

# MANUAL DE BIOMONITOREO DE CALIDAD DE AIRE CON LÍQUENES EN ÁREAS MINERAS

---



Edición 2025

Autores:

Juan Martín Hernández

Martha Susana Cañas



## Índice

I	Programa de biomonitoreo.....	3
I.1	Introducción.....	3
I.2	Objetivos.....	3
I.3	Responsabilidades.....	4
II	Metodología.....	4
II.1	Selección de sitios.....	4
II.2	Especie seleccionada y reconocimiento.....	4
II.3	Recolección.....	5
II.4	Preparación y trasplante.....	5
II.5	Duración de exposición.....	5
II.6	Retiro y conservación de muestras trasplantadas.....	6
II.7	Análisis de laboratorio.....	6
II.8	Análisis de datos.....	8
II.9	Frecuencia de monitoreo.....	10
II.10	Controles de calidad.....	10
II.11	Informe de resultados.....	10
II.12	Almacenamiento de la información.....	10
II.13	Recursos necesarios.....	10
II.14	Anexo.....	11



## I. PROGRAMA DE BIOMONITOREO

### I.1. Introducción

Este manual presenta un protocolo estandarizado para el biomonitoreo de la calidad del aire mediante el uso de líquenes trasplantados (*Punctelia hypoleucites*) en áreas cercanas a minería metalífera del oeste catamarqueño. El enfoque combina el análisis químico y fisiológico de los líquenes como herramientas integradas para evaluar la presencia de contaminantes atmosféricos y su impacto ambiental.

A diferencia de los sistemas tradicionales de monitoreo, que requieren infraestructura costosa, mantenimiento especializado y cobertura espacial limitada, los líquenes ofrecen una alternativa accesible, eficiente y sensible. Su capacidad de absorber directamente contaminantes presentes en el aire (material particulado y gases), permite registrar tanto la acumulación de estos como los efectos fisiológicos del estrés ambiental en sus talos. Esta característica los convierte en excelentes bioindicadores y biomonitores.

El manual está orientado principalmente a contextos donde la actividad minera representa una fuente significativa de contaminación por material particulado y compuestos gaseosos. En particular, se detallan procedimientos para: Determinar el contenido multielemental (por ejemplo, As, Cu, Mn, Mo, Pb y Zn) como indicador de deposición de material particulado de origen minero. Evaluar el daño oxidativo a través de la medición de malondialdehído (MDA), producto de la peroxidación lipídica. Analizar la degradación de pigmentos fotosintéticos (clorofilas y carotenoides) como medida del deterioro funcional del talo. Medir el contenido total de azufre como marcador de exposición a contaminantes sulfurados.

Estos parámetros permiten abordar el biomonitoreo desde dos enfoques complementarios: **Bioacumulación de contaminantes:** revela la presencia y concentración de elementos inorgánicos en el ambiente, permitiendo identificar fuentes de emisión y niveles de exposición. **Respuesta fisiológica del líquen:** manifiesta el efecto de los contaminantes sobre el organismo, a través de alteraciones bioquímicas asociadas al estrés ambiental.

En conjunto, estas propiedades convierten a los líquenes en herramientas valiosas para la evaluación ambiental, especialmente en contextos como áreas mineras donde la dispersión de material particulado es una fuente relevante de contaminación, permitiendo complementar y, en algunos casos, sustituir los sistemas tradicionales de monitoreo para una gestión ambiental más eficiente, económica y sensible a los cambios en la calidad del aire.

---

### I.2 Objetivo

El objetivo de este manual es proporcionar un protocolo estandarizado y reproducible para la evaluación de la calidad del aire mediante el uso de líquenes trasplantados (*Punctelia hypoleucites*) como biomonitores de acumulación y daño fisiológico con especial enfoque en áreas con actividades mineras a cielo abierto.

### I.3 Responsabilidades

Ministerio de Minería – Dpto. Geoquímica Ambiental

Empresas Mineras – Área de Medio Ambiente

Universidad Nacional de Catamarca – Grupo de Bio-Geoquímica Ambiental

---

## II. METODOLOGÍA

### II.1 Selección de sitios

Se debe monitorear en diferentes puntos dentro del área de estudio para obtener una imagen completa de la distribución de la contaminación y teniendo en cuenta la accesibilidad y seguridad de cada sitio y la permanencia a largo plazo para asegurar la validez de los datos. Los sitios se clasifican en tres tipos:

**Sitios de emisión:** Estos son representativos, según proximidad, de focos emisores mineros (sectores de voladuras, planta de procesamientos, dique de colas, caminos de alto tránsito, zonas de depósito de estériles).

**Sitios posibles de inmisión:** Estos pueden incluir zona de campamentos, sitios protegidos y **localidades cercanas a la actividad minera**. Además se pueden seleccionar **puntos dentro de un gradiente de contaminación** para analizar la variabilidad espacial. Para la selección de estos sitios se debe considerar además, la dirección predominante de los vientos.

**Sitio control:** Área con **baja o nula contaminación** para representar las condiciones ideales de crecimiento de los líquenes. En esta área se deben recolectar los talos liquénicos que posteriormente serán trasplantados. Además se emplea para **validar los resultados** del biomonitoreo y asegurar que las conclusiones sobre la calidad del aire sean precisas y confiables.

### II.2 Especie seleccionada y reconocimiento

Se recomienda utilizar *Punctelia hypoleucites* por ser una especie muy abundante en el área de estudio y su demostrada sensibilidad y capacidad de acumulación multi-elemental.

***Punctelia hypoleucites*** es un líquen de forma similar a pequeñas “hojitas” pegadas a troncos, ramas y corteza de árboles y arbustos. Es de color gris azulado a verdoso y con puntos blancos como lunares en la parte superior. Es resistente a la sequía y muy común en el área de estudio. Esta especie presenta **apotecios**, estructuras reproductivas que se ven como pequeñas copitas de color marrón claro a oscuro, que aparecen sobre el talo. Además, la **cara inferior del líquen es de color beige a marrón claro**, característica útil para su identificación. Para confirmar que se trata de *Punctelia hypoleucites*, se realiza una prueba sencilla: al aplicar una gota de lavandina (hipoclorito de sodio) en el interior del talo (médula), se observa un cambio de color a rojo (reacción C+ roja), lo que confirma la presencia de sustancias químicas exclusivas de esta especie.

### II.3 Recolección

Recolectar talos de *P. hypoleucites* de sitio control (12g por sitio de monitoreo incluyendo el sitio control)

Selección del forófito: El tipo de árbol donde habita *P. hypoleucites* puede influenciar sobre su metabolismo y por lo tanto en su respuesta fisiológica y en la capacidad de bioacumulación. Por ello es importante recolectar talos de un mismo tipo de forófito.

En el área predominan especies adaptadas a la escasez de agua, como el jarillal y el retamal, con especies dominantes como *Larrea divaricata*, *Larrea cuneifolia* y *Bulnesia retama*. También se encuentran otras especies como el tintitaco (*Prosopis torquata*), el mastuerzo (*Prosopis strombulifera*) y la lata (*Mimozyanthus carinatus*):

### II.4 Preparación y trasplante

Limpiar los talos en seco con un cepillo y/o con un bisturí para eliminar restos de corteza y polvo.

Trasplantar los líquenes a bolsas de malla plástica (10 x 10 cm), con porciones homogéneas de talos (aprox. 4 g por bolsa). ¡Es importante homogeneizar, revolviendo todos los talos recolectados, previamente a separarlos en las bolsas para asegurar la representatividad de cada muestra!

Fijar las bolsas en soportes (troncos, postes, estructuras estables) a 1,5–2 m de altura. Se deben colocar tres bolsas por sitio, lo suficientemente separadas para que sean consideradas independientes y permitan abarcar la variabilidad del sitio.

Para todos los sitios de muestreo se deben seleccionar zonas con condiciones microambientales homogéneos (exposición al viento, luz, lluvia y material particulado)

Se recomienda el uso de dispositivos diseñados para soportar las bolsas de manera que resistan las condiciones ambientales (fuertes vientos y precipitaciones).

Es clave para estos estudios de biomonitoreo activo que los materiales que uses deben ser inertes, resistentes a la intemperie y no contaminantes: **Soporte principal:** Rejilla o malla plástica (polipropileno o polietileno) de **malla abierta (5 mm)**: permite buena circulación de aire y exposición al material particulado. **Sujetadores:** Precintos plásticos y/o hilo de nylon resistente a UV. **Marco** (opcional, para dar rigidez): Bastidor de PVC o acrílico, liviano e inoxidable, con forma cuadrada o rectangular (15×15 cm suele ser un tamaño estándar). **Etiqueta resistente:** Placa plástica, aluminio anodizado o etiqueta laminada para identificar el dispositivo con código único y fecha.

### II.5 Duración de exposición

Mantener los líquenes trasplantados por 3 meses, adaptando el periodo según el régimen de emisiones y cronograma de monitoreo del material particulado sedimentable (MPS). Esto permitirá futuras comparaciones con el material particulado



¡Es importante respetar este tiempo de monitoreo ya que este se seleccionó considerando que este intervalo permite a los líquenes acumular material particulado y contaminantes atmosféricos en cantidades detectables, y desarrollar respuestas fisiológicas significativas sin comprometer su viabilidad!

## II.6 Retiro y conservación de muestras trasplantadas

Finalizado el período de exposición, las bolsas o dispositivos de trasplante deben ser cuidadosamente retirados del sitio de muestreo para evitar la pérdida de material líquénico o contaminación externa. Cada bolsa debe colocarse en bolsas de papel limpias e identificadas con el código del sitio, fecha de recolección y condiciones observadas en el momento del retiro. Las muestras deben transportarse en condiciones de refrigeración moderada y almacenarse a  $-15^{\circ}\text{C}$  hasta su procesamiento en laboratorio, para preservar sus características fisicoquímicas y fisiológicas previas al análisis.

## II.7 Análisis de laboratorio

### Determinación de la Relación Peso Seco/Peso Fresco

#### Material:

- Muestras de talo de líquenes frescos (aprox. 0,25g).
- Estufa de secado ( $60^{\circ}\text{C}$ ).
- Balanza analítica.

#### Procedimiento:

Paso	Descripción
1	Pesar aproximadamente 0,25 g de muestra fresca previamente limpia.
2	Registrar el peso fresco (PF).
3	Secar la muestra en estufa a $60^{\circ}\text{C}$ hasta peso constante (al menos 48 h).
4	Enfriar en desecador y registrar el peso seco (PS).
5	Calcular la relación PS/PF.

### Determinación de Pigmentos Fotosintéticos

#### Material:

- 100 mg de talo seco y molido.
- Etanol 96% v/v.

#### Procedimiento:

Paso	Descripción
1	Homogeneizar en 10 mL etanol por 2 min.
2	Incubar 1 h a temperatura ambiente en oscuridad.
3	Centrifugar 15 min a 620 ref.
4	Leer absorbancias a 470, 649 y 665 nm.
5	Feofitinización: añadir 0,5 mL HCl 0,06N a 2,5 mL de extracto
6	Leer a 666 y 654 nm.

**7** Calcular clorofilas, carotenoides e índices.

Tabla de fórmulas:

Pigmento	Fórmula
<b>Clorofila a</b>	$13,36 \times A_{665} - 5,19 \times A_{649}$
<b>Clorofila b</b>	$27,43 \times A_{649} - 8,12 \times A_{665}$
<b>Carotenoides</b>	$[(1000 \times A_{470} - 2,13 \times [\text{Clor } a] - 97,64 \times [\text{Clor } b]) / 209]$

### Determinación de Malondialdehído (MDA)

Material:

- 50 mg de talo fresco.
- Reactivo TBA en TCA.

Procedimiento:

Paso	Descripción
1	Triturar por 2 min la muestra en 2,5 mL agua destilada.
2	Añadir 2,5 mL de TBA 0,5% en TCA 20%.
3	Calentar 30 min a 95°C.
4	Enfriar en hielo.
5	Centrifugar 30 min a 620 rcf.
6	Leer absorbancias a 532 y 600 nm.
7	Calcular MDA como $(A_{532} - A_{600}) / 155.000$ .

### Determinación de Azufre Total

Material:

- 0,25 g de muestra seca.
- $Mg(NO_3)_2$  saturado.
- HCl 6N.

Procedimiento:

Paso	Descripción
1	Añadir 2,5 mL $Mg(NO_3)_2$ saturado a muestra.
2	Secar y calcinar 2 h a 500°C.
3	Disolver cenizas en 2,5 mL HCl 6N.
4	Filtrar al vacío; enrasar a 25 mL.
5	Determinar azufre por turbidimetría con $BaCl_2$ .

### Contenido Multielemental por ICP-OES

Material:

- 0,5 g de muestra fresca.
- Mezcla ácida: HCl 18% +  $HNO_3$  concentrado (10:2 v/v).

Procedimiento:



Paso	Descripción
1	Reducir muestra a cenizas a 600°C por 4 h.
2	Disolver cenizas con la mezcla ácida.
3	Filtrar y enrasar a 25 mL con agua pura.
4	Analizar en ICP-OES para As, Cu, Mo, Mn, Pb y Zn.

## II.8 Análisis de datos

### Relación E/C

La relación E/C se calcula como el cociente entre el contenido de cada elemento medido en los líquenes expuestos en el sitio de interés (E) y el contenido correspondiente en los líquenes del sitio control (C), según la siguiente fórmula:

$$\text{Relación } E/C = \frac{\text{Concentración del elemento en el sitio expuesto (E)}}{\text{Concentración del elemento en el sitio control (C)}}$$

Este índice permite cuantificar el grado de enriquecimiento de cada elemento analizado respecto a un sitio de referencia sin influencia directa de fuentes contaminantes. Valores de E/C cercanos a 1 indican ausencia de enriquecimiento; valores mayores a 1 señalan acumulación del elemento en el sitio expuesto, sugiriendo influencia de fuentes locales de contaminación; mientras que valores menores a 1 reflejan menor acumulación o posibles procesos de lixiviación o pérdida del elemento respecto al control.

La siguiente tabla presenta la interpretación de la relación Expuesto/Control (E/C) para clasificar el comportamiento de cada elemento analizado tras el período de trasplante de líquenes:

EC (E/C)	Clase	Interpretación
0,0 – 0,75	Pérdida	Niveles inferiores al control; posible lavado o degradación.
0,75 – 1,25	Normal	Variación dentro del rango natural; sin cambio relevante.
1,25 – 1,75	Acumulación	Enriquecimiento moderado del elemento.
> 1,75	Acumulación severa	Incremento considerable; evidencia de fuerte contaminación.

### Índice Clorofila b/a

Este índice refleja el balance entre los dos tipos principales de clorofilas fotosintéticas.

Fórmula:

$$\text{Clor } b/a = \frac{[\text{Clorofila } b]}{[\text{Clorofila } a]}$$

Interpretación: Un incremento en este índice, del 25% con respecto al sitio control, puede indicar alteración en el aparato fotosintético como respuesta a estrés ambiental.



## Índice de Feofitinización

Este índice indica la proporción de degradación de clorofila *a* a feofitina *a*, y está relacionado con daño oxidativo.

Fórmula:

$$\text{Feof } a/\text{Clor } a = \frac{[\text{Feofitina } a]}{[\text{Clorofila } a]}$$

Interpretación: Un incremento en este índice, del 25% con respecto al sitio control, sugiere degradación de clorofilas y potencial contaminación.

## Índice de Polución (IP)

El índice IP integra indicadores fisiológicos y de bioacumulación para estimar el grado de polución atmosférica.

Fórmula según González & Pignata (1994):

$$\text{IP} = \left( \frac{[\text{Feof. } a]}{[\text{Clor. } a]} + \frac{[S]}{[S_c]} \right) * \frac{[MDA]}{[MDA_c]}$$

Donde:

- Feof. *a*: concentración de feofitina *a* en la muestra.
- Clor. *a*: concentración de clorofila *a* en la muestra.
- S: contenido de azufre en la muestra.
- S<sub>c</sub>: contenido de azufre en el sitio control.
- MDA: concentración de malondialdehído en la muestra.
- MDA<sub>c</sub>: concentración de malondialdehído en el sitio control.

Interpretación: Un incremento en este índice, del 25% con respecto al sitio control, indican deterioro fisiológico y potencial contaminación.

**Análisis estadísticos** (opcionales: Se requiere capacitación sobre el uso de software estadístico e interpretación de los resultados)

Para la comparación de los parámetros medidos entre los distintos sitios de trasplante, se recomienda realizar un **análisis de varianza (ANOVA)** de una vía para determinar si existen diferencias significativas entre sitios de los niveles de los parámetros químicos y fisiológicos. En caso de encontrar diferencias significativas ( $p < 0,05$ ), se debe aplicar una prueba post hoc (como Tukey HSD) para identificar qué sitios difieren entre sí. Este análisis permite establecer estadísticamente la influencia de la actividad minera en los líquenes, diferenciando los sitios impactados de los sitios control, y fortalece la interpretación ambiental de los resultados obtenidos.

Se recomienda realizar un análisis factorial exploratorio (EFA) sobre el contenido multi-elemental con el objetivo de identificar patrones de asociación entre elementos y posibles fuentes de contaminación, diferenciando fuentes naturales de fuentes relacionadas a la actividad minera.



## II.8 Frecuencia de monitoreo

Se recomienda una frecuencia anual como mínimo, con incremento a campañas semestrales en etapas de alta actividad minera o cuando los resultados muestren variaciones significativas.

## II.9 Controles de calidad

Se pueden incluir duplicados de muestras para evaluar la **precisión** y la **fiabilidad** tanto del proceso de muestreo en campo como del análisis en laboratorio. Se recomienda realizar **un duplicado por cada 10 muestras** .

Por cada unidad muestral (Bolsa) se deben realizar tres mediciones (replicas) de cada parámetro. Se aceptará una variabilidad de mas/menos un 25% del valor medio de las tres replicas (variabilidad natural) para cada parámetro. Los valores que no cumplan con este criterio serán descartados y deberán determinarse nuevamente.

## II.10 Informe de resultados

Presentar informes técnicos que incluyan:

- Mapas de distribución de sitios
- Resultados del contenido elemental, parámetros fisiológicos, relación E/C e índices fisiológicos.
- Análisis estadísticos (ANOVA, EFA)
- Interpretación de los resultados
- Conclusiones y recomendaciones

## II.11 Almacenamiento de información

Mantener un registro digital y físico en el Ministerio de Minería y en la empresa minera, con respaldo seguro y acceso restringido.

## II.12 Recursos necesarios

- Personal capacitado en recolección y análisis de líquenes
- Bolsas de malla, soportes, etiquetas
- Equipo de protección personal (EPP)
- Laboratorio con capacidad para ICP-OES y/o INAA(opcional)
- Software estadístico (SPSS, INFOSTAT, R). (Opcional).

## II.13 Anexo

Fotos de referencia, tomadas del biomonitoreo realizado en Minera Alumbreira y localidades cercanas:

Foto 1: Recolección de los líquenes en sitio control



Foto 2: *Punctelia hypoleucites* sobre corteza



Foto 3: *P. hypoleucites* creciendo sobre arbustos en el área de estudio



Foto 3: Identificación de *Punctelia hypoleucites* por reacción de color con hipoclorito de sodio



Medula expuesta de color blanco antes de agregar hipoclorito de sodio.



Medula expuesta con hipoclorito de sodio cambia a color rojo (C+ rojo)

Foto 4. Preparación de las muestras para ser trasplantadas



Limpieza de los talos de *P. hypoleucites*



Pesado armado de las bolsas Liquélicas

Foto 5. Fotos de la bolsa liquénica y marco para contener las muestras y dar mayor rigidez



Bolsa liquénica de malla plástica (polietileno)

Marco de plástico con las tres muestras para cada sitio

Foto 6. Dispositivo de monitoreo y estructura de sostén, diseñados para soportar las bolsas de manera que resistan las condiciones ambientales (fuertes vientos y precipitaciones).



Foto 7. Stock pile (pila de almacenamiento), planta de procesos y botaderos



Foto 8. Camino de alto tránsito de camiones de gran porte y Durazno pit (sector de voladuras y movimiento de material).



Foto 9. Camino de alto tránsito entre el sector de chancado de material y el Open pit (sector de voladuras y movimiento de material). Botaderos a los costados del camino



Foto 10. Sector de chancado de material



Foto 11. Dique de colas y botaderos de fondo



Foto 12. Sitios de monitoreo en Alumbraera y en localidades cercanas.



Sitio 1. Chancador



Sitio 2. Dique de colas



Sitio 3. Planta de procesos y  
Stock pile



Sitio 4. Durazno Pit



Sitio 5. Campamento



Sitio 6. Amanao



Sitio 7. Hualfín



Sitio 8. Los nacimientos



Sitio 9. Sitio Control (la  
chilca)

### Créditos

Autor: Hernández y Cañas, 2025

Cómo citar este texto:

Hernández, Juan Martín; Cañas, Martha Susana; (2025). Manual de biomonitoreo de calidad de aire con líquenes en áreas mineras. Facultad de Tecnología y Ciencias Aplicadas. Universidad Nacional de Catamarca. Pág. 1-19.



Esta obra está bajo una licencia Creative Commons

Atribución-NoComercial-SinDerivadas 4.0 Internacional