

UNIVERSIDAD DE SEVILLA

FACULTAD DE FARMACIA

CATEDRA DE FISIOPATOLOGIA

**“Determinación de 3, 4-Benzopireno en los
jardines urbanos como indice de
contaminación ambiental”.**

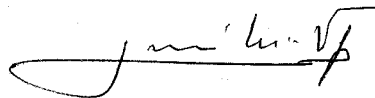
Estrella Cassillas Ovando

Sevilla, 1978

El Jefe del Departamento de QUIMICA ORGANICA,
Prof. Dr. D. José Maria Viguera Lobo, por el present
te escrito acepta ser Padrino de la Tesis de Licen-
ciatura cuyo título es " Determinación de 3,4 - ben-
zopireno en los jardines urbanos, como índice de con-
taminación ambiental ", efectuada por la aspirante -
al Grado de Licenciada en Farmacia Doña Estrella Ca-
sillas Ovando y efectuada bajo la dirección del Prof.
D. Manuel Repetto Jiménez, Dr. en Ciencias Químicas
y Medicina.

El presente trabajo ha sido realizado durante
el curso 1.977 - 78 en los laboratorios del Institut
to Nacional de Toxicología, Centro Regional de Sevil
la, ante la falta de medios necesarios para llevar
a cabo este trabajo en los Laboratorios de esta Facult
dad de Farmacia.

Sevilla a 28 de Noviembre de 1978



Fdo.- José M^a Viguera Lobo

UNIVERSIDAD DE SEVILLA

FACULTAD DE FARMACIA

CATEDRA DE FISIOPATOLOGIA

DETERMINACION DEL 3,4 - BENZOPIRENO EN LOS JARDINES
URBANOS COMO INDICE DE LA CONTAMINACION AMBIENTAL

Trabajo presentado por Estrella
Cassillas Ovando, para optar al
grado de Licenciada en Farma-
cia.

Estrella Cassillas

Sevilla 1.978
UNIVERSIDAD DE SEVILLA
FACULTAD DE FARMACIA
BIBLIOTECA

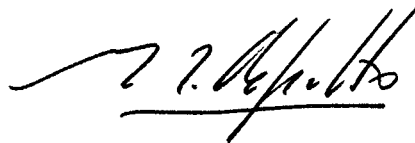
UNIVERSIDAD DE SEVILLA

FACULTAD DE FARMACIA

CATEDRA DE FISIOPATOLOGIA

Vº Bº

EL DIRECTOR

A handwritten signature in black ink, appearing to read 'M. Repetto', written over a horizontal line.

Fdo.: Dr. M. Repetto
Prof. de Fisiopatología

Mi agradecimiento al Dr. D. Manuel Re
petto, profesor de Fisiopatología y Director del /
Instituto Nacional de Toxicología de Sevilla, que -
hizo posible este trabajo con su orientación y di--
rección.

Quisiera expresar también mi agradeci-
miento a la Dra. María Paz Giménez Gracia, por
su constante ayuda, al Dr. D. Domingo Martínez,
y a todos los componentes del Instituto Nacional /
de Toxicología, que facilitaron e hicieron más -/
agradable mi labor.

Y, finalmente, agradezco a todos aque--
llos que contribuyeron de una u otra forma a la /
realización de este trabajo.

I. INTRODUCCION.

INTRODUCCION.

Existen numerosos estudios sobre el benzopireno, -/ unos como contaminante atmosférico y otros como inductor cancerí- geno, sin embargo, hemos encontrado menos datos sobre su determi- nación en plantas cuyo habitat tiene abundancia de él. Por ello he- / mos creído de interés hacer este trabajo.

En España, en 1.972 DE LA SERNA y colaboradores, determinaron el contenido de benzopireno en la atmósfera de Madrid, y en 1.977, este mismo tema es el objeto de la tesis doctoral de -- uno de sus colaboradores. (DE LA SERNA, J. y CABALLERO, F., - 1.977). En 1.973 REPETTO y colaboradores estudiaron los valores / de este mismo hidrocarburo en la atmósfera de Sevilla y hoy lo va-- mos a hacer en sus jardines urbanos.

El 3,4-benzopireno es un hidrocarburo aromático poli- cíclico cancerígeno, que contamina nuestro ambiente. Proviene de la combustión incompleta de hidrocarburos y otras sustancias carbonadas

destacando sobretodo los motores de combustión interna, tanto Diesel como de gasolina, y los sistemas de calefacción bien por fuel o por carbón. Se encuentra pues en cantidades considerables en la atmósfera (DE LA SERNA y col., 1.972, 1.977; REPETTO y col., 1.973), también en el humo de los cigarrillos (WYNDER, E. L. y HOFFMAN, D., 1.967) e incluso en los pescados ahumados (KURATSUNE, M. y col., 1.966), y en la orina de los fumadores y no fumadores (REPETTO y col., 1.974).

En muchas especies vegetales se ha determinado benzopireno de carácter endógeno, pero se ha visto que no todo el benzopireno de los vegetales tiene este origen, sino que gran parte procede de la polución, obteniéndose valores mayores de este hidrocarburo en aquellos vegetales que crecen en zonas contaminadas (SOOS, K., 1.973; FRITZ, W., y col., 1.975).

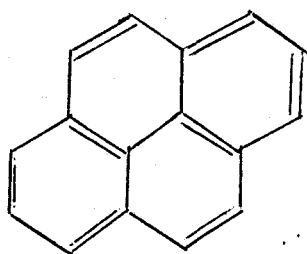
Si bien el benzopireno no es de los primeros en la lista de contaminantes estudiados, no ha de dejarse en olvido pues por su acción biológica se clasifica como la sustancia cancerígena más activa del alquitrán de hulla.

Su determinación en los jardines de Sevilla nos va a dar una idea del índice de polución urbana, y por los valores obtenidos en nuestro trabajo, podemos decir que esta contaminación es alta en ciertas zonas de esta ciudad.

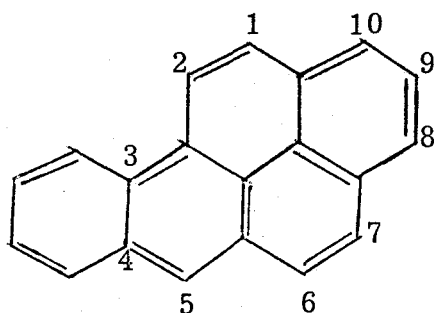
II. PARTE TEORICA.

II. 1. NATURALEZA Y PROPIEDADES QUIMICAS DEL 3,4-BENZOPIRENO O BENZO(a)PIRENO.

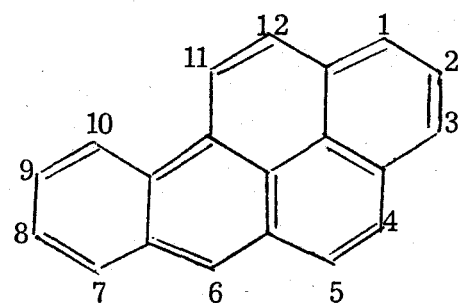
Es un hidrocarburo aromático policíclico derivado / del pireno con un anillo bencénico más, colocado en posición 3,4 ó (a) según la vieja o nueva nomenclatura.



Pireno



3,4-benzopireno
Antigua nomenclatura



Benzo(a)pireno
Nueva nomenclatura

Se presenta bajo la forma de cristalitas amarillos - / descoloridos, cuyo punto de fusión es 176º - 176,5º (CLAR, 1.964).

Es totalmente insoluble en agua y soluble en disolven / tes orgánicos y lípidos; en ácido sulfúrico concentrado se disuelve, /

dando una solución de color naranja fuerte con fluorescencia verde - (CLAR, 1.964). Algunas sustancias disueltas en el agua favorecen la solubilidad del benzopireno, tales como el ácido láctico, la cafeína, etc. También los detergentes consiguen formar dispersiones coloidales de los HAP en agua.

En las dispersiones coloidales acuosas, el benzopireno no es siempre absorbido por las partículas coloidales dispersas. -/ También el carbón activo, el hollín, la tierra de diatomeas, etc., - absorben la mayoría de los HAP (DE LA SERNA, y CABALLERO, / F., 1.967).

Posee cinco bandas características de fluorescencia de longitudes de onda: 3.950, 4.036, 4.087, 4.267, 4.540 (Tesis de HUBERT - HABART, 1.959). En solución con el benceno emite -/ una fluorescencia violeta.

Los HAP difícilmente experimentan reacciones de adición. Concretamente el benzopireno es muy resistente a ellas. Por / el contrario, sufre con gran facilidad reacciones de sustitución copu

lando incluso con reactivos singularmente débiles (compuestos diazóicos, acetoxilantes suaves, sulfocianuro, etc.)

II. 2. BENZOPIRENO EN LOS VEGETALES.

La investigación de hidrocarburos aromáticos policíclicos en vegetales se inició en el Instituto de Higiene y Bacteriología de Nuremberg. La sorpresa fue grande al comprobar la existencia de estos hidrocarburos y principalmente de 3,4-benzopireno, en gran número de plantas. Los análisis se repitieron con vegetales procedentes de zonas alejadas de núcleos urbanos e industriales y los resultados obtenidos fueron también positivos. Posteriormente, se cultivaron plantas en invernaderos bajo cobertura de plástico y los resultados fueron igualmente positivos.

Como la presencia de 3,4-benzopireno en el humo era conocida hacía años, se pensó que las plantas tomarían este hidrocarburo del suelo. Para comprobarlo se hicieron estudios con dos lotes de vegetales, uno que crecía en presencia de benzopireno, y otro testigo en ambiente exento de este hidrocarburo. Los resultados fueron francamente anormales:

1º. Tanto el lote que había crecido en ausencia de benzopireno /

como el que había crecido en presencia de él, contenían el hidrocarburo.

- 2º. El crecimiento y desarrollo fue mayor en los que habían dis-
puesto del 3,4 - benzopireno.

En este último punto, cabe hacer un comentario y es que, es
te resultado tan inesperado y anómalo no es selectivo de vege
tales, CAPONE y col., en 1.976, en un estudio sobre conta-
minación del mar por los productos de desechos de las refine
rías de petróleo, toma almejas (Mytilus galloprovincialis), en
tres puntos situados a distintas distancias del foco emisor y -
encuentra que el contenido de benzopireno, era mayor cuanto
menor fuese su distancia al foco emisor; sin embargo, el ta-
maño de las almejas era mayor cuanto menor fuese esta dis-
tancia.

Volviendo de nuevo a nuestro tema, los vegetales, y
resumiendo diremos que como el benzopireno había sido difícil de -
encontrar en las células animales y en los raros casos que se ha /

identificado tenían carácter exógeno, extrañó la presencia en los vegetales y sobretodo su carácter endógeno. GRAFF llegó a bautizarle como "hormona extraña vegetal" suponiendo que debía intervenir en un mecanismo metabólico no conocido.

Posteriores investigaciones, han ido confirmando la existencia de benzopireno en la mayor parte de los vegetales. SEIDEL, K. y HAPPEL, H., 1.975, lo han determinado en zanahorias, y espinacas. SHIRAIISHI y col., 1.975, encontraron muy pequeña cantidad en ocho tipos de frutas que incluía, manzanas, bananas, piñas y mandarinas. En las mandarinas y bananas, el 3,4 - benzopireno se detectó no sólo en la porción comestible, sino también en la piel.

II. 3. CAPACIDAD CARCINOGENETICA DEL 3,4-BENZOPIRENO.

II. 3. 1. Antecedentes históricos.

La primera conexión entre una sustancia química y el desarrollo de un tumor fué establecida en 1.775 cuando PERCIVAL - POTT señaló como tumores profesionales, los tumores de los desho-llinadores relacionándolos directamente con el hollín que estaba en / contacto con la piel.

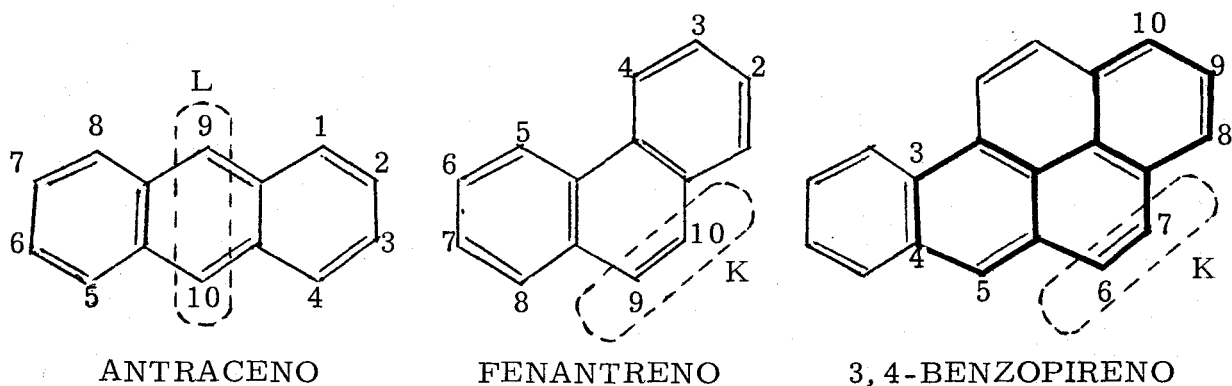
En 1.918, YAMAGIWA, K. y ITCHIKAWA, K.J., lo/ confirman al desarrollar tumores cutáneos en conejos embadurnados con alquitrán de hulla. Estas experiencias mejoraron al utilizar el - ratón como animal de laboratorio, animal más susceptible. (TSUT-- SUI., 1.918).

KENNAWAY y col., 1.924, lograron producir tumo-- res con los alquitranes sintéticos que ellos obtuvieron. En 1.933, se

aisla del alquitrán de hulla el constituyente cancerígeno más activo, el 3,4-benzopireno (COOK, HEWETT y HIEGER., 1.933), que se sintetiza el mismo año a partir de pireno y anhídrido succínico - / (COOK y HEWETT., 1.933).

II. 3. 2. Teorías actuales.

A lo largo de la historia, son muchos los HAP encontrados con capacidad carcinogénica. La similitud entre sus estructuras químicas condujo al estudio de sus relaciones estructura-acción.



Entre los hidrocarburos aromáticos que más interés han reclamado en el campo de la contaminación ambiental, se hallan

los hidrocarburos policíclicos, y entre ellos el 3,4-benzopireno que se considera modelo de compuesto carcinogenético. Para GOLDS- / TEIN y col., 1.974, para desarrollar esa propiedad, el hidrocarburo policíclico debe reunir una serie de requisitos:

- 1º. Todos los anillos de la molécula han de ser coplanarios.
- 2º. No basta con el núcleo del fenantreno (por sí solo no es cancerígeno), sino que debe haber además un anillo bencénico - por lo menos.
- 3º. El centro del eje convexo del fenantreno (región L ó mesofenantrénica) debe estar libre de sustituyentes, pero la potencia carcinogenética de los hidrocarburos es generalmente aumentada por sustituyentes en posiciones apropiadas. (El 3-metilcolantreno es más activo que el 3,4-benzopireno).

Estos datos han sido extraídos de estudios empíricos, / pero ha sido explicado y profundizado merced a la teoría electrónica.

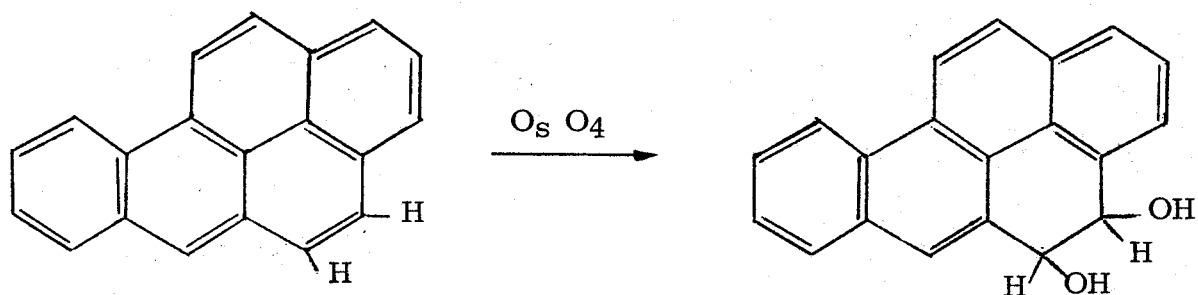
Los hidrocarburos policíclicos se caracterizan por un sistema resonante de electrones π , sistema extendido a toda la molécula. Del cálculo de las densidades electrónicas correspondientes a cada parte de la molécula se deduce que concretamente en la molécula del benzopireno, el enlace 6-7 es especialmente rico en electrones. Este enlace fue designado "región K" o mesofenantrénica.

Para que haya actividad carcinogénica en un HAP, - la densidad electrónica de la región K debe sobrepasar ciertos valores y al mismo tiempo la reactividad de las moléculas en su "región L" o antracénica (Posición 9,10 del antraceno) debe tener valores -/ por debajo de ciertos límites (GOLDSTEIN y col., 1.974).

Así, PULLMAN, A. y PULLMAN, B., explicaban ya en 1.955, la poderosa actividad del benzopireno por la existencia de una "zona K" muy activa y la ausencia de una "región L".

La ausencia de esta "región L" en el benzopireno es tá confirmada por la falta de reacción frente al ácido maleico.

En cuanto a la reactividad de la "región k", se mide por la velocidad de oxidación con el tetraóxido de osmio. Tiene lugar sobre el doble enlace 6-7 del 3,4-benzopireno y conduce a la formación de un diol.



Esta "región k", juega el principal papel en la acción carcinógena pues se ha visto (OLIVEIRO y HEIDELBERGER, 1.958) - que los hidrocarburos cancerígenos se unen a las proteínas de los tejidos precisamente por esta "región k", mientras sus congéneres no cancerígenos no lo hacen. Funciones hidroxilos o epóxidos situadas / en esta región por procesos metabólicos, pueden ser pasos previos a la unión proteica a nivel biológico.

Se ha sugerido que los epóxidos de los hidrocarburos policíclicos son las auténticas formas cancerígenas de estas sustan- /

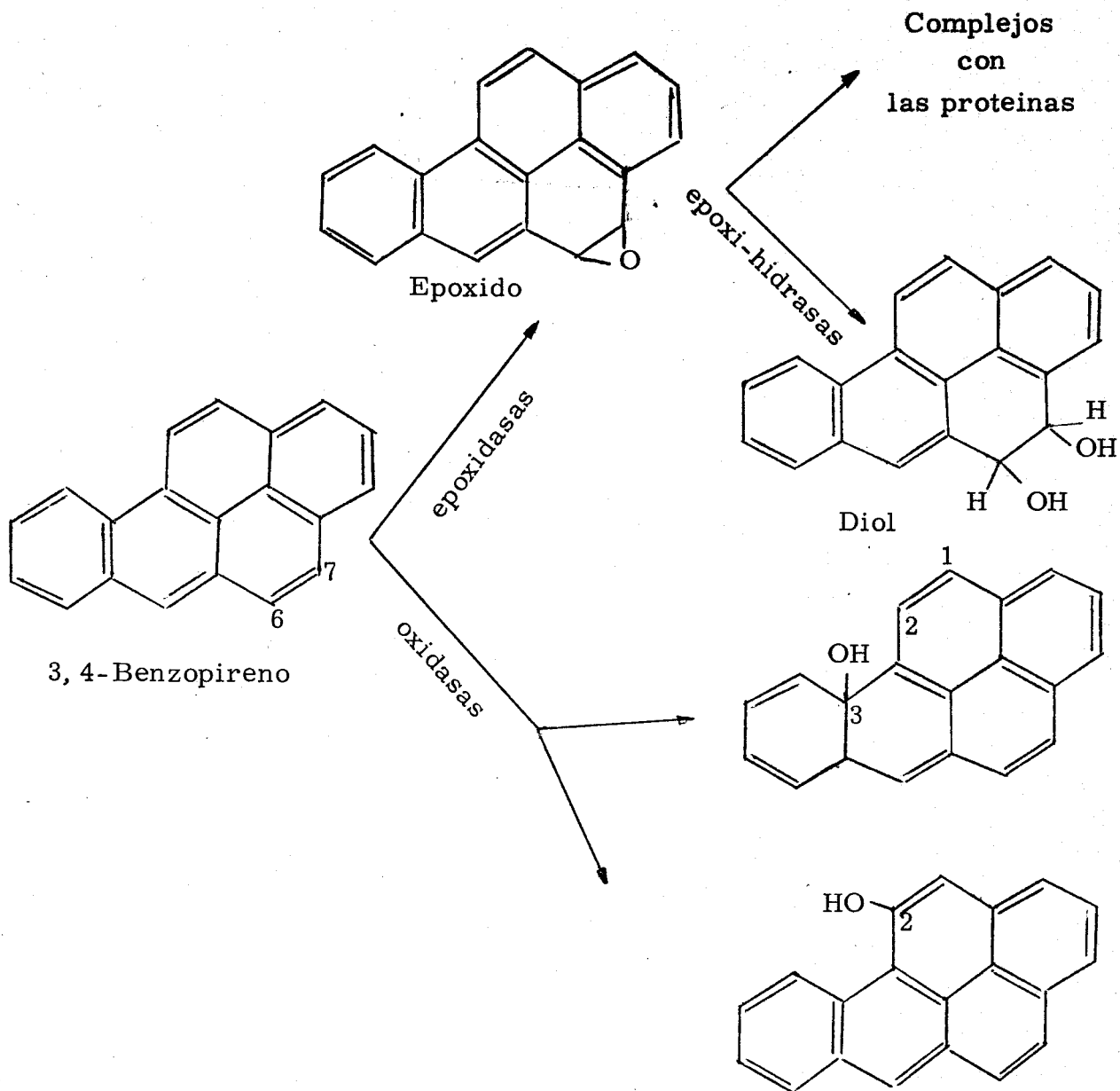
cias, que posteriormente son transformadas en hidroles inactivos por la acción de una enzima epoxi-hidrasa.

Los procesos oxidativos se valen normalmente del citocromo P-450 y se admite que este citocromo se une al oxígeno molecular, transformándolo en oxígeno activado, uno de cuyos átomos es transferido al sustrato, mientras que el otro forma agua. El oxígeno es preferentemente transferido a sistemas de electrones π , con frecuente formación de epóxidos (metabolitos normalmente de toxicidad aumentada). Así ocurre con el benzopireno, que una vez formado el epóxido, presenta dos opciones metabólicas:

- 1º. Formación de complejos con las proteínas. Conduce a cancer.
- 2º. Actuación de una epoxi-hidrasa sobre él, en cuyo caso se rompe el epóxido y se forma un diol, metabolito mucho menos tóxico.

Ahora bien, el benzopireno puede tener otra opción metabólica distinta. Así, si sobre él actúan "oxidadasas", introducen OH /

en posición 2 ó 3. Pero derivados como el 3-OH y el 2-OH-benzopireno no resultan cancerígenos, siendo estas hidroxilaciones aromáticas la principal ruta metabólica detoxicante de este compuesto. Se ve pues, que el metabolismo hidroxilativo del benzopireno sigue dos caminos, uno que aumenta el poder cancerígeno, y otro que lo disminuye; lo interesante sería poder inhibir aquellas hidroxilasas y estimular éstas.



POSIBLES RUTAS METABOLICAS DEL 3,4 - BENZOPIRENO

II. 3. 3. Factores que influyen en la acción cancerígena de un compuesto.

La acción tumoral del 3,4-benzopireno al igual que ocurre con otras muchas sustancias químicas ha ido descubriéndose a lo largo de la historia después de prolongadas observaciones, pero a pesar de las evidencias, la relación causa-efecto ha sido siempre inconclusa por los distintos factores que expondremos:

- 1º. Distinta susceptibilidad por parte de las diversas especies animales a una misma sustancia química y más aún dentro de ellas existe distinto comportamiento según las razas, estirpes, (GREENSTEIN, J.P., 1.959) y sexo, (FINOGENOVA, M.A., / 1.976).
- 2º. El simple cambio en la utilización de distinto disolvente para diluir el producto cancerígeno activo es suficiente para que los resultados sean tan discordantes como para llegar a afirmar o negar una presunta acción cancerígena.

39. Influencia de coadyuvantes o sustancias que modifican la acción cancerígena de un determinado compuesto. Podríamos dividirlos en dos tipos:

- Co-carcinógenos, es decir promotores del cancer, que aceleran la acción de los cancerígenos. Esta teoría de la co-carcinogénesis fué establecida hace unos veinte años por -- I. BERENBLUM y PHILIP SHUBIK en Oxford. El benzopireno en una sola pincelada resulta incapaz de desarrollar un papiloma, pero si sobre la pincelación se extiende aceite de croton (no cancerígeno) se forma rapidamente el papiloma.

- Anticancerígenos, sustancias que actuan como rivales de los cancerígenos. El benzopireno y el dibenzantraceno, cancerígenos muy activos, pierden casi completamente su efecto -/ cuando los animales son inyectados con compuestos químicamente muy similares a ellos. FALK y KOTIN con diferentes anticancerígenos, consiguieron inhibir la acción del benzopireno, dibenzantraceno y metilcolantreno. Los mismos investigadores han demostrado que en aire de los EE.UU. es-

tán presentes compuestos que inhiben la acción cancerígena del 3,4-benzopireno. Esto explica porque, a pesar de los / grandes valores que se obtienen de este hidrocarburo en la atmósfera, padecen cáncer menos gentes que las que debería esperarse.

Así pues, la calificación de cancerígenos a un determinado compuesto quedará condicionada a la susceptibilidad de la especie o raza que se esté trabajando, a la naturaleza del diluyente utilizado, a la presencia de factores coadyuvantes que potencialicen o retarden la acción y a los factores intrínsecos del propio animal.

En un reciente trabajo, no obstante, CLAUDE LASNE, 1.973, como consecuencia de un estudio sobre los efectos biológicos / del benzopireno en animales de laboratorio, tanto en el tejido subcutáneo o tejido conjuntivo, como en el tubo digestivo, pulmón y vías respiratorias y otros tejidos, llega a la conclusión de que se trata de un cuerpo cancerígeno poderoso, que provoca lesiones morfológicas precoces, destrucción de las glándulas sebáceas y desarrollo de una hiperplasia epidérmica, precursora de tumores, como papilomas cutáneos y otros.

II. 3. 4. Cáncer broncopulmonar.

La demostración estadística de mayor frecuencia de cáncer broncopulmonar en el medio urbano que en el rural, la identificación de hidrocarburos cancerígenos en el polvo atmosférico de las grandes ciudades, y la producción experimental de cáncer de piel en animales de laboratorio utilizando extractos de polvo atmosférico, parecía aclarar el gran incremento de cáncer broncopulmonar en estos/ últimos años. Sin embargo, hoy día todavía está confuso y este tema sigue estando sometido a discusión.

Para algunos autores la diferencia entre la frecuencia del cáncer de pulmón en medio urbano y el rural no se debe a la contaminación atmosférica, porque la disminución de contaminación en diversas aglomeraciones humanas no ha hecho disminuir los casos de cáncer broncopulmonar y por que el incremento de cáncer broncopulmonar empezó antes que la utilización de motores Diesel (principales productores de humo).

Para otros autores, la relación contaminación atmosférica y cáncer broncopulmonar no tiene discusión (DROGENDIJK, A.C. 1.966; TRUAHUT, R., 1.968).

A pesar de esta diversidad de opiniones hay un punto / que parece no tener discusión (KOTIN, P., FALK, H., 1.959), es que los residentes en núcleos urbanos se hacen más susceptibles a la adquisición de cáncer broncopulmonar que las personas que viven en el medio rural, existiendo numerosos trabajos que lo confirman:

- HAENSZEL, W., en 1.961, demostró que los noruegos que habían residido en los EE.UU. al fijar de nuevo su residencia en Noruega eran más susceptibles al cáncer broncopulmonar que sus compatriotas que no habían salido de su país y que por tanto, no habían estado sometidos al ambiente contaminado de los EE.UU.

De igual forma, este último autor un año más tarde observa en los EE.UU., que aquellas personas que durante un cierto tiempo vivieron en medio urbano y retornaron al medio rural, se mostraban / más susceptibles a contraer este tipo de cáncer que aquellos que nunca habían salido del medio rural (HAENSZEL y col., 1.962).

Además de la polución ambiental de origen industrial y motores de explosión, hemos de tener muy en cuenta la participación del tabaco en el cáncer broncopulmonar. La posible relación de causa a efecto por el consumo de tabaco, es objeto de interés en el mundo entero como demuestra la abundante literatura que existe al respecto.

Ahora bien, la relación entre el benzopireno presente en la atmósfera y el inhalado por el fumador no resulta exactamente comparable:

- 1º. El "fumador" traga el humo eliminando así la primera barrera defensiva, que constituye la mucosa nasal, enviando directamente el humo a sus pulmones.
- 2º. Los constituyentes del humo del tabaco lo forman sustancias cancerígenas, cocancerígenas e irritantes (estimulan la secreción bronquial y/o muestran marcado efecto ciliostático) pero no anticancerígenas, y sin embargo, estas últimas sí existen en la atmósfera urbana. (DE LA SERNA; CABALLERO, F., 1.977).

No podrá ser comparable pues el efecto biológico que produce una misma cantidad de benzopireno inhalada por el habitante de la gran ciudad y el fumador.

II. 3. 5. Cáncer gástrico.

La ingestión de benzopireno provoca el desarrollo de tumores gástricos en el preestómago (papilomas, epitelomas, carcinomas) (COLLINS, V.J. y col., 1.943; PEIRCE, W.E.H., 1.961). La administración de benzopireno generalmente se efectúa añadiéndolo en la bebida o la comida, y el animal utilizado suele ser el ratón.

Está claro que la ingestión de benzopireno produce cáncer gástrico pero podríamos preguntarnos: De dónde procede el benzopireno que nos llega al organismo y hace que se desencadene el cáncer gástrico?. En un principio se intentó relacionar este tipo de cáncer con la contaminación atmosférica, hoy se ha visto que esta relación hay de desecharla pues las estadísticas no muestran mayor índice de cáncer gástrico en las zonas urbanas que en las rurales y

más aún, parece ser que el cáncer gástrico va disminuyendo, lo cual iría en contra del incremento de contaminación que estamos sufriendo.

La determinación de un benzopireno endógeno en los vegetales (lo veremos más ampliamente después), causó gran sorpresa, ya que este compuesto no se había encontrado en las células animales. Este hallazgo, junto a la determinación de este hidrocarburo en la capa de hollín de alimentos asados o ahumados (STEINING, J., 1.976), así como en la semilla de café tostado y otras series de alimentos, como puede ser un simple pan tostado, hacen hoy suponer / que sea la ingestión de alimentos la causa del cáncer gástrico.

Para el profesor GRAFF, son los vegetales los principales causantes de este cáncer y a este respecto llega a hipotetizar en la revista "Medizinische Klinik":

"La demostración estadística de que el cáncer de estómago disminuye, se debe a que la elevación del nivel de vida sustituye

ye la alimentación vegetariana, rica en 3,4-benzopireno, por la cárnica, carente de él.

II. 3. 6. Cáncer de piel.

La inyección subcutánea del benzopireno entraña la -/ formación de sarcomas, tumores malignos del tejido conjuntivo (SANNIE, C., y col., 1.935; STEINER, I., 1.959; HIEGER, I., 1.959; HOMBURGER, F., 1.972) y adenomas pulmonares (TRUHAUT, R., y DECHAMBRE, R.P., 1.972).

El benzopireno es inyectado generalmente en solución de aceite de oliva, grasa animal fundida o manteca de cerdo.

BRYAN y SHIMKIN en 1.943 y posteriormente HIEGER en 1.961, llegan a la conclusión de que la incidencia tumoral o número de tumores obtenido es proporcional a la concentración de benzopireno. Sin embargo el "tiempo de latencia" o tiempo medio de aparición de tumores es inversamente proporcional a la concentración.

Con estos estudios, parece quedar claro que el benzopireno es uno de los agentes causantes del cáncer de piel, pero podríamos preguntarnos de nuevo: De dónde procede este hidrocarburo, que provoca en el ser humano el cáncer de piel?. Puesto que la principal vía de entrada para el cáncer epitelial es la cutánea, todo parece indicar que la principal fuente de benzopireno para este tipo de cáncer es la contaminación atmosférica. PERCIVAL POTT, vimos que en 1.775, ya relacionaba el cáncer de escroto de los deshollinadores con el hollín que se ponía en contacto con su piel.

II. 4. POLUCION.

II. 4. 1. Conceptos generales sobre la polución.

Una definición muy completa de la polución es la de GARAYON - GENTIL y col., dada en 1.957:

"Hay polución cuando la composición del aire se aparta sensiblemente de la del aire puro, por modificación cuantitativa de uno o más de sus constituyentes normales, o cualitativa por la aparición de sustancias anormales resultantes de la actividad humana en concentración suficiente para afectar, directa o indirectamente la salud, la seguridad o el confort del hombre o el pleno disfrute de su propiedad."

En la evolución de la polución podemos distinguir tres fases o tiempos:

1º. Emisión.

2º. Dispersión y dilución en la atmósfera, en la que ocurren trans

formaciones químicas por reacciones de los contaminantes con el medio o entre ellos, de las que resultan trastornos de la salud a escala colectiva.

3º. Fase de retorno al suelo, la vegetación o las construcciones y fijación definitiva sobre los mismos.

1º. Fase de emisión.

En ella los contaminantes son lanzados al medio ambiente.

La combustión de carbones minerales o petróleo, vital para nuestra sociedad es, y será probablemente durante largo tiempo, la fuente principal de calor y energía. Teóricamente los productos finales más importantes debieran ser bióxido de carbono y vapor de agua, vertibles, en principio, libremente a la atmósfera. Pero ni los combustibles son suficientemente puros, ni las condiciones en que se verifica la combustión son, en general, las óptimas, con frecuente defecto de oxígeno; cuando esto ocurre la oxidación es incompleta, resultando monóxido de carbono, di-

versas sustancias que no han sido quemadas y aquellas otras que han sufrido una combustión incompleta. La variedad de ellas se incrementará posteriormente debido a reacciones secundarias - / que tienen lugar en el aire.

Por el contrario, se puede decir que el gas ciudad - no contribuye a la contaminación pues su combustión es practicamente perfecta.

Entre las principales fuentes de contaminación HER--
NANDEZ GUTIERREZ, F., 1.967, destaca:

- Calefacción doméstica.
- Industrias.
- Motores de explosión y combustión.
- Producción y empleo de materiales radioactivos.

Este mismo autor establece como principales contami-
nantes los del cuadro siguiente:

GASES	VAPORES	
	Inorgánicos	Orgánicos
CO	H ₂ O	Hydrocarbons <u>ali</u> fáticos saturados o no.
CO ₂	NO ₃ H	Id. aromáticos
SO ₂		Alcoholos
NO		Aldehidos
SH ₂		Cetonas
F ₂ H ₂		Esteros
ClH		Ozónidos
NH ₃		Peróxidos
O ₃		Ddos. halogenados
		Id. nitrados
		Aminas
		Mercaptanes

PARTICULAS		
Polvos	Humos	Aerosoles
Sílice	Carbón	ClNa
Fe_2O_3	Hidrocarburos políclicos y cancerógenos	Fe_2O_3
Al_2O_3	Pireno	Fluoruros
CO_3Ca	Benzantraceno	SO_4H_2
SO_4Ca	Fluoranteno	Alquitrán
Arcillas	Coroneno	Hidrocarburos heterocíclicos
Cemento	etc., etc.	Tiofeno
Carbón		
Cenizas volantes		
Compuestos de: Na, Mg, Ba, Zn, Mn, Cr, Ni, Ti, W, Cu, Sn, Mo, Bi, Sb, Cd, V y Be		
Asfalto		
Caucho		
Radiactivos		

2º. Fase de suspensión en la atmósfera.

Mientras ciertas aglomeraciones industriales disfrutan de una atmósfera relativamente limpia, en otras bastan unas cuantas fábricas para sumergirlas en un mar de humo o bruma. En un mismo lugar, a igualdad de polución, su intensidad cambia con los días y en ocasiones, con el cielo despejado y situaciones metereológicas aparentemente idénticas (HERNANDEZ GUTIERREZ, 1.967).

Las partículas sólidas o gotitas líquidas emitidas - / caen en las proximidades, pero las de tamaño inferior a veinte micrones quedan formando nieblas o aerosoles, cuya estabilidad es función de las condiciones atmosféricas. Las más finas, de / un micrón o menos, difunden como los gases, influyendo en su dispersión, factores metereológicos y geográficos. (HERNANDEZ GUTIERREZ, 1.967).

3º. Fase de sedimentación.

La dispersión de los contaminantes en la atmósfera /

no los elimina, sino que los diluye hasta concentraciones no peligrosas, salvo en los periodos de estabilidad meteorológica, en los que llegan a ser intolerables para el hombre. Sin embargo, los contaminantes o las partículas, en el estadio final de la polución, después de su coalescencia, son arrastrados o disueltos por las precipitaciones, hasta el suelo, la vegetación o las construcciones en los que se produce su fijación irreversible. Las materias depositadas, bien son corrosivas para el vegetal o bien lo recubre de una capa alquitranosa que necrosa sus tejidos. Esta fijación puede ser de consecuencias indirectas para los seres vivos, ya que las hojas contaminadas ingeridas por los herbívoros son tóxicas por las sustancias sedimentadas.

II. 4. 2. Presencia de hidrocarburos aromáticos policíclicos en la atmósfera.

El origen en la atmósfera de los hidrocarburos aromáticos policíclicos se debe a las combustiones incompletas.

En toda combustión incompleta se producen partículas sólidas que contienen alquitranes. Estos alquitranes son ricos en hi-

drocarburos aromáticos policíclicos, la mayoría de ellos de reconocidas propiedades cancerígenas. La formación de estos hidrocarburos y sobretodo, del benzopireno exige elevada temperatura y tiene lugar - cualquiera que sea el tipo de material que sufre la combustión (carbón, leña, gasolina, etc.). Según BADGER, G.M., 1.962, el primer fenómeno consiste en una fragmentación o pirolisis de la materia orgánica, que, a temperaturas de 400-500 grados centígrados da lugar a moléculas de menor peso molecular, principalmente radicales, de alta reactividad, que se recombinan para producir hidrocarburos policíclicos, tanto aromáticos como heterocíclicos, más estables desde el punto de vista termodinámico.

En una gran urbe, la presencia de hidrocarburos aromáticos policíclicos se debe en esencia a la suma de los emitidos / por los vehículos a motor y las combustiones de tipo doméstico e industrial.

HAGENBRAUCK y col., 1.967, resume así sus estudios:

19. Aunque cualquier combustión contribuye a aumentar la cantidad de benzopireno en la atmósfera, sin embargo, la fuente más --

importante es la combustión del carbón con fines domésticos o en las pequeñas industrias.

- 2º. La eficiente combustión del carbón, fuel-oil y gas natural en / las modernas plantas industriales no contribuyen significativa- mente en las cifras de contaminación por este HAP.
- 3º. La incineración de basuras puede regirse de tal forma que la / emisión de hidrocarburos aromáticos policíclicos sea mínima. / Los incineradores municipales han demostrado su eficacia por la escasa formación de benzopireno, Por el contrario, existen incineradores de desechos totalmente ineficaces. Igual ocurre - en la combustión de basuras a cielo abierto.
- 4º. Los automóviles de gasolina son la principal fuente de benzopi- reno en la atmósfera urbana. Dentro de ellos, aquellos que han recorrido muchos kilómetros, son los mayores responsables.
- 5º. La emisión, proporcionalmente al carburante consumido, es ma yor para un camión que para un turismo.
- 6º. Los motores Diesel pueden producir grandes cifras, pero hay - /

que tener en cuenta que los camiones y autobuses contribuyen/ solo con un 4% al consumo total de productos del petróleo dentro de los vehículos a motor.

En Sevilla, REPETTO y col., 1.973, han encontrado que la concentración de benzopireno en verano resulta ser la mitad/ de la del invierno, posible consecuencia, por un lado, de la disminución de la densidad de tráfico y emisión de humos de sistemas de calefacción y, por otro lado, de la degradación fotoquímica del - / 3,4-benzopireno.

II. 4. 3. Incremento de benzopireno en los vegetales con la contaminación.

En Hungría, SOOS. K., 1.973, determina en treinta y cuatro tipos de cereales (trigo, cebada, avena, etc.), once hidrocarburos poliaromáticos incluyendo los fuertemente cancerígenos, 3,4-benzopireno y 1, 2, 5, 6, dibenzantraceno y observa que la cantidad de estos contaminantes en los cereales que crecían al lado de las principa-

les autopistas y centros industriales era de dos a cuatro veces mayor que en aquellos que crecían en las regiones agrícolas con un aire puro.

FRITZ, W. y ENGST, R., (1.975), queriendo determinar las causas y la extensión de la contaminación de alimentos dependiente del medio ambiente y causada por los hidrocarburos inductores de cáncer, analizan suelos, vegetales y frutas de regiones próximas a las industrias y alejadas de ellas. Encontraron que el contenido de 3,4-benzopireno en suelos variaba de $15 \mu\text{g}/\text{Kg}$. lejos de las industrias a $400 - 500 \mu\text{g}/\text{Kg}$. en regiones cercanas. En las zonas - / más próximas al foco emisor de la industria se encontraba alrededor de $3.000 \mu\text{g}$ benzopireno/ Kg . Fue probado el paso de benzopireno de estos suelos altamente contaminados a productos de cosecha / como patatas. Los vegetales de las regiones industriales estaban altamente contaminados y esta contaminación dependía de la distancia / al foco emisor. Después de la instalación de filtros en una factoría, el contenido de benzopireno se redujo en la primera cosecha del 40 al 70%.

Para SEIDEL, K., y col., 1.975, la concentración /

de benzopireno en los vegetales aumenta con el contenido de este hidrocarburo en el suelo, pero este incremento no es lineal.

La absorción del benzopireno contenido en el suelo tiene lugar a través de la raíz y el contenido en la atmósfera a través de la parte aérea de la planta (MUELLER, H., 1.976). La cantidad absorbida por el vegetal es selectiva, depende de la especie. / (SHABAD, L. M., 1.975).

Una vez absorbido, la acumulación de este hidrocarburo en el vegetal parece ser mayor en el tronco que en follaje. (MUELLER, H., 1.976).

SHABAD, L. M., 1.975, habla de un nivel permisible de benzopireno en el suelo, nivel que lo cifra de 0,01 a 0,02 mg. -/ benzopireno/Kg. de tierra. Cuando los valores del hidrocarburo se -- mantienen dentro de estos límites, no contamina las aguas subterráneas ni se acumula en los vegetales.

II. 5. PAPEL DE LA VEGETACION EN LA LUCHA ANTIPOLU-
CION.

Dejando aparte los medios técnicos, la vegetación - / constituye un recurso natural, sencillo y eficaz para depurar el aire urbano hasta el punto de considerarse los parques, jardines y arbolados como pulmones de la ciudad. Su actividad purificadora y reguladora radica en la función cloroflica, la facilidad con que retienen las partículas suspendidas en el aire y la regulación de la temperatura por evaporación de parte del agua, absorbida del suelo, a través de su enorme superficie foliar.

La importancia cuantitativa de la actividad cloroflica forestal, reconocida desde largo tiempo, fué evaluada en 1.946, según MOLLER, en la fijación de 4.800 Kg. de carbono por hectárea / plantada de hayas y año, y algo más de 5.000 Kg. si el bosque es - de pinos; simultaneamente, en un intercambio químico perfectamente equilibrado, son liberados de 12.700 a 13.600 Kg. de oxígeno.

En el proceso de oxidación del monóxido de carbono

en la atmósfera, este se halla en equilibrio con el bióxido de carbono y es lógico que disminuyendo la presión parcial de este último se acelere la conversión del primero. Esto explica a juicio de HERNANDEZ GUTIERREZ, 1.967, la limpieza del aire que el profesor TRUHAUT, de la Facultad de Farmacia de París, halla en los jardines públicos de esta capital, aún en los distritos de fuerte circulación / mecánica.

El polvo y las partículas finas, especialmente las de hidrocarburos y alquitrán, son inmovilizadas por el follaje en cantidad variable con la especie, del orden de 50 a 60 Kg. por Ha y mes (HERNANDEZ GUTIERREZ, 1.967). Si la vegetación fuese demasiado clara o la polución muy intensa, y faltaran precipitaciones, la capa / aceitosa puede obstruir los estomas y asfixiarlas.

El papel bienhechor de las zonas verdes, como barrera despolvadora y depuradora a un tiempo, de utilidad manifiesta / en áreas muy contaminadas, depende de las especies arbóreas y es tanto mayor cuanto mayor es la superficie plantada; de aquí el inte-rés de las alineaciones de arbolado y la necesidad de crear en el in-

terior de la ciudad, zonas plantadas de extensión suficiente.

Estas consideraciones nos incitan a insistir en la necesidad de conservar zonas verdes, capaces de retener, no sólo el anhídrido carbónico de la ciudad, sino muchos otros contaminantes, - y crear nuevos parques públicos aprovechando los espacios que puedan quedar libres en el área urbana para que purifique nuestra su-cia atmósfera especialmente en el casco antiguo.

III. PARTE EXPERIMENTAL

III. 1. METODOS GENERALES.

III. 1. 1. Extracción.

Se realizó (siguiendo trabajos anteriores de Repetto y col.), en aparato de Soxhlet para calentar la muestra lo menos posible. Como en las experiencias citadas se eligió diclorometano grupo analítico Mallinckrodt para disolvente.

III. 1. 2. Separaciones cromatográficas.

La cromatografía comprende un diverso grupo de métodos de separación, nosotros hemos empleado tres tipos:

- Cromatografía en columna de silicagel.
- Cromatografía en capa fina.
- Cromatografía en capa preparativa.

III. 1. 2. 1. Cromatografía en columna de gel de sílice.

Se empleó para la purificación de productos extraí-/
dos.

Se ha utilizado gel de sílice Merck de 0,2 - 0,5 mm.
como absorbente y la mezcla diclorometano:benceno 1:1,5, como elu-
yente. El curso de las separaciones se controló por cromatografía -
en capa fina.

III. 1. 2. 2. Cromatografía en capa fina.

Se utiliza como método analítico cualitativo.

Las placas empleadas son de 20 x 5 cm. y 0,25 mm.
de espesor de silicagel. El desarrollador utilizado ha sido diclorome-
tano:benceno 1:1,5.

Revelador: por ser el benzopireno una sustancia con absorción en el/
ultravioleta, el producto se visualizó por exposición de las placas a

una fuente de luz ultravioleta de longitud de onda de 360 nm.

III. 1. 2. 3. Cromatografía en capa preparativa.

Se utilizó como método de separación.

Las placas utilizadas son de 20 x 20 cm., con 1 mm. de espesor de silicagel.

Desarrollador: diclorometano:benceno - 1:1,5.

Revelador: luz ultravioleta.

III. 1. 3. Análisis espectrofluorométrico.

La espectrofotometría de fluorescencia se basa en la propiedad de ciertos sistemas químicos de ser fotoluminiscentes; es - decir, pueden ser excitados sometiéndolos a una radiación de longitud de onda seleccionada, que se sabe excita el compuesto, y le hace emi

tir luz de otra longitud de onda específica casi inmediatamente después de suspender la irradiación.

Este método se utiliza como análisis cuantitativo y se ha realizado en un espectrofotómetro de fluorescencia PERKIN - EL-MER MPF - 3, utilizándose:

- Sensibilidad: 1
- Longitud de onda de excitación: 366 nm.
- Longitud de onda de emisión: 406 nm.

También se ha empleado:

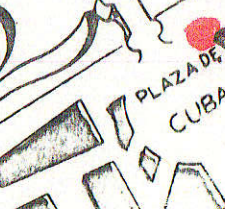
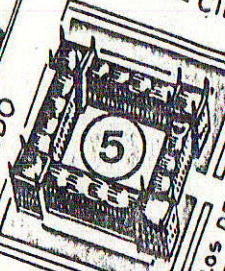
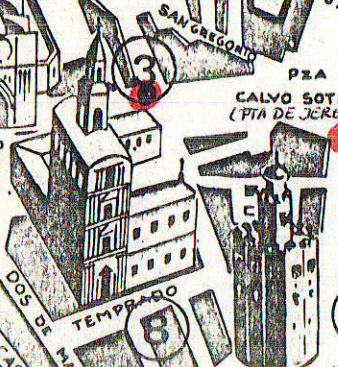
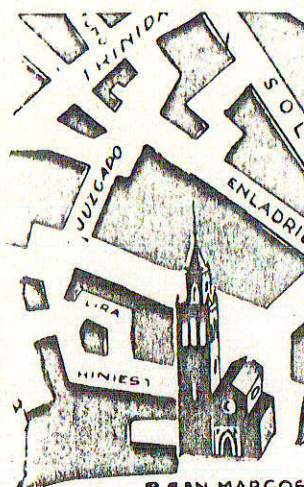
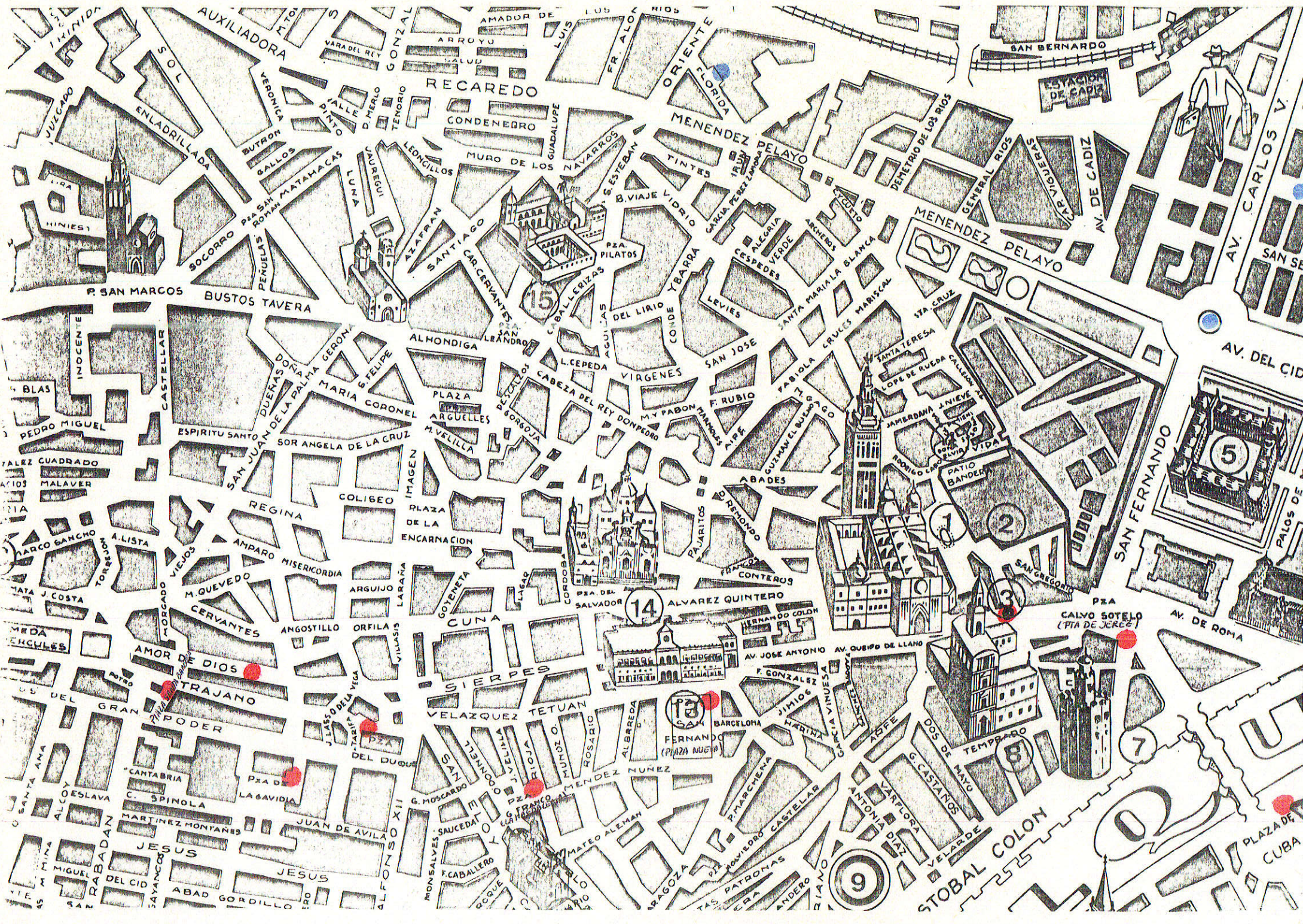
- Patrones de 3,4-benzopireno Sigma.
- Etanol absoluto Merck para fluorometría.

III. 2. DETERMINACION DEL 3,4-BENZOPIRENO EN LOS JARDINES URBANOS.

III. 2. 1. Toma de muestra.

Por haber sido 1.978 un año muy lluvioso en el que el periodo de lluvias alcanzó hasta principios de verano, retrasamos las recogidas de las muestras hasta los meses de Mayo y Julio, al estimar que la vegetación había sido repetidamente lavada por las precipitaciones, aunque por otra parte corríamos el riesgo de permitir una mayor incidencia de la luz solar sobre las futuras muestras, en detrimento de su contenido en benzopireno.

Las muestras se tomaron en distintas zonas verdes del centro de la ciudad, en los lugares donde a nuestro parecer la contaminación pudiera ser mayor, tomando como criterios para esta suposición el número de vehículos circulantes y la ventilación de la zona. Se siguió, aproximadamente, una línea imaginaria a lo largo de un eje que comienza en la Plaza Santa Bárbara (calle Trajano) y termina en la Plaza de Cuba (véase plano).



Se sale de esta línea la muestra de La Florida, que pertenece a otro grupo de tomas de otro eje paralelo al anterior, / que se consumieron en la puesta a punto de la técnica.

Las muestras son de la grama (Cynodon dactilon), -/ que crece en el suelo de las aceras o zonas ajardinadas correspondientes. Se cortó cuidadosamente con tijeras y se depositó en sobres de papel apropiadamente etiquetados. El peso de cada muestra osciló entre los 10 y 15 g.

III. 2. 2. Conservación de las muestras.

Dado que el benzopireno es afectado por la luz y la -/ temperatura, las muestras se conservan al abrigo de la luz y en lugar fresco. Nosotros las hemos mantenido en sobre de papel y cámara oscura, dentro de desecadores.

III. 2. 3. Extracción.

La realizamos en "soxhlet" con diclorometano. Para /

ello, troceamos la planta y la colocamos en cartucho de papel de filtro, en el cuerpo intermedio de dicho aparato. De acuerdo con ensayos previos, se estimó suficiente dos pases (aproximadamente 2 - 3 / horas) para dar por terminada la extracción.

El extracto obtenido conteniendo los hidrocarburos aromáticos policíclicos se evapora en rota - vapor hasta obtener un pequeño volumen. La fuerte coloración de éste indica la necesidad de someterlo a una cuidadosa purificación.

III. 2. 4. Purificación del producto por separaciones cromatográficas.

Después de ensayos preliminares, nos decidimos por efectuar una primera purificación mediante cromatografía de columna.

El residuo obtenido, con ayuda de una pipeta se coloca en una columna de silicagel de 30 cm. x 2,5 cm. Para la elución se emplea diclorometano:benceno - 1:1,5.

Con las distintas fracciones de 20 ml. obtenidas en la elución, se hacen cromatografías en capa fina. Su finalidad será determinar qué fracciones de solución eluida contiene benzopireno.

En el centro de las líneas de muestras de las placas - se coloca una gota de disolución alcohólica patrón de benzopireno de / la casa Sigma y a ambos lados, gotas de dos de las fracciones obtenidas.

Se introducen las placas en la cubeta cromatográfica y se desarrollan ascendentemente, empleando diclorometano:benceno, como desarrollador.

Terminado el desarrollo, se secan las placas a temperatura ambiente pero en la oscuridad y se observan bajo luz ultravioleta de 360 nm. En caso positivo, las manchas aparecerán a la misma altura que la gota de benzopireno testigo.

Nos encontramos que el benzopireno se halla en las -/ fracciones correspondientes al paso de los primeros 160 ml. de elu--

yente, pero estas fracciones contienen en grandes proporciones diferentes sustancias vegetales, como clorofilas, carotenoides, etc. Ello obliga a recoger el eluato, evaporar gran parte del solvente en un / rota-vapor, y volver a pasar el extracto por nueva columna. En oca siones hubo de repetirse esta purificación otra vez más, hasta obte-- ner una separación aceptable.

Finalmente, se reunen aquellas fracciones que por cro matografía en capa fina son benzopireno positivo, y se evaporan en / rota-vapor hasta un pequeño volumen. Con él, hacemos una cromato grafía en capa preparativa.

Con ayuda de un capilar, se distribuye el extracto a - lo largo de una línea a dos cm. del borde inferior; en el centro se / deja un espacio libre donde se coloca una gota de solución patrón de benzopireno.

Se introduce la placa en cubeta cromatográfica y se / desarrolla al igual que la anterior con diclorometano:benceno. Para

evitar pérdidas de benzopireno por efecto de la luz, las cubetas para el desarrollo se mantienen en cámara oscura.

Una vez desarrollada la placa, se seca a temperatura ambiente en cámara oscura y se examina por exposición a luz ultravioleta de longitud de onda 360 nm.

Aparecen dos franjas blancas con el mismo Rf que la gota testigo de benzopireno, que, además presenta una fluorescencia análoga a la de las bandas.

Se separan estas bandas por raspado para determinar el benzopireno que contiene por espectrofotometría de fluorescencia.

III. 2. 5. Análisis cuantitativo por espectrofotometría de fluorescencia.

El material obtenido por raspado de las bandas, se extrae con etanol absoluto para fluorometría Merck. La papilla de sílica y etanol se centrifuga, separándose la solución alcohólica que contiene benzopireno.

La determinación cuantitativa del 3,4-benzopireno en la disolución alcohólica anterior se realizó por espectrofotometría / de fluorescencia y la lectura observada se compara con una curva-patrón trazada anteriormente.

Para construir la curva patrón se prepararon las siguientes diluciones:

- Solución A: Se disuelven 3 mg. de benzopireno en etanol absoluto hasta 100 cc. ($30 \mu\text{g}/\text{ml}$).
- Solución B: Diluyendo 1,66 cc. de solución A hasta 50 cc. con / etanol absoluto. ($1 \mu\text{g}/\text{ml}$.)
- Solución C: Diluyendo 7,5 cc. de solución B hasta 10 cc. con / etanol absoluto ($0,75 \mu\text{g}/\text{ml}$.)
- Solución D: Diluyendo 5 cc. de solución B hasta 10 cc. con etanol absoluto ($0,5 \mu\text{g}/\text{ml}$.)
- Solución E: Diluyendo 2,5 cc. de solución B hasta 10 cc. con -- etanol absoluto. ($0,25 \mu\text{g}/\text{ml}$.)

- Solución F: Diluyendo 1,25 cc. de solución B hasta 10 cc. con etanol (0,125 $\mu\text{g}/\text{ml.}$).

Se prepararon también patrones más diluidos (B', C', D', E' y F'), tomando 1 cc. de B, C, D, E, F y diluyéndolos a -/ 10 cc.

Se valoró la fluorescencia de las soluciones anteriores en el espectrofluorometro; los datos obtenidos se muestran en la tabla I.

III. 2. 6. Expresión de los resultados.

Los resultados se refieren a microgramo de benzopire no por kilo de muestra, y se exponen en la Tabla II.

Nota: Debemos significar que habíamos recogido mayor número de / muestras que las analizadas, pero las primeras se consumieron en los ensayos previos, y además el gran gasto de disolventes, en especial -

de diclorometano, al requerirse varios pases por columna y de etanol exento de fluorescencia junto a sus elevados precios, obligó a reducir el número de las determinaciones, al alcanzar el costo del trabajo un nivel prohibitivo.

T A B L A I

SOLUCIONES	CONCENTRACIONES	ABSORBANCIA <i>EMISION</i>
B	1 $\mu\text{g/ml.}$	44
C	0,750 $\mu\text{g/ml.}$	35
D	0,500 $\mu\text{g/ml.}$	25
E	0,250 $\mu\text{g/ml.}$	13
F	0,125 $\mu\text{g/ml.}$	7
B'	0,100 $\mu\text{g/ml.}$	90
C'	0,075 $\mu\text{g/ml.}$	72
D'	0,050 $\mu\text{g/ml.}$	50
E'	0,025 $\mu\text{g/ml.}$	29
F'	0,0125 $\mu\text{g/ml.}$	19

III. 3. RESULTADOS.

T A B L A I I

CALLE	FECHA RECOGIDA	CONCENTRACIONES μg benzopireno/kg. M.
La Florida	Mayo 1.978	46,51
Plaza del Duque	Julio 1.978	44,75
Plaza Gavidia	Julio 1.978	21,20
Trajano	Julio 1.978	6,13
Amor de Dios	Julio 1.978	96,19
Plaza Nueva	Julio 1.978	15,92
Plaza Magdalena	Julio 1.978	17,80
Avda. Q. de Llano (Archivo de Indias)	Julio 1.978	19,56
Puerta Jerez	Julio 1.978	11,94
Plaza de Cuba	Julio 1.978	0,15

CONCLUSIONES

CONCLUSIONES.

19. En todas las muestras vegetales analizadas se ha puesto de manifiesto la presencia de 3,4-benzopireno. Considerando que el año 1.978 fué muy lluvioso y que las muestras se tomaron en los meses de Mayo y Julio, puede descartarse a la calefacción como fuente del benzopireno encontrado. Estimamos admisible que su procedencia fundamental sea la de los motores de explosión, porque se estima irrelevante la participación, a estos -/efectos, de otras combustiones dentro del casco urbano.

29. De los datos obtenidos se deduce una clara correlación entre el volumen de la circulación motorizada y el contenido de benzopireno:
 - 2.1. Las muestras de las calles de Trajano y de Amor de Dios a pesar de ser paralelas y muy próximas, con similares posibilidades de ventilación, presentan muy diferentes niveles de benzopireno (6,13 $\mu\text{g}/\text{kg}$. y 96,19 $\mu\text{g}/\text{kg}$., muestra, respectivamente).

Entendemos que el motivo de ello se encuentra en que, según las actuales disposiciones municipales, el tránsito motorizado por la calle Trajano es mínimo, mientras que la calle Amor de Dios es una de las vías principales de evacuación del centro urbano.

2.2. El nivel de benzopireno en la muestra de La Florida, concuerda plenamente con el volumen de tráfico de la zona, y también con los datos de estudios anteriores de contaminación reseñados en la Bibliografía.

2.3. La cantidad de benzopireno determinada en las muestras / de Plaza Nueva y Puerta de Jerez, muy similares, concuerdan también con una apreciación aproximada de la circulación y de la ventilación en ambas zonas.

3.0. Los resultados analíticos manifiestan también evidente influencia de la ventilación o aireación de los lugares de toma de muestra.

3.1. Los valores encontrados en la Plaza del Duque son superiores al doble de los detectados en la Plaza de la Gavidia. /

Aunque posiblemente la circulación en ésta sea menor que en aquella, estimamos que la causa fundamental de la diferente contaminación en ambas estriba en el cerramiento de la Plaza del Duque motivado por los grandes volúmenes arquitectónicos que la encuadran, frente a mayor apertura y menor altura de edificaciones en la Plaza de la Gavidia.

3.2. Estimamos que el nivel de benzopireno determinado en la Plaza de Cuba, el más bajo de todos los resultados analíticos, a pesar de la fuerte circulación motorizada en dicha plaza, debe achacarse a la gran ventilación de que la misma disfruta, y cuyas causas fundamentales entendemos que son:

- a) Apertura de la plaza hacia tres calles en ángulo (Asunción, República Argentina, Génova), con la gran participación de la Avenida de la República Argentina, por su anchura y longitud.
- b) Apertura total de la plaza en la parte del río, y calles Betis y Juan Sebastián Elcano.

- c) Importante participación del río en los movimientos del aire, a consecuencia de las variaciones del nivel del / agua, aunque en la actualidad la influencia de las ma--reas esté disminuido como consecuencia de su transformación en Darsena.

BIBLIOGRAFIA

- ANECHINA, P.; ROMERO, J.; SANCHEZ F. MURIAS, B.; y DE LA SERNA, J. (1.971).

Proceedings of the 3rd International Clean Air Congress, 3 - 8, Academic Press, Nueva York - Londres.

- BADGER, G. M. (1.962)

"Mode of formation of carcinogens in Human Environment".

Nat. Cancer Ins. Monograph, 9, 1.

- BERENBLUM, I., y SHUBIK, P. (1.977).

Citado por: De la Serna y F. Caballero en: "Estudio Sanitario y - determinación analítica del 3,4-benzopireno en la atmósfera de Madrid".

Rev. San. Hig. Pub., 51, 265-309.

- BRYAN, W. R., y SHIMKIN, M. B. (1.943).

"Quantitative analysis of dose response data obtained with 3 carcinogenetic hydrocarbons in strain C₃H malemice".

J. Nat. Cancer Inst. 3, 503 - 531.

- CAPONE, N.; COTTIGLIA, M., y col. (1.976).

"Theory of the source and acumulation of 3,4-benzopyrene in the food chain".

Inquinamento, 18 (7-8), 35-40.

- CLAR, E. (1.964).

"Polycyclic hydrocarbons"

Academic Press - London, Volumen 2, p. 130.

- COLLINS, V.J.; GARDNER, W.; STRONG, L.C. (1.943).

"Experimental gastric tumors in mice"

Cancer Res., 3, 29.

- COOK, HEWETT y HIEGER (1.933).

Jour Chem. Soc., 398.

- COOK, HEWETT y HIEGER (1.933).

Jour Chem. Soc., 396.

- DE LA SERNA, J.; SANCHEZ F. MURIAS, B.; y CABALLERO, F. (1.972).

Rev. San. Hig. Pub., 46, 87-97..

- DE LA SERNA, J. y CABALLERO, F. (1.977).

"Estudio Sanitario y determinación analítica del 3,4-benzopireno en la atmósfera de Madrid".

Rev. San. Hig. Pub., 51, 265 - 309.

- DROGENDIJK, A. C. (1.966)

"Tabaco y cáncer de pulmón"

Triángulo, Octubre

- FINOGENOVA, M. A. (1.976).

"Polycyclic aromatic hydrocarbon - induced carcinogenesis male - / and female mice".

Byoll. Eksp. Biol. Med. 82 (10), 1.244 - 5.

- FRITZ, N.; ENGST, R. (1.975).

"New results on the enviromentally caused contamination of foods - with cancer-inducing hydrocarbons".

Tech. Um. Weltschutz, 10, 148 - 77

- GARAYON - GENTIL y col. (1.967).

Citado por: Hernández Gutiérrez F. en: "Una cuestión de actualidad: La Polución atmosférica".

Circular farm., 25, nº 214.

- GOLDSTEIN, A., y col. (1.974).

"Principles of drug action: the basis of pharmacology". Second edition, 679 - 682.

A wiley biomedical - health publication John Willey Et Jons.

New York, London, Sydney, Toronto

- GREENSTEIN, J. P. (1.959).

"Bioquímica del cancer", Trad. Esp.

Rev. Occidente, Madrid.

- HAENSZEL, W. (1.961).

"Cancer mortality among foreign-born in the United States".

J. Natl. Cancer, Inst. 26, 37.

- HAENSZEL, W.; LOVELAND, D.; y SIKEN, M. G. (1.962).

"Lung Cancer mortality as relate to residence and smoking histories".

J. Natl. Cancer Inst. 28, 947.

- HAGENBRAUCK, R. P. y col. (1.967).

"Sources of Polynuclear Hydrocarbons in the atmosphere".

V. S. Public Health Serv. Pub. 999 - Ap. - 33.

- HERNANDEZ GUTIERREZ, F. (1.967).

" Una cuestión de actualidad: La polución atmosférica".

Circular farm., 25, nº 214.

- HIEGER, I. (1.959).

"Carcinogenesis by cholesterol".

Brit. J. Cancer, 13, 439 - 51.

- HIEGER, I. (1.961).

"Carcinogénesis"

Academic Pres - London, 47 - 60.

- HOMBURGER, F. (1.972).

"Chemical carcinogenesis in Syrian hamster".

Prog. Expt. Tumor Res., 16, 152 - 174.

(Ed. Karger, Bases).

- HUBERT - HABART, M.

"Le benzo - 3,4 - pyrène pyroformé dans les produits de combustion de la cigarette. Detection, dosage, recherche des facteurs d'inhibition".

Thèse d'université - Paris

- KENNAWAY, E.L.; JATL, J. (1.924).

Bact., 27, 233.

- KOTIN, P. y FALK, H. L. (1.977).

Citado por: De la Serna y F. Caballero en: "Estudio Sanitario y / determinación analítica del 3,4-benzopireno en la atmósfera de Madrid".

Rev. San. Hig. Pub., 51, 265 - 309.

- KOTIN, P., y FALK, H. L. (1.959).

"The role and action of enviromental agents in the patogenesis of lung cancer".

Cancer, 12, 147.

- KURATSUNE, M.; MASUDO, Y., MORI, K. (1.966).

"Polycyclic aromatic hidrocarbons in Japanese smoked fishes".

Ninth International cancer congress.

- LASNE, C. (1.973).

"Le benzo(a)pirene ses effets biologiques et sa penetration in vi--tro dans la cellule".

Thèse d'université, Paris - Juin

- MOLLER, (1.967).

Citado por: Hernández Gutiérrez en: "Una cuestión de actualidad: La polución atmosférica".

Circular farm., 25, nº 214

- MUELLER, H. (1.976)

"Uptake of 3,4-benzopyrene by food plants from artificially enriched substrates".

Z. Pflanzenernaehr. Bodenkd, 6, 685 - 95.

- OLIVEIRO, V. T.; HEIDELBERGER, C. (1.958).

Cancer Res. 18, 1.094.

- PEIRCE, W. E. H. (1.961).

"Tumor - promotion by lime oil in the mouse forestomach".

Nature, 189, 497 - 498.

- POTT, P. (1.775)

Citado por: Oberling en el "Cancer", ed. Gallimard, 1.954

- PULLMAN, A. y PULLMAN, B. (1.955).

"Cancerisation par les substances chimiques et structure moléculaire".

Ed. Masson et Ciè.

- REPETTO, M.; MARTINEZ, D.; MENENDEZ, M. (1.973)
"El 3,4-benzopireno. Su estudio en la atmósfera de Sevilla".
Medicamenta 1.973, 308, 165 - 170.

- REPETTO, M.; DOMINGUEZ, D. (1.974).
"Benzopyrene de cigarettes et son excretion urinaire"
Journal Européen de toxicologie, Juillet - Aout, n° 4, 234 - 237.

- SANNIE, C.; OBERLING, CH.; GUERIN, M. y GUERIN P. (1.935)
"Des modalités de l'action cancérigène du 1,2-BP".
C.R. Soc. Biol., 1.935, 120, 1.196 - 1.198

- SEIDEL, K.; HAPPEL, H. (1.975)
"Effect of refuse compost on 3,4-benzopirene content in carrots -/
and head lettuce".
Naturwissenschaften, 62 (6), 300.

- SHABAD, L. M. (1.975).
"Possibility of setting a permissible level of benzopyrene in the --
soie".
Gig. Sant. 4, 88 - 91.

- SHIRAIISHI, Y. y col. (1.975)

"Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in foods. V.
3,4-benzopyrene in fruits".

Shokuhin Eisegaku Zasshi, 16, (3), 187 - 8.

- SOOS, K. (1.973).

"Contamination of Hungarian cereals by carcinogenic polyaromatic
hydrocarbons".

Elelmiszervizsgalati Kozlem, 19 (6), 299 - 307.

- STEINER, P. E. (1.955).

"Carcinogenicity of multiple chemicals simultaneasy administered".

Cancer Res., 15, 632 - 635.

- STEINNG JUTTA (1.976).

"3,4-benzopyrene content in smoked fish depending on the smoking -
procedure".

Z. Lebens - Unters. Forsch, 162 (3), 235 - 42.

- TRUHAHUT, R. (1.968).

"Polución del aire y salud pública".

Triángulo, Abril

- TRUHAHUT, R.; y DECHAMBRE, R. P. (1.972)

Modalités de l'induction chez la souris de tumeurs pulmonaires par le benzo(a)pyrène: influence de la dose d'hydrocarbure aromatique et de facteurs écologiques.

C. R. Acad. Sci., 274, 2.263 - 2.267

- TSUTSUI, (1.918)

Gann. Jap. Jour. Cancer Res., 12, 17.

- WYNDER, E. L. y HOFFMANN, D. (1.967).

"Tobacco and tobacco smoke"

Studies in experimental carcinogenesis, New York, Academic Press
p. 330.

- YAMAGIWA, K.; ITCHIKAWA, K. J. (1.918)

Cancer Res., 3, 1.

INDICE

I N D I C E

I	INTRODUCCION	4
II	PARTE TEORICA	8
II. 1.	Naturaleza y propiedades químicas del 3,4-benzo- <u>zopireno</u> o benzo(a)pireno.	9
II. 2.	Benzopireno en los vegetales	12
II. 3.	Capacidad carcinogenetica del 3,4-benzopireno	15
II. 3. 1.	Antecedentes históricos.	15
II. 3. 2.	Teorías actuales.	16
II. 3. 3.	Factores que influyen en la acción cancerígena de un compuesto	23
II. 3. 4.	Cáncer broncopulmonar.	26
II. 3. 5.	Cáncer gástrico	29
II. 3. 6.	Cáncer de piel.	31
II. 4.	Polución.	33
II. 4. 1.	Conceptos generales sobre la polución.	33
II. 4. 2.	Presencia de hidrocarburos aromáticos - policíclicos en la atmósfera	39

II. 4. 3.	Incremento de benzopireno en los vegetales con la contaminación	42
II. 5.	Papel de la vegetación en la lucha antipolución. . .	45
III.	PARTE EXPERIMENTAL	48
III. 1.	Métodos Generales	49
III. 1. 1.	Extracción	49
III. 1. 2.	Separaciones cromatográficas	49
	. Cromatografía en columna de gel de sílice .	50
	. Cromatografía en capa fina	50
	. Cromatografía en capa preparativa. . . .	51
III. 1. 3.	Análisis espectrofluorométrico.	51
III. 2.	Determinación del 3, 4-benzopireno en los jardines - urbanos	53
III. 2. 1.	Toma de muestra.	53
III. 2. 2.	Conservación de las muestras.	54
III. 2. 3.	Extracción	54
III. 2. 4.	Purificación del producto por separaciones cromatográficas	55

III. 2. 5. Análisis cuantitativo por espectrofotometría de fluorescencia.	58
III. 2. 6. Expresión de los resultados	60
III. 3. Resultados	63
CONCLUSIONES.	64
BIBLIOGRAFIA	69
INDICE	81