicos son atrapados por las raíces y son ampliamente estudiados (Muller et al., 1994; Harms, 1996; Wild & Jones, 1992; Wild & Jones, 1994; Wild et al., 1992; Hulster et al., 1994). Sin embargo, aún no han sido entendidos como se mueven las sustancias químicas de la familia de los POPs, en el sistema radicular a través del movimiento simplástico y apoplástico (Muller et al., 1994).

Las especies de hierbas son sugeridas como plantas efectivas para la fitorremediación de suelos contaminados (Aprill & Sims, 1990; Schwab & Banks, 1994). Las hierbas tienen un sistema radicular fibroso y un área superficial mayor por unidad de volumen de la superficie del suelo (White et al., 2005). Las raíces fibrosas pueden proveer una gran superficie para la colonización por microorganismos del suelo (Anderson et al., 1993) y permite una mayor interacción entre la comunidad microbiana de la rizófora y los contaminantes (Schwab & Banks, 1994).

Las plantas pueden ser usadas para aumentar la degradación de PAHs hecha por la rizófora en los procesos abióticos y bióticos, ya que es una zona de actividad microbiana en la interface de la raíz al suelo. Por lo general, una raíz se divide en cinco regiones, diferenciándose en estructura y función; i) crecimiento apical, ii) zona divisional, iii) zona de elongación, iv) zona de pelos radiculares, v) zona de ramificación (Kolek & Kozinka, 1991; Waisel et al., 2002). Antraceno y fenantreno fueron observados en la superficie de las células epidermales a lo largo de la raíz moviéndose radialmente a través de las células epidermales y entran a la pared celular de las células corticales, y en menor grado a la vacuola (Wild et al., 2005).

En las zonas radiculares, antraceno fue observado entrando radialmente a las células epidermales de la planta de maíz (*Zea mays*), a un promedio de 16  $\mu\text{m}$  después de siete días, a los 14 se extendió 45  $\mu\text{m}$  acercándose a las células primarias de la corteza. Después de 21 días, se movió aproximadamente 100  $\mu\text{m}$  radialmente en la corteza de las raíces, al entrar a la pared celular de la segunda y tercera célula cortical. A los 35 días, el antraceno fue observado en las vacuolas. Aproximadamente 5% en las vacuolas y 95% en las paredes celulares de las raíces. El fenantreno también pudo ser observado entrar y recorrer por las raíces, pero este, sin embargo, migra más rápido a las vacuolas (Wild et al., 2005).

El movimiento de agua apoplástico involucra difusión entre las paredes celulares, no entra a la célula, mientras que el movimiento simplástico es a través del citoplasma o vacuolas y por el plasmodesmata interconectados por vía celular (Wild et al., 2005). Los enlaces del suelo con POPs, al igual que los PAHs, son fuertemente asociados con la materia orgánica del suelo, por lo que son pocos los transferidos a las raíces de las plantas

(Jones et al., 1999; Wild & Jones, 1992; Wild et al., 1992). Aunque el contenido de lípidos en las plantas puede tener un significativo efecto en la capacidad de almacenaje de la planta para los contaminantes orgánicos persistentes (McLachlan, 1996).

### **Estudio de caso**

Como se ha mencionado anteriormente, el sistema radical puede concentrar hidrocarburos aromáticos policíclicos, ya que estos compuestos son altamente lipofílicos e hidrofóbicos y con ellos se pueden efectuar el primer paso que implica un proceso de remoción asistido con plantas, lo que ayuda a su biodegradación con la participación de enzimas intra y extracelulares radicales (Guerrero et al., 2005).

Guerrero y colaboradores (2005), evaluaron la actividad enzimática de fenoloxidasa en una especie de pantano, *Cyperus elegans*, con la finalidad de analizar estos sistemas radicales como posibles herramientas útiles en la remoción y transformación de contaminantes orgánicos. Los sistemas radicales de ésta planta en condiciones tanto *in vivo* y de cultivo de raíces (*in vitro*) expuestos a fenantreno, un hidrocarburo aromático policíclicos considerado como uno de los PAHs más tóxicos del ambiente (Guerrero et al., 2005). Tanto *in vitro* como *in vivo* se presentó una interacción hidrofóbica entre el contaminante y el sistema radical, donde las propiedades lipofílicas de los compuestos de las paredes y membranas celulares de las raíces, el tamaño del compuesto y sus características hidrofóbicas, permitieron que el fenantreno se concentrara en la superficie radical (Guerrero et al., 2005). Este estudio confirma los patrones característicos que presentan los hidrocarburos aromáticos policíclicos de ser

compuestos lipofílicos, hidrofóbicos y con una alta tendencia a concentrarse sobre las raíces (Schwab et al., 1998).

Se mencionan que las enzimas de las plantas de la familia del citocromo P450, son capaces de oxidar compuestos aromáticos mono y policíclicos, y estas enzimas podrían constituir la vía principal de detoxificación de estos compuestos (Korte et al., 2000). No obstante a esto, se ha sugerido la participación de peroxidasa en la detoxificación de algunos compuestos aromáticos (Pletsch et al., 1999; Santos de Arujo et al., 2002; Kucerova et al., 1998). Además, de que estas enzimas se emplean frecuentemente como biomarcadores no específicos de contaminación ambiental (Lyte & Lyte, 2001), respondiendo a la acción de estrés abiótico dado por la presencia de químicos orgánicos que son altamente tóxicos para la planta (Guerrero et al., 2005).

*Cyperus elegans* mostró una respuesta integral ante la presencia del contaminante *in vivo* significativamente mayor a la que mostró en ensayos *in vitro* (Guerrero et al., 2005). También, *Cyperus elegans*, es una especie cuya capacidad de remoción de fenantreno por sus raíces constituyó un 32% y 27% en los sistemas radicales *in vitro* e *in vivo* respectivamente (Guerrero et al., 2005).

Debido a la técnica de fitorremediación, los suelos que son sembrados con yerbas perennes resultaron en una baja significativa de concentraciones de PAHs y pentaclorofenol cuando son comparados con suelos que no han sido sembrados (Ferro et al., 1999). Reilley y colaboradores (1996) reportaron suelos sembrados con plantas como por ejemplo festuca alta (*Festuca arundinacea*), pasto Sudán (*Sorghum X drummondii*) y pasto varilla (*Panicum virgatum*) resultaron en un 30 a 40% más degradadores de pireno y antraceno que en suelos sin plantas.

## **CAPÍTULO III**

### **MARCO LEGAL**

#### **Marco legal**

En Puerto Rico, como en otras partes del mundo, hay leyes y reglamentos para evitar la contaminación ambiental y poder conservar y mantener nuestros recursos naturales disponibles y aptos para los ciudadanos que componen nuestra sociedad. A continuación se mencionarán algunas leyes, establecidas por el gobierno de Puerto Rico, para poder mantener nuestros estándares de beneficio ambiental.

Constitución del Estado Libre Asociado de Puerto Rico, 1952; Artículo VI , Sección 19 , la cual estipula que: “Será política pública del Estado Libre Asociado la más eficaz conservación de sus recursos naturales, así como el mayor desarrollo y aprovechamiento de los mismos para el beneficio general de la comunidad”.

Ley sobre Política Pública Ambiental de 2004 (Ley # 416 de 22 de septiembre de 2004). Rige la Política Pública Ambiental del Estado Libre Asociado de Puerto Rico, y prevé para que utilicen todos los medios y medidas prácticas para crear y mantener las condiciones bajo las cuales el ser humano y la naturaleza pueden existir en armonía.

Ley del Fondo de Emergencias Ambientales de Puerto Rico (Ley # 8 del 2 de julio de 1987) Designa fondos, administrados por la Junta de Calidad Ambiental para emergencias ambientales relacionadas con sustancias o desperdicios peligrosos, y para la limpieza de estos.

Ley de la Autoridad para el Funcionamiento de Facilidades Industriales, médicas, para la educación y control de contaminación ambiental (Ley # 121 del 27 de junio de

1990). Tiene como objetivo proveer alternativas de financiamiento (préstamos o emisión de bonos) y establecer facilidades para el control de contaminación ambiental.

Ley para crear el Programa de Reforestación, Administración y Conservación de Recursos Vivos en la Administración de Recursos Naturales. (Ley # 232 del 12 de agosto de 1999). Establecida con el fin de atender con prioridad la siembra, cuidado y manejo de árboles en las zonas rurales y urbanas de Puerto Rico como medio para promover “el desarrollo forestal para el beneficio de éstas y futuras generaciones”. Con la ejecución de esta ley se debe incrementar sustancialmente la cubierta vegetal de las cuencas hidrográficas, los bosques estatales, las reservas naturales, los refugios de vida silvestre, las áreas de planificación especial, los estuarios, los humedales, los terrenos forestales privados y los de las zonas urbanas que así lo ameriten.

Ley de Vigilantes de Recursos Naturales del Departamento de Recursos Naturales y Ambientales (Ley # 1 del 29 de junio de 1977, según enmendada). Esta ley procura la más eficaz preservación y conservación de los recursos naturales de Puerto Rico, así como los patrimonios y riquezas de nuestro pueblo.

Ley Núm. 23 del 20 de junio de 1972; “Ley Orgánica del departamento de Recursos Naturales del Departamento de Recursos Naturales y Ambientales. La misma establece la organización, las facultades, los deberes, las funciones del DRNA, cuya responsabilidad es custodiar los recursos naturales de Puerto Rico, vigilando la utilización y conservación de los mismos.

Ley Núm. 150 del 4 de agosto de 1988 conocida como Ley del Programa de Patrimonio Natural de Puerto Rico. La misma dispone la importancia de proteger la vida silvestre y las comunidades que las albergan, para uso y disfrute de las futuras



generaciones. La ley también le da facultad al DRNA a poder adquirir áreas de gran valor natural.

Ley Núm. 314 del 24 de diciembre de 1998, según enmendada Ley para establecer política pública de humedales. En esta ley se reconoce el valor de los humedales de Puerto Rico. El artículo uno (1) expone que “los humedales constituyen un importante recurso natural en Puerto Rico de gran valor ecológico, de incomparable belleza y de un significativo beneficio recreativo, educacional, científico y económico.” Este recurso tiene varias funciones, tales como mejorar la calidad del agua y del medio ambiente, en la recarga de los acuíferos o aguas subterráneas, suplir de alimento y hábitat a la vida silvestre, propiciar el establecimiento de las cadenas alimentarias, ayudar a mitigar inundaciones, producir oxígeno, retener y estabilizar los sedimentos provenientes de tierras altas para que no lleguen al mar y proveer lugares de atractivo turístico. Se establece como política pública del Estado Libre Asociado de Puerto Rico, la protección de los humedales, entre ellos los pantanos y las ciénagas. A esos fines, se promueve la preservación, conservación, restauración y el manejo de este valioso recurso natural”.

Ley de la Política Ambiental Nacional del 1969 [The National Environmental Policy Act (NEPA)] 42 U.S.C. § 4331 et seq. Esta Ley tiene como propósitos: procurar una armonía productiva y agradable entre hombre y su ambiente; promover esfuerzos para prevenir o eliminar daños al ambiente y a la biosfera y estimular la salud y el bienestar del ser humano; para enriquecer la comprensión de sistema ecológicos y los recursos naturales de la Nación; establecer una Junta de Calidad Ambiental.

Ley sobre Control de Sustancias Tóxicas (Toxic Substances Control Act, TSCA), 15 U.S.C.A. §§ 2601 – 2692. Esta ley establece el desarrollar una base de datos y

establecer regulaciones de las sustancias química que presenten un riesgo o daño desrazonable a la salud de los seres humanos y al ambiente. Esta base de datos es responsabilidad de los fabricantes de estas sustancias.

Ley de Prevención de Contaminación Federal 1990 (Federal Pollution Prevention Act, (PPA)) 42U.S.C.A. 13101. Esta Ley estipula la reducción del volumen y de la toxicidad de los desechos en el origen como uno de objetivo nacional. La Ley requiere que la EPA desarrolle e implemente estrategias para promover la reducción en la fuente, reciclar y/o utilizar métodos de minimizar los contaminantes como: sustancias peligrosas, emisiones fugitivas y/o contaminantes que puedan impactar al medio ambiente adversamente. La PPA indica que la contaminación que no pueda ser prevenida debe ser entonces reciclada. La contaminación que no pueda ser ni prevenida, ni reciclada debe ser tratada y que el ambiente debe ser la última opción para la disposición del contaminante.

Acta de Contaminación de Aceites (33 U. S. C. 2702 A 2761). Establece la capacidad de prevenir y de responder a los derramamientos de aceite catastróficos.

Acta de Prevención de Contaminación (42 U. S. C. 13102, s/s et seq. 1990). Acta que está enfocada en las industrias, gobierno, y atención del público, para así reducir la cantidad de contaminación a través de cambios rentables en la producción, la operación y el uso de la materia prima. También estipula la prevención de contaminación, en la cual incluye otras prácticas que ayuden a aumentar la eficiencia en el uso de la energía u otros recursos naturales en base a la conservación. Entre las prácticas que estipula menciona el reciclaje, la agricultura sostenible, entre otras.

Acta de Recuperación y Conservación de los Recursos del 1976 (42 U. S. C. s/s 6901 et seq.). Legaliza para el control de los desechos peligrosos, tanto en la generación,

el transporte, el tratamiento, el almacenaje, y la disposición de los desechos peligrosos.

RCRA también dispuso un marco para la gerencia de basuras no peligrosas

## **CAPÍTULO IV**

### **METODOLOGÍA**

Durante la trayectoria de este trabajo, tuvimos como meta la evaluación del perfil de la flora de la Ciénagas Las Cucharillas. Esto se hace con el propósito de evaluar e identificar plantas con potencial fitorremediador de Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos que abundan en áreas de alta contaminación. Para esto es importante analizar la presencia de PAHs en las plantas seleccionadas con potencial fitorremediador de la conformación vegetativa que rodea dicho humedal. Es por eso que se escogió un área de estudio en específico para poder tomar las muestras. Una vez analizado la presencia de estos contaminantes orgánicos, evaluamos los factores que puedan afectar la permanencia o transporte de los PAHs en flora de la Ciénaga Las Cucharillas, para así cumplir con los objetivos establecidos para este estudio.

#### **Área de estudio**

Este estudio se llevó a cabo en la Ciénaga Las Cucharillas (Figura 3 y 4), en el pueblo de Cataño, Puerto Rico. Esto, debido a que se han hecho estudios de fuentes de contaminación que afectan a la ciénaga, que han impactado tanto al humedal como a la comunidad que la rodea (Seguinot, 1998). Se han encontrado que las mayores fuentes de contaminación incluyen descargas de aguas usadas al canal de la ciénaga, salidas de las industrias (Consorno & Asociados, 2001), emisiones atmosféricas de las plantas generadoras de la Autoridad de Energía Eléctricas de Puerto Nuevo y Palo Seco (Álvarez et al., 1994), entre otras. Debido a las actividades antropogénicas que afectan esta área,

(Compañía Andrés Reyes Burgos Inc., la Termoeléctrica de Palo Seco, dos sub-estaciones de la Autoridad de Energía Eléctricas (AEE)), se llevó a cabo la recolecta de muestras para lograr los objetivos establecidos.

- **Evaluar el perfil de la flora de la Ciénaga Las Cucharillas para identificar plantas con potencial fitorremediador de Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos que abundan en áreas de alta contaminación en la Ciénaga las Cucharillas.**
- **Analizar la presencia de PAHs en las plantas seleccionadas con potencial fitorremediador de conformación vegetativa que rodea la Ciénaga Las Cucharillas.**
- **Discutir factores que puedan afectar la permanencia o transporte de los PAHs en la flora de la Ciénaga Las Cucharillas.**

### **Descripción de la muestra**

Tomamos en consideración, después de la revisión de literatura científica y las visitas a la Ciénaga Las Cucharillas, de aquellas plantas que presentaron ciertas características morfológicas y fisiológicas que tuviesen la capacidad fitorremediadora de contaminantes orgánicos. Los parámetros de mayor importancia fueron lo robusto o lo extenso del sistema radicular y la capacidad de la planta en adaptarse y desarrollarse a terrenos expuestos en áreas de mayor contaminación y que ayuden a la conservación y manejo de los recursos naturales.

Por lo tanto, la recolección de las muestras (plantas), la tomamos de acuerdo a su mayor abundancia en las áreas más contaminadas y más cercas del área industrial. Entren esas planta se encuentran las siguientes: *Ludwigia erecta* (Figura 1) y *Cyperus elegans* (Figura 2), las cuales están en el “A report on the vascular plants collected at various sites in Cataño, Bo. Palmas”, sometido por Franklin Axelrod, Ph. D.

Una vez que las plantas fueron evaluadas e identificadas mediante los parámetros antes mencionados, hicimos el muestreo de estas, el cual consistió en un ciclo de recolección durante el mes de mayo. Estas muestras las recolectamos en tres puntos distantes en el antiguo cauce del Río Bayamón, terrenos pertenecientes a la Ciénaga Las Cucharillas. En cada punto tomamos un ejemplar de estas dos especies, para un total de seis (6) muestras de plantas.

### **Manejo de la muestras/plantas**

Una vez se obtuvimos las muestras de la vegetación, las guardamos en fundas plásticas, debidamente rotuladas con un número del punto de recolección de la muestra, iniciales del nombre científico de la planta y una numeración que consistirá de dos dígitos. Estas se llevaron al laboratorio de Investigación Científica de Química Ambiental y Toxicología Molecular, de la Universidad Metropolitana, San Juan, Puerto Rico. Los ejemplares los lavamos con agua (Fismes et al, 2004), después se cortarán en pedazos pequeños y se guardarán en el congelador a una temperatura de -25 °C hasta que se vayan a procesar (Smith et al, 2006).

Una vez preparadas las muestras, las enviamos a analizar al laboratorio licenciado y regulado por las pertinentes agencias federales y estatales, “Pace Analytical del Caribe, Inc.”, Puerto Rico. Para la extracción de los hidrocarburos aromáticos policíclicos de las muestras, mediante una extracción soxhlet, éste laboratorio se rigió por el método SW-846 8270C de la EPA. De igual forma, las muestras fueron analizadas en el Cromatógrafo de Gas y analizado también por Espectrometría de Masa (EPA, 1996). Los análisis de las muestras se procesaron para obtener los principales 16 hidrocarburos

aromáticos policíclicos, según el Método 550 de la EPA (Hodgeson, 1990). Estos 16 PAHs compuestos orgánicos se estudiaron en el laboratorio de Investigación Científica de Química Ambiental y Toxicología Molecular de la Universidad Metropolitana, San Juan, Puerto Rico, para ver el comportamiento según el cromatograma (Figura 6) del equipo “High Performance Liquid Chromatography” (HPLC)

### **Análisis de datos**

Los resultados de los análisis para las matrices sólidas (como las plantas) fueron evaluadas de acuerdo al límite de detección del Método SW-846 8270C de la EPA (EPA, 1996). Estos resultados también se compararon con los parámetros establecidos por la Comisión Nacional del Agua (CNA, 1998). Estos análisis químicos de las plantas fueron comparados con el Reglamento de Estándares de Calidad de Agua de Puerto Rico (2003). Una vez obtuvimos los resultados de los análisis químicos, también se evaluamos aquellos factores que pudieran afectar la permanencia o transporte de los PAHs en la flora de la Ciénaga Las Cucharillas, que dificultan o contribuyen a la conservación y manejo de los recursos naturales que conforman tan importante humedal.

## CAPÍTULO V

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

#### **Resultados**

Durante este capítulo presentaré los resultados de acuerdo a los propósitos del estudio. Entre los objetivos, empezaremos con el de la evaluación del perfil de la flora de la Ciénagas Las Cucharillas. Los resultados obtenidos fueron mediante la revisión exhaustiva de artículos científicos que nos dieron a conocer las diferentes plantas de mayor abundancia en los humedales. Además se compararon con el “A report on the vascular plants collected at various sites in Cataño, Bo. Palmas”, sometido por Franklin Axelrod, Entre las plantas de mayor abundancia y que se encontraban en áreas visibles contaminadas están cuatro especie de la familia Ciperaceae como *Cyperus difformis*, *C. elegans*, *C. giganteus* y *Fimbrisylis dichotoma*. También abundaba plantas de otras familias como la Commelinaceae (*Commelina diffusa*), Typhaceae (*Typha domingensis*) Graminaceae (*Paspadium geminatum*) y las Leguminoseae (*Neptunia plena*) entre otras (Tabla 1). Obteniendo un 16% de la vegetación de la Ciénaga las Cucharilla, que presentan mayor adaptabilidad a ambientes expuestos a contaminación, como en áreas no contaminadas.

Una vez estudiado el perfil de la flora de la Ciénaga Las Cucharillas, se pudo concretar el próximo objetivo, el cual es el evaluar e identificar plantas con potencial fitorremediador de Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos que abundan en áreas de alta contaminación. Entre las plantas que se evaluaron, se identificaron dos que tenían un potencial fitorremdiador por su constitución morfológica. Estas se tomaron en



consideración de acuerdo a los criterios establecidos en programas de fitoremediación donde establecen ciertas características de las plantas que se usan con este fin.

Estas las características que se pueden mencionar son; la tolerancia de la presencia de contaminantes presente en el suelo, que influyan indirectamente con la remediación de los contaminantes orgánicos mediante la alteración de las propiedades químicas y físicas del suelo (Cunningham et al., 1996; Sangabriel et al., 2006), que tengan el potencial de disminuir la cantidad de contaminantes, además de un sistema radical fibroso y extenso que acapare mayor área superficial hasta áreas más profundas del suelo (Aprill & Sims, 1990; Sangabriel et al., 2006). Entre otras características podemos mencionar la capacidad de fijar nitrógeno, ya que este elemento se encuentra en pocas cantidades cuando los suelos están contaminados (Gudin & Syrratt, 1975; Sangabriel et al., 2006). Además, es importante saber que las plantas tengan la capacidad de atraer microorganismos, ya que estos ayudan a facilitar la remediación de suelos contaminados (Cernigla et al., 1985; Sangabriel et al., 2006).

Debido a esas características, tomamos en consideración las plantas para ser procesadas mediante análisis químicos para saber la presencia de hidrocarburos aromáticos policíclicos en las mismas. Las plantas seleccionadas fueron *Cyperus elegans* y *Ludwigia erecta* (Tabla 2). *Cyperus elegans*, conocida con nombre común “royal flatsedge”, pertenece a la familia Cyperaceae. Es una planta que presenta un comportamiento de hierba perenne, cespitosa, de pocos rizomas; con una morfología de hojas abaciales de cara cóncava, con una altura aproximada de 4 pulgadas, espigas ovoides, anteras de 0.6 a 1.4 mm con estigma. Esta planta se propaga tanto por semillas

como por rizomas y tienen un sistema radicular fibroso y raramente extenso (Ball et al., 2003; Acevedo-Rodríguez & Strong, 2005).

*Ludwigia erecta*, perteneciente a la familia Onagraceae, es conocida por su nombre común como clavito de pozo. Presenta un comportamiento de malezas anuales, a veces arbustivo, con tallos erectos alcanzando una altura de un metro, echando flores amarillas, solitarias y axilares. Su propagación es mediante semillas, y tiene un sistema radicular extenso (Tascón & Fischer, s.f) \*

Una vez seleccionadas las plantas que se encuentran aún en mayor abundancia en áreas visiblemente contaminadas, y que estaban más expuestas a contaminación por factores antropogénicos, se procedió a la ejecución del próximo objetivo. El mismo fue analizar la presencia de los aromáticos policíclicos en las plantas seleccionadas con potencial fitorremediador de la conformación vegetativa que rodea la Ciénaga Las Cucharillas. Los resultados que presentaron los análisis químicos los comparamos con los parámetros establecidos de trabajos previos y con los de las agencias pertinentes de regulación ambiental (Tabla 3, Figura 5). A continuación, los resultados obtenidos.

Las seis muestras fueron analizadas para los 16 aromáticos policíclicos de mayor importancia. Estos resultados denotaron un promedio menor de 330  $\mu\text{g}/\text{kg}$  de presencia de los PAHs en las muestras tomadas, según el método de análisis 8270 C de la EPA. El método de análisis SW-846 8270C, utilizado para nuestra investigación establece que los límites de detección de los aromáticos policíclicos son hasta un mínimo de 330  $\mu\text{g}/\text{kg}$ .

La “Agency for Toxic Substance and Diseases Register” (ATSDR, 1996) establece que los límites permitidos para presencia de PAHs en aire es de 0.2  $\text{mg}/\text{m}^3$ , dejándose llevar por los límites establecidos por la Administración de Salud y Seguridad

Ocupacional (OSHA, por su siglas en inglés). La Comisión Nacional del Agua (CNA, 1998), establece que los límites máximos establecidos para aromáticos policíclicos fluctúan entre 0.02 y 0.04 mg/L. El Reglamento de Estándares de Calidad de Agua de Puerto Rico (2003), establece que los límites máximos de la presencia de Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos en agua no pueden ser mayores de 5 ppb.

Los resultados para la muestras de plantas de nuestra investigación se reportan como no detectables. Estos fueron comparados con los resultados de los cromatogramas, donde los estándares fueron obtenidos y los PAHs que se esperaban encontrar no se reflejaron. Por lo cual, damos por entendido que no fueron detectados por el instrumento ya que su límite de detección es 330µg/kg. A pesar de que se utilizó la misma cantidad de peso (30g) de la muestra, los resultados no fueron reflejados debido a que el compuesto orgánico no estaba presente en las plantas.

En comparación con los demás parámetros, los límites de detección establecidos por esas otras agencias reguladoras, presentan un cuadro nada alarmante con respecto a los resultados de las muestras analizadas. Debido a que en Puerto Rico no se han hecho estudios de PAHs en plantas, no se puede comparar estos resultados con otras reservas naturales de la isla para estos contaminantes orgánicos.

Una vez analizado la presencia de estos contaminantes orgánicos, se podrá así discutir los factores que puedan afectar la permanencia o transporte de los PAHs en flora de la Ciénaga Las Cucharillas.

## Discusión de los resultados

La evaluación del perfil de la Ciénaga Las Cucharillas, se pudo llevar a cabo mediante la revisión literaria científica que ayudaron a poder identificar plantas con potencial fitorremediador de tan importante humedal. Los requisitos necesarios se dieron a conocer mediante la cautelosa lectura, que sin duda alguna describieron cómo se debe escoger las plantas para realizar programas de fitoremediación para ayudar a conservación y manejo de los recursos naturales. Sin embargo, las plantas, a pesar de que completaban su ciclo de vida y se reproducían normalmente en su ecosistema, aun encontrándose en zonas contaminadas, no se puede considerar a ciencia cierta si son plantas fitorremediadoras y que ayudan con la conservación de los recursos naturales.

Según los análisis químicos de PAHs de la muestras de plantas obtenidas de la Ciénaga Las Cucharillas resultaron ser no detectables debido a varios posibles factores. Un factor importante para este estudio es la capacidad de detección del instrumento, el cual llega a hasta un mínimo de 330  $\mu\text{g}/\text{kg}$ , lo cual no permite ser reflejado cantidades menores en los cromatogramas. Esto puede ser posible debido a que Oleszczuk y Baran (2005) encontraron PAHs en las plantas en concentraciones que fluctúan entre los 25 a 290  $\mu\text{g}/\text{kg}$ , resultados similares a los de Camargo y Toledo (2003).

A pesar de que las plantas tienen la capacidad de atrapar y/o traslocar los aromáticos policíclicos o compuestos xenobióticos, esta efectividad varía de acuerdo a la especie de plantas. Esto concuerda con los resultados de estudios realizados con *Cyperus elegans*, que aunque esta especie de planta atrapó PAHs por sus raíces, la capacidad de atrapar el aromático policíclico no fue tan significativo, ya que se encontraron valores

entre los 32 y 27% de los aromáticos policíclicos en cultivos *in vitro* e *in vivo* respectivamente (Guerrero et al., 2005).

Sin embargo, Slaski y colaboradores (2000) nos indican que las plantas tienen el potencial de remover PAHs del medioambiente. Referente a *Ludwigia erecta*, tampoco se encontró presencia de aromáticos policíclicos en dicha planta. A pesar de que *L. erecta* se encuentra en áreas de alta contaminación, que presenta los requisitos que tienen las plantas con potencial remediador y se pudo observar que completaba su ciclo de vida, no se puede precisar con certeza si tiene o no la capacidad de atrapar o transformar dichos compuestos xenobióticos.

Otro factor es que al haber periodos de lluvias, que inundan el área de la Ciénaga de Las Cucharillas, los PAHs son movidos a los cuerpos de agua más cercanos y/o se mueven a otras matrices (Slaski et al., 2000). Esto concuerda por lo dicho por Staches y colaboradores (1995), que afirma que los sedimentos son una fuente retenedora de PAHs, ya que en estos hay presencia de materia orgánica donde los PAHs se enlazan fuertemente a estos. Así también los reporta Parrish y colaboradores (2005), donde dice que hay una fuerte interacción entre la materia orgánica del suelo y los PAHs. Slaski y colaboradores también lo confirman, expresando que los PAHs pueden ser fuertemente adheridos a la materia orgánica del suelo, como pueden ser enlazados a los lípidos que se encuentran en las raíces (Reilley et al., 1996)

También, el movimiento de estas partículas puede ser mediante la intervención de peces y/o microorganismos. Los microorganismos son capaces de biodegradar los PAHs que se encuentran en el suelo, lo que no permite y a la vez ayuda a que estos compuestos orgánicos no puedan ser atrapados por las plantas. Según estudios indican que la

actividad microbiana tiene la capacidad biodegradadora de PAHs en el suelo. (Anderson et al., 1994; Boyle & Shann, 1995; Reilley et al., 1996; Schwab & Banks, 1994; Siciliano & Germida, 1999; Walton & Anderson, 1990; Wetzel et al., 1996). Debido a que las muestras fueron tomadas de un humedal, estos tienen una alta actividad biológica, lo cual apoya a transformar los compuestos orgánicos (Kadlec & Knight, 1995). Numerosos estudios han demostrado la importancia de la rizófora junto con la interacción de microorganismos (como las bacterias, en especial Gram negativo) en la degradación de contaminantes orgánicos (Daane et al., 2001).

Los PAHs también tienen la capacidad de degradarse gradualmente en cualquier matriz ya que son volátiles, especialmente aquellos con menor número de anillo en su conformación. Estudios llevados a cabo en el Instituto de Ciencias de Suelos y Manejo Ambiental de la Universidad Agrícola de Polonia, confirman esto al hacer investigaciones de PAHs en los cultivos. Los cuales reportaron que según sus análisis químicos, las muestras de suelo presentaban mayor presencia de PAHs con conformación estructural de cuatro a seis anillos y en menor cantidad los PAHs de dos a tres anillos (Oleszczuk & Baran, 2005). Un ejemplo de esto es naftaleno, que su composición química consiste de dos anillos, teniendo enlaces menos fuertes que los de cinco anillos como el benzo (a) pireno (Oleszczuk & Baran, 2005).

Por último, entre los factores es el tiempo en que la planta procesa y absorbe los compuestos orgánicos desde las raíces a vacuola. Estudios reportados en plantas de maíz (*Zea mays*) explican que este proceso se tarda aproximadamente 35 días, pero después se observaron presencia del compuesto pero en estado transformado (Wild et al., 2005). Al cabo de los días se pueden encontrar presencia de estos compuestos orgánicos tanto en las

paredes celulares de las raíces como en las vacuolas (Wild et al., 2005). Slaski y colaboradores (2000) establecen las agujas de las coníferas como las hojas de plantas siempre verdes pueden acumular por un periodo muy largo de tiempo, PAHs en las hojas, periodo que fluctúa de meses a años.

Sin embargo, al cabo del tiempo en los orgánulos se transforman los PAHs en compuestos menos tóxicos. Debido a que las plantas tienen la capacidad de transformar compuestos orgánicos a un estado no tóxico (Chroma et al., 2002), es otra razón por la cual no se detectó presencia de PAHs en su forma natural. Así lo establece Wild y colaboradores (2005), lo cual después de 56 días de que la planta absorbiera los PAHs se empezó a ver la transformación o degradación del compuesto. El estudio establece que antraceno se aplicó en estado natural y después se fue degradando a “anthrone”, “anthraquinone” hasta transformarse en el metabolito “hydroanthraquinone”.

A pesar de que en los resultados de los análisis de las plantas (muestras) no se detectaron presencia de PAHs, se debe establecer un programa de fitoremediación como parte del plan para manejo y conservación de recursos naturales que componen la Ciénaga las Cucharillas. Ya que la fitorremediación utiliza plantas para limpiar o enmendar suelos contaminados, provee una opción remediativa de bajo costo, y cambian los compuestos orgánicos a productos no tóxicos, a través de procesos bioquímicos, los cuales son resistentes a la degradación en suelos (Jones et al., 1999; Meagher, 2000; White et al., 2005). Varios estudios revelan que las especies de hierbas son sugeridas como plantas efectivas para la fitoremediación de suelos contaminados (Aprill & Sims, 1990; Schwab & Banks, 1994). Las hierbas presentan en su morfología un sistema radicular fibroso, resultando en raíces largas que abarcan mayor área superficial del suelo

(White et al., 2005). Además, las raíces fibrosas son un habitáculo principal de microorganismos del suelo lo que permite una mayor interacción entre la comunidad microbiana de la rizófora y los contaminantes (Anderson et al., 1993; Schwab & Banks, 1994).

Es de suma importancia seguir desarrollando más trabajos investigativos en la conformación vegetativa presente en la Ciénaga Las Cucharillas, para verificar si estas plantas están expuestas a la presencia de PAHs, ya que tienen fuerte influencia antropogénica muy cerca de su contorno. También realizar estudios químicos en la fauna, cuerpos de agua y suelo, por si estos recogen o tienen presencia de PAHs que pueda afectar la conservación de tan importante reserva natural.



## CAPÍTULO VI

### CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

#### **Conclusiones**

Con los objetivos establecidos, se llevó a cabo esta investigación para conocer qué plantas tienen el potencial fitorremediador de contaminantes orgánicos que me ayuden a la conservación y manejo de los recursos naturales. Una vez hecha la evaluación del perfil de la flora de la Ciénaga Las Cucharillas, se identificaron plantas, que a pesar de tener ciertas características fitorremediadoras, no dieron positivo a la presencia de compuestos xenobióticos como los hidrocarburos aromáticos policíclicos.

Los PAHs son compuestos orgánicos y xenobióticos a la vez que son ubicuos en el ambiente natural (Muller et al., 1996). Además, los PAHs se fijan fuertemente en el suelo y en la cadena de debido a su propiedad de liposolubilidad e hidrofobicidad y una baja solubilidad al agua (Cernigla, 1992). El interés en el análisis directo de PAHs va aumentando cada vez más debido a sus propiedades carcinógenas, enlazada a que estos contaminantes ambientales se originan de una variada gamma de fuentes naturales y antropogénicos (Muller et al., 1996; Maziarz et al., 2005).

Además, los PAHs cuando se presentan en altas cantidades son un riesgo tanto a los seres humanos como al ambiente. Debido a que la Ciénaga Las Cucharillas es uno de los humedales de mayor importancia en Puerto Rico, y el más grande del Área Metropolitana por ser un habitáculo de muchas especies de plantas y fauna endémica y exótica (UMET, 2007), es importante conocer que tipos de contaminantes afecta a este para así conservar esta importante reserva natural.

Por lo cual concluimos, que se encontró en la flora de la Ciénaga de Las Cucharillas planta que tienen potencial fitorremediador. Un 16% de las plantas que se encuentran en dicho humedal tiene la capacidad fitorremediadora de contaminantes orgánicos como los aromáticos policíclicos. Por lo cual la ciénaga tiene plantas que se auto ayudan a su conservación y manejo de los recursos naturales allí presentes.

Según los resultados de los análisis químicos de las seis muestras procesadas, las plantas no dieron positivo a la presencia de PAHs. Estas plantas, *Cyperus elegans* y *Ludwigia erecta*, tienen un potencial fitorremediador aún no conocido, ya que la poca información científica de ellas no han permitido conocer su capacidad fitorremediadora. Sin embargo, se puede concluir, que a pesar de que no se encontró aromáticos policíclicos en ellas, tienen la capacidad de crecer, reproducirse y desarrollarse en áreas de mucha contaminación, como es el antiguo cauce del Río Bayamón, por lo cual se le debe valorar por la ayuda que brindan en la conservación y manejo de los recursos naturales.

Los valores que presentaron los análisis químicos están muy por debajo del límite de detección del instrumento que es 330  $\mu\text{g}/\text{kg}$ . Esto nos indica que si de haber alguna presencia de PAHs no es de mayor preocupación, por lo cual se entiende que la flora que conforma la Ciénaga Las Cucharillas, puede estar haciendo su trabajo de transformación de contaminantes, confirmando así lo que estipula Sangabriel y colaboradores (2006), que las plantas tienen la habilidad para crecer y establecerse en áreas de presencia de contaminación, lo cual es fundamental para seleccionar plantas para fitorremediación, que a la vez ayuden a la conservación y manejo de los recursos naturales, en especial para la preservación de reservas naturales como la Ciénaga Las Cucharillas. Para que haya

algún efecto adverso en las plantas y en el medioambiente, los valores tienen que ser mayores de 5ppb. Por lo que al haber mayor presencia de los aromáticos policíclicos, se reduce o anula la capacidad de intercambio gaseoso, y aparecen síntomas como la clorosis e inhibición de germinación y desarrollo de las semillas (Baker, 1970; Prado et al., 1999; Sangabriel et al., 2006). Hasta en casos más extremos puede provocar la desintegración de la membrana de la célula vegetal, causando la muerte de la planta (Baker, 1970; Prado et al., 1999; Sangabriel et al., 2006).

### **Recomendaciones**

Debido a que en ésta investigación científica se tomó en consideración un área en específico de la Ciénaga Las Cucharillas, se recomienda que se extienda a otras partes de dicho humedal. Esto se puede lograr teniendo en cuenta más puntos de muestreos en las 1,236 cuerdas que componen dicho habitáculo de flora y fauna. Además, que se hagan estudios en otras plantas, como gramíneas y leguminosas, en suelo, agua, aves, animales y ecosistemas microbianos, que también ayudan a la degradación, transformación, acumulación y capturas de los PAHs. El expandirse a otras áreas nos ayudaría a determinar si los PAHs están presentes, para así tomar medidas adecuadas y a tiempo para la conservación de la ciénaga.

Además, es recomendable el desarrollar nuevos métodos de extracción de aromáticos policíclicos para el rápido diagnóstico en cualquier matriz, ya que los existentes son sumamente difícil de elaborar. También es recomendable la adquisición de equipos con límites de detección menor, para tener datos más certeros de la cantidad de compuestos orgánicos que puedan ser capturados y/o acumulados por las plantas.

Como ultima recomendación es importante estudiar como estas plantas pueden ser sembradas en otras áreas para que ayuden a la conservación y manejo de los recursos naturales. Aunque los análisis químicos no revelaron presencia de contaminantes orgánicos en las plantas seleccionadas, si se debe tomar en consideración para establecer programas de fitorremediación. Ya que estas plantas ayudan a la conservación y manejo de tan importante humedal, se debe extrapolar a otros ecosistemas que están perturbados por dichos contaminantes.

### **Limitaciones**

A continuación se presentaran las limitaciones que tuvimos durante el transcurso de esta investigación:

- Falta o disponibilidad de información
  - Después de días de búsqueda intensa de artículos científicos encontramos muy pocos documentos estudios de plantas fitorremediadoras para compuestos orgánicos como los PAHs, que me ayuden a la selección adecuada de plantas con potencial fitorremediador.
  - No hay trabajos investigativos de esta índole realizados en Puerto Rico, por lo cual se tuvo que extrapolar de estudios realizados en Estados Unidos.
- Costo
  - Es sumamente costoso el análisis de PAHs en vegetación.
    - Factor limitante para tomar muestras adicionales.

- Ayudantía Estudiantil
  - Limitaciones de ayudas económicas a los estudiantes graduados para la dedicación de trabajos investigativos científicos a tiempo completo.

A pesar de que los aromáticos policíclicos son de gran preocupación para agencias ambientales reguladoras, es importante tomar en consideración otros compuestos orgánicos que afecten tanto la flora como la fauna y la salud de los seres humanos. Además, es importante prestarle mucha atención a la población para ver qué función importante cumple para la degradación de los PAHs y cómo nos ayuda al manejo y conservación de la Ciénaga Las Cucharillas como de otros ecosistemas en Puerto Rico.

## LITERATURA CITADA

- Acevedo-Rodríguez, P. & M. T. Strong. (2005) Monocotyledons and Gymnosperms of Puerto Rico and the Virgin Island. *Department of Botany, National Museum of Natural History, Washington, D.C.* Vol 52: 1-415
- Adam, B.D. & J.M. Hefner. (1999) Puerto Rico, Humedales. (translated in Spanish by Teresa Dopazo). *U.S. Geological Survey Water-Supply Paper 2425*, 6pp.
- Albers, P.H. (1995) Petroleum and Individual Polycyclic Aromatic Hydrocarbons, In: Hoffman, D.J., B.A. Rattner, G. A. Jr. Burton, J. Cairns Jr. (Eds). *Handbook of Ecotoxicology*. Lewis Publishers, Boca Raton. Pp. 330-347.
- Administración Nacional de los Océanos y la Atmósfera (NOAA). (2005) La región Estadounidense y del Caribe, Humedales y Peces, Una Conexión Vital. Oficina de Pesquerías de NOAA, División de Conservación de Hábitatulo, 1315 East-West Highway, Silver Spring, MD 20910. Recuperado el 2007 de: [www.nmfs.noaa.gov/habitat](http://www.nmfs.noaa.gov/habitat).
- Alexander, M. (2000) Aging, bioavailability, and overestimation of risk from environmental pollutants. *Environ. Sci. Technol.* 34: 4259–4265.
- Allard A.S., M. Malmberg, A. H. Neilson & M. Remberger. (2005) Accumulation of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons from Creosote-Contaminated Soil in Selected Plants and the Oligochaete Worm *Enchytraeus crypticus*. *Journal of Environmental Science and Health.* 40:2057-2072.
- Allard, A.S.; Remberger, M.; & A.H., Neilson. (2000) The negative impact of aging on the loss of PAH components in a creosote-contaminated soil. *Int. Biodet. Biodeg.*, 46, 43–49.
- Álvarez, M., Babilonia, A., Heredia, M., Hernández, J.C., Jusino, J., Pizarro, P.V., & Valls, M.E. (1994) Análisis de la contaminación del aire en al zona de Cataño y áreas adyacentes. UPR, Esc. Graduada de Salud Pública, RCM.
- Anderson, T.A., E.A. Guthier, & B.T. Walton. (1993) Bioremediation in the rhizosphere: Plant roots and associated microbes clean contaminated soil. *Environ. Sci. Technol.* 27:2630-2636.
- Aprill, W. & R.C. Sims. (1990) Evaluation of the use of prairie grasses for stimulating polycyclic aromatic hydrocarbons treatment in soil. *Chemosphere* 20:253-265.

- Axelrod, F. (s.f) A report of the vascular plants collected at various sites in Cataño, Bo. Palmas.
- Ball, P. W. A. A. Reznick, D. F. Murray, G. C. Trucker, B. G. Marks & J. R. Carter. (2003) Flora of North America. Vol. 23: 147-172. Recuperado el 2007 de: [http://www.efloras.org/florataxon.aspx?flora\\_id=1&taxon\\_id=242357652](http://www.efloras.org/florataxon.aspx?flora_id=1&taxon_id=242357652)
- Baker, J. M. (1970) The effects of oils on plants. *Environ. Toxicol. Chem.* 15, 299-307.
- Bamforth, S.M. & Singleton, I. (2005) Bioremediation of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons: Current knowledge and future directions. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology* 80: 723-736.
- Banks, M.S., P. Kulakow, A.P. Schwab, Z. Chen, & K. Rathbone. (2003). Degradation of crude oil in the rhizosphere of Sorghum bicolor. *Int. J. Phytorem.* 5:225-234.
- Bartle, K.D. (1991). En "Food Contaminants: Sources and Surveillance" (Creaser C. Purchase R, eds). *The Royal Society of Chemistry*, Cambridge. P. 41-60.
- Batista, C. (2005). Plan de Manejo para la Reserva Natural Ciénaga Las Cucharillas. Universidad Metropolitana, Escuela Graduada de Asuntos Ambientales, San Juan, Puerto Rico. Tesis no publicada, Tesis # 127. 284pp.
- Bayona, J.M., P. Fernández, & J. Albaiges. (1993) Oxy-substituted PAHs in urban atmospheric particulates and coastal marines sediments. *Polycyclic Aromatic Compounds.* 3:371-378.
- Botello, A.V., S. Villanueva, G. Díaz y Y. Pica. (1995) Contaminación por hidrocarburos aromáticos policíclicos en sedimentos y organismos del Puerto de Salina Cruz, Oaxaca, México. *Rev. Int. Contam. Ambient.* 11(1): 21-30.
- Boyle, J. J. & J. R. Shann. (1995) Biodegradation of phenol, 2,4-DCP, 2,4-D, and 2,4,5-T in field collected rhizosphere and monrhizosphere soils. *J. Environ. Qual.* 24:782-85.
- Brandt, C.A., L.M.Becker, & A. Porta. (2002) Distribution of polycyclic aromatic hydrocarbons in soils and terrestrial biota after a spill of crude oil in Trecate, Italy. *Environ. Toxicol. Chem.*, 21, 1638-1643.
- Camargo, M.C.R. & M.C.F. Toledo. (2003) Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Brazilian vegetables fruits. *Food Control.* 14: 49-53
- Caricchia, A. M., S. Chiavarini, & M. Pezza, (1999) Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in the urban atmosphere particulate matter in the City of Naples (Italy) *Atmospheric Environment.* 33: 3731-3738.

- Castellano, V., J. López, P. Santana, & J. Santana. (2003) Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in ambient air particles in the city of Las Palmas, Gran Canaria. *Environment International*. 29: 475-480.
- Cerniglia C.E. (1984) Microbial degradation of polycyclic aromatic hydrocarbons. *Adv. Appl Microbiol* 30: 31-71.
- Cerniglia, C.E., G.L. White, & R.H. Heflich. (1985) Fungal metabolism and detoxification of polycyclic aromatic hydrocarbons. *Archives of Microbiology*. 143: 105-110.
- Christensen, E.R. & X. Zhang. (1993) Source of polycyclic aromatic hydrocarbons to Lake Michigan determined from sedimentary records. *Environ. Sci. Technol.* 27, 139-146.
- Chroma, L., M. Mackova, P. Kucerova, C. In der Wiesche, J. Burkhard & T. Macek., (2002). Enzymes in plant Metabolism of PCBs and PAHs. *Acta Biotechnol.* 22, 35-41.
- Coates, J.D., Anderson R.T., & D.R, Lovley. (1996) Oxidation of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons under sulfate-reducing conditions. *App Environ Microbiol* 62: 1099-1011
- Coates, J.D., Woodward, J., Allen, J., Philp, P., & D.R. Lovley. (1997) Anaerobic degradation of polycyclic aromatic hydrocarbons and alkanes in petroleum-contaminated marine harbour sediments. *App Environ Microbiol*. 63:3589-3593.
- Comisión Nacional del Agua. (1998) Gerencia de Recaudación y Control. Ley Federal de Derechos en Materia de Agua. México. Pp. 26-35.
- Connell, D.W. (1990). Bioaccumulation of xenobiotic compounds. CRC Press, Boca Ratón, Florida. P. 219.
- Consorno, M.A. & Asociados. (2001) Plan de Ordenación Territorial, Municipio de Cataño.
- Crépineau, C.; Rychen, G.; Feidt, C.; Le Roux, Y.; Lichtfouse, E.; & Laurent, F. (2003) Contamination of pastures by polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in the vicinity of a highway. *J. Agric. Food Chem.*, 51, 4841–4845.
- Crosby, D. G. (1998) Industrial Chemical. *In: Environmental Toxicology and Chemistry*. Oxford University Press. 13: 253.
- Cunningham, S.D. & D.W. Ow. (1996). Promises and prospects of phytoremediation. *Plant Physiology*. 110: 715-719.



- Cunningham, S.D., T.A. Anderson, P.A. Schwab & F.C. Hsu. (1996) Phytoremediation of soils contaminated with organic pollutants. *Adv. Agron.* 56: 55-114.
- Curl, E. A. & B. Truelove. (1986) *The rhizosphere*. Springer-Verlag, Berlin, Germany.
- Daane, L. L., I. Harjono, G.J. Zylstra, & M. M. Haggblom. (2001) Isolation and characterization of polycyclic aromatic hydrocarbon-degrading bacteria associated with the rhizosphere of salt marsh plants. *Applied and Environmental Microbiology*. 67.6.2683-2691.
- Departamento de Recursos Naturales y Ambientales. (2004) Componentes esenciales de un Plan de Manejo. San Juan, Puerto Rico.
- Dichut, R., E. Canuel, K. Gustafson, S. Walker, G. Edgecombe, M. Gaylor & E. McDonald. (2000) Automotive sources of carcinogenic PAH with particulate matter in the Chesapeake Bay Region. *Environmental Science and Technology*. 34: 4535-4640.
- Dugay, A., C. Herrenknecht, M. Czok, F. Guyon & N. Pages. (2002) New procedure for selective extraction of polycyclic aromatic hydrocarbons in plants for chromatographic-mass spectrometric analysis. *Journal of Chromatography A*.958:1-7.
- Ellis, B., Harold, P., & Kronberg, H. (1991) Bioremediation of a creosote contaminated site. *Environ. Technol.* 12:447-459.
- Ferro, A.M., S.A. Rock, J. Kennedy, J.J. Herrick, & D.L. Turner. (1999) Phytoremediation of soils contaminated with Wood preservatives: Greenhouse and field evaluation. *Int. J. Phytorem.* 1:289-306.
- Fessenden, R.J. & J.S. Fessenden. (1994) Polycyclic and Heterocyclic Aromatic Compounds. In; *Organic Chemistry*, 5<sup>th</sup> edition. California Brooks / Cole Publishing Company. 19: 779-808.
- Fimes, J.; Parrin-Ganier, C.; Empeur-Dissonet, P.; & J.L. Morel. (2002) Soil-to-root transfer and translocation of polycyclic aromatic hydrocarbons by vegetables grown on industrial contaminated soils. *J. Environ. Qual.*, 31, 1649–1656.
- Fimes, J., Schwartz, C., Perrin-Ganier, C. Morel, J. L., Charissou, A.M., & Jourdain, M.J. (2004) Risk of contamination for edible vegetables growing on soils polluted by polycyclic aromatic hydrocarbons. *Polycyclic Aromatic Compounds*. 24 Pp. 827-836.
- Freeman D.J., & F. C. R. Cattell. (1990) Woodburning as a source of atmospheric polycyclic aromatic hydrocarbons. *Enviro Sci Technol* 24. Pp. 1581-1585.

- Gao, Y. & Z. Lizhong. (2004) Plant uptake, accumulation and translocation of Phenanthrene and pyrene in soils. *Chemosphere*. 55: 1169–1178.
- Grimmer, G. (1983) Environmental carcinogens: Polycyclic Aromatic Hydrocarbons. CRC Press, Boca Raton, Fl. 261 pp.
- Guerrero-Zúñiga, L.A., Rodríguez-Dorantes, A.M., Gasca-Rodríguez, M.A. & R.A. Benítez-Ibarra. (2005) Comparación de la capacidad de fenantreno y la actividad enzimática radical superficial de cultivos radicales (*in toto e in vitro*) de *Cyperus elegans*. 20:31-45.
- Gunter, N. & E. Martinoia. (2002) Closter roots an underground adaptation for survival in extreme environments. *Trends Plant Sci*. 4: 162-167.
- Harms, H.H. (1996) Bioaccumulation and metabolic fate of sewage derived organic xenobióticos in plants. *Sci. Total Environ*. 185: 83-92.
- Harrison, R., D. Smith, & L. Luhana. (1996) Source apportionment of atmospheric polycyclic aromatic hydrocarbons collected from an urban location in Birmingham, U.K. 30:825-832.
- Harvey, P., B. Campanella, P. Castro, H. Harms, E. Lichtfouse, A. Schaffner, S. Smrcek & D. Werck. (2002) Phytoremediation of polyaromatic hydrocarbons, aniline and phenols. *Environ. Sci. Pollut. Res. Int*. 9: 29-47.
- Hatzinger, P.B., & M. Alexander. (1995) Effect of aging of chemicals in soil on their biodegradability and extractability. *Environ. Sci. Technol*. 29: 537–545.
- Hodgeson, J.W. (1990) In: Polynuclear Aromatic Hydrocarbons: EPA Method 550.1, *US Environmental Protection Agency*, Cincinnati, OH. P. 143
- Huckelhoven, R., I. Schuphan, B. Thiede & B. Schmidt. (1997) Biotransformation of pyrene by cell cultures of soybean (*Glycine max* L.), wheat (*Triticum aestivum* L.), jimsonweed (*Datura stramonium* L.), and purple foxglove (*digitalis purpurea* L.). *Journal Agric. Food Chem*. 45: 263-269.
- Hulster, A., J.F. Muller & H. Marschner. (1994) Soil-plan transfer of polychlorinated debenzo-p-dioxins and dibenzofuorans to vegetables of the cucumber family (Cucurbitaceae). *Environ. Sci. Technol*. 28: 1110-1115.
- Jakoby, W. & D. Ziegler. (1990) The enzymes of detoxication. *Journal Biol. Chem*. 34: 20715-20718.

- Jones, K.C., J. A. Stratford, K.S. Watehouse, E.T. Furlong, W. Giger, R.A. Hites, C. Schaffner, & A.E. Johnston. (1989) Increases in the polynuclear aromatic hydrocarbon content of an agricultural soil over the last century. *Enviro Sci Technol.* 23: Pp. 95-101.
- Jones, K. C., & P. de Voogt. (1999) Persistent organic pollutants (POPs): State of the Science. *Environ. Pollut.* 100: 209-221.
- Juhasz, A.L. & R. Naidu. (2000) Biorremediation of high molecular weight polycyclic aromatic hydrocarbons: a review of the microbial degradation of benzo[a]pyrene. *Int Biodeterior Biodegrad* 45: 57-88.
- Kadlec, R. & R. L. Knight. (1995) Treatment wetlands. Lewis Publishers, Boca Raton, Fla.
- Kaldor, J., Harris, J.A., Glazer, E., Glaser, S., Neutra, R., Mayberry, R., Nelson, V., Robinson, L., & D. Reed. (1984). Statistical association between cancer incidence and major cause mortality, and estimates residential exposure to air emissions from petroleum and chemical plants. *Environmental Health Perspectives* 54: 319- 332.
- Kennicutt, M.C. (1988) The effect of biodegradation on crude oil bulk and molecular composition. *Oil Chem. Pollut.* 4:89-112.
- Kipopoulou, A.M., E. Manoli, & C. Samara. (1999) Bioconcentration of polycyclic aromatic hydrocarbons in vegetables grown in an industrial area. *Environ. Pollut.*, 106, 369–380.
- Kolek, J. & V. Kozinka. (1991) Physiology of the plant root system. Developments in *Plant and Soil Sciences* volume 46. Kluwer Academic Publishers: Dordrecht/Boston/London. 1991.
- Korte, F., G. Kvesitadze, D. Ugrekhelidze, M. Gordeziani, G. Khatisashvili, O. Buadze & F. Coulston. (2000) Organic Toxicants and plants. *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, 47:1-26.
- Koss, G. & I. Tesseraux. (1999) En *Toxicology* (Marquardt H. et al., eds). Academic Press, San Diego. 603-644.
- Krauss, M., Wolfgang, W., Martius, C., Bandeira, A.G., García, M.V.B., & W. Amelung, (2005) Atmospheric versus biological sources of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in a tropical rain forest environment. *Environmental Pollution* 135: 143-154.
- Kucerova, P., L. Polanchova, T. Macek, J. Burkhard, J. Pazlarova, K. Demnerova, & M. Mackova. (1998) Transformation of PCBs by plant cell cultures and relation to the production of plant peroxidases. *Internat. Biodeterior. Biodegrad.*, 42:245- 250.

- Lane D. A. (1989) The fate of Polycyclic Aromatic compounds in the atmosphere and during sampling. In “*Chemical analysis of polycyclic aromatic compounds.*” T. Vo-Dinh (Ed.), J. Wiley & Sons. Pp. 31-58.
- Leahy, J.G. & R.R. Colwell. (1990) Microbial degradation of hydrocarbons in the environment. *Microbiol. Rev.* 54:305-315.
- Lim L.H., Harrison, R. M., & S. Harrad. (1999) The contribution of traffic atmospheric concentrations of polycyclic aromatic hydrocarbons. *Enviro Sci Technol* 33. Pp. 3538-3542.
- Lima, A.L.C., Englinton, T.I., & C.M. Ready. (2003) High resolution record of pyrogenic polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) deposition during the 20<sup>th</sup> century. *Environ Sci. Technol.* 37: 53-61.
- Lin, M.C., Yu, H.S., Tsai, S.S., Cheng, B.H., Hsu, T.Y., Wu, T.N., & C.Y. Yang. (2001). Adverse pregnancy outcome in a petrochemical polluted area in Tawain. *Journal of Toxicological and Environmental Health.* 63. Pp. 565-574.
- López-Martínez, S., M. E. Gallegos-Martínez, L. J. Pérez-Flores & M. Gutiérrez-Rojas. (2005) Mecanismo de Fitorremediación de suelos contaminados con moléculas orgánicas xenobióticas. *Rev. Int. Contam. Ambient.* 21(2): 91-100.
- Lotufo, G.R. (1998) Bioaccumulation of sediment-associated fluoranthene in benthic copepods: uptake, elimination and transformation. *Aqua Toxicol.* 44:1-15.
- Lundstedt, S., Haglund, P. & L. Oberg. (2003) Degradation and formation of polycyclic aromatic compounds during bioslurry treatment of an acid aged gasworks soil. *Environ Toxicol Chem* 22:1413-1420.
- Lyte, J.S. & T.F. Lyte. (2001) Use of plants for toxicity assesment of estuarine ecosystems. *Environ. Toxicol. Chem.* 20:63-68.
- Maccubbin, A.E., & N. Ersing. (1990) Tumors in fish from Detroit River. *Hidrobiología* 65:223-234.
- Mackova, M., Macek, T., Ocenaskova, J., Burkhard, J., Demnerova, K., J. Pazlarova. (1997) Biodegradation of polychlorinated biphenyls by plant cells. *Int. Biodeter. Biodegr.* 39 Pp. 317-325.
- Martinoia, E., E. Grill, R. Tommasini, K. Kreuz & N. Amrhein. (1993) ATP-dependent glutathione S-conjugate “export” pump in the vacuolar membrane of plants. *Nature.* 364: 247-249.
- Massol-Deyá, A. (2000) Biorremediación: de una realidad social a una solución ecológica. 2da ed. *Publicaciones Casa Pueblo.* Pp. 1-71.

- Maziarz III, E. P., Baker, G. A. & T. D. Wood. (2005) Electrospray ionization fourier transform mass spectrometry of Polycyclic aromatic hydrocarbons using silver (I)-mediated ionization. *Canadian Journal of Chemistry*. 83:1871-1877.
- McLachlan, M.S. (1996) Bioaccumulation of hydrophobic chemicals in agricultural food chains. *Environ Sci. Technol.* 1: 252-259.
- Meagher, R.B. (2000) Phytoremediation of toxic elemental and organic pollutants. *Curr. Opin. Plant Biol.* 3: 153-162.
- Menzie, C.A., B.B. Potocki & J. Santodonato. (1992) Exposure to carcinogenic PAHs in the environment. *Environ. Sci. Technol.* 26:1278-1284.
- Meudec, A., J. Dussauze, M. Jourdin, E. Deslandes & N. Poupart. (2006) Gas chromatographic-mass spectrometric method for polycyclic aromatic hydrocarbons analysis in plant biota. *Journal of Chromatography A*. 1108: 240- 247.
- Miranda, R. & A. Casta. (1997) La erradicación de la malaria en Puerto Rico. *Panamerican Journal of Public Health*. 2(2): 146-150.
- Morales C. (2001) Conservación Ciénaga Las Cucharillas. Reportado el 2007 de [http://www.suagm.edu/umet/umet\\_new\\_web/escuelas/asuntos\\_ambientales\\_02\\_04/.pages/proj/ciena.html](http://www.suagm.edu/umet/umet_new_web/escuelas/asuntos_ambientales_02_04/.pages/proj/ciena.html).
- Mueller, J. G., C.E. Cerniglia & P.H. Pritchard. (1996) Bioremediation of environments contaminated by polycyclic aromatic hydrocarbons, in *Bioremediation: Principles and Applications*, ed by Crawford RL and Crawford DL. Cambridge University Press, Idaho. Pp. 125-194.
- Múgica-Álvarez, V., S. Hernández-Mayen, B.Y. Correón Garabito & M. Torres-Rodríguez. (2004) Hidrocarburos aromáticos policíclicos en la atmósfera de la Ciudad de México. Universidad Autónoma Metropolitana-Azcapotzalco.
- Nadal, M., Schuhmacher, M., & J.L. Domingo. (2004). Levels of PAHs in soil and vegetation samples from Tarragona County, Spain. *Environmental Pollution*. 132. Pp. 1-11.
- Neff, M.F. (1979) Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in aquatic environment. Sources, Fates and Biological Effects. *Applied Science Publisher*. U.K. 262.
- Northcott, G.L.; & K.C. Jones. (2001) Partitioning, extractability, and formation of nonextractable PAH residues in soil. 1. Compound differences in aging and sequestration. *Environ. Sci. Technol.* 2001, 35, 1103–1110.
- NRC (National Research Council). (1985). Oil in the Sea. Inputs, Fate and Effects. *National Academy Press*. Washington D.C. 60.

- Ohkouchi, N., Kawamura, K. & Kawahata, H. 1999. Distributions of three to seven-ring polynuclear aromatic hydrocarbons on the deep sea floor in the central pacific. *Environ Sci Technol*: 33: 3086-3090.
- Oleszczuk, P. & B. Stanislaw. (2005) Influence of soil fertilization by sewage sludge on the content of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in crops. *Journal of Environmental Science and Health*. 40:2085-2103.
- O'Rourke, D. & S. Connolly. (2003) Just oil? The distribution of environmental and social impacts of oil production and consumption. *Ann. Rev. Environ. Resources*. 28: 587-617.
- Pan, B.J., Hong, Y.J., Chang, G.C., Wang, M.T., Cinkotai, F.F., & Ko, Y.C. (1994) Excess cancer mortality among children and adolescent in residential districts polluted by petrochemical manufacturing plants in Tawain. *Journal of Toxicology and Environmental Health*. 43. Pp. 117-129.
- Parrish, Z.D., Banks, M.K. & Schwab, A.P. (2005) Assesment of contaminant lability during phytoremediation of polycyclic aromatic hydrocarbons impacted soil. *Environmental Pollution*. 137. Pp. 187-197.
- Pletsch, M., B. Santos de Arujo & B.V. Charlwood. (1999) Novel biotechnological approaches in environmental remediation research. *Biotechnology Advances*. 17:679-687.
- Potter, C.L., J.A. Glaser, L.W. Chang, J.R. Meier, M.A. Dosani, & R.F. Herrmann. Degradation of polynuclear aromatic hydrocarbons under bench-scale. Compost Conditions. *Environ. Sci. Technol*. 33:1717-1725.
- Prado, A. M., A. Quillici & F. Ortega. (1999) Estudios descriptivos y funcional de la vegetación en áreas contaminadas por derrames de hidrocarburos. *Visión Tecnológica* 2, 51-58.
- Reglamento de Estándares de Calidad de Agua de Puerto Rico. (2003) Estado Libre Asociado de Puerto Rico, Oficina de la Gobernadora, Junta de Calidad Ambiental.
- Reilley, K.A., M.K. Banks, & A.P. Schwab. (1996) Organic chemicals in the environmental. Dissipation of polycyclic aromatic hydrocarbons in the rhizosphere. *J. Environ. Qual*. 25: 22-219.
- Ribes, S.; van Drooge, B.; Dachs, J.; Gustafsson, O.; & J.O. Grimalt, (2003) Influence of sootcarbon on the soil-air partitioning of polycyclic aromatic hydrocarbons. *Environ. Sci. Technol*. 37: 2675–2683.
- Robineau, Y., Y. Batard, S. Nedelkina, F. Caballo-Hurtado, M. LeRet., O. Sorokine, L. Didierjean & D. Werk-Reichhart. (1998) The chemical inducible plant

Cytochrome CYP76B1 actively metabolizes phenylureas and other xenobiotics. *Plant Physiol.* 118: 1049-1056.

Rocha, A., H. Horvath, J. Olivera & A. Duarte. (1999) Trends in alkanes and PAHs in airborne particulate matter from Oporto and Vienna: identification and comparison. *The Science of the Total Environment.* 236: 231-236.

Samsøe-Petersen, L.; Larsen, E.H.; Larsen, P.B.; & P. Bruun. (2002) Uptake of trace elements and PAHs by fruit and vegetables from contaminated soils. *Environ. Sci. Technol.* 2002, 36, 3057–3063.

Sander, L. C. & Wise S. A. (1997) Polycyclic Aromatic Hydrocarbons structure index. *Natl. Inst. Stand. Technol. Special Publications* 922. US Gov. Print. Office, Washington, DC. Pp. 105.

Sangabriel, W., Ferrera-Cerrato, R., Trejo-Aguilar, D., Mendoza-López, M.R., Cruz-Sánchez, J.S., López-Ortiz, C., Delgadillo-Martínez, J. & Alarcón, A. (2006) Tolerancia y capacidad de fitorremediación de combustóleo en el suelo por seis especies vegetales. *Rev. Int. Contam. Ambient.* 22(2): 63-73.

San Juan Bay Estuary Program (SJBEP). (2000) Comprehensive Conservation and Management Plan for the San Juan Bay Estuary. Miramar Plaza, 954. Ave. Ponce de León, Suite 805.

Santos de Arujo, B., B.V. Charlwood & M. Pletsch. (2002). Tolerance and metabolism of phenol and chloro derivatives by hairy root cultures of *Daucus carota* L. *Environ. Pollut.* 117:329-335.

Sawyer, C.N., P.L. McCarty & G.F. Parkin. (2003) Basics concepts from organic chemistry for environmental engineering and science. 5<sup>th</sup> edition. Mc Graw-Hill. 5: 246-249.

Schroll, R.; Bierling, B.; Cao, G.; D'orfer, U.; Lahaniati, M.; Langenbach, T.; Scheunert, & Winkler, R. (1994) Uptake pathways of organic chemicals from soil by agricultural plants. *Chemosphere.* 28: 297–303.

Schwab, A.P., A.A. Al-Assi & M.K. Banks. (1998). Adsorption of naphthalene onto plant roots. *J. Environ. Qual.* 27:220-224.

Schwab, A. P., & M. K. Banks. (1994) Biologically mediated dissipation of polyaromatic hydrocarbons in the root zone, p. 132-141. In T.A. Anderson and J. R. Coats (ed.), Bioremediation through rhizosphere technology. *American Chemical Society.* Washington D.C.

- Seguinot Barbosa, J. (1998) San Juan Bay Estuary System Public Health Risk Analysis. University of P. R., Graduate School of Public Health, Medical Science Campus. Tesis no publicada
- Siciliano, S.D. & J.J. Germida. (1999) Enhanced phytoremediation of chlorobenzoates in rhizosphere soil. *Soil Biol. Biochem.* 31:299-305.
- Simonich, S.L. & R.A. Hites, (1994) Importance of vegetation in removing polycyclic aromatic hydrocarbons from the atmosphere. *Nature.* 370. 49-51.
- Simonich, S.L. & R.A. Hites. (1995) Organic pollutant accumulation in vegetation. *Environ. Science. Technology.*, 29, 2905–2914.
- Slaski, J.J., Archambault, D.J. & Li, X. (2000) Evaluation of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAH) Accumulation in Plants.
- Smith, K.E.C.; Green, M.; Thomas, G.O. & K.C. Jones (2001) Behavior of sewage sludge derived PAHs on pasture. *Environ. Sci. Technol.* 35: 2141–2150.
- Smith, K.E.C., G.L. Northcott & K.C. Jones. (2006) Influence of the extraction methodology on the analysis of polycyclic aromatic hydrocarbons in pasture vegetation. *Journal of Chromatography A.* 1116. pp. 20-30.
- Spriggs, T., M.K. Banks & P. Schwab. (2005) Phytoremediation of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in manufactured Gas Plant-Impacted Soil. *Journal Environmental Quality.* 34:1755-1762.
- Stacher, D., M. Mumatz & J. George. (1995) Toxicological Profile for Polycyclic Aromatic Hydrocarbons. U.S. Department of Health and Human Service, Public Health Service Agency for Toxic Substances and Disease Registry. Recuperado el 2007 de <http://www.atsdr.cdc.gov/toxprofiles/tp69.pdf>
- Stroscher, M. (1996) Investigation of flare gas emissions in Alberta. ARC Report, Calgary, A.B., Pp. 111.
- Sung, K.; Munster, C.K.; Rhykerd, R.; Drew, M.C. & M.Y. Corapaciolu. (2002) The use of box lysimeters with freshly contaminated soils to study the phytoremediation of recalcitrant organic contaminants. *Environ. Sci. Technol.* 36: 2249–2255. *PAC Accumulation from Creosote-Contaminated Soil* 2071.
- Tam, NFY, Guo CL, Yau, WY & Wong YS. (2002) Preliminary study on biodegradation of phenanthrene by bacteria isolated from mangrove sediments in Hong Kong. *Mar Polut Bull* 45: 316-324.



- Tascón, E. and A. Fischer. (s.f.). Malezas específicas y guía de manejo, Principales malezas de arroz tropical. Nociones Basicas del Manejo Integrado de plagas en Arroz. Recuperado el 2008 de [http://www.ciat.cgiar.org/riceweb/pdf/s/segunda parte.7.pdf](http://www.ciat.cgiar.org/riceweb/pdf/s/segunda%20parte.7.pdf).
- Thomas, G., A.J. Sweetman, W.A. Ockenden, D. Mackay & K.C. Jones. (1998) Air-pasture transfer of PCBs. *Environmental Science and Technology* 32, 936-942.
- Thoma, G.J., T.B. Lam, & D.C. Wolf. (2003) Mathematical modeling of phytoremediation of oil-contaminated soil: Model development. *Int. J. Phytorem.* 5:41-55.
- Thoma, G.J., T.B. Lam, & D.C. Wolf. (2003) Mathematical modeling of phytoremediation of oil-contaminated soil: Sensitivity analysis. *Int. J. Phytorem.* 5:125-136.
- UMET (Universidad Metropolitana). (2007). Área de Planificación Especial y Reserva Natural de la Ciénaga Las Cucharillas. Borrador de Vista Pública.
- US Department of Health Human Service (US DHHS) (1995) Toxicological profile for Polycyclic Aromatic Hydrocarbons. Georgia, USA.
- Varazashvili, T., G. Khaitashvili, M. Kurashvili, M. Pruidze, T. Ananiashvili, G. Zaalishvili & M. Gordeziani. (2001) Nitrobenzene oxidizing enzymes in plant cells. *Journal Biol. Phy. Chem.* 1:85-88.
- Vives, I., J. O. Grimalt & R. Guitart. (2001) Los Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos y la salud humana. *Apuntes de Ciencias y Tecnología.* 3: 45-51.
- Wagrowski, D.M. & R.A. Hites. (1997). Polycyclic Aromatic Hydrocarbon accumulation in urban, suburban, and rural vegetation. *Environ. Sci. Technol.* 31: 279–282.
- Waisel, Y., A. Eshel, & U. Kafkafi. (2002) Plant Roots: The hidden half. 3<sup>rd</sup> ed. Marcel Dekker. Mew York/Basel.
- Walton, B. T., & T.A. Anderson. (1990) Microbial degradation of trichloroethylene in the rhizosphere: potential application to biological remediation of waste sites. *Appl. Environ. Microbial.* 56:1012-1016.
- Wennrich, L.; Popp, P. & M. Zeibig. (2002). Polycyclic aromatic hydrocarbon burden in fruit and vegetable species cultivated in allotments in an industrial area. *Int. J. Environ. Anal.Chem.* 82: 677–690.
- Werck, D., A. Hehn & L. Didijerjean. (2000) Cytochrome P450 for engineering herbicide tolerance. *Trends Plant Sci.* 5: 116-123.

- Wetzel, S. C., M. K. Banks, & A. P. Schwab. (1996) Rhizosphere effects on the degradation of pyrene and anthracene in soil. p. 254-262. In E. L. Kruger, T. A. Anderson, and J. R. Coats (ed.), *Phytoremediation of soil and water contaminants*. American Chemical Society, Washington, D.C.
- White JR, P. M., D.C. Wolf, G.J. Thoma & C.M. Reynolds. (2005). Phytoremediation of Alkylated polycyclic aromatic hydrocarbons in a crude oil-contaminated soil. *Water, Air, Soil Pollution*. 169:207-220.
- Wild, E., J. Dent, G. O. Thomas & K. C. Jones. (2005) Direct Observation of Organic Contaminant Uptake, Storage, and Metabolism within Plant Roots. *Environ. Sci. Technol.* 39:3695-3702.
- Wild, S.R. & K.C. Jones. (1992) Organic chemicals in the environment. Polynuclear aromatic hydrocarbons uptake by carrots grown in sludge-amended soil. *J. Environm. Quality*. 21: 217-225.
- Wild, S.R. & K.C. Jones. (1994) The significance of polynuclear aromatic hydrocarbons applied to agricultural soils in sewage sludges in the U.K. *Waste Management Res.* 12:49-59.
- Wild, S. R., M.L. Berrow, S.P. McGrath, & K.C. Jones. (1992) Polynuclear aromatic hydrocarbons in crops from long-term field experiments amended with sewage sludge. *Environ. Pollut.* 76: 25-32.
- Wild, S.R., S.P. McGrath, & K.C. Jones. (1990) The polynuclear aromatic hydrocarbons (PAH) content of archived sewage sludges. *Chemospheres* 20: 703-716.
- Yang, C.Y., H.F. Chiu., S.S. Tsai, C.C. Chang, & H.Y. Chuang. (2002) Increased risk of preterm delivery in areas with cancer mortality problems from petrochemical complexes. *Environmental Research* 89. Pp. 195-200.

## **TABLAS**

**Tabla 1**

**Plantas de mayor abundancia que se encontraban en áreas visiblemente contaminadas con potencial fitorremediador.**

Nombre Científico	Nombre Común	Familia
<i>Commelina diffusa</i>	Cohitré	Commelinaceae
<i>Cyperus difformis</i>	Juncia de agua	Cyperaceae
<i>Cyperus elegans</i>	Royal Flatsedge	Cyperaceae
<i>Cyperus giganteus</i>	Junco de ciénaga	Cyperaceae
<i>Fimbrisylis dichotoma</i>	Junquito	Cyperaceae
<i>Paspadium geminatum</i>	Yerba de agua	Gramineae
<i>Typha domingensis</i>	Eneas	Typhaceae
<i>Sesuvium portulacastrum</i>	Verdolaga rosada	Aizoaceae
<i>Ipomea tiliaceae</i>	Bejuco de puerco	Convolvulaceae
<i>Neptunia plena</i>	Desmanto amarillo	Leguminoseae
<i>Ludwigia erecta</i>	Yerba de clavo acuática	Onagraceae
<i>Solanum americanum</i>	Mata de gallina	Solanaceae

**Tabla 2****Características de las plantas que se tomaron en consideración en el estudio**

<b>Características</b>	<b><i>Ludwigia erecta</i></b>	<b><i>Cyperus elegans</i></b>
Nombre Común	Clavito de pozo, palo de agua	Royal Flatsedge
Familia	Onagraceae	Cyperaceae
Comportamiento	Malezas anuales, a veces arbustivo	Hierbas perennes, cespitosa, de pocos rizomas
Morfología	Tallos erectos	Hojas abaciales de cara cóncava
Altura	Hasta 1 metro	2 - 4 mm
Flores	Amarillas, solitarias y axilares	Espigas ovoides, anteras de 0.6 a 1.4 mm con estigma
Propagación	Semillas	Semillas y rizomas
Sistema radical	Extenso	Fibroso

**Tabla 3****Límites permitidos por las pertinentes agencias reguladoras**

<b>Agencia Reguladora</b>	<b>Límites Permitidos</b>	<b>Conversiones a ppb</b>
OSHA	0.2 m g/m <sup>3</sup>	200 ppb
Comisión Nacional del Agua	0.02 a 0.04 mg/L	200 a 400 ppb
Reglamento de Estándares de Calidad de Agua de Puerto Rico	5 ppb	5 ppb

## **FIGURAS**



*Figura 1. Ludwigia erecta*





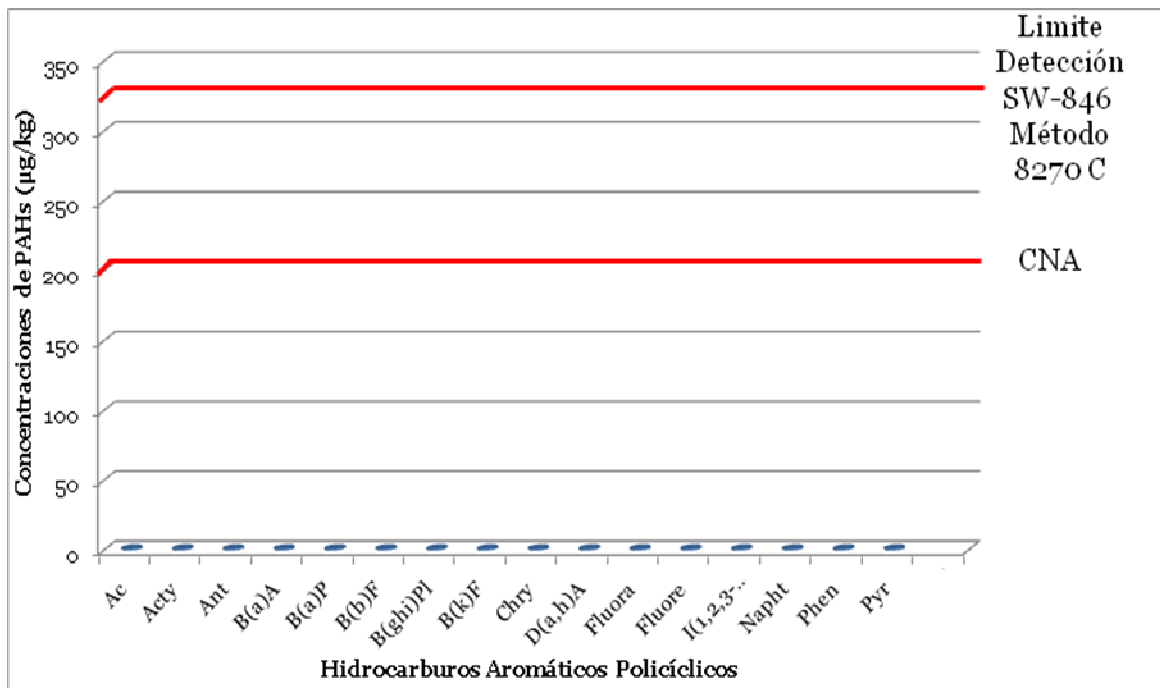
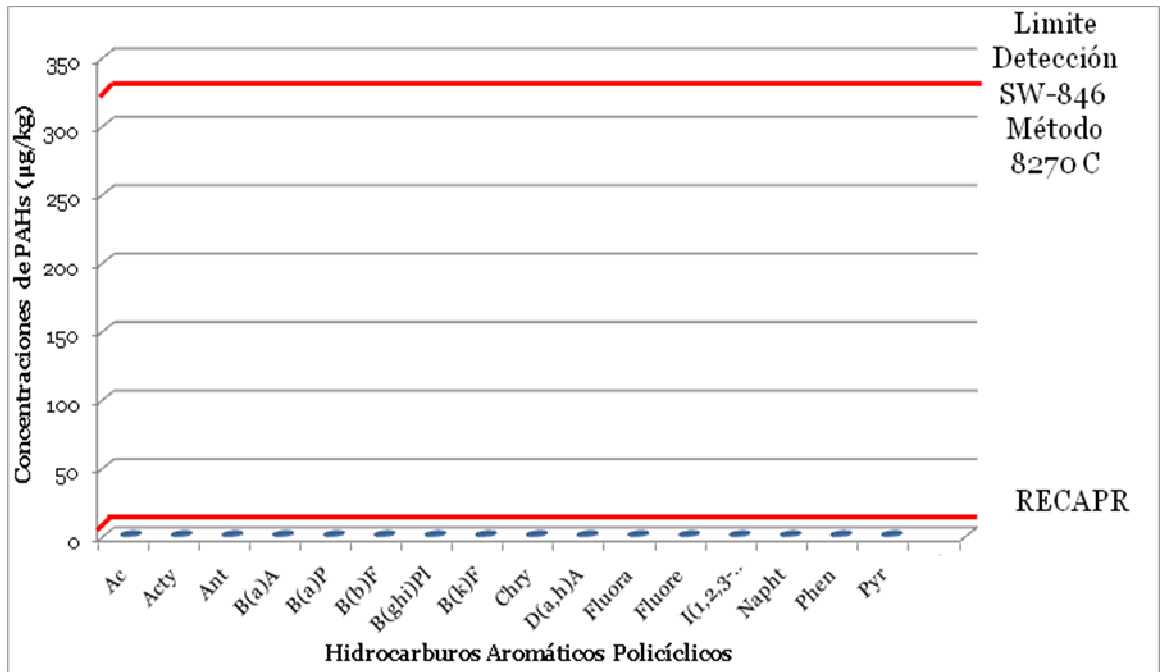
*Figura 2. Cyperus elegans*



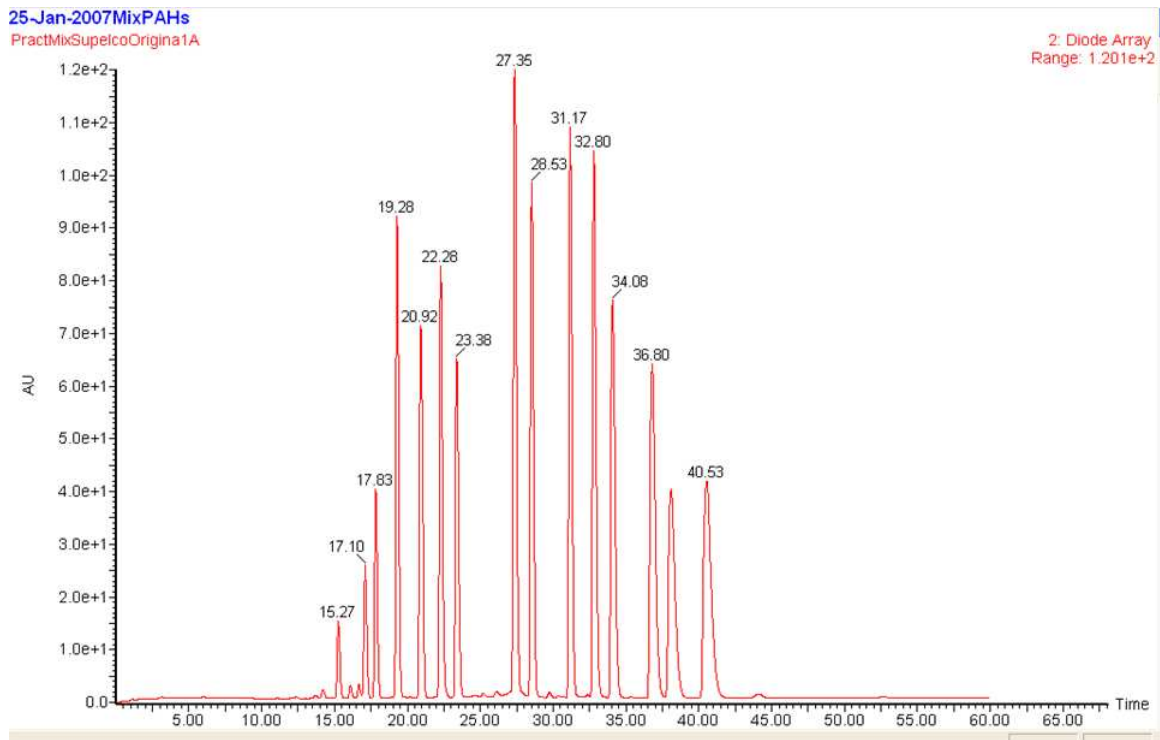




**Figura 4.** Áreas de la Ciénaga Las Cucharilla, donde se tomaron las muestras.



**Figura 5.** Análisis estadístico del contenido de PAHs en las muestras de la Ciénaga Las Cucharillas. A) Comparación de resultados con el Límite de Detección según el SW-846 Método 8270 C de la EPA y el Reglamento de Estándares de Calidad de Agua de Puerto Rico (5 ppb). B) Comparación de resultados con el Límite de Detección según el SW-846 Método 8270 C de la EPA y la Comisión Nacional de Agua (200 ppb).



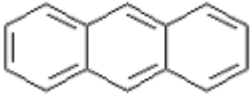
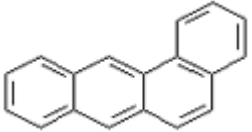
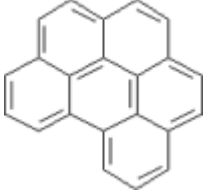
**Figura 6.** Cromatograma de los 16 Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos de importancia prioritaria por la EPA. Dato obtenido del equipo “High Performance Liquids Chromatography”, del Laboratorio de Química Ambiental y Toxicología Molecular de la Universidad Metropolitana de San Juan, Puerto Rico.

## **APÉNDICE**

**APENDICE 1**  
**ESTRUCTURAS CONFIGURACIONALES DE LOS HIDROCARBUROS**  
**AROMÁTICOS POLICÍCLICOS**

## Apéndice 1

### Estructuras configuracionales de los Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos.

Nombre	Estructura Molecular	Formación
Anthracene		Lineal o recto
Benzo (a) anthracene		Angular
Benzo (g,h,i) perylene		Conglomeradas



**APÉNDICE 2**  
**CADENA DE CUSTODIA**



# CHAIN-OF-CUSTODY / Analytical Request Document

The Chain-of-Custody is a LEGAL DOCUMENT. All relevant fields must be completed accurately.

Page: 1 of 1

Requested Analyze: **1107968**

Section C  
Invoice Information:  
Attention: \_\_\_\_\_

Section B  
Required Project Information:  
Report To: Jose Marengo  
Company Name: \_\_\_\_\_  
Copy To: \_\_\_\_\_  
Address: \_\_\_\_\_  
Purchase Order No.: AD  
Project Name: \_\_\_\_\_  
Project Number: \_\_\_\_\_  
Pace Profile #: 000 39173

Section A  
Required Client Information:  
Company: Jose Marengo  
Address: 1801 San Felipe  
Cajon Arroyo #100012  
Email To: lmmw@equival.com  
Phone: 951-5332 Fax: 951-5540  
Requested Due Date/TAT: \_\_\_\_\_

REGULATORY AGENCY  
 NPDES  
 UST  
 GROUND WATER  
 RCRA  
 DRINKING WATER  
 Other

SITE LOCATION  
 GA  
 IL  
 IN  
 MI  
 MN  
 NC  
 OH  
 SC  
 WI  
 OTHER PA

ITEM #	SAMPLE ID	Matrix Code	Matrix Code	MIXED MATRIX CODE	SAMPLER TYPE	G-RAB C-COMP	COLLECTED		# OF CONTAINERS	PRESERVATIVES	Filtered (Y/N)	Requested Analyze	Lab ID
							DATE	TIME					
1	P1 Ce 06	DM	DRINKING WATER	DM			5/16/08	N/A	1	Unpreserved	Y	0805-1467	08-1732
2	P1 Ce 02	WT	WASTE WATER	WT			11	N/A	1	Unpreserved	Y	1468	
3	P2 Ce 2B	SL	SOIL/SOLID	SL			11	N/A	1	Unpreserved	Y	1469	
4	P2 Ce 23	OL	OIL	OL			11	N/A	1	Unpreserved	Y	1470	
5	P3 Ce 13	AP	ASBESTOS	AP			11	N/A	1	Unpreserved	Y	1471	
6	P3 Ce 11	OT	OTHER	OT			11	N/A	1	Unpreserved	Y	1472	
7		TS	TISSUE	TS									
8													
9													
10													
11													
12													

Additional Comments: **Check for complete payment before Had with sample**

RELINQUISHED BY / AFFILIATION: Jose Marengo DATE: 5/16/08 TIME: 12:00

ACCEPTED BY / AFFILIATION: [Signature] DATE: 5/16/08 TIME: 2:00

SAMPLER NAME AND SIGNATURE:  
 PRINT Name of SAMPLER: Jose F. Marengo  
 SIGNATURE of SAMPLER: [Signature]  
 DATE Signed (MM/DD/YY): \_\_\_\_\_

Temp in °C: \_\_\_\_\_  
 Received on ice: Y/N  
 Custody Sealed Cooler: Y/N  
 Samples Intert: Y/N

**APÉNCIDE 3**  
**RESULTADOS ANÁLISIS QUÍMICOS**  
**“PACE ANALYTICAL DEL CARIBE INC.”**



LELAP No.: 04139

**Pace Analytical, Inc.**  
Puerto Rico Laboratory  
El Retiro Industrial Zone  
Calle B&C, P.O. Box 325  
San German, PR 00683

Phone: 787.892.2650

Fax: 787.892.1054

[www.pacelabs.com](http://www.pacelabs.com)

May 31, 2008

Mr. Jose I. Marengo (Student)  
Jose Marengo  
UMET  
PO Box 21150  
San Juan, PR 00928-1150

Dear Mr. Marengo:

Enclosed are analytical results for samples submitted to Pace Analytical by Jose Marengo. The samples were received on May 16, 2008. Please note that this report relates only to the samples tested or to the samples as they were received by the laboratory. Refer to Pace project number 08-1732 when inquiring about this report.

Client Site: Cupey  
Client Ref.: UMET

Pace Sample Identification	Client Sample Identification
0805-1467	P1Le06
0805-1468	P1Ce02
0805-1469	P2Le28

Pace Sample Identification	Client Sample Identification
0805-1470	P2Ce23
0805-1471	P3Le13
0805-1472	P3Ce11

**General Comments:** None

Please call me if you have any questions regarding the information contained within this report.

Sincerely,

Juan Redondo Diaz  
Project Manager

JRD: kpo

Enclosures

### REPORT OF LABORATORY ANALYSIS

This report shall not be reproduced, except in full,  
without the written consent of Pace Analytical Services, Inc.







LELAP No.: 04139

**Pace Analytical, Inc.**  
 Puerto Rico Laboratory  
 El Retiro Industrial Zone  
 Calle B&C, P.O. Box 325  
 San German, PR 00683  
 Phone: 787.892.2650  
 Fax: 787.892.1054  
 www.pacelabs.com

Mr. Jose I. Marengo (Student)  
 Jose Marengo  
 UMET  
 PO Box 21150  
 San Juan, PR 00928-1150

**Lab Project ID:** 08-1732  
**Lab Sample ID:** 0805-1467  
**Client Sample ID:** P1Le06  
 Sample Matrix: Solid

Date Sampled: 05/16/2008  
 Date Received: 05/16/2008

Client Site: Cupey  
 Client Ref.: UMET

**Semivolatiles**

Test	Method	Result	Reporting Limit	Units	Analyst	Analysis Date	Method Blank ID	Blank Result
<b>Semivolatile Organic Compounds, GC/MS</b>								
Acenaphthene	8270C <sup>(1)</sup>	<330	330	ug/kg	KIS	05/28/2008	0011248-1	<330
Acenaphthylene	8270C <sup>(1)</sup>	<330	330	ug/kg	KIS	05/28/2008	0011248-1	<330
Anthracene	8270C <sup>(1)</sup>	<330	330	ug/kg	KIS	05/28/2008	0011248-1	<330
Benzo(a)anthracene	8270C <sup>(1)</sup>	<330	330	ug/kg	KIS	05/28/2008	0011248-1	<330
Benzo(a)pyrene	8270C <sup>(1)</sup>	<330	330	ug/kg	KIS	05/28/2008	0011248-1	<330
Benzo(b)fluoranthene	8270C <sup>(1)</sup>	<330	330	ug/kg	KIS	05/28/2008	0011248-1	<330
Benzo(ghi)perylene	8270C <sup>(1)</sup>	<330	330	ug/kg	KIS	05/28/2008	0011248-1	<330
Benzo(k)fluoranthene	8270C <sup>(1)</sup>	<330	330	ug/kg	KIS	05/28/2008	0011248-1	<330
Chrysene	8270C <sup>(1)</sup>	<330	330	ug/kg	KIS	05/28/2008	0011248-1	<330
Dibenz(a,h)anthracene	8270C <sup>(1)</sup>	<330	330	ug/kg	KIS	05/28/2008	0011248-1	<330
Fluoranthene	8270C <sup>(1)</sup>	<330	330	ug/kg	KIS	05/28/2008	0011248-1	<330
Fluorene	8270C <sup>(1)</sup>	<330	330	ug/kg	KIS	05/28/2008	0011248-1	<330
Indeno(1,2,3-cd)pyrene	8270C <sup>(1)</sup>	<330	330	ug/kg	KIS	05/28/2008	0011248-1	<330
Naphthalene	8270C <sup>(1)</sup>	<330	330	ug/kg	KIS	05/28/2008	0011248-1	<330
Phenanthrene	8270C <sup>(1)</sup>	<330	330	ug/kg	KIS	05/28/2008	0011248-1	<330
Pyrene	8270C <sup>(1)</sup>	<330	330	ug/kg	KIS	05/28/2008	0011248-1	<330

<sup>(1)</sup> U.S. Environmental Protection Agency, 1996, Test Methods for Evaluating Solid Waste, SW-846, 3rd ed., Office of Solid Waste and Emergency Response, Washington, DC.

**Sample Comments:** Results reported on an as received basis.



**REPORT OF LABORATORY ANALYSIS**

This report shall not be reproduced, except in full,  
 without the written consent of Pace Analytical Services, Inc.





LELAP No.: 04139

**Pace Analytical, Inc.**  
 Puerto Rico Laboratory  
 El Retiro Industrial Zone  
 Calle B&C, P.O. Box 325  
 San German, PR 00683  
 Phone: 787.892.2650  
 Fax: 787.892.1054  
 www.pacelabs.com

Mr. Jose I. Marengo (Student)  
 Jose Marengo  
 UMET  
 PO Box 21150  
 San Juan, PR 00928-1150

**Lab Project ID:** 08-1732  
**Lab Sample ID:** 0805-1468  
**Client Sample ID:** P1Ce02  
 Sample Matrix: Solid

Date Sampled: 05/16/2008  
 Date Received: 05/16/2008

Client Site: Cupey  
 Client Ref.: UMET

**Semivolatiles**

Test	Method	Result	Reporting Limit	Units	Analyst	Analysis Date	Method Blank ID	Blank Result
<b>Semivolatile Organic Compounds, GC/MS</b>								
Acenaphthene	8270C <sup>(1)</sup>	<330	330	ug/kg	KIS	05/28/2008	0011248-1	<330
Acenaphthylene	8270C <sup>(1)</sup>	<330	330	ug/kg	KIS	05/28/2008	0011248-1	<330
Anthracene	8270C <sup>(1)</sup>	<330	330	ug/kg	KIS	05/28/2008	0011248-1	<330
Benzo(a)anthracene	8270C <sup>(1)</sup>	<330	330	ug/kg	KIS	05/28/2008	0011248-1	<330
Benzo(a)pyrene	8270C <sup>(1)</sup>	<330	330	ug/kg	KIS	05/28/2008	0011248-1	<330
Benzo(b)fluoranthene	8270C <sup>(1)</sup>	<330	330	ug/kg	KIS	05/28/2008	0011248-1	<330
Benzo(ghi)perylene	8270C <sup>(1)</sup>	<330	330	ug/kg	KIS	05/28/2008	0011248-1	<330
Benzo(k)fluoranthene	8270C <sup>(1)</sup>	<330	330	ug/kg	KIS	05/28/2008	0011248-1	<330
Chrysene	8270C <sup>(1)</sup>	<330	330	ug/kg	KIS	05/28/2008	0011248-1	<330
Dibenz(a,h)anthracene	8270C <sup>(1)</sup>	<330	330	ug/kg	KIS	05/28/2008	0011248-1	<330
Fluoranthene	8270C <sup>(1)</sup>	<330	330	ug/kg	KIS	05/28/2008	0011248-1	<330
Fluorene	8270C <sup>(1)</sup>	<330	330	ug/kg	KIS	05/28/2008	0011248-1	<330
Indeno(1,2,3-cd)pyrene	8270C <sup>(1)</sup>	<330	330	ug/kg	KIS	05/28/2008	0011248-1	<330
Naphthalene	8270C <sup>(1)</sup>	<330	330	ug/kg	KIS	05/28/2008	0011248-1	<330
Phenanthrene	8270C <sup>(1)</sup>	<330	330	ug/kg	KIS	05/28/2008	0011248-1	<330
Pyrene	8270C <sup>(1)</sup>	<330	330	ug/kg	KIS	05/28/2008	0011248-1	<330

<sup>(1)</sup> U.S. Environmental Protection Agency, 1996, Test Methods for Evaluating Solid Waste, SW-846, 3rd ed., Office of Solid Waste and Emergency Response, Washington, DC.

**Sample Comments:** Results reported on an as received basis.



**REPORT OF LABORATORY ANALYSIS**

This report shall not be reproduced, except in full,  
 without the written consent of Pace Analytical Services, Inc.





LELAP No.: 04139

**Pace Analytical, Inc.**  
 Puerto Rico Laboratory  
 El Retiro Industrial Zone  
 Calle B&C, P.O. Box 325  
 San German, PR 00683  
 Phone: 787.892.2650  
 Fax: 787.892.1054  
 www.pacelabs.com

Mr. Jose I. Marengo (Student)  
 Jose Marengo  
 UMET  
 PO Box 21150  
 San Juan, PR 00928-1150

**Lab Project ID:** 08-1732  
**Lab Sample ID:** 0805-1469  
**Client Sample ID:** P2Le28  
 Sample Matrix: Solid

Date Sampled: 05/16/2008  
 Date Received: 05/16/2008

Client Site: Cupey  
 Client Ref.: UMET

**Semivolatiles**

Test	Method	Result	Reporting Limit	Units	Analyst	Analysis Date	Method Blank ID	Blank Result
<b>Semivolatile Organic Compounds, GC/MS</b>								
Acenaphthene	8270C <sup>(1)</sup>	<330	330	ug/kg	KIS	05/28/2008	0011248-1	<330
Acenaphthylene	8270C <sup>(1)</sup>	<330	330	ug/kg	KIS	05/28/2008	0011248-1	<330
Anthracene	8270C <sup>(1)</sup>	<330	330	ug/kg	KIS	05/28/2008	0011248-1	<330
Benzo(a)anthracene	8270C <sup>(1)</sup>	<330	330	ug/kg	KIS	05/28/2008	0011248-1	<330
Benzo(a)pyrene	8270C <sup>(1)</sup>	<330	330	ug/kg	KIS	05/28/2008	0011248-1	<330
Benzo(b)fluoranthene	8270C <sup>(1)</sup>	<330	330	ug/kg	KIS	05/28/2008	0011248-1	<330
Benzo(ghi)perylene	8270C <sup>(1)</sup>	<330	330	ug/kg	KIS	05/28/2008	0011248-1	<330
Benzo(k)fluoranthene	8270C <sup>(1)</sup>	<330	330	ug/kg	KIS	05/28/2008	0011248-1	<330
Chrysene	8270C <sup>(1)</sup>	<330	330	ug/kg	KIS	05/28/2008	0011248-1	<330
Dibenz(a,h)anthracene	8270C <sup>(1)</sup>	<330	330	ug/kg	KIS	05/28/2008	0011248-1	<330
Fluoranthene	8270C <sup>(1)</sup>	<330	330	ug/kg	KIS	05/28/2008	0011248-1	<330
Fluorene	8270C <sup>(1)</sup>	<330	330	ug/kg	KIS	05/28/2008	0011248-1	<330
Indeno(1,2,3-cd)pyrene	8270C <sup>(1)</sup>	<330	330	ug/kg	KIS	05/28/2008	0011248-1	<330
Naphthalene	8270C <sup>(1)</sup>	<330	330	ug/kg	KIS	05/28/2008	0011248-1	<330
Phenanthrene	8270C <sup>(1)</sup>	<330	330	ug/kg	KIS	05/28/2008	0011248-1	<330
Pyrene	8270C <sup>(1)</sup>	<330	330	ug/kg	KIS	05/28/2008	0011248-1	<330

<sup>(1)</sup> U.S. Environmental Protection Agency, 1996, Test Methods for Evaluating Solid Waste, SW-846, 3rd ed., Office of Solid Waste and Emergency Response, Washington, DC.

**Sample Comments:** Results reported on an as received basis.



**REPORT OF LABORATORY ANALYSIS**

This report shall not be reproduced, except in full,  
 without the written consent of Pace Analytical Services, Inc.







LELAP No.: 04139

**Pace Analytical, Inc.**  
 Puerto Rico Laboratory  
 El Retiro Industrial Zone  
 Calle B&C, P.O. Box 325  
 San German, PR 00683  
 Phone: 787.892.2650  
 Fax: 787.892.1054  
 www.pacelabs.com

Mr. Jose I. Marengo (Student)  
 Jose Marengo  
 UMET  
 PO Box 21150  
 San Juan, PR 00928-1150

Lab Project ID: 08-1732  
 Lab Sample ID: 0805-1470  
 Client Sample ID: P2Ce23  
 Sample Matrix: Solid

Date Sampled: 05/16/2008  
 Date Received: 05/16/2008

Client Site: Cupey  
 Client Ref.: UMET

**Semivolatiles**

Test	Method	Result	Reporting Limit	Units	Analyst	Analysis Date	Method Blank ID	Blank Result
<b>Semivolatile Organic Compounds, GC/MS</b>								
Acenaphthene	8270C <sup>(1)</sup>	<330	330	ug/kg	KIS	05/28/2008	0011248-1	<330
Acenaphthylene	8270C <sup>(1)</sup>	<330	330	ug/kg	KIS	05/28/2008	0011248-1	<330
Anthracene	8270C <sup>(1)</sup>	<330	330	ug/kg	KIS	05/28/2008	0011248-1	<330
Benzo(a)anthracene	8270C <sup>(1)</sup>	<330	330	ug/kg	KIS	05/28/2008	0011248-1	<330
Benzo(a)pyrene	8270C <sup>(1)</sup>	<330	330	ug/kg	KIS	05/28/2008	0011248-1	<330
Benzo(b)fluoranthene	8270C <sup>(1)</sup>	<330	330	ug/kg	KIS	05/28/2008	0011248-1	<330
Benzo(ghi)perylene	8270C <sup>(1)</sup>	<330	330	ug/kg	KIS	05/28/2008	0011248-1	<330
Benzo(k)fluoranthene	8270C <sup>(1)</sup>	<330	330	ug/kg	KIS	05/28/2008	0011248-1	<330
Chrysene	8270C <sup>(1)</sup>	<330	330	ug/kg	KIS	05/28/2008	0011248-1	<330
Dibenz(a,h)anthracene	8270C <sup>(1)</sup>	<330	330	ug/kg	KIS	05/28/2008	0011248-1	<330
Fluoranthene	8270C <sup>(1)</sup>	<330	330	ug/kg	KIS	05/28/2008	0011248-1	<330
Fluorene	8270C <sup>(1)</sup>	<330	330	ug/kg	KIS	05/28/2008	0011248-1	<330
Indeno(1,2,3-cd)pyrene	8270C <sup>(1)</sup>	<330	330	ug/kg	KIS	05/28/2008	0011248-1	<330
Naphthalene	8270C <sup>(1)</sup>	<330	330	ug/kg	KIS	05/28/2008	0011248-1	<330
Phenanthrene	8270C <sup>(1)</sup>	<330	330	ug/kg	KIS	05/28/2008	0011248-1	<330
Pyrene	8270C <sup>(1)</sup>	<330	330	ug/kg	KIS	05/28/2008	0011248-1	<330

<sup>(1)</sup> U.S. Environmental Protection Agency, 1996, Test Methods for Evaluating Solid Waste, SW-846, 3rd ed., Office of Solid Waste and Emergency Response, Washington, DC.

**Sample Comments:** Results reported on an as received basis.



**REPORT OF LABORATORY ANALYSIS**

This report shall not be reproduced, except in full, without the written consent of Pace Analytical Services, Inc.







LELAP No.: 04139

**Pace Analytical, Inc.**  
 Puerto Rico Laboratory  
 El Retiro Industrial Zone  
 Calle B&C, P.O. Box 325  
 San German, PR 00683  
 Phone: 787.892.2650  
 Fax: 787.892.1054  
 www.pacelabs.com

Mr. Jose I. Marengo (Student)  
 Jose Marengo  
 UMET  
 PO Box 21150  
 San Juan, PR 00928-1150

Lab Project ID: 08-1732  
 Lab Sample ID: 0805-1471  
 Client Sample ID: P3Le13  
 Sample Matrix: Solid

Date Sampled: 05/16/2008  
 Date Received: 05/16/2008

Client Site: Cupey  
 Client Ref.: UMET

**Semivolatiles**

Test	Method	Result	Reporting Limit	Units	Analyst	Analysis Date	Method Blank ID	Blank Result
<b>Semivolatiles Organic Compounds, GC/MS</b>								
Acenaphthene	8270C <sup>(1)</sup>	<330	330	ug/kg	KIS	05/28/2008	0011248-1	<330
Acenaphthylene	8270C <sup>(1)</sup>	<330	330	ug/kg	KIS	05/28/2008	0011248-1	<330
Anthracene	8270C <sup>(1)</sup>	<330	330	ug/kg	KIS	05/28/2008	0011248-1	<330
Benzo(a)anthracene	8270C <sup>(1)</sup>	<330	330	ug/kg	KIS	05/28/2008	0011248-1	<330
Benzo(a)pyrene	8270C <sup>(1)</sup>	<330	330	ug/kg	KIS	05/28/2008	0011248-1	<330
Benzo(b)fluoranthene	8270C <sup>(1)</sup>	<330	330	ug/kg	KIS	05/28/2008	0011248-1	<330
Benzo(ghi)perylene	8270C <sup>(1)</sup>	<330	330	ug/kg	KIS	05/28/2008	0011248-1	<330
Benzo(k)fluoranthene	8270C <sup>(1)</sup>	<330	330	ug/kg	KIS	05/28/2008	0011248-1	<330
Chrysene	8270C <sup>(1)</sup>	<330	330	ug/kg	KIS	05/28/2008	0011248-1	<330
Dibenz(a,h)anthracene	8270C <sup>(1)</sup>	<330	330	ug/kg	KIS	05/28/2008	0011248-1	<330
Fluoranthene	8270C <sup>(1)</sup>	<330	330	ug/kg	KIS	05/28/2008	0011248-1	<330
Fluorene	8270C <sup>(1)</sup>	<330	330	ug/kg	KIS	05/28/2008	0011248-1	<330
Indeno(1,2,3-cd)pyrene	8270C <sup>(1)</sup>	<330	330	ug/kg	KIS	05/28/2008	0011248-1	<330
Naphthalene	8270C <sup>(1)</sup>	<330	330	ug/kg	KIS	05/28/2008	0011248-1	<330
Phenanthrene	8270C <sup>(1)</sup>	<330	330	ug/kg	KIS	05/28/2008	0011248-1	<330
Pyrene	8270C <sup>(1)</sup>	<330	330	ug/kg	KIS	05/28/2008	0011248-1	<330

<sup>(1)</sup> U.S. Environmental Protection Agency, 1996, Test Methods for Evaluating Solid Waste, SW-846, 3rd ed., Office of Solid Waste and Emergency Response, Washington, DC.

**Sample Comments:** Results reported on an as received basis.



**REPORT OF LABORATORY ANALYSIS**

This report shall not be reproduced, except in full, without the written consent of Pace Analytical Services, Inc.





LELAP No.: 04139

**Pace Analytical, Inc.**  
 Puerto Rico Laboratory  
 El Retiro Industrial Zone  
 Calle B&C, P.O. Box 325  
 San German, PR 00683  
 Phone: 787.892.2650  
 Fax: 787.892.1054  
 www.pacelabs.com

Mr. Jose I. Marengo (Student)  
 Jose Marengo  
 UMET  
 PO Box 21150  
 San Juan, PR 00928-1150

**Lab Project ID:** 08-1732  
**Lab Sample ID:** 0805-1472  
**Client Sample ID:** P3Ce11  
 Sample Matrix: Solid

Date Sampled: 05/16/2008  
 Date Received: 05/16/2008

Client Site: Cupey  
 Client Ref.: UMET

**Semivolatiles**

Test	Method	Result	Reporting Limit	Units	Analyst	Analysis Date	Method Blank ID	Blank Result
<b>Semivolatile Organic Compounds, GC/MS</b>								
Acenaphthene	8270C <sup>(1)</sup>	<330	330	ug/kg	KIS	05/28/2008	0011248-1	<330
Acenaphthylene	8270C <sup>(1)</sup>	<330	330	ug/kg	KIS	05/28/2008	0011248-1	<330
Anthracene	8270C <sup>(1)</sup>	<330	330	ug/kg	KIS	05/28/2008	0011248-1	<330
Benzo(a)anthracene	8270C <sup>(1)</sup>	<330	330	ug/kg	KIS	05/28/2008	0011248-1	<330
Benzo(a)pyrene	8270C <sup>(1)</sup>	<330	330	ug/kg	KIS	05/28/2008	0011248-1	<330
Benzo(b)fluoranthene	8270C <sup>(1)</sup>	<330	330	ug/kg	KIS	05/28/2008	0011248-1	<330
Benzo(ghi)perylene	8270C <sup>(1)</sup>	<330	330	ug/kg	KIS	05/28/2008	0011248-1	<330
Benzo(k)fluoranthene	8270C <sup>(1)</sup>	<330	330	ug/kg	KIS	05/28/2008	0011248-1	<330
Chrysene	8270C <sup>(1)</sup>	<330	330	ug/kg	KIS	05/28/2008	0011248-1	<330
Dibenz(a,h)anthracene	8270C <sup>(1)</sup>	<330	330	ug/kg	KIS	05/28/2008	0011248-1	<330
Fluoranthene	8270C <sup>(1)</sup>	<330	330	ug/kg	KIS	05/28/2008	0011248-1	<330
Fluorene	8270C <sup>(1)</sup>	<330	330	ug/kg	KIS	05/28/2008	0011248-1	<330
Indeno(1,2,3-cd)pyrene	8270C <sup>(1)</sup>	<330	330	ug/kg	KIS	05/28/2008	0011248-1	<330
Naphthalene	8270C <sup>(1)</sup>	<330	330	ug/kg	KIS	05/28/2008	0011248-1	<330
Phenanthrene	8270C <sup>(1)</sup>	<330	330	ug/kg	KIS	05/28/2008	0011248-1	<330
Pyrene	8270C <sup>(1)</sup>	<330	330	ug/kg	KIS	05/28/2008	0011248-1	<330

<sup>(1)</sup> U.S. Environmental Protection Agency, 1996, Test Methods for Evaluating Solid Waste, SW-846, 3rd ed., Office of Solid Waste and Emergency Response, Washington, DC.

**Sample Comments:** Results reported on an as received basis.

Approved by:

Date: June 4, 2008



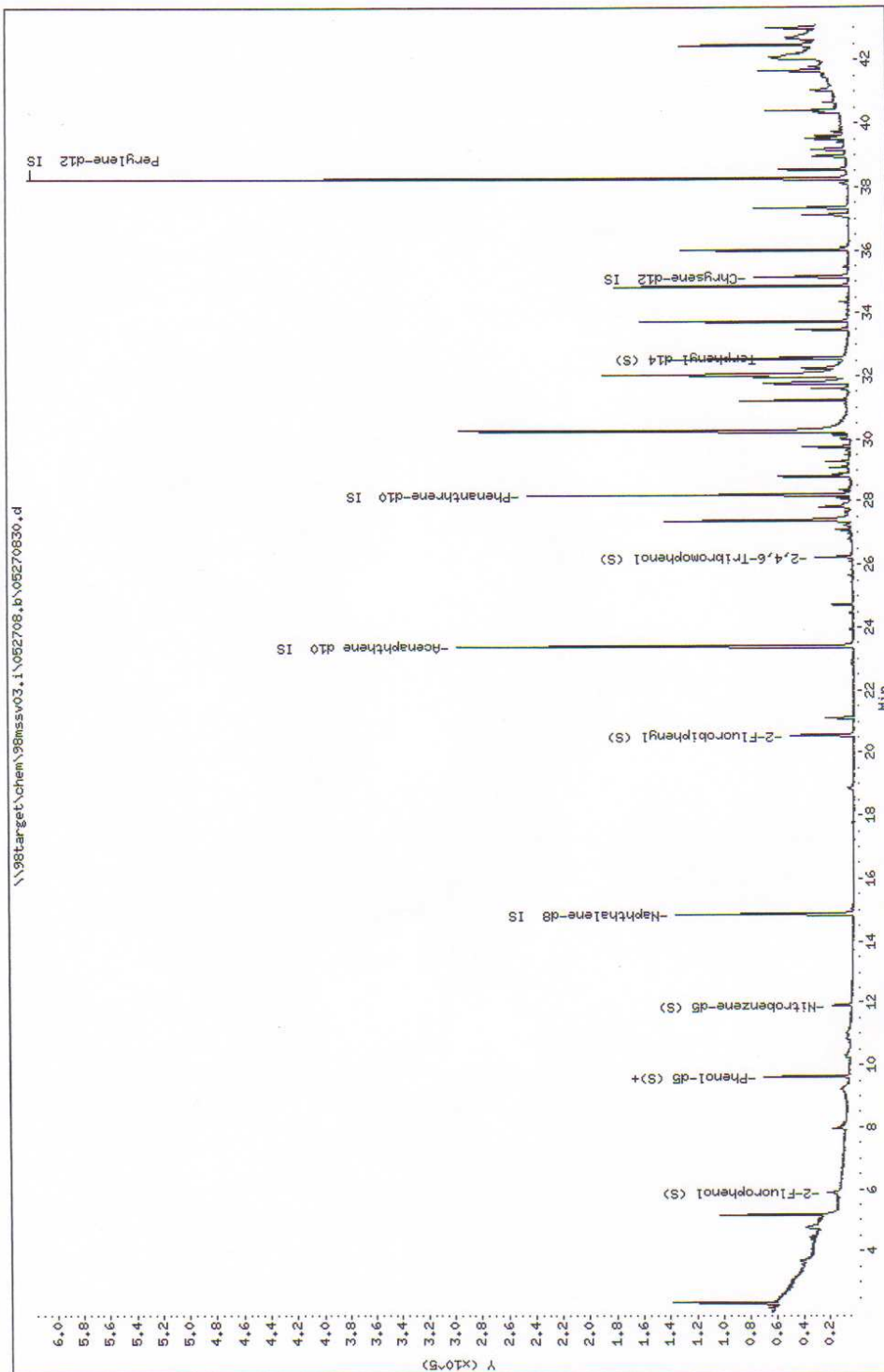
**REPORT OF LABORATORY ANALYSIS**

This report shall not be reproduced, except in full, without the written consent of Pace Analytical Services, Inc.



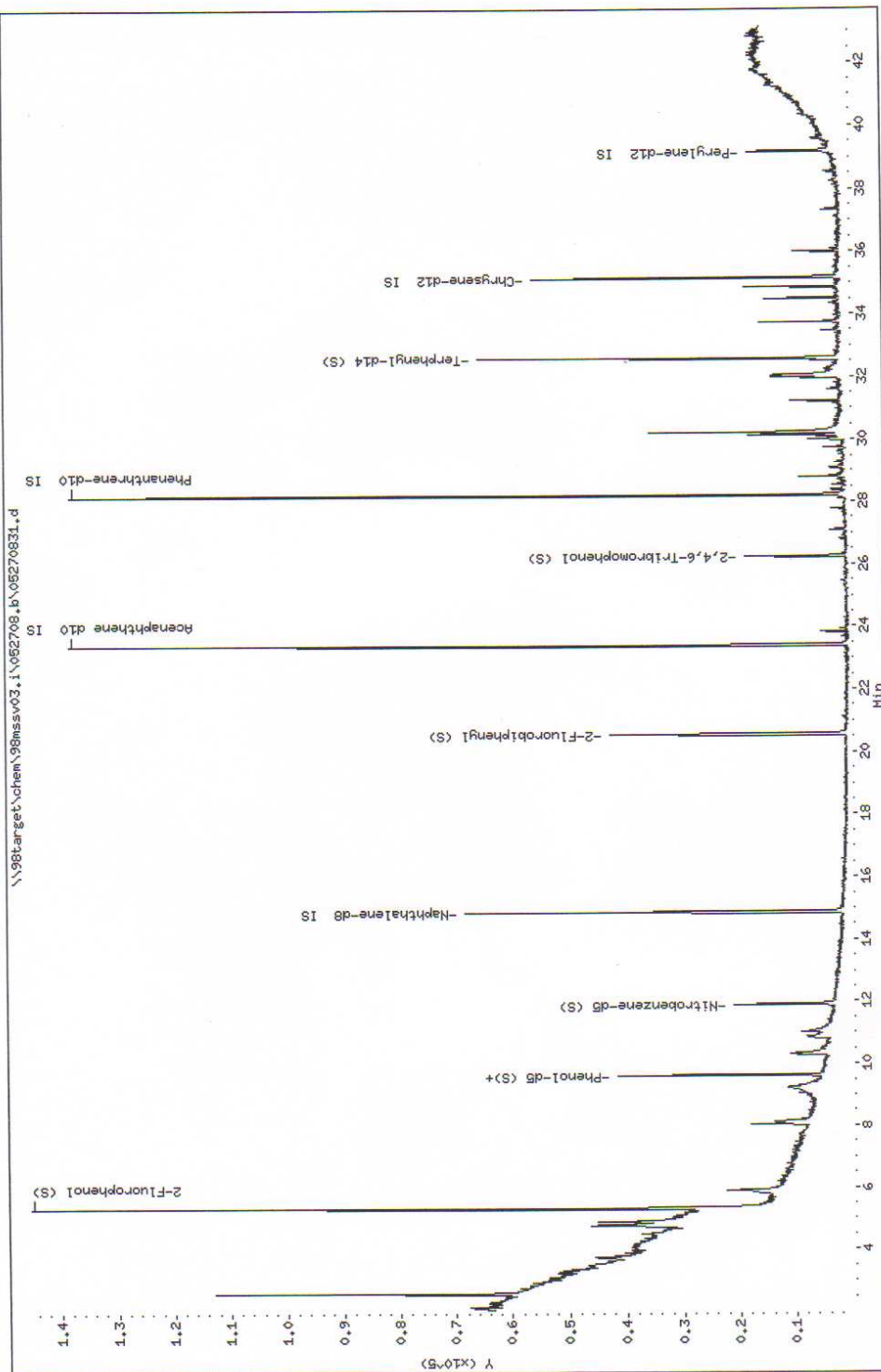
**APÉNDICE 4**  
**CROMATOGRAMAS DE LOS ANÁLISIS QUÍMICOS**

Data File: \\98target\chem\98msv03.1\052708.b\05270830.d  
Date: 28-May-2008 10:31  
Client ID:  
Instrument: 98msv03.1  
Operator: KIS  
Sample Info: 1732-1467  
Volume Injected (uL): 1.0  
Column diameter: 0.32  
Column phase:  
\\98target\chem\98msv03.1\052708.b\05270830.d



Data File: \\98target\chem\98mssv03.i\052708.b\05270831.d  
Date : 28-MAY-2008 11:22  
Client ID:  
Sample Info: 1732-1468  
Volume Injected (uL): 1.0  
Column phase:

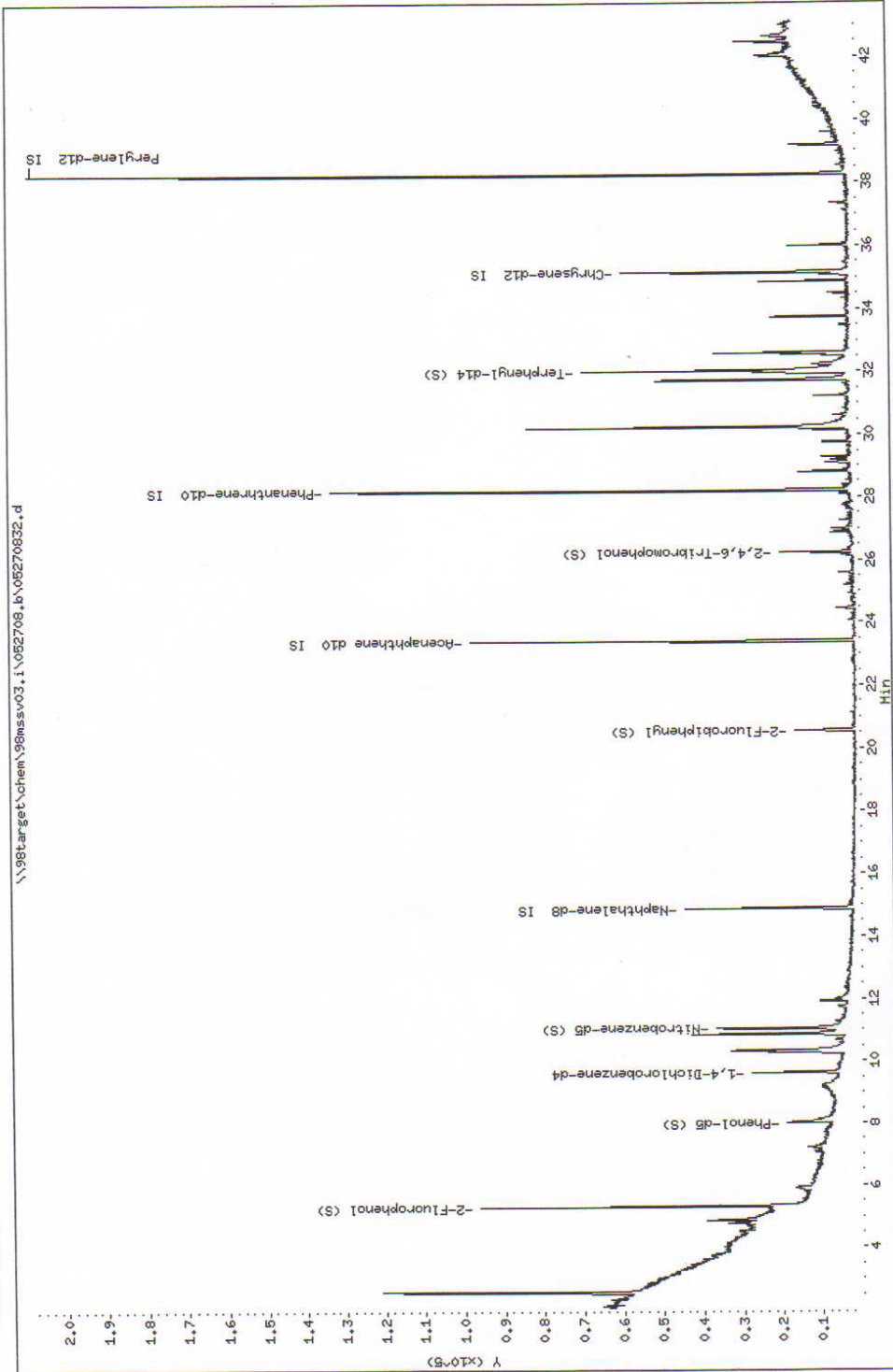
Instrument: 98mssv03.i  
Operator: KIS  
Column diameter: 0.32



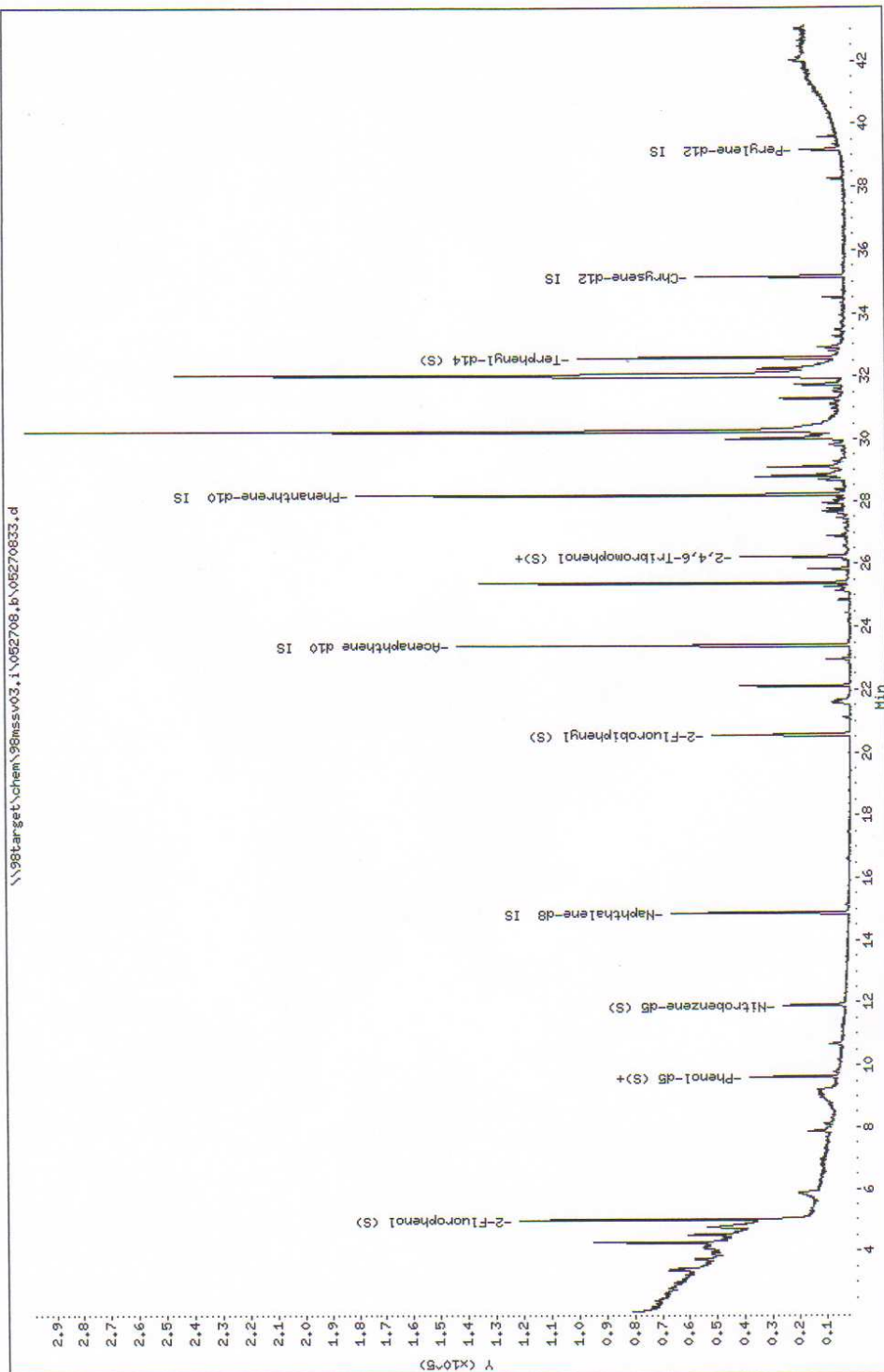


Data File: \\98target\chem\98mssv03.i\052708.b\05270832.d  
Date : 28-HY-2008 12:13  
Client ID:  
Sample Info: 1732-1469  
Volume Injected (uL): 1.0  
Column phase:

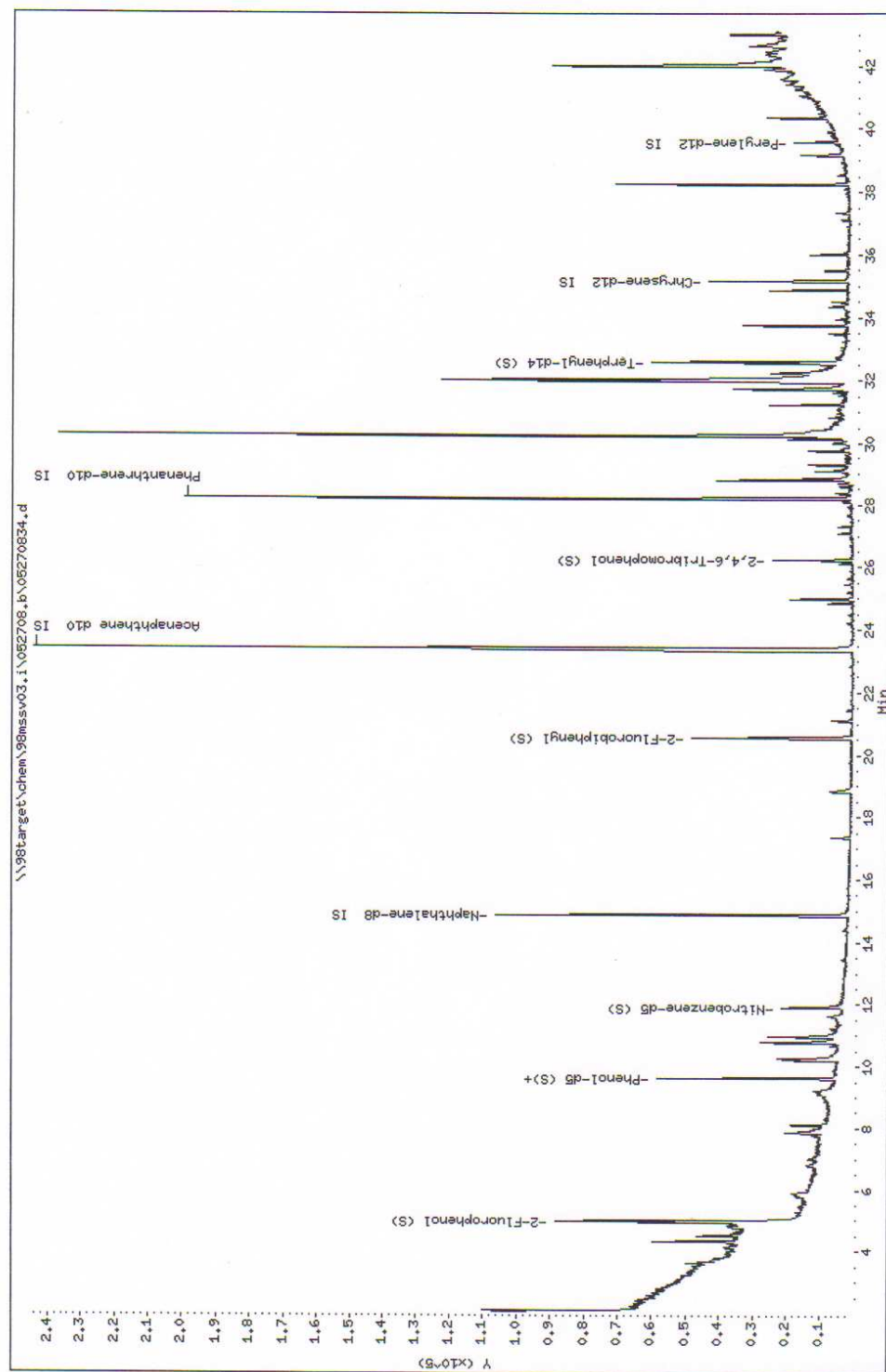
Instrument: 98mssv03.i  
Operator: KIS  
Column diameter: 0.32



Data File: \\98target\chem\98msv03.1\052708.b\05270833.d  
Date : 28-May-2008 13:03  
Client ID:  
Instrument: 98msv03.i  
Sample Info: 1732-1470  
Operator: KIS  
Volume Injected (µL): 1.0  
Column diameter: 0.32  
Column phase:  
\\98target\chem\98msv03.1\052708.b\05270833.d



Data File: \\98target\chem\98mssv03.i\052708.b\05270834.d  
Date : 28-May-2008 13:54  
Client ID:  
Instrument: 98mssv03.i  
Sample Info: 1732-1471  
Operator: KIS  
Volume Injected (uL): 1.0  
Column diameter: 0.32  
Column phase:





Data File: \\98target\chem\98mssv03,1\052706,b\05270835,d  
Date : 28-May-2008 14:44  
Client ID:  
Sample Info: 1732-1472  
Volume Injected (uL): 1.0  
Column phase:

Instrument: 98mssv03,1  
Operator: KIS  
Column diameter: 0.32

