

Técnicas para determinar el potencial oxidativo del material particulado fino

Jorge Milton Melo Ruiz

Monografía para Optar el Título de Especialista en Química Ambiental

Director

Kento Taro Magara Gómez

Ingeniero Químico M. Eng, Ph.D

Universidad Industrial de Santander

Facultad de Ciencias

Escuela de Química

Especialización en Química Ambiental

Bucaramanga

2019

Agradecimientos

A mi familia, por brindarme esta oportunidad de estudiar y seguir preparándome para crecer de manera personal y profesional, así como por su constante apoyo y confianza durante el desarrollo de este trabajo.

Al Dr. Kento Magara, por la oportunidad brindada, los conocimientos transmitidos y la confianza que me tuvo para el desarrollo de esta investigación.

Contenido

	Pág.
Introducción	11
1. Material particulado	13
1.1 Clasificación del material particulado	13
1.1.1 Tamaño de partícula.....	14
1.1.2 Procesos de formación.	14
1.1.3 Fuentes del material particulado.	15
1.2 Componentes del material particulado.....	17
1.2.1 Carbono elemental.	17
1.2.2 Carbono orgánico.....	17
1.2.3 Iones.....	18
1.2.4 Metales.....	20
1.3 Problemas de salud relacionados con el material particulado fino	21
2. Especies reactivas oxigenadas y nitrogenadas	26
3. Potencial oxidativo y su medición	30
3.1 Métodos biológicos para la determinación del potencial oxidativo.....	31
3.1.1 Ensayo macrófagos-ROS	32
3.1.2 Hidroxilación de ácido tereftálico.....	34

3.1.3 Ensayo de Amplex Red (AR).....	34
3.1.4 Ensayo de hidroetidina (HE).....	36
3.2 Métodos químicos para la determinación del potencial oxidativo.....	37
3.2.1 Consumo de ditioneitol (DTT).....	37
3.2.2 Depleción de ácido ascórbico (AA).....	39
3.2.3 Resonancia de espín electrónico (ESR).....	40
3.2.4 Ensayo quimioluminiscente CRAT.....	41
4. Utilidad del potencial oxidativo: Modelos receptor-fuente	43
4.1 Modelo de balance de masa químico (CMB)	44
4.2 Modelo de factorización de matriz positiva (PMF)	45
4.3 Modelo UNMIX.....	46
5. Conclusiones	47
Referencias Bibliográficas	51

Lista de Tablas

	Pág.
Tabla 1. <i>Principales fuentes relacionadas con metales</i>	21
Tabla 2. <i>Efectos sobre la salud debidos a la exposición a PM2.5</i>	24
Tabla 3. <i>Principales especies reactivas oxigenadas y nitrogenadas</i>	26

Lista de Figuras

	Pág.
<i>Figura 1.</i> Reacciones para la formación del radical hidroxilo.....	28
<i>Figura 2.</i> Formación de DCF fluorescente	33
<i>Figura 3.</i> Hidroxilación de ácido tereftálico.....	34
<i>Figura 4.</i> Mecanismo de la transformación oxidativa de Amplex Red (AR).....	35
<i>Figura 5.</i> Oxidación de hidroetidina.....	36
<i>Figura 6.</i> Oxidación de DTT con PM2.5.....	38
<i>Figura 7.</i> Reacción de DTT con DTNB	39
<i>Figura 8.</i> Oxidación de ácido ascórbico en PM y formación de ROS.	40
<i>Figura 9.</i> Mecanismo de las reacciones en el ensayo CRAT	42

Resumen

Título: Técnicas Para Determinar El Potencial Oxidativo Del Material Particulado Fino*

Autor: Jorge Milton Melo Ruiz**

Palabras Clave: Material Particulado Fino, Especies Reactivas Oxigenadas, Especies Reactivas Nitrogenadas, Potencial Oxidativo.

Descripción:

El material particulado fino (PM2.5) es un contaminante atmosférico que ha generado preocupación a nivel mundial en los últimos años con respecto a temas de salud pública, debido a que la evidencia obtenida de estudios epidemiológicos y toxicológicos indica que su presencia en el medio ambiente altera las condiciones climáticas y favorece la generación de sustancias químicas conocidas como especies reactivas oxigenadas (ROS) y nitrogenadas (RNS), cuyas cantidades excesivas alteran el equilibrio celular de los organismos vivos y contribuyen al aumento de enfermedades respiratorias, cardiovasculares e incluso neurodegenerativas. No obstante, existe una propiedad denominada “potencial oxidativo”, que permite medir la capacidad que tiene el PM2.5 para generar ROS y RNS en organismos biológicos, la cual integra varios aspectos relevantes como el tamaño, la superficie y la composición química de este. Recientemente, se han desarrollado técnicas biológicas y químicas que permiten cuantificar el potencial oxidativo, convirtiéndolas en herramientas útiles para predecir los niveles de toxicidad relacionados con la exposición a PM2.5 y conocer el riesgo que representa para la salud de la población. Además, estos valores obtenidos pueden ser comparados posteriormente con resultados de modelos estadísticos que permiten identificar las principales fuentes generadoras de este contaminante y su respectiva distribución en la atmósfera, lo que conlleva al desarrollo de estrategias efectivas para controlar estas emisiones y mitigar la contaminación ambiental junto con sus impactos sobre la salud.

* Trabajo de grado

** Facultad de Ciencias. Escuela de Química. Director: Kento Taro Magara Gómez, Ingeniero Químico.

Abstract

Title: Techniques To Determine The Oxidative Potential Of Fine Particulate Matter*

Author: Jorge Milton Melo Ruiz**

Keywords: Fine Particulate Matter, Reactive Oxygen Species, Reactive Nitrogen Species, Oxidative Potential.

Description:

Fine particulate matter (PM2.5) is an atmospheric pollutant that has generated global concern in recent years with respect to public health issues, because the evidence obtained from epidemiological and toxicological studies indicates that its presence in the environment alters climatic conditions and favors the generation of chemical substances known as reactive oxygen species (ROS) and reactive nitrogen species (RNS), whose excessive amounts alter the cellular balance of living organisms and contribute to the increase of respiratory, cardiovascular and even neurodegenerative diseases. However, there is a property called "oxidative potential" that allows measuring the capacity of PM2.5 to generate ROS and RNS in biological organisms, which integrates several important aspects such as its size, surface and chemical composition. Recently, biological and chemical techniques have been developed to quantify the oxidative potential, becoming useful tools to predict toxicity levels related to PM2.5 exposure and know the risk it represents for the population health. In addition, these obtained values can be compared later with the results of statistical models that allow identifying the main sources of this pollutant and its respective distribution in the atmosphere, which leads to the development of effective strategies, in order to control these emissions and mitigate environmental pollution along with its impacts on health.

* Degree work

** Sciences Department. Chemistry School. Director: Kento Taro Magara Gómez, Chemical Engineer

Introducción

El crecimiento de la población y la expansión de los procesos de urbanización e industrialización han provocado un aumento de la contaminación atmosférica a nivel mundial. Este deterioro en la calidad del aire ha generado efectos adversos para la salud de la población en los últimos años, especialmente en ancianos y niños. Diversos estudios han relacionado al material particulado (PM) como el principal agente contaminante causante de una amplia gama de enfermedades que conducen a una reducción significativa de la expectativa de vida en el ser humano, debido a sus características fisicoquímicas y a la gran cantidad de sustancias nocivas que hacen parte de su composición, la cual varía espacial y temporalmente de acuerdo a las condiciones meteorológicas y fuentes de emisión (Janssen *et al.*, 2014), que pueden ser naturales o antropogénicas. Por lo tanto, siempre hay incertidumbre sobre qué componentes químicos son más nocivos, y a pesar de los importantes avances para reducir la contaminación atmosférica, el control de los niveles de concentración de PM en el entorno urbano sigue siendo un problema grave de salud pública, incluso cuando se encuentran a niveles muy bajos de exposición con respecto a las normas internacionales.

Otro aspecto importante es la generación de especies reactivas oxigenadas (ROS) y nitrogenadas (RNS), las cuales se producen directamente a partir de reacciones químicas en la superficie del PM, o indirectamente cuando este interactúa con las células o tejidos de los órganos, especialmente los pulmones (Yang *et al.*, 2014). Estas sustancias son las encargadas de causar enfermedades cuando se encuentran en exceso, debido a que alteran el equilibrio celular y pueden generar sustancias nocivas para el organismo cuando reaccionan químicamente entre

ellas (Corrales & Ariza, 2012). No obstante, existe una propiedad denominada “potencial oxidativo”, que permite medir la capacidad que tiene el PM para generar ROS y RNS en organismos biológicos (Conte *et al.*, 2017); por consiguiente, es muy útil para predecir qué tan nociva puede llegar a ser la exposición para la salud de las personas que habitan o permanecen en un lugar determinado. Además, es una medida atractiva porque integra varias propiedades biológicamente relevantes, incluido el tamaño, la superficie y la composición química del PM (Tuet *et al.*, 2016; Samek *et al.*, 2017). Sin embargo, la relación entre ROS, RNS y su toxicidad asociada al PM es un tema innovador cuyas investigaciones se encuentran aún en desarrollo y no se ha publicado suficiente información que permita conocer acerca de todos sus efectos nocivos sobre la salud humana. Asimismo, el desarrollo de técnicas para determinar el potencial oxidativo del PM es un campo de investigación que ha tenido un gran auge en los últimos años por su importancia en temas epidemiológicos y de salud pública (Styszko *et al.*, 2017); siendo también un tema innovador que se encuentra en constante movimiento investigativo y del cual no se cuenta con una gran cantidad de información aceptada por la comunidad científica internacional. Por lo tanto, se pretende recopilar y dar a conocer la mayor cantidad posible de información relevante acerca de dichos temas, para que sirva como herramienta en futuras investigaciones y se puedan plantear alternativas que disminuyan el riesgo para la salud de la población.

1. Material particulado

El material particulado (PM) es una mezcla heterogénea de pequeñas partículas sólidas y líquidas suspendidas en el aire, cuya composición química varía espacial y temporalmente de acuerdo a las condiciones meteorológicas y sus fuentes de emisión (Janssen *et al.*, 2014); contiene generalmente compuestos de metales de transición (cobre, hierro, manganeso, níquel), iones inorgánicos (sulfato, nitrato, amonio), moléculas pequeñas reactivas adsorbidas (NO_x, ozono, dióxido de azufre, peróxido de hidrógeno), compuestos orgánicos (hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAP), HAPs nitro-sustituidos, plaguicidas clorados, etc.), materiales biológicos (endotoxinas, virus, fragmentos celulares), minerales (cuarzo, polvo del suelo) y especies carbonáceas como el hollín (Mikrut *et al.*, 2018). Esta variedad en su naturaleza y composición permite que el PM sea considerado como el contaminante atmosférico más complejo; además, la diversidad de las fuentes contaminantes y los diferentes mecanismos de formación aumentan la complejidad del estudio de estas partículas (González *et al.*, 2018).

1.1 Clasificación del material particulado

Existen varios criterios por los cuales se puede clasificar el material particulado. Estos son:

1.1.1 Tamaño de partícula. El diámetro aerodinámico del PM es uno de los criterios principales para describir su capacidad de transporte en la atmósfera o la capacidad de inhalación a través del sistema respiratorio. De acuerdo a esto, el PM se clasifica en las siguientes categorías:

- **Grueso:** Material particulado con diámetro aerodinámico entre 2.5 – 10 μm , denominado PM10.
- **Fino:** Material particulado con diámetro aerodinámico entre 0.1 – 2.5 μm , denominado PM2.5.
- **Ultrafino:** Material particulado con diámetro aerodinámico inferior a 100 nm, denominado PM0.1.

Cabe resaltar que la Agencia de Protección Ambiental de Estados Unidos (EPA) no tiene en cuenta la categoría de material particulado ultrafino, debido a que sus estudios se encuentran aún en la primera etapa de investigación. Además, la cantidad de partículas presentes en el aire es despreciable con respecto al PM2.5, por lo que se consideran parte de este último al momento de realizar estudios (Kim, Kabir & Kabir, 2015).

1.1.2 Procesos de formación. De acuerdo con los procesos de formación, las partículas se clasifican en:

Partículas primarias: Se liberan directamente desde su fuente a la atmósfera, principalmente por combustión y otros procesos industriales, sin presentar cambios después de su emisión (Kelly & Fussell, 2012).

Partículas secundarias: Se generan a través de reacciones químicas, que involucran gases precursores, entre diferentes partículas primarias en la atmósfera, por ejemplo, sulfatos y nitratos formados a partir de la conversión de SO₂ y NO₂ en sus respectivos ácidos (Wu *et al.*, 2018). En comparación con las partículas primarias, los procesos químicos implicados en la formación de las secundarias son relativamente lentos y su persistencia en la atmósfera es prolongada. La importancia de estas partículas radica en que se derivan principalmente de fuentes antropogénicas y están conformadas en su mayoría por PM fino (Kelly & Fussell, 2012).

1.1.3 Fuentes del material particulado. El material particulado es emitido a la atmósfera mediante procesos naturales o fuentes biogénicas, y a partir de actividades desarrolladas por el hombre o fuentes antropogénicas.

Fuentes naturales o biogénicas: Son aquellas emitidas por volcanes, tormentas de arena, vegetación viva y rocío marino. Incluyen PM a partir de polvo de suelos no urbanos y no agrícolas (erosiones naturales), sal marina, emisiones de polen, esporas por parte de algunas plantas y hongos, así como partículas que resultan de la oxidación de compuestos orgánicos volátiles de la vegetación (Martins & Carrilho da Graça, 2018). Estas fuentes difunden generalmente PM grueso.

Fuentes antropogénicas: Son muy variables e incluyen el uso de combustibles fósiles (carbón, lignito, crudos pesados) y alternativos como biomasa y biodiesel, además de actividades industriales (refinerías de petróleo, instalaciones de procesamiento de metales, plantas de energía), así como la quema de basura (residuos sólidos municipales), incendios forestales y la erosión del pavimento debido al tránsito y la abrasión generada por frenos y neumáticos (Bandyopadhyay, 2016). Además, existen fuentes interiores de PM que incluyen actividades cotidianas (cocinar, barrer, limpiar el polvo y aspirar), combustión de madera, humo de tabaco, materiales de construcción (alfombras, pisos, pintura y plásticos) y el uso de varios productos como aerosoles, detergentes, cosméticos, etc (Oliveira *et al.*, 2019).

Cabe resaltar que las partículas de PM2.5 resultan principalmente de los procesos de combustión referentes al tráfico y la industria, y su composición a menudo está dominada por sulfatos, nitratos y carbono elemental y orgánico (Martinelli, Olivieri & Girelli, 2013). Por otro lado, las partículas de PM10 no se generan principalmente por combustión, sino por procesos mecánicos y están asociadas con liberaciones superficiales o fugitivas por una variedad de actividades humanas como la agricultura, actividades de construcción y demolición, emisiones debidas al desgaste de llantas y operaciones mineras, o naturales como la erosión (Bandyopadhyay, 2016). Los materiales de la corteza terrestre, como los silicatos y metales, representan una gran fracción de estas partículas gruesas.

1.2 Componentes del material particulado

Como se mencionó anteriormente, la composición del PM varía considerablemente con respecto al espacio y el tiempo; sin embargo, sus componentes principales se clasifican en las siguientes categorías:

1.2.1 Carbono elemental. También llamado hollín, está compuesto principalmente de carbono y presenta una estructura química similar al grafito impuro (Van Eldik *et al.*, 2017), el cual se forma a partir de la combustión incompleta de materiales orgánicos, tales como carbón, petróleo, gasolina, madera y biomasa (Satsangi *et al.*, 2012). Es una sustancia muy estable y no se oxida fácilmente ni participa en reacciones fotoquímicas (Yuan *et al.*, 2016), sin embargo, puede absorber efectivamente radiación solar, afectando la estabilidad atmosférica y el clima global (Zhang *et al.*, 2017).

1.2.2 Carbono orgánico. Es una mezcla de cientos de compuestos orgánicos que se forman a partir de diversas fuentes y procesos atmosféricos que incluyen el uso de combustibles fósiles, emisiones vehiculares, quema de biomasa, actividades industriales, fuentes naturales y reacciones atmosféricas secundarias (Schauer *et al.*, 2014; Zhao *et al.*, 2015).

A diferencia del carbono elemental, el carbono orgánico se emite directamente a la atmósfera o puede producirse en esta a través de reacciones químicas de compuestos orgánicos volátiles precursores (Bougiatioti *et al.*, 2013; Yoon *et al.*, 2018). Algunas sustancias que pertenecen a este grupo son mutagénicas y/o cancerígenas como los hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAP), las dibenzo-*p*-dioxinas policloradas y los dibenzofuranos (Agarwal *et al.*, 2015).

La fracción orgánica soluble en agua de las partículas atmosféricas, generalmente cuantificada como carbono orgánico soluble en agua (WSOC), representa una fracción altamente variable (10–80%) de carbono orgánico, la cual depende de las condiciones climáticas, la ubicación, la hora del día y el tamaño de partícula (Frka *et al.*, 2018). Está constituida principalmente por compuestos alifáticos o alifáticos oxigenados (alcoholes, ácidos carboxílicos, aldehídos, cetonas, etc.), con un contenido menor de anillos aromáticos que presentan grupos carboxílicos y fenólicos (Yuan *et al.*, 2016), los cuales desempeñan un papel importante en la visibilidad, el cambio climático y la formación de nubes (Wen *et al.*, 2018). Además, pueden causar efectos negativos en la salud humana al aumentar la solubilidad de contaminantes tóxicos, conduciendo al asma y otras enfermedades (Domingos *et al.*, 2012).

1.2.3 Iones. Los iones predominantes en el PM corresponden a los aniones conocidos como sulfato (SO_4^{2-}), nitrato (NO_3^-) y cloruro (Cl^-), así como los cationes amonio (NH_4^+), calcio (Ca^{2+}), magnesio (Mg^{2+}), potasio (K^+) y sodio (Na^+) (Song *et al.*, 2019), los cuales se originan a partir de fuentes antropogénicas (quema de combustibles, biomasa e industrial) y biogénicas (emisiones de vegetación, suspensión de partículas y rocío marino), así como procesos secundarios (reacciones fotoquímicas y conversión de gases a partículas), que a su vez, contribuyen a la acidez troposférica, lluvia ácida y cambio climático (Domingos *et al.*, 2012).

Algunos iones solubles en agua tales como Na^+ , Cl^- , Mg^{2+} , Ca^{2+} y NO_3^- , están presentes principalmente en la fracción gruesa (PM10) debido a sus fuentes (polvo mineral y sal marina), así como sus mecanismos de formación. Por otra parte, en la fracción fina (PM2.5), la mayor parte de la masa puede atribuirse a los iones hidrosolubles NH_4^+ y SO_4^{2-} , (Bougiatioti *et al.*, 2013). Estos iones inorgánicos pueden afectar la cantidad, el tamaño, la composición, la acidez y

la vida útil de las partículas atmosféricas debido a su fuerte propiedad higroscópica (Yuan *et al.*, 2016), además, los iones solubles en agua se transfieren desde la atmósfera a otros medios como el suelo, las reservas de agua (lagos, ríos, aguas subterráneas, océanos, etc.) y bosques, lo cual puede afectar el ciclo de nutrientes a través de estos compartimentos ambientales, y en algunos casos, conducir a la eutrofización (Domingos *et al.*, 2012).

El catión NH_4^+ se origina principalmente a partir de la neutralización entre amoníaco (NH_3) y especies ácidas, en actividades como cría de animales, uso de fertilizantes y descomposición orgánica (Zhao *et al.*, 2015), mientras que los aniones NO_3^- y SO_4^{2-} son iones secundarios formados por la oxidación de NO_x y SO_2 , emitidos durante la quema de combustibles fósiles, emisiones vehiculares y actividades biogénicas; además, la evidencia epidemiológica ha implicado la exposición a estos iones con un aumento de enfermedades cardiovasculares (Achilleos *et al.*, 2017). Por otra parte, las partículas de Na^+ y Cl^- generalmente se derivan de la sal marina, así como de actividades industriales, quema de vegetación, emisiones vehiculares e incineración de residuos (Song *et al.*, 2019).

El catión K^+ puede derivarse de sales marinas, silicatos, suelos calcáreos y emisiones biogénicas, así como de la quema de biomasa, carbón y emisiones vehiculares; asimismo, el catión Ca^{2+} se origina a partir de sal marina, partículas de suelo erosionadas y polvo debido al tráfico vehicular (Yuan *et al.*, 2016).

1.2.4 Metales. Los organismos vivos generalmente necesitan cantidades mínimas de elementos metálicos para una buena salud, sin embargo, grandes cantidades de estos pueden causar toxicidad crónica o aguda (Csavina *et al.*, 2012); algunos ejemplos son hierro (Fe), calcio (Ca), magnesio (Mg) y sodio (Na), los cuales provienen de la corteza terrestre (Agarwal *et al.*, 2015).

Otros metales como As, Cd y Cr, han sido identificados como cancerígenos y la exposición a estos metales representa un asunto de salud pública, dado que pueden provocar enfermedades degenerativas como Alzheimer, Parkinson, distrofia muscular y esclerosis múltiple (Shafer *et al.*, 2010). La EPA ha designado a los metales arsénico (As), mercurio (Hg), antimonio (Sb), plomo (Pb), cadmio (Cd), cromo (Cr) y berilio (Be) como contaminantes tóxicos del aire, debido a sus efectos como venenos metabólicos y/o cancerígenos (Lucarelli *et al.*, 2019). Además, metales como níquel (Ni), vanadio (V), aluminio (Al), silicio (Si), plomo (Pb), zinc (Zn), hierro (Fe) y cobre (Cu) se han asociado con efectos negativos a la salud, relacionados con los sistemas respiratorio y cardiovascular (Lyu *et al.*, 2018).

Los metales pesados pueden ser emitidos en el ambiente atmosférico a través de actividades naturales como erupciones volcánicas y tormentas de arena; no obstante, en las áreas urbanas están directamente relacionados con diversas fuentes móviles y estacionarias, como la actividad industrial, tráfico vehicular, desgaste de edificios y pavimentos, uso de combustibles fósiles, consumo de tabaco e incineración de basura (Soleimani *et al.*, 2018). Las emisiones propias del tráfico vehicular se pueden generar a partir de fuentes vinculadas con los gases de escape, incluida la quema de combustible y lubricante, convertidores catalíticos, filtros de partículas y corrosión del motor (Pant & Harrison, 2013); además, los metales pesados en el polvo de la carretera y el transporte no se pueden eliminar fácilmente y pueden difundirse a la atmósfera,

para finalmente permanecer en entornos urbanos durante largos períodos de tiempo (Soleimani *et al.*, 2018). En la Tabla se presentan las principales fuentes emisoras de metales.

Tabla 1.

Principales fuentes relacionadas con metales

Tipo de fuente	Metales asociados
Diesel	Al, Ca, Cu, Fe, Mg, Mn, V, Zn
Gasolina	Sr, Cu, Mn
Aceite lubricante	Fe, Ca, Zn, Mg
Catalizadores de combustible	Fe, Mn, Ce
Diesel (transporte marítimo)	Al, Ca, Fe, Ni, V, Zn
Otras fuentes vehiculares	
Frenos	Fe, Cu, Sn, Zn
Neumáticos	Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Mn, Pb
Polvo generado en carretera	Zn, Al, K, Fe, Na, Mn
Fuentes industriales	
Metalurgia	Fe, K, Na, Pb, Zn
Generación de energía	Ce, Fe, La, Na, K, V
Incineradores	Cd, Pb, Sb, Zn

Nota: Editada de Sanderson, Delgado-Saborit & Harrison (2014).

1.3 Problemas de salud relacionados con el material particulado fino

Los impactos de PM2.5 en temas de salud pública se han convertido en una gran preocupación a nivel mundial y están relacionados con el aumento de enfermedades respiratorias, cardiovasculares e incluso neurodegenerativas. Para reducir estos efectos nocivos, la

Organización Mundial de la Salud (OMS) ha establecido límites de exposición anual y diario para PM2.5 de $10 \mu\text{g}/\text{m}^3$ y $25 \mu\text{g}/\text{m}^3$, respectivamente (Vodonos, Awad & Schwartz, 2018); sin embargo, debido a la heterogeneidad en sus propiedades químicas y físicas, no existe una dosis tóxica establecida para este contaminante, e incluso, su exposición a una concentración por debajo de estos valores estándar representa un riesgo significativo para la salud (Wu *et al.*, 2018). Con relación al tiempo de vida del PM2.5, se establece que es del orden de días a semanas y se ha demostrado que puede viajar a miles de kilómetros, características que dan lugar a una exposición prolongada, y por ende, a un aumento en problemas de salud (Srimuruganandam & Shiva Nagendra, 2012).

Las diferentes propiedades químicas y biológicas de las partículas de PM dependen no solo del diámetro aerodinámico, sino también del tipo de componentes. De hecho, la declaración científica actualizada de AHA-2010 definió específicamente la exposición a PM2.5 como "un factor modificable que contribuye a la morbilidad y mortalidad cardiovascular" (Martinelli, Olivieri & Girelli, 2013), y se ha demostrado que la exposición a corto plazo (de algunas horas a semanas) desencadena un evento cardiovascular fatal (no mortal), mientras que la exposición a largo plazo a las mismas partículas se asocia con una reducción aún mayor de la expectativa de vida. Los constituyentes de PM2.5, en particular carbono (orgánico y elemental) y nitratos, se asocian con la mortalidad total y morbilidad cardiovascular, lo que sugiere un papel predominante de los contaminantes asociados a la combustión (Martinelli, Olivieri & Girelli, 2013). También se ha demostrado que el riesgo de muerte aumenta cuando la masa de PM2.5 contiene una mayor proporción de aluminio, arsénico, sulfato, silicio y níquel. En 2013, la Agencia Internacional de Investigación sobre el Cáncer clasificó la contaminación del aire

exterior y al PM como cancerígeno probado para los humanos (Grupo 1) (Santibáñez-Andrade *et al.*, 2017).

Las partículas más grandes en el rango PM10 pueden ingresar al sistema respiratorio, pero no pueden penetrar en los alvéolos pulmonares y generalmente quedan atrapadas en las vías respiratorias superiores (Jo *et al.*, 2017). El aparato respiratorio, y en especial las fosas nasales actúan como un filtro muy efectivo para la mayoría de las partículas que exceden 10 μm de diámetro (PM grueso). Debido a que la fracción de PM gruesa se asienta rápidamente, tiende a alojarse en la tráquea (garganta superior) o en los bronquios. Si inhalamos este PM, se recogerá inicialmente en nuestra nariz y garganta; por consiguiente, nuestro cuerpo reaccionará para eliminar estas partículas invasoras a través de procesos normales de defensa como estornudar y toser (Kim, Kabir & Kabir, 2015). Sin embargo, el PM2.5 no solo puede penetrar en la región de intercambio de gases del pulmón, sino también atravesar la barrera respiratoria e ingresar al torrente sanguíneo, y a su vez a otros órganos, como el corazón y el cerebro, dañando su estructura celular y afectando su normal funcionamiento (Martins & Carrilho da Graça, 2018). La mayor área superficial específica de PM2.5 también le facilita para estar ligada a compuestos tóxicos como metales de transición e hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAP), y por ende, está más asociado con efectos adversos a la salud que las partículas gruesas. Además, las guías de calidad del aire de la Organización Mundial de la Salud 2006 recomendaron a PM2.5 (en lugar de PM10) como indicador de contaminación por partículas en el aire, convirtiéndose cada vez más en un asunto de preocupación mundial con respecto a salud pública (Feng *et al.*, 2016). En la Tabla se evidencian diversos estudios y los efectos negativos sobre la salud debido a la exposición al material particulado fino PM2.5.

Tabla 2.

Efectos sobre la salud debidos a la exposición a PM2.5

Impactos sobre la salud	Autor	Año
La concentración elevada de exposición a PM2.5 está fuertemente asociada con infarto de miocardio, cardiopatía isquémica, disritmias, insuficiencia cardíaca, paro cardíaco, aumento del grosor de la íntima media carotídea, una medida de la aterosclerosis subclínica.	Rai	2016
Las exposiciones a la contaminación del aire ambiente y al humo de tabaco se han asociado con un mayor riesgo de infarto de miocardio y mortalidad cardiovascular.	Baumgartner <i>et al.</i>	2011
Aunque se pueden detectar partículas en muchos órganos, como los pulmones, el hígado, los riñones, el corazón y el cerebro, sus patrones de deposición muestran que los pulmones son el sitio primario.	Wu <i>et al.</i>	2018
La evidencia epidemiológica sugiere fuertemente que el PM aerotransportado se asocia con un aumento de la morbilidad y la mortalidad por enfermedades respiratorias como el asma, la enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC) y el cáncer de pulmón.	Santibáñez-Andrade <i>et al.</i>	2017
En los niños, la contaminación del aire aumenta la prevalencia y la incidencia del asma; en todos los grupos de edad, se asocia con exacerbaciones agudas de asma, bronquitis, enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC) e ingresos hospitalarios por enfermedades respiratorias.	Jo <i>et al.</i>	2017

Tabla 2. *Continuación*

Impactos sobre la salud	Autor	Año
La concentración de PM2.5 se ha relacionado con varias manifestaciones clínicas de enfermedades cardiovasculares (ECV), que incluyen infarto de miocardio, accidente cerebrovascular, insuficiencia cardíaca, arritmias y tromboembolismo venoso.	Martinelli, Olivieri & Girelli	2013
Las concentraciones en masa en el aire de material particulado fino (PM2.5) se han asociado con morbilidad y mortalidad respiratoria y cardiovascular, así como con inflamación pulmonar y sistémica en estudios en humanos.	Delfino <i>et al.</i>	2010
Una exposición a corto plazo a PM2.5 ambiental puede causar cardiopatías isquémicas y muertes por obstrucción pulmonar crónica. La EPOC es un bloqueo irreparable de las vías respiratorias causado por inflamación de los pulmones debido a la deposición de PM2.5.	De Marco <i>et al.</i>	2018
PM2.5 no solo está relacionado con un mayor riesgo de hospitalización y mortalidad por enfermedades cardiopulmonares, sino también con el desarrollo y la progresión de trastornos neurodegenerativos, como el Alzheimer y el Parkinson.	Chen, Li & Sang	2017
La exposición prolongada a PM2.5 se asocia con un aumento de la mortalidad como enfermedad cerebrovascular (accidente cerebrovascular), enfermedad cardíaca isquémica, enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC) y cáncer de pulmón en adultos y una mayor incidencia de infección aguda de las vías respiratorias inferiores en los niños menores de 5 años.	Maji, Arora & Dikshit	2018
PM2.5 puede alterar la función del sistema nervioso autónomo cardíaco y reducir la variabilidad de la frecuencia cardíaca, que se considera un factor de riesgo independiente de morbilidad y mortalidad cardiovascular.	Feng <i>et al.</i>	2016
Los componentes específicos de PM2.5 (nitrato, sulfato, carbono orgánico y carbono elemental) se asocian individualmente con las visitas a la sala de emergencia por derrame cerebral hemorrágico.	Babadjouni <i>et al.</i>	2017

2. Especies reactivas oxigenadas y nitrogenadas

Las especies reactivas oxigenadas (ROS) y nitrogenadas (RNS) se forman como subproductos del metabolismo en los organismos aeróbicos, y están involucradas en la oxidación de varias macromoléculas biológicamente importantes, como proteínas, ácidos nucleicos, lípidos y carbohidratos (Samek *et al.*, 2018); sin embargo, también se producen como resultado de la exposición a factores exógenos tales como contaminantes ambientales, humo de tabaco y radiación ionizante (Griendling *et al.*, 2016). La mayoría de las ROS y RNS son radicales libres relativamente inestables centrados en el oxígeno o el nitrógeno que contienen electrones no apareados (la vida media biológica es de microsegundos a milisegundos); no obstante, también incluyen especies más estables, como peróxidos y nitrosotioles, cuya vida media biológica es de unos cuantos segundos (Griendling *et al.*, 2016). Las principales ROS y RNS generadas en sistemas biológicos se presentan en la Tabla .

Tabla 3.

Principales especies reactivas oxigenadas y nitrogenadas

Fórmula	Nombre	Características
Especies reactivas oxigenadas		
$^1\text{O}_2$	Oxígeno singlete	Estado de oxígeno molecular excitado electrónicamente
H_2O_2	Peróxido de hidrógeno	El peróxido más simple con enlace simple oxígeno- oxígeno
O_2^-	Anión superóxido	Radical libre, producto de reducción de oxígeno molecular ($1 e^-$)
$\text{HOO}\cdot$	Radical hidroperoxilo	Radical libre, forma protonada de superóxido
$\text{HO}\cdot$	Radical hidroxilo	Radical libre; forma neutra del ion hidróxido (HO^-)

Tabla 3. *Continuación*

Fórmula	Nombre	Características
Especies reactivas oxigenadas		
O ₃	Ozono	Trioxígeno, un alótropo de oxígeno
OCl ⁻	Anión hipocloruro	Anión en la sal proveniente de ácido hipocloroso
ROOH	Hidroperóxido	Peróxido orgánico, radical peroxilo protonado
ROO·	Radical peroxilo	Radical libre, lipídico cuando R es un carbono lipídico
RO·	Radical alcoxilo	Radical libre, lipídico cuando R es un carbono lipídico
Especies reactivas nitrogenadas		
·NO	Óxido nítrico	Radical libre centrado en el nitrógeno
N ₂ O	Óxido nitroso	Conocido como gas de la risa, reacciona con el oxígeno para generar óxido nítrico
ONOO ⁻	Peroxinitrito	Producto de la reacción entre superóxido y óxido nítrico
·NO ₂	Dióxido de nitrógeno	Radical libre, derivado del peroxinitrito
N ₂ O ₃	Trióxido de dinitrógeno	Producto de reacción entre óxido nítrico y dióxido de nitrógeno
ONOOH	Ácido peroxinitroso	Forma protonada de peroxinitrito
NO ⁻	Anión nitroxilo	Base conjugada de nitroxilo
NO ⁺	Catión nitrosilo	Conocido también como el catión nitrosonio
HNO ₂	Ácido nitroso	Ácido monobásico débil
NO ₂ Cl	Cloruro de nitrosilo	Derivado de nitrito y ácido hipocloroso
NO ₂ ⁻	Nitrito	Anión generado a partir de óxido nítrico
NO ₂ ⁺	Ion nitronio	Conocido como ion nitrilo, generado a partir de la eliminación de un electrón del dióxido de nitrógeno o la protonación del ácido nítrico
RSNOs	Nitrosotioles	Formado por la adición covalente de óxido nítrico a la cisteína y proteínas o residuos de sulfhidrilo no proteicos

Nota: Editado de Griendling *et al* (2016).

En los organismos vivos, los radicales libres están involucrados en la inmunidad, matando bacterias y virus; sin embargo, estos son muy reactivos debido a los electrones no apareados que poseen y pueden generar problemas de salud cuando se encuentran en exceso (Pan *et al.*, 2019). El radical hidroxilo (HO•) es considerado como uno de los más agresivos entre las ROS y desempeña un papel crítico en numerosos procesos patológicos, ya que puede generarse en el interior de los seres vivos mediante las reacciones de Fenton y Haber-Weiss (Corrales and Ariza, 2012). La Figura 1 permite observar estos procesos de formación.

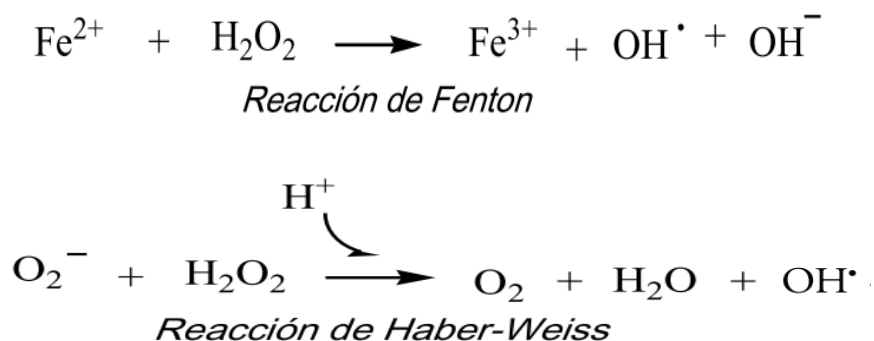


Figura 1. Reacciones para la formación del radical hidroxilo. Adaptado de Corrales & Ariza (2012).

Debido a su alta reactividad, las ROS y RNS reaccionan fácilmente con prácticamente todas las moléculas biológicas, y su sobreproducción puede causar daños a muchos constituyentes celulares (Wang, 2016). La exposición a factores ambientales como el PM provoca un aumento en el nivel de ROS a través de procesos celulares exógenos o endógenos, lo que conlleva a efectos toxicológicos que conducen a la inflamación sistémica y generación de enfermedades (Park *et al.*, 2018). Para el caso del PM2.5, estas especies se pueden generar directamente a través de reacciones químicas llevadas a cabo en la superficie de las partículas, o indirectamente

cuando estas interactúan con las células, tejidos u órganos (Yang *et al.*, 2014). En tal caso, la bioquímica redox que involucra la producción de ROS y RNS, depende en gran medida de la composición del PM en el aire, además de otras propiedades como su solubilidad y morfología (estructura, porosidad, distribución de tamaño, área de superficie, etc.) (Van Eldik *et al.*, 2017). Con una disminución en el tamaño de partícula, el área de superficie aumenta y tiene un mayor efecto catalítico en la generación de dichas especies reactivas, y por consiguiente, una disminución en el tamaño de partícula junto con una penetración más profunda en el sistema respiratorio favorece un aumento de la toxicidad (Van Eldik *et al.*, 2017). La solubilidad de los componentes presentes en el PM es otro factor importante que influye en la reactividad y la toxicidad del mismo. Las especies solubles como los nitratos o sulfatos pueden internarse más fácilmente en las células y causar efectos adversos para la salud; además, los compuestos insolubles pueden afectar considerablemente el funcionamiento de las células fagocíticas (mecanismos naturales de defensa) mediante la producción de ROS (Samek *et al.*, 2018).

Por otra parte, los iones de metales de transición promueven la generación de radicales hidroxilo y otras especies reactivas a través de ciclos redox que operan en sistemas biológicos, causando un extenso daño a las macromoléculas celulares (Van Eldik *et al.*, 2017). Por ejemplo, en la Figura 1 se puede observar que los iones de hierro (II), en presencia de peróxido de hidrógeno, pueden formar radicales hidroxilo y Fe^{3+} mediante la reacción de Fenton. Sin embargo, a pesar de que el hierro desempeña un papel crítico en la mayoría de los sistemas biológicos, otros metales como Cu, Cr, Co, V y Ni (en menor medida), pueden catalizar la reacción química de Fenton (Griendling *et al.*, 2016). Debido a un contenido significativo de compuestos redox metálicos biodisponibles, la exposición a PM2.5 puede generar niveles altos de ROS y RNS, provocando daño en las células al cambiar su estado redox y desencadenar una

cascada de eventos asociados con la inflamación y la respuesta del sistema inmunológico (Van Eldik *et al.*, 2017); por lo tanto, la concentración de ROS y RNS es una medida que puede ser importante para evaluar la calidad del aire en el ambiente y la posterior formación de enfermedades (Khurshid, Siegel & Kinney, 2014).

3. Potencial oxidativo y su medición

La mayoría de los estudios epidemiológicos han usado la concentración en masa de PM como medida de exposición debido a que este se encuentra regulado en $\mu\text{g PM} / \text{m}^3$ aire; sin embargo, la evidencia indica que existen otras características que están potencialmente más relacionadas a la inducción de respuestas tóxicas. El potencial oxidativo es una propiedad que permite medir la capacidad que tiene el PM para generar ROS y RNS en organismos biológicos (Conte *et al.*, 2017), el cual fue propuesto como una medida más relevante, relacionada con las respuestas biológicas a la exposición de las partículas. Además, es una medida atractiva porque integra varias propiedades biológicamente relevantes, incluido el tamaño, la superficie y la composición química del PM (Tuet *et al.*, 2016; Samek *et al.*, 2017), convirtiéndolo en una herramienta útil para predecir qué tan nociva puede ser la exposición a PM2.5 para la salud de las personas que habitan o permanecen en un lugar determinado, ya que la generación de ROS no solo afecta la salud humana sino también la capacidad oxidante de la atmósfera (Patel & Rastogi, 2018). No obstante, debido a la existencia de cientos o miles de especies químicas en PM2.5, ha sido difícil poder determinar directamente los componentes químicos relacionados con su toxicidad

inherente (Borlaza *et al.*, 2018). Por consiguiente, una medición directa o indirecta de esta debería ser útil para comprender mejor los efectos de su exposición sobre la población y el medio ambiente, lo que ha generado interés para su investigación en los últimos años por parte de la comunidad científica internacional.

La detección y cuantificación de ROS y RNS en los sistemas biológicos presenta desafíos únicos debido a la corta vida media de los radicales libres, además de los contaminantes presentes en los reactivos de laboratorio y las múltiples reacciones que experimentan, lo que lleva a una variedad de productos finales (Griendling *et al.*, 2016). Por lo tanto, estas especies requieren de métodos de detección que sean lo suficientemente sensibles al momento de realizar mediciones directas en los tejidos de interés. Para evaluar potencial oxidativo del PM se han desarrollado varios ensayos biológicos y químicos.

3.1 Métodos biológicos para la determinación del potencial oxidativo

Los ensayos biológicos o celulares miden los mecanismos bioquímicos y moleculares relacionados con la producción de ROS y RNS, inducidos por la exposición a PM2.5 (Yang *et al.*, 2014). Estos utilizan células epiteliales de las vías respiratorias y macrófagos alveolares, debido a que estas son las que primero entran en contacto con PM después de ser inhalado (Forman & Finch, 2018), generando resultados más acordes con la realidad. A continuación, se presentan los ensayos más utilizados, confiables y avalados por la comunidad científica internacional.

3.1.1 Ensayo macrófagos-ROS. Consiste en una sonda fluorescente que ha sido utilizada *in vitro* durante más de 20 años debido a su capacidad para detectar una amplia variedad de especies reactivas, tales como el peróxido de hidrógeno, los radicales hidroxilo, dióxido de nitrógeno, alcoxilo y peroxilo, así como el anión peroxinitrito (Hernández-García *et al.*, 2010; Khurshid, Siegel & Kinney, 2014). Además, este tipo de sondas han demostrado ventajas como alta sensibilidad, selectividad e imágenes en tiempo real, que pueden proporcionar información visible sobre ROS y RNS en sistemas biológicos (Wang, 2016).

Este ensayo utiliza células macrófagas alveolares de rata con el fin de cuantificar el potencial oxidativo del PM, inducido por la generación de ROS sobre la interacción de componentes de partículas redox-activas (Saffari *et al.*, 2014). Para esto se adiciona un compuesto no fluorescente denominado diacetato de 2', 7'-diclorodihidrofluoresceína (H₂DCFDA), el cual ingresa a las células para ser desacetilado por enzimas y producir 2,7-diclorodihidrofluoresceína (H₂DCF), también un compuesto no fluorescente. El H₂DCF se oxida luego por cualquier especie reactiva generada durante la respuesta celular a la exposición al PM, formando 2,7-diclorofluoresceína (DCF), altamente fluorescente y detectable (Mousavi *et al.*, 2019). En la Figura 2 se representa el mecanismo de reacción para este método. Finalmente, la concentración de DCF se cuantifica a través de un lector de microplaca espectrofotométrica (504 nm de excitación y 529 nm de emisión) en unidades de fluorescencia por masa de PM (FU µg-PM), y sirve como índice de formación de especies reactivas (Lovett *et al.*, 2018). En este ensayo se utiliza como control un polisacárido β-1,3 de D-glucosa conocido como Zymosan, con el fin de inducir respuestas de inflamación sin la introducción de bacterias y otros patógenos. Por consiguiente, los resultados se informan en unidades Zymosan estándar y el potencial oxidativo se puede medir en dos unidades diferentes: normalizada por la masa de PM (µg Zymosan / mg PM) y normalizada por

el volumen de aire (μg Zymosan / m^3 aire). Mientras que la unidad PM normalizada de masa representa el potencial oxidativo de PM intrínseco por mg de PM, la unidad normalizada por el volumen de aire representa tanto el potencial oxidativo de PM intrínseca como la concentración de PM total, que es más relevante cuando se analiza la exposición real de la población al PM ambiental (Park *et al.*, 2018).

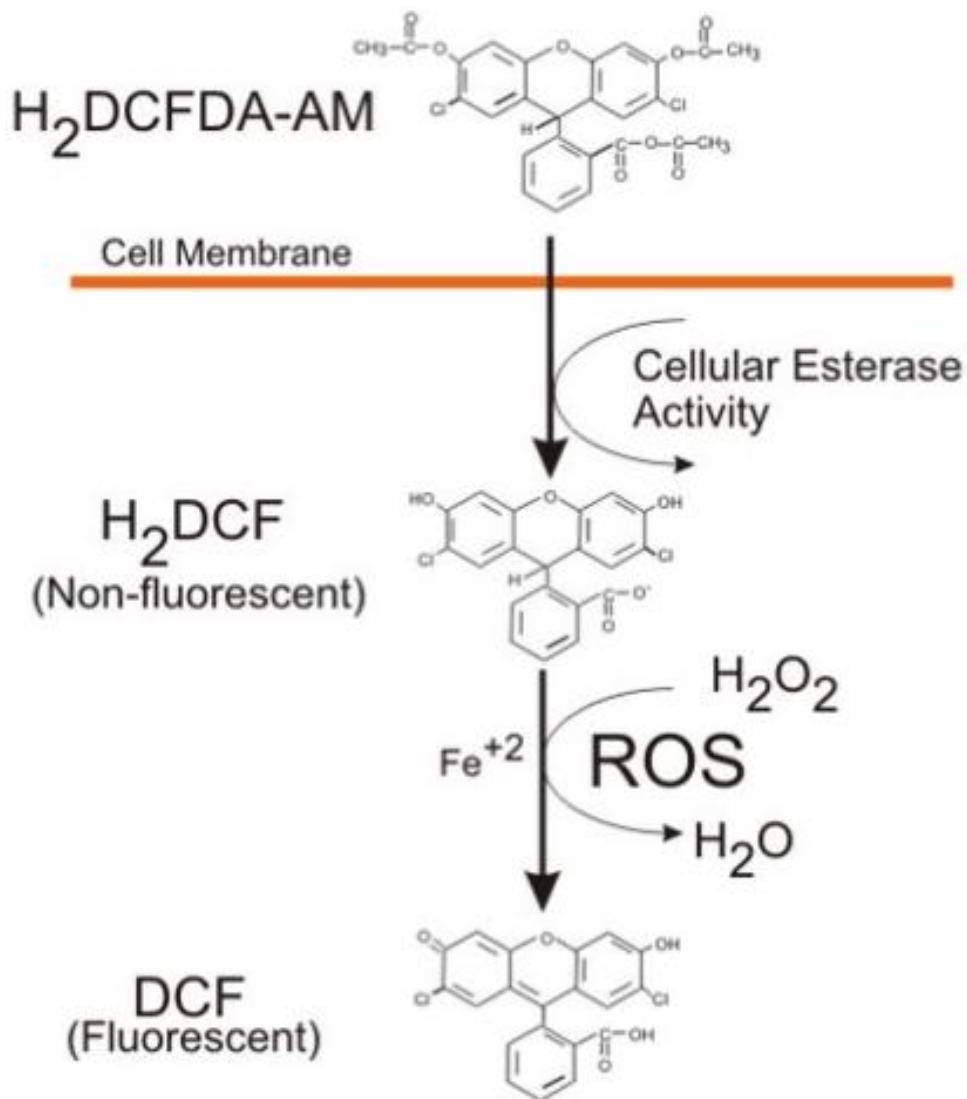


Figura 2. Formación de DCF fluorescente. Adaptado de Held (2012).

3.1.2 Hidroxilación de ácido tereftálico. Es un ensayo biológico sencillo, utilizado para determinar la cantidad de radicales hidroxilo en una muestra determinada. Para esto, el ácido tereftálico (TA) se utiliza como una sonda de fluorescencia que detecta dichos radicales hidroxilo, y la hidroxilación de TA conduce a un producto altamente fluorescente conocido como ácido hidroxitereftálico (Mikrut *et al.*, 2018). Por último, la concentración del producto formado es proporcional a la concentración de radical hidroxilo producida durante la irradiación (Figura 3).

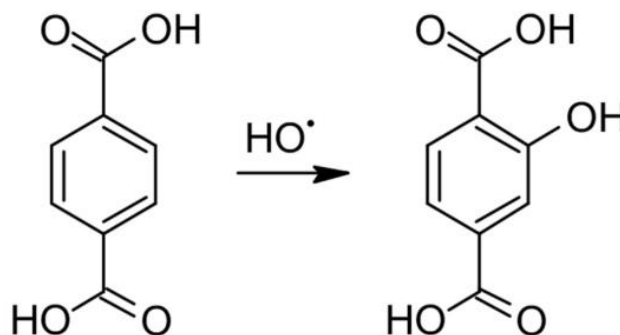


Figura 3. Hidroxilación de ácido tereftálico. Adaptado de Mikrut et al (2018).

3.1.3 Ensayo de Amplex Red (AR). Actualmente existen muy pocos métodos que proporcionan datos cuantitativos confiables sobre la producción de peróxido de hidrógeno (H₂O₂) en las células. Un método utilizado con frecuencia es el que utiliza un compuesto denominado Amplex Red (10-acetil-3,7-dihidroxifenoxazina), el cual es incoloro y no fluorescente, y al oxidarse con H₂O₂ en presencia de peroxidasa de rábano picante (HRP, por sus siglas en inglés), se transforma en una resorufina altamente fluorescente (Debowska *et al.*, 2015).

Esta se puede detectar colorimétricamente a 570 nm o por fluorescencia utilizando una excitación de 570 nm y una emisión de 585 nm. (Held, 2012). Aunque otras sustancias son

capaces de oxidar el AR a resorufina, la oxidación catalizada por HRP en presencia de H₂O₂ es altamente eficiente y aumenta enormemente el rendimiento de esta reacción. Por lo tanto, este ensayo es un método viable para medir continuamente la formación extracelular de H₂O₂ (Kalyanaraman *et al.*, 2012). En la Figura 4 se representa el mecanismo de reacción para este método.

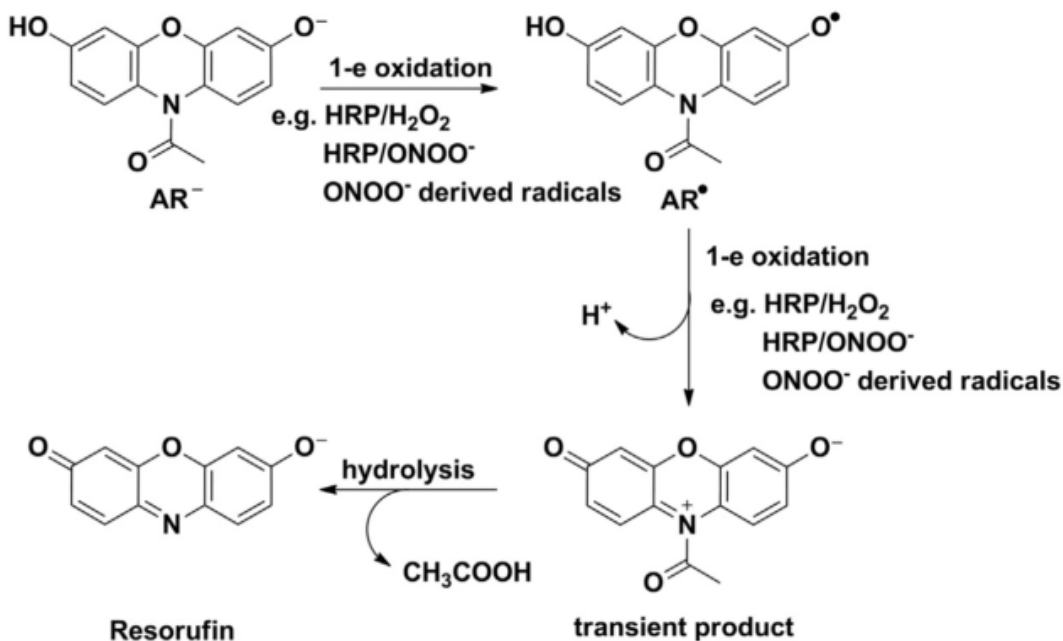


Figura 4. Mecanismo de la transformación oxidativa de Amplex Red (AR). Adaptado de Debowska et al (2015).

3.1.4 Ensayo de hidroetidina (HE). La hidroetidina (HE) es una sonda permeable a las células que reacciona con el superóxido para formar un producto marcador único (2-hidroxitidio); sin embargo, otro producto fluorescente conocido como etidio (E+) se forma en la reacción con otros oxidantes celulares (Debowska *et al.*, 2015). Para identificar el superóxido se requiere la separación de los productos por HPLC (cromatografía líquida de alta eficacia) (Forman & Finch, 2018), lo cual hace que este método sea costoso y tenga mucha incertidumbre al momento de conocer los resultados; además, dicha sonda suele ser sensible a la luz, y los procedimientos del experimento deben realizarse en ambientes oscuros (Wang, 2016). En la Figura 5 se representa el mecanismo de reacción para este método.

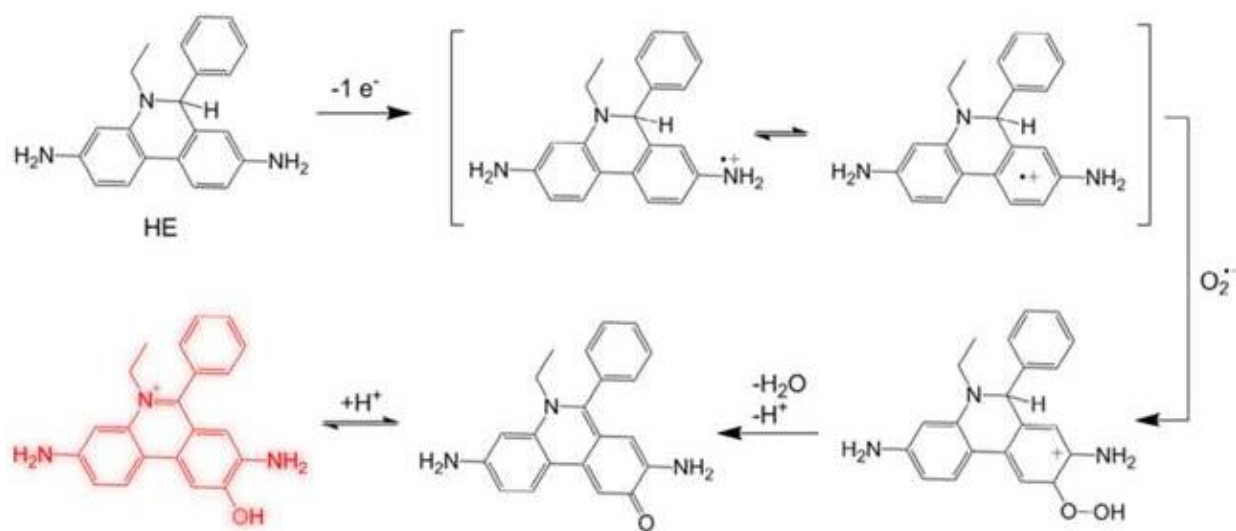


Figura 5. Oxidación de hidroetidina. Adaptado de Wang (2016).

3.2 Métodos químicos para la determinación del potencial oxidativo

Estos ensayos reflejan las propiedades químicas del PM que son responsables de la producción de ROS y RNS bajo condiciones biológicas (Yang *et al.*, 2014); además, tienen la ventaja de ser rápidos, económicos, fáciles de ejecutar y adecuados para la automatización, en comparación con las pruebas celulares (Pietrogrande *et al.*, 2019). En este tipo de ensayos, las especies activas redox presentes en PM oxidan los reactivos y el potencial oxidativo se determina como la tasa de agotamiento de esta medida con técnicas espectrofotométricas (Conte *et al.*, 2017). Los más utilizados y que están aprobados por la comunidad científica internacional son: consumo de ditiotreitól (DTT), depleción de ácido ascórbico (AA), resonancia de espín electrónico (ESR) y el ensayo quimioluminiscente CRAT.

3.2.1 Consumo de ditiotreitól (DTT). La descomposición de DTT, una especie química que reacciona con especies redox-activas en una muestra a través de reacciones de transferencia de electrones, es el método químico más utilizado actualmente como una medida del potencial oxidativo (Tuet *et al.*, 2017). El DTT es un agente reductor fuerte que forma un anillo de seis miembros con un enlace disulfuro interno cuando se oxida. El ensayo se basa en una reacción de dos pasos.

En el primer paso, los compuestos activos redox oxidan el DTT a su forma de disulfuro, que dona un electrón al oxígeno molecular disuelto formando un anión superóxido (Visentin *et al.*, 2016). Los superóxidos pueden posteriormente comprender compuestos de peróxido de hidrógeno y oxígeno, y tal ciclo redox catalizado por especies redox activas (Figura 6) es similar a los ciclos que ocurren en células vivas. La velocidad de formación de dicho disulfuro es

proporcional a la concentración de especies redox activas en la muestra cuando se agrega DTT en exceso en el ambiente de reacción (Visentin *et al.*, 2016).

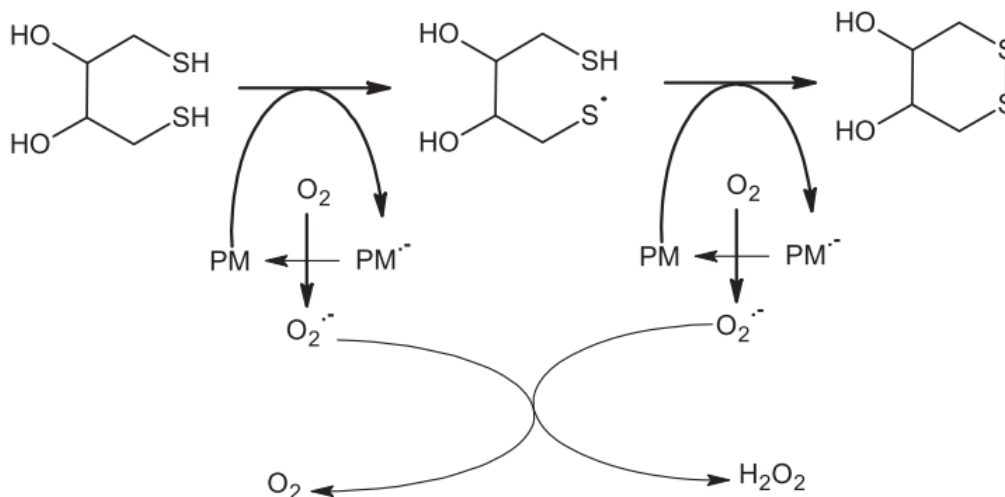


Figura 6. Oxidación de DTT con PM2.5. Adaptado de Visentin et al (2016).

En el segundo paso, el DTT restante se hace reaccionar con DTNB (5,5-ditiobis (ácido 2-nitrobenzoico), reactivo de Ellman) para generar disulfuro de DTT y ácido 2-nitro-5-tiobenzoico (TNB), tal como se presenta en la Figura 7 (Visentin *et al.*, 2016). La tasa de consumo de DTT es linealmente proporcional a la actividad redox del PM y se determina espectrofotométricamente. Por consiguiente, este ensayo cuantifica dicha actividad en función de la velocidad a la que se consume el DTT y puede normalizarse a la masa de PM recolectada en un filtro (nmol /min mg) o al volumen de aire extraído a través de un filtro (nmol /min m³) (Secret *et al.*, 2016). Sin embargo, una limitación importante del ensayo de DTT es que no es sensible a todos los compuestos que tienen capacidad para generar ROS (o contribuir al potencial oxidativo), siendo los metales un ejemplo de ello (Patel & Rastogi, 2018).

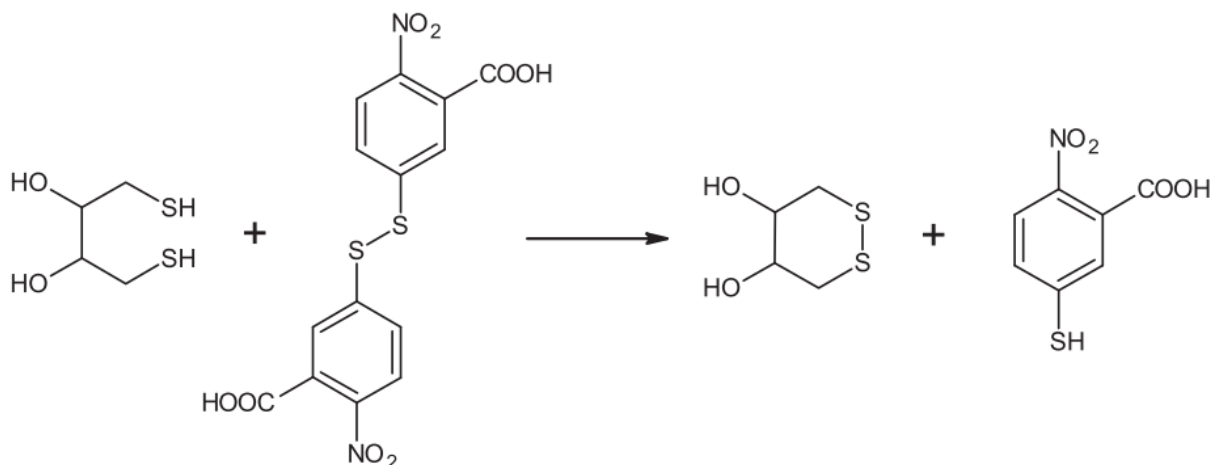


Figura 7. Reacción de DTT con DTNB. Adaptado de Visentin et al (2016).

3.2.2 Depleción de ácido ascórbico (AA). Este ensayo utiliza ácido ascórbico (AA) como modelo simplificado de los fluidos sintéticos del revestimiento del tracto respiratorio: el ácido ascórbico se oxida a ácido deshidroascórbico mientras que las especies activas redox en PM se reducen. Estas especies reducidas pueden transferir un electrón a las moléculas de oxígeno promoviendo la formación de ROS, tal como se observa en la Figura 8 (Visentin *et al.*, 2016).

En este método, la determinación del potencial oxidativo se expresa como ascorbato consumido (nmol) por masa de partículas (microgramos), y se puede medir como la tasa de agotamiento del ácido ascórbico que reacciona con las partículas, para ser analizada posteriormente mediante HPLC de fase inversa o controlando la absorbancia del AA a 265 nm durante el tiempo de reacción (Hedayat *et al.*, 2015). Sin embargo, se recomienda que esta medida se normalice luego por el volumen de aire muestreado y sea expresada como $\text{nmol}/\text{minm}^3$, como una métrica de exposición más acorde a la realidad (Pietrogrande *et al.*, 2019); además, para garantizar una medida confiable se debe diseñar una configuración de ensayo que simule las interacciones de las partículas inhaladas cuando entran en contacto con

macrófagos intersticiales en el pulmón. Esta no es una tarea fácil, ya que el líquido del revestimiento del tracto respiratorio (RTL, por sus siglas en inglés) tiene características únicas que varían en diferentes niveles del mismo (Pietrogrande *et al.*, 2019), lo que representa una gran desventaja al momento de utilizar este método para la medición de potencial oxidativo.

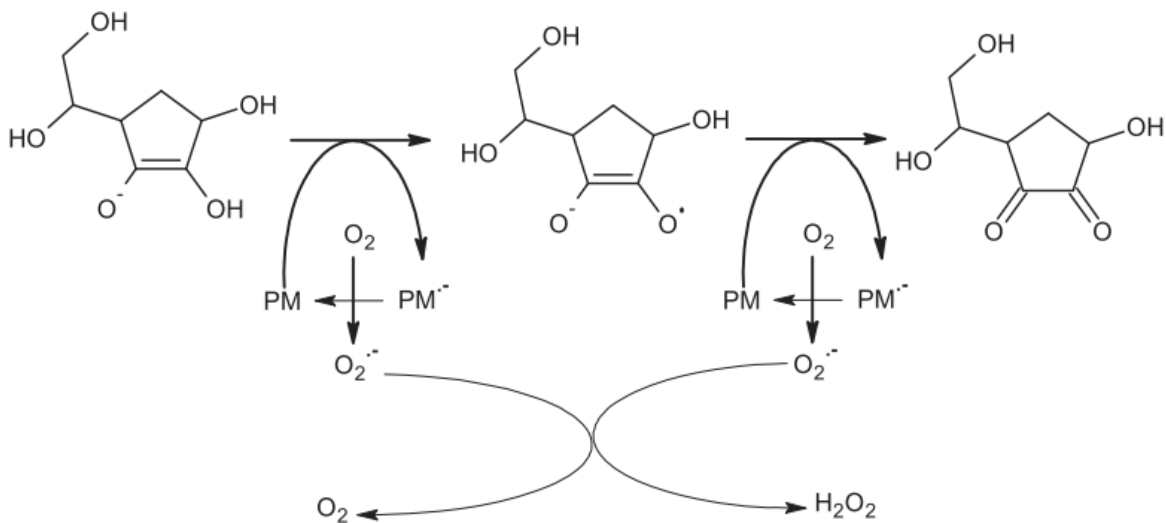


Figura 8. Oxidación de ácido ascórbico en PM y formación de ROS. Adaptado de Visentin et al (2016).

3.2.3 Resonancia de espín electrónico (ESR). La resonancia de espín de electrónico (ESR) es el único método analítico que permite la detección y cuantificación directa de radicales libres, como $\cdot NO$, superóxido e hidroxilo (Bryan *et al.*, 2012). Esta técnica utiliza 5,5-dimetilpirrolina-N-óxido (DMPO) como trampa de espín y permite medir la capacidad del PM para inducir dichos radicales (Yang *et al.*, 2014).

Sin embargo, requiere instrumentos relativamente costosos y no puede emplearse fácilmente para adquirir estimaciones cuantitativas de especies reactivas debido a muchas reacciones

secundarias durante la captura de espín. Por lo tanto, la cromatografía líquida de alto rendimiento (HPLC) se ha empleado para separar los subproductos después de la captura de ROS y RNS. La hidroxilación aromática, que surge de la reacción de ROS con compuestos aromáticos (por ejemplo, ácido salicílico, fenilalanina y 4-hidroxibenzoato), se usa generalmente para el método de HPLC. (Wang, 2016).

3.2.4 Ensayo quimioluminiscente CRAT. La reacción de quimioluminiscencia del éster de acridinio en condiciones ligeramente básicas forma la base del ensayo CRAT, donde la producción de ROS y RNS se mide a partir de la interacción de reductores y oxidantes (Zomer *et al.*, 2011). El ensayo CRAT utiliza DTT como agente reductor, conduciendo a la formación de peróxido de hidrógeno, que a su vez reacciona con el éster de acridinio después de la adición de una solución amortiguadora (buffer). La luz emitida durante esta reacción se mide durante aproximadamente 1 segundo con un medidor de luminiscencia; no obstante, se debe tener en cuenta que este ensayo es sensible a oxidantes como iones férricos o cúpricos, y especies orgánicas como las quinonas (Yang *et al.*, 2014). En la Figura 9 se presenta el mecanismo de reacciones llevadas a cabo para este método.

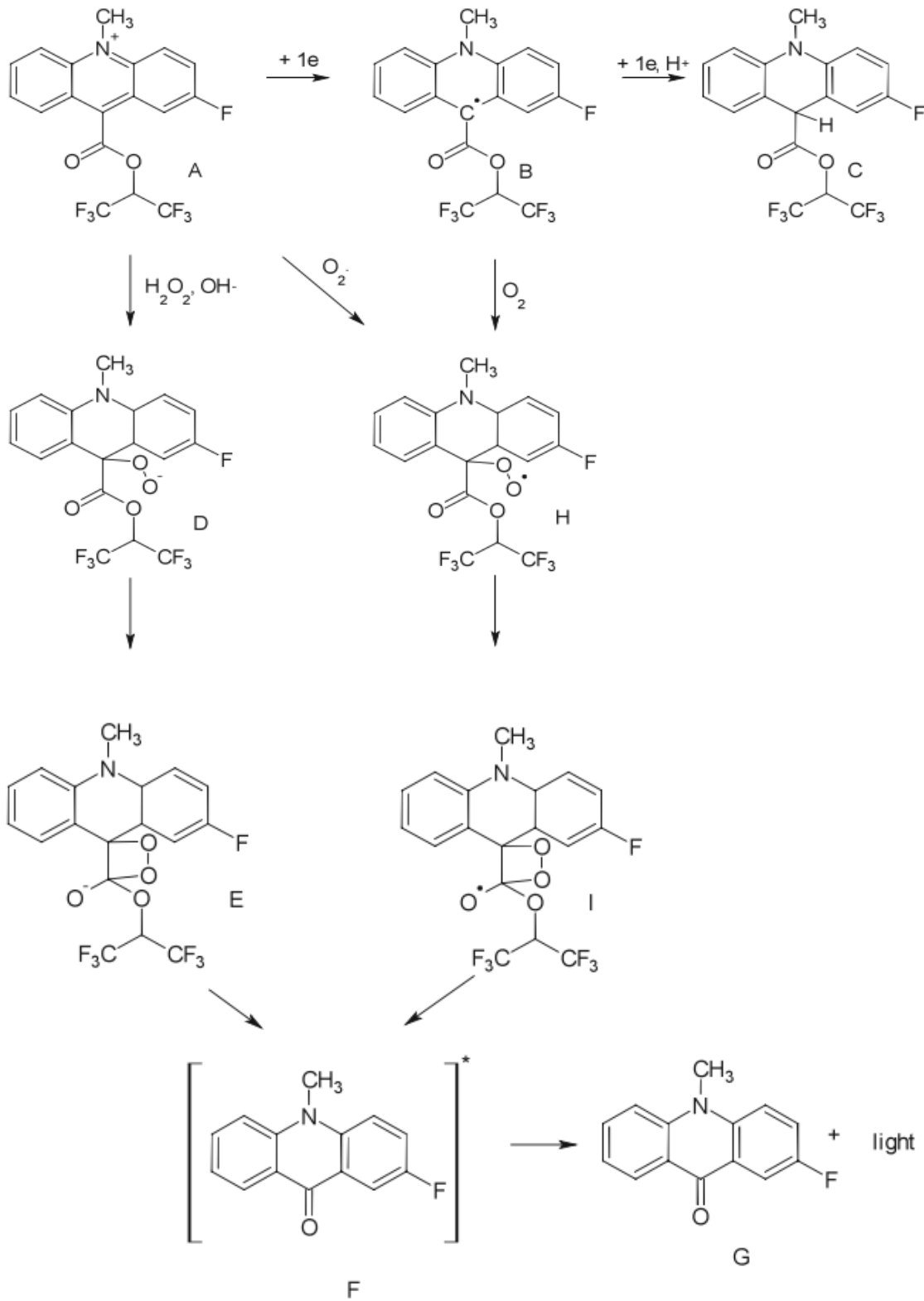


Figura 9. Mecanismo de las reacciones en el ensayo CRAT. Adaptado de Zomer et al (2011).

4. Utilidad del potencial oxidativo: Modelos receptor-fuente

Los valores de potencial oxidativo, obtenidos de las técnicas biológicas y químicas, se utilizan para establecer una toxicidad aproximada del PM2.5 y se comparan con la composición química de este mediante un análisis de regresión multivariable (Shafer *et al.*, 2010; Saffari *et al.*, 2014); esto con el fin de determinar cuáles son los componentes que mejor se correlacionan, y por ende, contribuyen específicamente al aumento del potencial oxidativo. Los modelos receptor-fuente utilizan la composición química de PM2.5 como dato de entrada y se basan en el principio de balance de masa y el análisis matemático de las concentraciones de contaminantes, medidas en un sitio de muestreo (receptor), con el fin de determinar los tipos de fuentes y estimar sus contribuciones a las concentraciones de contaminantes monitoreados en el sitio (Liu *et al.*, 2019), asumiendo que las concentraciones de las especies químicas se conservan entre las fuentes y los receptores (Pant & Harrison, 2013). Además, este tipo de estudio permite identificar fuentes de PM con diferentes composiciones químicas y niveles de toxicidad, cuyos resultados son útiles para las autoridades ambientales, debido a que les permite desarrollar estrategias efectivas para mitigar la contaminación ambiental generada por el material particulado y sus impactos sobre la salud (Taghvaei *et al.*, 2018). Los modelos comunes se pueden clasificar en modelos univariados, como los modelos de balance de masa químico (CMB), y los modelos multivariados, como el de factorización de matriz positiva (PMF) y el modelo UNMIX desarrollado por la EPA (Choi *et al.*, 2015).

4.1 Modelo de balance de masa químico (CMB)

CMB se basa en la ecuación de conservación de masa, asumiendo que las moléculas involucradas no sufren transformación química de la fuente a los receptores (Banerjee et al., 2015). Por lo tanto, utiliza una ecuación de balance de masa para tener en cuenta todos los componentes químicos de las muestras de partículas medidas en un sitio de muestreo o receptor, como contribución de cierta cantidad de fuentes independientes (Dai *et al.*, 2019):

$$C_i = \sum_{j=1}^J F_{ij} \cdot S_j$$

Donde, i y j denotan las especies y fuentes químicas, respectivamente. C_i representa la concentración en masa de la especie química i ($\mu\text{g}/\text{m}^3$), F_{ij} es la fracción en masa de i especies en la emisión de partículas medidas desde la fuente j , y S_j representa la contribución de masa de la fuente j (Dai *et al.*, 2019). Sin embargo, los modelos CMB tienen una aplicación limitada porque requieren un conocimiento previo sobre el perfil de fuente, y por ende, siempre surge la incertidumbre en cuanto a la precisión de los perfiles de origen y la capacidad de cuantificar los errores asociados, ya que los perfiles de fuente pueden no representar de manera realista las fuentes que afectan a los sitios receptores (Choi *et al.*, 2015). Es importante mencionar que dichos perfiles de fuente son las “abundancias de masa”, es decir, la fracción de la masa total de las especies químicas en las emisiones de la fuente, y son generalmente representativos de las categorías de fuente en lugar de emisores individuales (Pant & Harrison, 2013).

4.2 Modelo de factorización de matriz positiva (PMF)

PMF es un modelo multivariado que estima los perfiles de fuente y sus contribuciones basándose en un enfoque de mínimos cuadrados ponderados, y generalmente se usa cuando el número de fuentes y sus respectivas composiciones químicas aún no se han determinado (Tang *et al.*, 2016).

El modelo toma como entrada las concentraciones de especies químicas en muestras de PM2.5 y genera como resultado las contribuciones de las fuentes de emisión (Lu *et al.*, 2018). Además, la combinación de los resultados de PMF con datos meteorológicos como la dirección del viento y la trayectoria de la masa de aire puede dar credibilidad a las fuentes resueltas y brindar información sobre la ubicación geográfica aproximada de las fuentes de contaminación (Wang *et al.*, 2019). Una característica importante de este modelo es que no requiere necesariamente tener un perfil de origen local o específico del área monitoreada (Yadav *et al.*, 2019).

Este modelo también utiliza el principio de conservación de masa para la distribución de PM2.5 a diferentes fuentes de contaminación del aire. Por lo tanto, la concentración de una especie medida en una muestra particular se puede describir como (Pant & Harrison, 2013):

$$X_{ij} = \sum_{p=1}^p g_{ip} f_{pj} + e_{ij}$$

Donde X_{ij} es la concentración medida de la especie j en la muestra i , f_{pj} es la concentración de la especie j en el material emitido por la fuente p , g_{ip} es la contribución de la fuente p a la muestra i y e_{ij} es la parte residual de la medición que no puede ser ajustada por el modelo, es

decir, la diferencia entre las cantidades medida y calculada (Pant & Harrison, 2013; Gadi *et al.*, 2019).

4.3 Modelo UNMIX

UNMIX es un modelo multivariado que se basa en el análisis de valores propios (eigenvalores) (Zhang *et al.*, 2019), y al igual que PMF, no requiere un perfil de fuente completo, por lo que se puede usar fácilmente para las áreas donde la información completa del perfil de fuente no está disponible (Banerjee *et al.*, 2015). Sin embargo, su aplicación requiere un gran número de variables y datos (>100) para encontrar una solución confiable (Banerjee *et al.*, 2015), y tiene un estricto proceso de selección en el cual los datos faltantes o que estén por debajo de los límites mínimos de detección serán eliminados (Deng *et al.*, 2018). La ecuación base de este método es la siguiente:

$$C_{ij} = \sum_{k=1}^p G_{jk} S_{ik} + E$$

Donde, C_{ij} es la concentración de la especie j en la muestra i , G_{jk} es el porcentaje de especies j en la fuente k , S_{ik} es la contribución de la fuente k a la muestra i , y E es la desviación estándar del análisis (Deng *et al.*, 2018).

5. Conclusiones

Los impactos de PM2.5 en temas de salud pública se han convertido en una gran preocupación a nivel mundial, debido a que por su tamaño, puede penetrar en la región de intercambio de gases del pulmón e incluso atravesar la barrera respiratoria, para posteriormente, ingresar al torrente sanguíneo y afectar otros órganos como el corazón y el cerebro a través de enfermedades respiratorias, cardiovasculares e incluso neurodegenerativas, que conducen a una reducción significativa de la expectativa de vida en el ser humano. Debido a sus características fisicoquímicas y la gran cantidad de sustancias nocivas que hacen parte de su composición, la cual varía espacial y temporalmente de acuerdo a las condiciones meteorológicas y fuentes de emisión, PM2.5 es considerado como el contaminante atmosférico más complejo.

Las emisiones de PM2.5 provienen principalmente de los procesos de combustión referentes al tráfico vehicular y la industria. Su composición a menudo está dominada por carbono (elemental y orgánico), iones y metales pesados. Además, esta variedad en su naturaleza y composición, debida a la heterogeneidad de sus propiedades químicas y físicas, no permite establecer con claridad una dosis tóxica para este contaminante, lo cual representa un riesgo significativo para la salud, incluso para niveles de concentración por debajo de los valores estándar internacionales.

Las especies reactivas oxigenadas (ROS) y nitrogenadas (RNS) se forman como subproductos del metabolismo en los organismos aeróbicos, y están involucradas en la oxidación de varias macromoléculas biológicamente importantes como proteínas, ácidos nucleicos, lípidos y carbohidratos. Sin embargo, estas sustancias químicas reaccionan con prácticamente todas las

moléculas biológicas y su sobreproducción puede causar daños a muchos constituyentes celulares. La exposición a PM2.5 provoca un aumento en el nivel de ROS y RNS, lo cual conlleva a efectos toxicológicos que conducen a la inflamación sistémica y la generación de enfermedades, producidas directamente a partir de reacciones químicas en la superficie del PM, o indirectamente cuando este interactúa con las células o tejidos de los órganos, especialmente los pulmones. Por lo tanto, la concentración de ROS y RNS es una medida que puede ser importante para evaluar la calidad del aire en el ambiente y la posterior formación de enfermedades.

El potencial oxidativo es una propiedad del PM2.5 que permite cuantificar la capacidad que este tiene para generar ROS y RNS en organismos biológicos, por lo que es muy útil para predecir qué tan nociva puede llegar a ser la exposición para la salud de las personas que habitan o permanecen en un lugar determinado. Además, es una medida atractiva porque integra varias propiedades biológicamente relevantes, incluido el tamaño, la superficie y la composición química del PM. Sin embargo, la detección y cuantificación de ROS y RNS en los sistemas biológicos presenta desafíos únicos debido a la corta vida media de estas especies y a las múltiples reacciones químicas que experimentan. Por lo tanto, se requieren métodos de detección que sean lo suficientemente sensibles al momento de realizar mediciones directas en los tejidos de interés.

Las técnicas biológicas para cuantificar el potencial oxidativo miden los mecanismos bioquímicos y moleculares relacionados con la producción de ROS y RNS, inducidos por la exposición a PM2.5. Estos utilizan células epiteliales de las vías respiratorias y macrófagos alveolares, debido a que son las que primero entran en contacto con PM después de ser inhalado, generando resultados acordes con la realidad. El ensayo más utilizado es el de macrófagos-ROS,

debido a su capacidad para detectar una amplia variedad de especies reactivas, además de su alta sensibilidad, selectividad y proporción de imágenes en tiempo real, que pueden suministrar información visible sobre ROS y RNS en sistemas biológicos. Por otra parte, las técnicas químicas son rápidas, económicas, fáciles de ejecutar y adecuadas para la automatización, en comparación con las técnicas biológicas, reflejando las propiedades químicas del PM que son responsables de la producción de ROS y RNS bajo condiciones biológicas. En este tipo de ensayos, las especies activas redox presentes en PM oxidan los reactivos y el potencial oxidativo se determina como la tasa de agotamiento de estos, medida con técnicas espectrofotométricas, siendo los más utilizados el consumo de DTT y la depleción de ácido ascórbico (AA). Otra técnica química conocida como resonancia de espín de electrónico (ESR), es la única que permite la detección y medición directa de radicales libres, pero requiere instrumentos relativamente costosos y no puede emplearse fácilmente para adquirir estimaciones cuantitativas de especies reactivas debido a muchas reacciones secundarias durante la captura de espín.

Los valores de potencial oxidativo, obtenidos de las técnicas biológicas y químicas, sirven para establecer una toxicidad aproximada del PM2.5 y se comparan con la composición química de este mediante un análisis de regresión multivariable con el fin de determinar cuáles son los componentes del PM2.5 que contribuyen específicamente al aumento del potencial oxidativo, y a su vez, poder identificar las principales fuentes generadoras de ROS y RNS mediante un análisis matemático complejo.

Las técnicas para medir el potencial oxidativo de PM2.5 y los modelos receptor-fuente son útiles para las autoridades ambientales y deben ser implementados en cada país con el fin de dar a conocer la calidad del aire, desarrollar estrategias efectivas para mitigar la contaminación

ambiental generada por la exposición a PM2.5 y tomar medidas correctivas eficientes con el fin de reducir sus impactos sobre la salud.

Referencias Bibliográficas

- Achilleos, S., Wu, C.-D., Schwartz, J. D., Koutrakis, P., Papatheodorou, S. I., & Kioumourtzoglou, M.-A. (2017). Acute effects of fine particulate matter constituents on mortality: A systematic review and meta-regression analysis. *Environment International*, 109(October), 89–100. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2017.09.010>
- Agarwal, A. K., Gupta, T., Shukla, P. C., & Dhar, A. (2015). Particulate emissions from biodiesel fuelled CI engines. *Energy Conversion and Management*, 94, 311–330. <https://doi.org/10.1016/j.enconman.2014.12.094>
- Babadjouni, R. M., Hodis, D. M., Radwanski, R., Durazo, R., Patel, A., Liu, Q., & Mack, W. J. (2017). Clinical effects of air pollution on the central nervous system; a review. *Journal of Clinical Neuroscience*, 43, 16–24. <https://doi.org/10.1016/j.jocn.2017.04.028>
- Bandyopadhyay, A. (2016). Neurological Disorders from Ambient (Urban) Air Pollution Emphasizing UFPM and PM2.5. *Current Pollution Reports*, 2(3), 203–211. <https://doi.org/10.1007/s40726-016-0039-z>
- Banerjee, T., Murari, V., Kumar, M., & Raju, M. P. (2015). Source apportionment of airborne particulates through receptor modeling: Indian scenario. *Atmospheric Research*, 164–165, 167–187. <https://doi.org/10.1016/j.atmosres.2015.04.017>
- Baumgartner, J., Schauer, J. J., Ezzati, M., Lu, L., Cheng, C., Patz, J. A., & Bautista, L. E. (2011). Indoor air pollution and blood pressure in adult women living in rural China. *Environ Health Perspect*, 119(10), 1390–1395. <https://doi.org/10.1289/ehp.1003371>
- Borlaza, L. J. S., Cosep, E. M. R., Kim, S., Lee, K., Joo, H., Park, M., ... Park, K. (2018). Oxidative potential of fine ambient particles in various environments. *Environmental*

- Pollution, 243, 1679–1688. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2018.09.074>
- Bougiatioti, A., Zampas, P., Koulouri, E., Antoniou, M., Theodosi, C., Kouvarakis, G., ... Mihalopoulos, N. (2013). Organic, elemental and water-soluble organic carbon in size segregated aerosols, in the marine boundary layer of the Eastern Mediterranean. *Atmospheric Environment*, 64, 251–262. <https://doi.org/10.1016/j.atmosenv.2012.09.071>
- Bryan, N., Ahswini, H., Smart, N., Bayon, Y., Wohler, S., & Hunt, J. A. (2012). Reactive oxygen species (ROS) - A family of fate deciding molecules pivotal in constructive inflammation and wound healing. *European Cells and Materials*, 24, 249–265. <https://doi.org/10.22203/eCM.v024a18>
- Chen, M., Li, B., & Sang, N. (2017). Particulate matter (PM2.5) exposure season-dependently induces neuronal apoptosis and synaptic injuries. *Journal of Environmental Sciences (China)*, 54, 336–345. <https://doi.org/10.1016/j.jes.2016.10.013>
- Choi, J. K., Ban, S. J., Kim, Y. P., Kim, Y. H., Yi, S. M., & Zoh, K. D. (2015). Molecular marker characterization and source appointment of particulate matter and its organic aerosols. *Chemosphere*, 134, 482–491. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2015.04.093>
- Conte, E., Canepari, S., Frasca, D., & Simonetti, G. (2017). Oxidative Potential of Selected PM Components †. *Mdpi*, 1–12. <https://doi.org/10.3390/ecas2017-04131>
- Corrales, L. C., & Ariza, M. M. M. (2012). Estrés oxidativo : origen , evolución y consecuencias de la toxicidad del oxígeno. *Nova - Publicación Científica En Ciencias Biomédicas*, 10, 213–225.
- Csavina, J., Field, J., Taylor, M. P., Gao, S., Landázuri, A., Betterton, E. A., & Sáez, A. E. (2012). A review on the importance of metals and metalloids in atmospheric dust and aerosol from mining operations. *Science of the Total Environment*, 433, 58–73.

<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2012.06.013>

Dai, Q., Bi, X., Huangfu, Y., Yang, J., Li, T., Khan, J. Z., ... Feng, Y. (2019). A size-resolved chemical mass balance (SR-CMB) approach for source apportionment of ambient particulate matter by single element analysis. *Atmospheric Environment*, 197(May 2018), 45–52. <https://doi.org/10.1016/j.atmosenv.2018.10.026>

De Marco, A., Amoatey, P., Khaniabadi, Y. O., Sicard, P., & Hopke, P. K. (2018). Mortality and morbidity for cardiopulmonary diseases attributed to PM2.5 exposure in the metropolis of Rome, Italy. *European Journal of Internal Medicine*, (July), 0–1. <https://doi.org/10.1016/j.ejim.2018.07.027>

Debowska, K., Debski, D., Hardy, M., Jakubowska, M., Kalyanaraman, B., Marcinek, A., ... Zielonka, J. (2015). Toward selective detection of reactive oxygen and nitrogen species with the use of fluorogenic probes - Limitations, progress, and perspectives. *Pharmacological Reports*, 67(4), 756–764. <https://doi.org/10.1016/j.pharep.2015.03.016>

Delfino, R. J., Staimer, N., Tjoa, T., Arhami, M., Polidori, A., Gillen, D. L., ... Sioutas, C. (2010). Associations of primary and secondary organic aerosols with airway and systemic inflammation in an elderly panel cohort. *Epidemiology*, 21(6), 892–902. <https://doi.org/10.1097/EDE.0b013e3181f20e6c>

Deng, J., Zhang, Y., Qiu, Y., Zhang, H., Du, W., Xu, L., ... Chen, J. (2018). Source apportionment of PM2.5 at the Lin'an regional background site in China with three receptor models. *Atmospheric Research*, 202(August 2017), 23–32. <https://doi.org/10.1016/j.atmosres.2017.11.017>

Domingos, J. S. S., Regis, A. C. D., Santos, J. V. S., de Andrade, J. B., & da Rocha, G. O. (2012). A comprehensive and suitable method for determining major ions from atmospheric

- particulate matter matrices. *Journal of Chromatography A*, 1266, 17–23.
<https://doi.org/10.1016/j.chroma.2012.08.074>
- Feng, S., Gao, D., Liao, F., Zhou, F., & Wang, X. (2016). The health effects of ambient PM2.5 and potential mechanisms. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 128, 67–74.
<https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2016.01.030>
- Forman, H. J., & Finch, C. E. (2018). A critical review of assays for hazardous components of air pollution. *Free Radical Biology and Medicine*, 117(January), 202–217.
<https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2018.01.030>
- Frka, S., Grgić, I., Turšič, J., Gini, M. I., & Eleftheriadis, K. (2018). Seasonal variability of carbon in humic-like matter of ambient size-segregated water soluble organic aerosols from urban background environment. *Atmospheric Environment*, 173(July 2017), 239–247.
<https://doi.org/10.1016/j.atmosenv.2017.11.013>
- Gadi, R., Shivani, Sharma, S. K., & Mandal, T. K. (2019). Source apportionment and health risk assessment of organic constituents in fine ambient aerosols (PM2.5): A complete year study over National Capital Region of India. *Chemosphere*, 221, 583–596.
<https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.01.067>
- González, L. T., Longoria-Rodríguez, F. E., Sánchez-Domínguez, M., Leyva-Porras, C., Acuña-Askar, K., Kharissov, B. I., ... Alfaro-Barbosa, J. M. (2018). Seasonal variation and chemical composition of particulate matter: A study by XPS, ICP-AES and sequential microanalysis using Raman with SEM/EDS. *Journal of Environmental Sciences (China)*, 1–18. <https://doi.org/10.1016/j.jes.2018.02.002>
- Griendling, K. K., Touyz, R. M., Zweier, J. L., Dikalov, S., Chilian, W., Chen, Y. R., ... Bhatnagar, A. (2016). Measurement of Reactive Oxygen Species, Reactive Nitrogen

- Species, and Redox-Dependent Signaling in the Cardiovascular System: A Scientific Statement from the American Heart Association. *Circulation Research* (Vol. 119). <https://doi.org/10.1161/RES.0000000000000110>
- Hedayat, F., Stevanovic, S., Miljevic, B., Bottle, S., & Ristovski, Z. D. (2015). Review-evaluating the molecular assays for measuring the oxidative potential of particulate matter. *Chemical Industry and Chemical Engineering Quarterly*, 21(1–2), 201–210. <https://doi.org/10.2298/CICEQ140228031H>
- Held, P. (2012). An Introduction to Reactive Oxygen Species Measurement of ROS in Cells. BioTek Instruments, 1–14. <https://doi.org/10.1017/CBO9781107415324.004>
- Hernández-García, D., Wood, C. D., Castro-Obregón, S., & Covarrubias, L. (2010). Reactive oxygen species: A radical role in development? *Free Radical Biology and Medicine*, 49(2), 130–143. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2010.03.020>
- Janssen, N. A. H., Yang, A., Strak, M., Steenhof, M., Hellack, B., Gerlofs-Nijland, M. E., ... Cassee, F. (2014). Oxidative potential of particulate matter collected at sites with different source characteristics. *Science of the Total Environment*, 472, 572–581. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2013.11.099>
- Jo, E. J., Lee, W. S., Jo, H. Y., Kim, C. H., Eom, J. S., Mok, J. H., ... Park, H. K. (2017). Effects of particulate matter on respiratory disease and the impact of meteorological factors in Busan, Korea. *Respiratory Medicine*, 124, 79–87. <https://doi.org/10.1016/j.rmed.2017.02.010>
- Kalyanaraman, B., Darley-USmar, V., Davies, K. J. A., Dennery, P. A., Forman, H. J., Grisham, M. B., ... Ischiropoulos, H. (2012). Measuring reactive oxygen and nitrogen species with fluorescent probes: Challenges and limitations. *Free Radical Biology and Medicine*, 52(1),

- 1–6. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2011.09.030>
- Kelly, F. J., & Fussell, J. C. (2012). Size, source and chemical composition as determinants of toxicity attributable to ambient particulate matter. *Atmospheric Environment*, 60, 504–526. <https://doi.org/10.1016/j.atmosenv.2012.06.039>
- Khurshid, S. S., Siegel, J. A., & Kinney, K. A. (2014). Indoor particulate reactive oxygen species concentrations. *Environmental Research*, 132, 46–53. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2014.03.026>
- Kim, K. H., Kabir, E., & Kabir, S. (2015). A review on the human health impact of airborne particulate matter. *Environment International*, 74, 136–143. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2014.10.005>
- Liu, H., Tian, C., Zong, Z., Wang, X., Li, J., & Zhang, G. (2019). Development and assessment of a receptor source apportionment model based on four nonnegative matrix factorization algorithms. *Atmospheric Environment*, 197(June 2018), 159–165. <https://doi.org/10.1016/j.atmosenv.2018.10.037>
- Lovett, C., Sowlat, M. H., Saliba, N. A., Shihadeh, A. L., & Sioutas, C. (2018). Oxidative potential of ambient particulate matter in Beirut during Saharan and Arabian dust events. *Atmospheric Environment*, 188(June), 34–42. <https://doi.org/10.1016/j.atmosenv.2018.06.016>
- Lu, Z., Liu, Q., Xiong, Y., Huang, F., Zhou, J., & Schauer, J. J. (2018). A hybrid source apportionment strategy using positive matrix factorization (PMF) and molecular marker chemical mass balance (MM-CMB) models. *Environmental Pollution*, 238, 39–51. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2018.02.091>
- Lucarelli, F., Barrera, V., Becagli, S., Chiari, M., Giannoni, M., Nava, S., ... Calzolari, G. (2019).

- Combined use of daily and hourly data sets for the source apportionment of particulate matter near a waste incinerator plant. *Environmental Pollution*, 247, 802–811.
<https://doi.org/10.1016/j.envpol.2018.11.107>
- Lyu, Y., Su, S., Wang, B., Zhu, X., Wang, X., Zeng, E. Y., ... Tao, S. (2018). Seasonal and spatial variations in the chemical components and the cellular effects of particulate matter collected in Northern China. *Science of the Total Environment*, 627, 1627–1637.
<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.01.224>
- Maji, K. J., Arora, M., & Dikshit, A. K. (2018). Premature mortality attributable to PM2.5 exposure and future policy roadmap for “airpocalypse” affected Asian megacities. *Process Safety and Environmental Protection*, 118, 371–383.
<https://doi.org/10.1016/j.psep.2018.07.009>
- Martinelli, N., Olivieri, O., & Girelli, D. (2013). Air particulate matter and cardiovascular disease: A narrative review. *European Journal of Internal Medicine*, 24(4), 295–302.
<https://doi.org/10.1016/j.ejim.2013.04.001>
- Martins, N. R., & Carrilho da Graça, G. (2018). Impact of PM2.5 in indoor urban environments: A review. *Sustainable Cities and Society*, 42(May), 259–275.
<https://doi.org/10.1016/j.scs.2018.07.011>
- Mikrut, M., Regiel-Futyra, A., Samek, L., Macyk, W., Stochel, G., & van Eldik, R. (2018). Generation of hydroxyl radicals and singlet oxygen by particulate matter and its inorganic components. *Environmental Pollution*, 238, 638–646.
<https://doi.org/10.1016/j.envpol.2018.03.068>
- Mousavi, A., Sowlat, M. H., Hasheminassab, S., Polidori, A., Shafer, M. M., Schauer, J. J., & Sioutas, C. (2019). Impact of emissions from the Ports of Los Angeles and Long Beach on

- the oxidative potential of ambient PM_{0.25} measured across the Los Angeles County. *Science of the Total Environment*, 651, 638–647. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.09.155>
- Oliveira, M., Slezakova, K., Delerue-Matos, C., Pereira, M. C., & Morais, S. (2019). Children environmental exposure to particulate matter and polycyclic aromatic hydrocarbons and biomonitoring in school environments: A review on indoor and outdoor exposure levels, major sources and health impacts. *Environment International*, 124(January), 180–204. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2018.12.052>
- Pan, B., Li, H., Lang, D., & Xing, B. (2019). Environmentally persistent free radicals: Occurrence, formation mechanisms and implications. *Environmental Pollution*, 248, 320–331. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2019.02.032>
- Pant, P., & Harrison, R. M. (2013). Estimation of the contribution of road traffic emissions to particulate matter concentrations from field measurements: A review. *Atmospheric Environment*, 77, 78–97. <https://doi.org/10.1016/j.atmosenv.2013.04.028>
- Park, J., Park, E. H., Schauer, J. J., Yi, S.-M., & Heo, J. (2018). Reactive oxygen species (ROS) activity of ambient fine particles (PM_{2.5}) measured in Seoul, Korea. *Environment International*, 117, 276–283. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2018.05.018>
- Patel, A., & Rastogi, N. (2018). Oxidative potential of ambient fine aerosol over a semi-urban site in the Indo-Gangetic Plain. *Atmospheric Environment*, 175(November 2017), 127–134. <https://doi.org/10.1016/j.atmosenv.2017.12.004>
- Pietrogrande, M. C., Bertoli, I., Manarini, F., & Russo, M. (2019). Ascorbate assay as a measure of oxidative potential for ambient particles: Evidence for the importance of cell-free surrogate lung fluid composition. *Atmospheric Environment*, 211(September 2018), 103–

112. <https://doi.org/10.1016/j.atmosenv.2019.05.012>
- Rai, P. K. (2016). Chapter Two - Adverse Health Impacts of Particulate Matter. *Biomagnetic Monitoring of Particulate Matter*, 15–39. <https://doi.org/http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-805135-1.00002-0>
- Saffari, A., Daher, N., Shafer, M. M., Schauer, J. J., & Sioutas, C. (2014). Global perspective on the oxidative potential of airborne particulate matter: a synthesis of research findings. *Environ Sci Technol*, 48(13), 7576–7583. <https://doi.org/10.1021/es500937x>
- Samek, L., Macyk, W., Regiel-Futyra, A., van Eldik, R., Stochel, G., & Mikrut, M. (2018). Generation of hydroxyl radicals and singlet oxygen by particulate matter and its inorganic components. *Environmental Pollution*, 238, 638–646. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2018.03.068>
- Samek, L., Furman, L., Mikrut, M., Regiel-Futyra, A., Macyk, W., Stochel, G., & van Eldik, R. (2017). Chemical composition of submicron and fine particulate matter collected in Krakow, Poland. Consequences for the APARIC project. *Chemosphere*, 187, 430–439. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2017.08.090>
- Sanderson, P., Delgado-Saborit, J. M., & Harrison, R. M. (2014). A review of chemical and physical characterisation of atmospheric metallic nanoparticles. *Atmospheric Environment*, 94, 353–365. <https://doi.org/10.1016/j.atmosenv.2014.05.023>
- Santibáñez-Andrade, M., Quezada-Maldonado, E. M., Osornio-Vargas, Á., Sánchez-Pérez, Y., & García-Cuellar, C. M. (2017). Air pollution and genomic instability: The role of particulate matter in lung carcinogenesis. *Environmental Pollution*, 229, 412–422. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2017.06.019>
- Satsangi, A., Pachauri, T., Singla, V., Lakhani, A., & Kumari, K. M. (2012). Organic and

- elemental carbon aerosols at a suburban site. *Atmospheric Research*, 113, 13–21. <https://doi.org/10.1016/j.atmosres.2012.04.012>
- Schauer, J. J., Kadhim, A. K. H., Hamad, S. H., Al-Omran, S. M., & Shafer, M. M. (2014). Seasonal trends in the composition and ROS activity of fine particulate matter in Baghdad, Iraq. *Atmospheric Environment*, 100, 102–110. <https://doi.org/10.1016/j.atmosenv.2014.10.043>
- Secrest, M. H., Schauer, J. J., Carter, E. M., Lai, A. M., Wang, Y., Shan, M., ... Baumgartner, J. (2016). The oxidative potential of PM_{2.5} exposures from indoor and outdoor sources in rural China. *Science of the Total Environment*, 571, 1477–1489. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.06.231>
- Shafer, M. M., Schauer, J. J., Stone, E. A., von Schneidemesser, E., & Quraishi, T. A. (2010). Toxic metals in the atmosphere in Lahore, Pakistan. *Science of The Total Environment*, 408(7), 1640–1648. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2009.12.022>
- Soleimani, M., Amini, N., Sadeghian, B., Wang, D., & Fang, L. (2018). Heavy metals and their source identification in particulate matter (PM_{2.5}) in Isfahan City, Iran. *Journal of Environmental Sciences (China)*, 72, 166–175. <https://doi.org/10.1016/j.jes.2018.01.002>
- Song, X., Li, J., Shao, L., Zheng, Q., & Zhang, D. (2019). Inorganic ion chemistry of local particulate matter in a populated city of North China at light, medium, and severe pollution levels. *Science of the Total Environment*, 650, 566–574. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.09.033>
- Srimuruganandam, B., & Shiva Nagendra, S. M. (2012). Source characterization of PM₁₀ and PM_{2.5} mass using a chemical mass balance model at urban roadside. *Science of the Total Environment*, 433, 8–19. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2012.05.082>

Styszko, K., Samek, L., Szramowiat, K., Korzeniewska, A., Kubisty, K., Rakoczy-Lelek, R., ...

Giebl, A. K. (2017). Oxidative potential of PM10 and PM2.5 collected at high air pollution site related to chemical composition: Krakow case study. *Air Quality, Atmosphere and Health*, 10(9), 1123–1137. <https://doi.org/10.1007/s11869-017-0499-3>

Taghvaei, S., Sowlat, M. H., Mousavi, A., Hassanvand, M. S., Yunesian, M., Naddafi, K., &

Sioutas, C. (2018). Source apportionment of ambient PM2.5 in two locations in central Tehran using the Positive Matrix Factorization (PMF) model. *Science of the Total Environment*, 628–629(1547), 672–686. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.02.096>

Tang, X., Zhang, X., Wang, Z., & Ci, Z. (2016). Water-soluble organic carbon (WSOC) and its

temperature-resolved carbon fractions in atmospheric aerosols in Beijing. *Atmospheric Research*, 181, 200–210. <https://doi.org/10.1016/j.atmosres.2016.06.019>

Tuet, W. Y., Chen, Y., Xu, L., Fok, S., Gao, D., Weber, R. J., & Ng, N. L. (2017). Chemical

oxidative potential of secondary organic aerosol (SOA) generated from the photooxidation of biogenic and anthropogenic volatile organic compounds. *Atmospheric Chemistry and Physics*, 17(2), 839–853. <https://doi.org/10.5194/acp-17-839-2017>

Tuet, W. Y., Fok, S., Verma, V., Tagle Rodriguez, M. S., Grosberg, A., Champion, J. A., & Ng,

N. L. (2016). Dose-dependent intracellular reactive oxygen and nitrogen species (ROS/RNS) production from particulate matter exposure: comparison to oxidative potential and chemical composition. *Atmospheric Environment*, 144, 335–344. <https://doi.org/10.1016/j.atmosenv.2016.09.005>

Van Eldik, R., Furman, L., Samek, L., Macyk, W., Mikrut, M., Regiel-Futyra, A., & Stochel, G.

(2017). Chemical composition of submicron and fine particulate matter collected in Krakow, Poland. Consequences for the APARIC project. *Chemosphere*, 187, 430–439.

<https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2017.08.090>

Visentin, M., Pagnoni, A., Sarti, E., & Pietrogrande, M. C. (2016). Urban PM2.5 oxidative potential: Importance of chemical species and comparison of two spectrophotometric cell-free assays. *Environmental Pollution*, 219, 72–79. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2016.09.047>

Vodonos, A., Awad, Y. A., & Schwartz, J. (2018). The concentration-response between long-term PM2.5 exposure and mortality; A meta-regression approach. *Environmental Research*, 166(May), 677–689. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2018.06.021>

Wang, H. S. (2016). Development of fluorescent and luminescent probes for reactive oxygen species. *TrAC - Trends in Analytical Chemistry*, 85, 181–202. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2016.09.006>

Wang, Q., Huang, X. H. H., Tam, F. C. V., Zhang, X., Liu, K. M., Yeung, C., ... Yu, J. Z. (2019). Source apportionment of fine particulate matter in Macao, China with and without organic tracers: A comparative study using positive matrix factorization. *Atmospheric Environment*, 198(June 2018), 183–193. <https://doi.org/10.1016/j.atmosenv.2018.10.057>

Wen, J., Shi, G., Tian, Y., Chen, G., Liu, J., Huang-Fu, Y., ... Feng, Y. (2018). Source contributions to water-soluble organic carbon and water-insoluble organic carbon in PM2.5 during Spring Festival, heating and non-heating seasons. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 164(August), 172–180. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2018.08.002>

Wu, J.-Z., Ge, D.-D., Zhou, L.-F., Hou, L.-Y., Zhou, Y., & Li, Q.-Y. (2018). Effects of particulate matter on allergic respiratory diseases. *Chronic Diseases and Translational Medicine*, 4(2), 95–102. <https://doi.org/10.1016/j.cdtm.2018.04.001>

Yadav, M., Soni, K., Soni, B. K., Singh, N. K., & Bamniya, B. R. (2019). Source apportionment

- of particulate matter, gaseous pollutants, and volatile organic compounds in a future smart city of India. *Urban Climate*, 28(March), 100470.
<https://doi.org/10.1016/j.uclim.2019.100470>
- Yang, A., Jedynska, A., Hellack, B., Kooter, I., Hoek, G., Brunekreef, B., ... Janssen, N. A. H. (2014). Measurement of the oxidative potential of PM_{2.5} and its constituents: The effect of extraction solvent and filter type. *Atmospheric Environment*, 83, 35–42.
<https://doi.org/10.1016/j.atmosenv.2013.10.049>
- Yoon, S., Fairley, D., Barrett, T. E., & Sheesley, R. J. (2018). Biomass and fossil fuel combustion contributions to elemental carbon across the San Francisco Bay Area. *Atmospheric Environment*, 195(September), 229–242.
<https://doi.org/10.1016/j.atmosenv.2018.09.050>
- Yuan, C., Xiang, P., Duan, J., He, K., Ma, Y., Zhang, Y., ... Zhou, X. (2016). Chemical characteristics of water-soluble organic compounds (WSOC) in PM_{2.5} in Beijing, China: 2011–2012. *Atmospheric Research*, 183, 104–112.
<https://doi.org/10.1016/j.atmosres.2016.08.020>
- Zhang, J., Li, R., Zhang, X., Bai, Y., Cao, P., & Hua, P. (2019). Vehicular contribution of PAHs in size dependent road dust: A source apportionment by PCA-MLR, PMF, and Unmix receptor models. *Science of the Total Environment*, 649, 1314–1322.
<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.08.410>
- Zhang, Z. H., Khlystov, A., Norford, L. K., Tan, Z. K., & Balasubramanian, R. (2017). Characterization of traffic-related ambient fine particulate matter (PM_{2.5}) in an Asian city: Environmental and health implications. *Atmospheric Environment*, 161, 132–143.
<https://doi.org/10.1016/j.atmosenv.2017.04.040>

- Zhao, M., Huang, Z., Qiao, T., Zhang, Y., Xiu, G., & Yu, J. (2015). Chemical characterization, the transport pathways and potential sources of PM_{2.5} in Shanghai: Seasonal variations. *Atmospheric Research*, 158–159, 66–78.
<https://doi.org/10.1016/j.atmosres.2015.02.003>
- Zomer, B., Collé, L., Jedyńska, A., Pasterkamp, G., Kooter, I., & Bloemen, H. (2011). Chemiluminescent reductive acridinium triggering (CRAT)-mechanism and applications. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 401(9), 2945–2954.
<https://doi.org/10.1007/s00216-011-5342-3>