



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**

---

**FACULTAD DE QUÍMICA**

**Tesis mancomunada**  
**“Determinación de Pb y Mn en alimentos y**  
**vegetales de la zona de Molango de Escamilla,**  
**Hidalgo, México”**

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE**  
**QUÍMICO DE ALIMENTOS**

**PRESENTAN**

**Daniel Emmanuel Amaro Ramírez**  
**Luis Felipe Torres Herrera**

**DIRECTOR DE TESIS**  
**Dra. Margarita Eugenia Gutiérrez Ruiz**

**Ciudad Universitaria,CD. MX., 2018**





Universidad Nacional  
Autónoma de México



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

**JURADO ASIGNADO:**

**PRESIDENTE:** Dra. Margarita Eugenia Gutiérrez Ruiz

**VOCAL:** Dr. José Luz González Chávez

**SECRETARIO:** M. en C. Luis Gerardo Martínez Jardines

**1er. SUPLENTE:** Dra. Agueda Elena Ceniceros Gómez

**2° SUPLENTE:** M. en C. Norma Ruth López Santiago

**SITIO DONDE SE DESARROLLÓ EL TEMA:  
LABORATORIO DE BIOGEOQUÍMICA AMBIENTAL  
(LABQA)  
FACULTAD DE QUÍMICA  
UNAM**

**ASESOR DEL TEMA:**

Margarita Eugenia Gutiérrez Ruiz

\_\_\_\_\_

**SUPERVISOR TÉCNICO:**

Norma Ruth López Santiago

\_\_\_\_\_

**SUSTENTANTES:**

Daniel Emmanuel Amaro Ramírez

\_\_\_\_\_

Luis Felipe Torres Herrera

\_\_\_\_\_

## Resumen

En la presente tesis se presentan los resultados del análisis de hojas de árboles como posible indicador de la dispersión de polvos ricos en manganeso provenientes de las actividades mineras, así como el estudio exploratorio de alimentos (frijol y salsa) cocinados en vasijas de barro vidriado para evaluar su posible participación como fuente de ingesta de plomo para los pobladores de una zona minera en Molango de Escamilla en el estado de Hidalgo, ya que los pobladores reportan problemas de salud, los cuales se le atribuyen a la actividad minera de extraer manganeso de la zona, lo cual no se puede descartar en su totalidad aunque también pueden existir otros contaminantes como el plomo.

En el primer capítulo se presentan las generalidades del manganeso y plomo, así como su toxicología y toxicocinética, y se resalta la importancia de estudiarlos en la zona. De igual manera se describe la localización, hidrología, eología y climatología de la zona de estudio. En el segundo capítulo se presentan las metodologías empleadas para determinar la concentración de manganeso y nitrógeno en hojas de árboles, la concentración de plomo y manganeso en alimentos (método adecuado y aprobado como parte de esta tesis) y la concentración de plomo en vasijas de barro vidriado usadas y nuevas. En el tercer capítulo se presentan los resultados de las determinaciones en las diferentes matrices analizadas.

Para el caso de las hojas de árboles, la determinación rutinaria de la concentración de nitrógeno está en un intervalo de 0.03 a 0.39 % (m/m), lo que indica una deficiencia de este nutriente. Para el caso del manganeso se tiene una concentración que va de 166 a 4 412 mg/kg de masa seca, y se notó una clara tendencia a que las hojas con una concentración más alta de manganeso se encuentran más cerca de las plantas mineras industriales de la zona y las hojas con las concentraciones más bajas se encuentran más lejos de las plantas mineras, por lo que dichas plantas industriales sí podrían estar relacionadas con esta dispersión de polvos.

Una vez comprobada la exposición a Mn en los habitantes utilizando las hojas de árboles como trazadores de dispersión, se realizó un estudio exploratorio para determinar si existe la presencia de plomo en alimentos cocinados en vasijas de barro

de hogares de las comunidades que reportan problemas de salud y que se los atribuyen únicamente al Mn y no a la ingesta de plomo, el cual puede causar síntomas similares a los reportados.

En los alimentos se encontró que el plomo está presente en 5 de 12 muestras con concentraciones en un intervalo que va de 1.13 a 192.68 mg/kg de alimento fresco. Lo que indica un riesgo para las personas que consumen estos alimentos regularmente, mientras que el manganeso se encontró en todas las muestras con concentraciones en un intervalo de 0.97 a 4.11 mg/kg de alimento fresco y esto es de esperarse, ya que es un elemento que se encuentra de forma natural en los alimentos.

Dentro de los análisis de vasijas de barro se determinó que la concentración de plomo en las 2 vasijas de barro vidriado nuevas fue de 279.60 y 520.08 mg/L, y la concentración en las 2 vasijas de barro vidriado usadas fue de 1.08 y 279.68 mg/L y se puede decir que todas las vasijas de barro vidriado analizadas por las concentraciones de plomo encontradas representan un riesgo para la población que las utiliza, y por lo tanto no deberían ser comercializadas y menos aún se deberían utilizar para preparar alimentos en ellas.

# ÍNDICE

página

Resumen.....	i
Lista de Cuadros .....	v
Lista de Figuras.....	vi
Introducción .....	1
1. Antecedentes .....	4
1.1. Manganeso.....	4
1.1.1. Generalidades .....	4
1.1.2. Toxicocinética del manganeso .....	4
1.1.3. Toxicología del manganeso .....	8
1.1.4. Material particulado.....	9
1.1.5. Manganeso en animales y humanos.....	11
1.1.6. Manganeso en plantas .....	12
1.1.7. Fuentes de manganeso .....	12
1.2. Plomo .....	14
1.2.1. Generalidades .....	14
1.2.2. Toxicocinética del plomo.....	15
1.2.3. Toxicología del plomo .....	18
1.2.4. Uso del plomo en la alfarería .....	20
1.3. Alimentos trazadores de liberación de Pb .....	21
1.3.1. Frijol.....	21
1.3.2. Salsas .....	22
1.4. Relación entre manganeso y plomo.....	22
1.5. Zona de estudio.....	23
1.5.1. Generalidades .....	23
1.5.2. Localización geográfica.....	24
1.5.3. Síntesis de la hidrología del distrito manganesífero de Molango.....	25
1.5.4. Síntesis de la climatología del distrito manganesífero de Molango .....	27
1.5.5. Síntesis de la eología del distrito manganesífero de Molango .....	31
1.5.6. Presencia minera en el distrito de Molango .....	32
2. Metodología .....	35
2.1. Muestreo .....	35
2.2. Tratamiento de las muestras .....	38
2.3. Técnicas de análisis .....	38
2.3.1. Análisis de hojas de árboles .....	38
2.3.2. Análisis de alimentos.....	39

Adecuación del método .....	40
Análisis de muestras de interés.....	40
2.3.3. Análisis de vasijas de barro .....	42
3. Resultados y análisis.....	43
3.1. Análisis de hojas de árboles .....	43
3.1.1. Concentración de manganeso en hojas de árboles .....	43
Prueba confirmativa de la presencia de manganeso por SEM-EPMA (Scanning Electron Microscopy-Electron Probe Micro-Analyzer) .....	48
3.1.2. Concentración de nitrógeno total .....	51
3.2. Concentración de plomo y manganeso en alimentos.....	53
3.3. Concentración de plomo en vasijas de barro.....	57
4. Conclusiones y recomendaciones .....	59
Bibliografía .....	61
Apéndice 1: Métodos analíticos.....	A
ANEXO A Artículos y tesis relacionados a la exposición de manganeso en Molango.....	a

## Lista de Cuadros

página

Cuadro 1 Formas de exposición al manganeso	6
Cuadro 2 Resumen del papel del manganeso en el cuerpo	8
Cuadro 3 Precipitación pluvial Municipio Tlanchinol	28
Cuadro 4 Precipitación pluvial Municipio Zacualtipán	29
Cuadro 5 Precipitación pluvial Municipio Molango de Escamilla	30
Cuadro 6 Claves de campo y de registro LABQA de las muestras a analizar	37
Cuadro 7 Condiciones de digestión finales	40
Cuadro 8 Concentraciones de Mn en hojas de árboles de la zona de estudio (no lavadas)	43
Cuadro 9 Resultados en porcentaje de elemento de MEB en la muestra ZDM-11	49
Cuadro 10 Resultados en porcentaje de elemento de MEB en la muestra Hojas respiradero	50
Cuadro 11 Concentración de nitrógeno	51
Cuadro 12 Concentración de Mn y Pb en alimentos	54
Cuadro 13 Estimación de la cantidad de plomo ingerida a la semana	56
Cuadro 14 Concentración de Pb en vasijas de barro	57



# Lista de Figuras

página

Figura 1 Esquema general del metabolismo del manganeso, a través de sus rutas de exposición	5
Figura 2 Alojamiento de las partículas en el cuerpo humano	10
Figura 3 Modelo metabólico del plomo en el ser humano	18
Figura 4 Correlación entre distintos niveles de plomo en sangre en humano (expresados en microgramos de plomo por decilitro de sangre) y distintas alteraciones patológicas observadas tanto en niños como en adultos	20
Figura 5 Regiones y distritos mineros de minerales metálicos	25
Figura 6 Mapa de hidrografía de la zona de estudio	26
Figura 7 Climas del estado de Hidalgo con señalización de la zona de estudio (DMM)	27
Figura 8 Gráfico de la precipitación pluvial registrada en la estación Tlanchinol años 2008-2013	29
Figura 9 Gráfico de la precipitación pluvial registrada en las estaciones Tlanchinol, Zacualtipán y Molango de Escamilla año 2013	30
Figura 10 Rosas de los vientos para el año 2007	32
Figura 11 Mapa de muestreo de alimentos (comunidades Tolago y Chiconcoac) y de hojas de árboles (marcas naranjas)	36
Figura 12 Metodología de análisis de hojas de árboles	39
Figura 13 Diagrama del proceso de análisis de alimentos	41
Figura 14 Método de análisis de vasijas de barro	42
Figura 15 Mapa de localización de muestras de hojas de árboles y concentraciones de Mn	46
Figura 16 Concentración de Mn en hojas vs distancia a la unidad Otongo	47
Figura 17 Concentración de Mn en hojas vs distancia a la unidad Nonoalco	48
Figura 18 Concentración de Mn en hojas vs distancia a la unidad Naopa	48

Figura 19 Microscopia Electrónica de barrido acercamiento muestra ZDM-11	49
Figura 20 Microscopia Electrónica de barrido panorámica ZDM-11	49
Figura 21 Microscopia Electrónica de barrido acercamiento muestra Hojas respiradero	50
Figura 22 Microscopía Electrónica de barrido panorámica muestra Hojas respiradero	50
Figura 23 Niveles de plomo en alimentos	55
Figura 24 Niveles de plomo en vasijas de barro vidriado	58

## Introducción

En 1959, se descubrieron los depósitos de mineral de manganeso (Mn) más importantes en Norteamérica y Centroamérica, y uno de los 10 yacimientos más grandes del mundo, en una zona montañosa de la Sierra Madre Oriental ubicada en el noreste del estado de Hidalgo, México a 1 400 m sobre el nivel del mar.

De acuerdo con Álvarez (2017), en 1960 se iniciaron las actividades formales de exploración de la zona, a cargo de una empresa dedicada al aprovechamiento de Mn. El yacimiento del distrito de Molango cuenta con reservas probadas equivalentes a 28.6 millones de Toneladas métricas (lo que redundará en extracción para 3 décadas y reservas probables que aproximadamente solventarían la producción por 250 años equivalentes hasta a 250 millones de Toneladas (Arenas- Islas, 2012)). Los principales productos que se fabrican a partir del mineral son nódulos de óxido de manganeso (II) y carbonatos de manganeso, dióxido de manganeso grado batería, dióxido de manganeso grado cerámico y óxido manganeso.

Antes de que se iniciara la exploración del yacimiento, la Sierra Alta hidalguense era como muchas otras regiones rurales del país, una zona agreste e incomunicada con pobladores extremadamente pobres que se encontraban dispersos en pequeñas rancherías a lo largo de la serranía, sobreviviendo con los exiguos recursos que obtenían del trabajo agrícola, básicamente de autoconsumo. Desde la década de 1920, el territorio serrano estuvo bajo el dominio de caciques que se disputaban el control del mercado regional de aguardiente (Paz, 2008a), pero a partir del inicio de la actividad minera con la llegada de la comunicación y fuentes de trabajo, las condiciones cambiaron. Llegó el trabajo asalariado, carreteras, transporte, electrificación, escuelas; se dinamizó el comercio y algunos campesinos pudieron capitalizarse un poco, lo cual les permitió mejorar sus viviendas o comprar ganado. La entrada de la

compañía minera fue el inicio de la terminación del cacicazgo en la región (Paz, 2008b y 2012). Sin embargo, muy pronto empezaron a surgir problemas entre la comunidad y la compañía minera, derivados del choque cultural entre una sociedad basada en actividades agrícolas y el inicio de actividades industriales que afectan al ambiente, cabe mencionar que al inicio de las actividades mineras el horno de nodulización que se encuentra en la zona no contaba con filtros ni chimenea, por lo que el polvo negro se dispersaba en los alrededores.

Los habitantes de las comunidades de la zona han asociado y siguen percibiendo al mineral del manganeso como causa de múltiples problemas de salud, por lo que iniciaron quejas ante las autoridades locales y estatales, quienes a su vez solicitaron a la federación que se llevaran a cabo estudios epidemiológicos. Cabe mencionar que en estos estudios no participaron especialistas de las áreas de química, sino que se conformaron principalmente con médicos. Los resultados de los estudios sobre la exposición al manganeso se reportaron en dos informes de índole confidencial y en 32 artículos (ver Anexo A) publicados en revistas científicas de 1999 a 2017.

En los estudios antes mencionados, los autores solamente sugieren una relación entre la inhalación de partículas respirables de Mn y las diferencias observadas entre la población expuesta al Mn y las zonas testigo, de las diversas funciones mentales y físicas estudiadas, con consecuencias principalmente en el nivel de aprendizaje infantil. Sin embargo, algunos de esos mismos autores cuando se refieren a artículos antes publicados, plantean los resultados ya no como sugerencias, sino que les otorgan un carácter concluyente e inclusive los consideran pruebas irrefutables de los daños a la salud (Cevallos, 2008). Esta información le dio sustento a la percepción del riesgo en la población sobre el mineral de manganeso e inclusive la magnificó. Actualmente sigue dando pie a noticias alarmantes en periódicos y en la internet, causando gran preocupación en la sociedad y afectando la imagen de la minera de la zona.

Los estudios generaron datos valiosos como, por ejemplo, la identificación de los polvos generados por el tráfico pesado en carreteras cubiertas con minerales sin valor, como una fuente de Mn en el aire, que puede afectar a los niños de cierta altura y que transitan a pie cerca de los caminos. Sin embargo, en estos estudios no se consideraron todos los factores de confusión relacionados con los síntomas observados. Por lo tanto, se consideró importante llevar a cabo diversos estudios adicionales que incluyeran al manganeso, pero también a otros contaminantes que pueden producir síntomas parecidos a los reportados por los pobladores como son cefalea, fatiga general, problemas de coordinación y disminución del coeficiente intelectual. Entre ellos, uno de los más importantes es el plomo, ya que los pobladores suelen cocinar y almacenar sus alimentos en vasijas de barro vidriado a baja temperatura. Estas vasijas o utensilios de barro durante el cocimiento de los alimentos pueden liberar plomo, que puede ser transferido al alimento que al ser consumido accede al organismo (Infantas, 2005).

El objetivo principal de esta tesis fue identificar la dispersión de polvos ricos en manganeso y comprobar una exposición a Mn en los pobladores a través de un muestreo alternativo al convencional (colectores de polvos) utilizando hojas de árboles, ya que en su superficie se acumula el polvo fino transportado por el viento, lo que las convierte en un colector natural de la dispersión de polvos. Como objetivo adicional, identificar al plomo como un factor de riesgo para la población realizando un estudio exploratorio en alimentos consumidos por los habitantes de la región minera cotidianamente (frijol y salsa) y los cuales, o son cocinados durante mucho tiempo o tienen un carácter ácido en las vasijas de barro vidriado.

Es importante considerar que el Mn solamente representa un riesgo cuando se inhala, pues al ser un micro-nutriente esencial, el organismo humano cuenta con un sistema homeostático que permite mantener el nivel ingerido en concentraciones no tóxicas.

# **1. Antecedentes**

## **1.1. Manganeso**

### **1.1.1. Generalidades**

El manganeso puro es un metal de color plateado, rara vez está presente en el ambiente como metal puro. Este elemento no tiene olor ni sabor especial. El manganeso es un metal bastante reactivo. Aunque el metal sólido reacciona lentamente, el polvo metálico reacciona con facilidad y en algunos casos, muy vigorosamente. Presenta estados de oxidación de 1+ hasta de 7+, los más comunes son 2+, 4+ y 7+ (Nordberg, 2012).

Se encuentra combinado con otros elementos como oxígeno, azufre y cloro, produciendo compuestos sólidos de carácter iónico que no se evaporan a temperatura ambiente, pero pueden existir suspendidos en el aire. Algunos compuestos de manganeso pueden disolverse en el agua, por lo que están presentes en lagos, arroyos y en el océano en bajos niveles.

El manganeso es un elemento esencial para la salud. El cuerpo humano típicamente contiene pequeñas cantidades de manganeso y, en condiciones normales, éstas se mantienen homeostáticamente en cantidades adecuadas. La Organización Mundial de la Salud (OMS) recomienda una ingesta para adultos de 2-3 mg Mn por día, mientras que la Food and Nutrition Board de la Academia Nacional de Ciencias de EE. UU. recomienda de 2.5 a 5 mg por día.

### **1.1.2. Toxicocinética del manganeso**

La exposición a manganeso ocurre principalmente por vía oral e inhalatoria (Figura 1). La mayoría de los reportes de intoxicación por manganeso, que han sido publicados desde 1837, se refieren únicamente a casos por inhalación en poblaciones ocupacionalmente expuestas. La fracción inhalable está compuesta por partículas con un diámetro  $<100 \mu\text{m}$  y la fracción respirable con diámetro  $\leq 4 \mu\text{m}$ , que se encuentran como polvo, óxidos o humos (Santamaria

et al., 2007), por lo que una adecuada ventilación y el uso de equipo de protección disminuye la exposición y reduce el riesgo de presentar efectos tóxicos (Josephs et al., 2005).

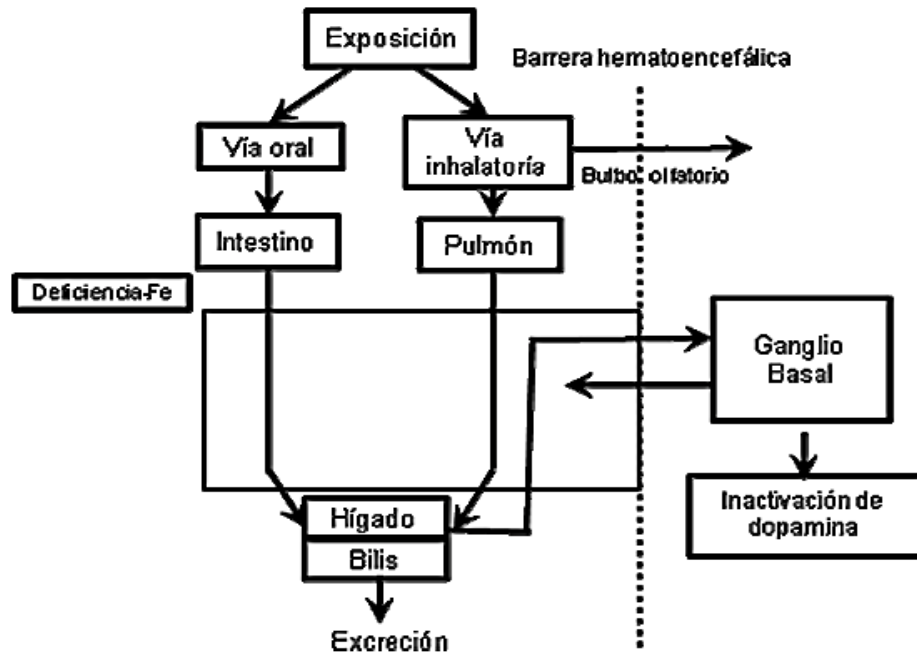


Figura 1 Esquema general del metabolismo del manganeso, a través de sus rutas de exposición (tomado de Medina, 2008)

El grado de absorción del manganeso depende de diversos factores, principalmente del tamaño de partícula, solubilidad, retención en la cavidad nasal, sitio donde se deposita (Medina, 2008). De acuerdo con la fisiología del tracto respiratorio las partículas con diámetro  $>5 \mu\text{m}$  se depositan en la región nasofaríngea, que es la más alta. Las partículas con diámetro de  $1-5 \mu\text{m}$  se depositan en la región traqueobronquiolar del pulmón, que es la intermedia, pudiéndose eliminar a través del moco y eliminarse por estornudos o tos y pasar al tracto gastrointestinal. Las partículas con diámetro  $<1 \mu\text{m}$  penetran a los sacos alveolares de los pulmones, pudiendo ser absorbidas o bien eliminadas a través del sistema linfático o por medio de macrófagos alveolares (Peña et al., 2000).

Se ha descrito al bulbo olfatorio como una vía de entrada importante de partículas de manganeso ultra finas ( $\leq 100 \text{ nm} = 0.1 \text{ }\mu\text{m}$ ), debido a que la cavidad nasal se comunica al bulbo olfatorio y éste de manera directa al nervio olfatorio hacia el sistema nervioso central. La solubilidad juega un papel determinante en este proceso (Crossgrove J. & Zheng, 2004; Elder et al., 2006). Utilizando un modelo de depósito predictivo de partículas en ratas, se ha estimado que el 11.5 % de lo que se deposita en la mucosa olfatoria es traslocado al bulbo olfatorio (Asgharian & Anjilvel, 1998).

En cuanto a la vía oral, como ya se comentó, existe un mecanismo homeostático que limita su absorción, el cual actúa aumentando la absorción si se tiene poco manganeso en la dieta, mientras que disminuye su absorción si la dieta es rica en manganeso (Andersen et al., 1999). Sin embargo, diversos estudios han mostrado ciertas evidencias de que la vía oral puede ser también una causa de toxicidad, especialmente en referencia a la ingesta de agua de pozos contaminados de manera natural por manganeso, que se ha asociado con disminución en la función intelectual (Wasserman et al., 2006). En el Cuadro 1 se resumen las vías de exposición al manganeso (ATSDR, 2016), aunque es la inhalación la única vía probada de toxicidad.

Cuadro 1 Formas de exposición al manganeso

Vía	Exposición
Oral	La principal forma de exposición al manganeso es a través del consumo de alimentos o de suplementos dietéticos que contienen manganeso. Dietas en alimentos ricos en manganeso tales como cereales, habichuelas, nueces o té.
	El manganeso forma parte natural del ambiente, por lo que siempre hay exposición a niveles bajos en el agua, el aire, el suelo y alimentos. Beber agua que contiene manganeso o nadar o bañarse en agua que contiene manganeso puede exponer a niveles bajos de éste.
Inhalación	Personas en ciertas ocupaciones tales como soldadores o trabajadores en fundiciones de acero pueden tener mayor probabilidad de exposición a niveles altos de manganeso.
	El aire contiene niveles bajos de manganeso. Las descargas de manganeso al aire ocurren a causa de: industrias que usan o manufacturan productos que contienen manganeso, actividades de la minería, el tubo de escape de automóviles, gente que fuma o que inhala humo de segunda mano generalmente está expuesta a niveles más altos que aquellos que no se exponen a humo de tabaco.



El manganeso es absorbido como Mn (II) en el intestino y pasa a la sangre, donde es oxidado a Mn (III) por la ceruloplasmina, con la finalidad de aumentar la afinidad con la transferrina para ser transportado. En cuanto a la vía inhalatoria, este elemento se presenta como Mn (II) o Mn (III), los cuales son absorbidos en la región alveolar hacia sangre, aparentemente el Mn (II) presenta una absorción mayor (Andersen et al., 1999).

En los capilares de la barrera hematoencefálica se localizan receptores de transferrina, los cuales permiten el paso a través de las células endoteliales de cerebro por endocitosis. Además, se tiene evidencia de que a través de un transporte saturable ingresa como Mn (II) (Andersen et al., 1999). Una vez que el manganeso ingresa al sistema nervioso central se acumula en el globo pálido, sustancia negra y cuerpo estriado, lo cual se demuestra en imágenes de resonancia magnética, siendo el diagnóstico diferente para manganismo, debido a que en el síndrome de Parkinson esta zona no presenta hiperintensidad (Josephs et al., 2005). El manganismo es un síndrome neurológico que se asemeja a la enfermedad de Parkinson (EP), pero no hay pruebas de que el Mn dañe preferencialmente las áreas del cerebro de aquellos que se ven afectados por la EP (Calne et al., 1994; Olanow, 2004).

La principal ruta de eliminación es a través de las heces, sin embargo, la concentración de manganeso excretada refleja tanto el manganeso no absorbido como el absorbido y eliminado por excreción biliar (EPA, 2003).

Es importante destacar que la absorción de manganeso se incrementa al presentarse una disminución en la ingesta de hierro, debido a que el manganeso utiliza a la transferrina como proteína transportadora (Heilig et al., 2005). La transferrina es una proteína sintetizada en el hígado que tiene dos sitios activos para hierro, en una proporción de dos hierros por cada molécula (2:1). Al presentarse un incremento de manganeso o bien una deficiencia de hierro, el manganeso puede ocupar el sitio activo del Fe (III), pero con una menor afinidad. Asimismo, es importante considerar que la deficiencia de hierro

en la dieta se reporta como un problema nutricional, lo cual es preocupante al asociarlo con un aumento en el factor de riesgo por exposición a manganeso (Anderson et al., 2006), aunque hay más casos de estudio de deficiencia de manganeso que de toxicidad (Keen et al., 1999; Greger, 1999; Rodríguez-Rodríguez et al., 2011).

### **1.1.3. Toxicología del manganeso**

Durante mucho tiempo se ha sabido que a pesar de que el Mn es un elemento esencial para los seres humanos y que el organismo cuenta con un sistema de control de la cantidad de manganeso ingerido, solamente se considera tóxico cuando se inhala (Cuadro 2), es una sustancia neurotóxica (Santamaria et al., 2007). El modo en el que el Mn afecta al cerebro es un fenómeno complejo sujeto a procesos fisiológicos y fisiopatológicos; en el que, entre otros, la vía de exposición juega un papel importante.

Cuadro 2 Resumen del papel del manganeso en el cuerpo (Gómez & Sotés, 2014)

---

#### **El manganeso es necesario para:**

- El metabolismo de las grasas y proteínas**
- Tener un sistema inmunológico saludable**
- El crecimiento normal de los huesos: está involucrado en el uso de las vitaminas B1 y E**

---

#### **La toxicidad propia del manganeso se relaciona con:**

- La neurotoxicidad (es la más frecuente)**
  - La hepatotoxicidad**
  - La toxicidad pulmonar**
  - La toxicidad reproductiva**
  - La toxicidad del desarrollo**
- 

La toxicidad de Mn se ha observado principalmente en ambientes laborales, donde existe el potencial para la exposición crónica a niveles altos o después de la ingestión accidental de grandes cantidades. El riesgo que representa la exposición ambiental al Mn para la salud humana ha sido poco estudiado. Los resultados para la población general adulta sugieren que la exposición al Mn

del medio ambiente tiene un efecto sobre las capacidades motoras necesarias para que un sujeto ejecute un trabajo coordinado, como son los movimientos secuenciales alternados (Mergler et al., 1999; Rodríguez-Agudelo et al., 2006).

Couper, J. (1837) fue el primero en reportar efectos neurológicos asociados con la exposición al Mn, cuando describió debilidad muscular, temblor en las extremidades, habla susurrada, salivación y una postura doblada en uno de cada cinco hombres que trabajaban en una planta de trituración de Mn mineral en Francia, llamó a este conjunto de síntomas "la enfermedad de la trituradora de manganeso", más tarde reconocida como "manganismo".

Poco se sabe sobre los efectos potenciales de exposición al Mn en el desarrollo de la función motora en los niños y sólo unos pocos estudios han demostrado los efectos nocivos de la exposición al Mn en su desarrollo cognitivo. Dichos informes proceden de estudios transversales de escolares que sugieren que el aumento de la exposición ambiental a Mn, ya sea por el consumo de agua contaminada con Mn o la inhalación de Mn en el aire, produce un menor rendimiento en las pruebas de evaluación de las habilidades manuales, la capacidad de atención y memoria visual, así como una menor función intelectual medida como un rendimiento de CI total y verbal (He et al., 1994, Wasserman et al., 2006; Wright et al., 2006; Menezes-Fihlo et al., 2009; Riojas-Rodríguez et al., 2010 y ATSDR, 2016).

#### **1.1.4. Material particulado**

El material particulado, también conocido como partículas finas o PM (del inglés *Particulate Matter*), es una mezcla compleja de partículas extremadamente pequeñas y gotitas de agua (EPA, 2016). Las partículas pueden tener un origen natural y también antropogénico (Secretaría de Salud, 2014).

El tamaño es un parámetro importante para caracterizar su comportamiento en la atmósfera y, por ende, la concentración a la que puede estar expuesta la población, ya que está directamente ligado a su potencial para causar

problemas de salud (EPA, 2016), pues determina la capacidad de penetración y retención en diversas regiones de las vías respiratorias (Secretaría de Salud, 2014) (Figura 2). De acuerdo con su diámetro aerodinámico, las partículas en general se clasifican como menores o iguales a 10  $\mu\text{m}$  ( $\text{PM}_{10}$ ), menores o iguales a 2.5  $\mu\text{m}$  ( $\text{PM}_{2.5}$ ), y menores o iguales a 0.1  $\mu\text{m}$  ( $\text{PM}_{0.1}$ ).

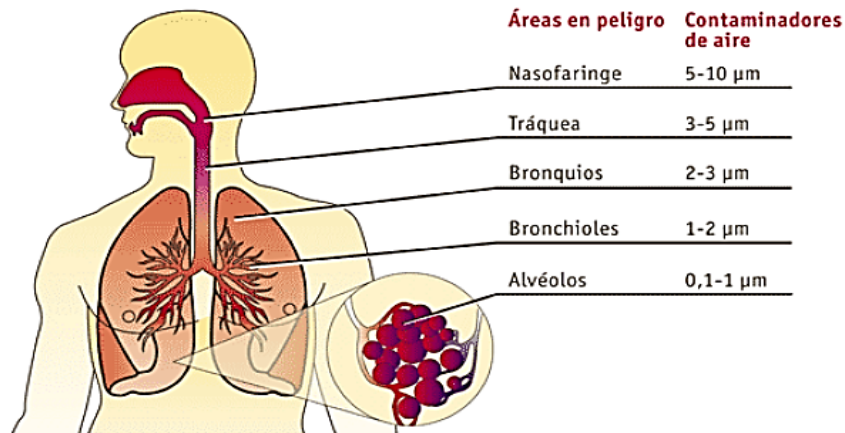


Figura 2 Alojamiento de las partículas en el cuerpo humano (Canales-Rodríguez *et al.*, 2014)

Las partículas que generan mayor preocupación son las  $\text{PM}_{10}$  y menores, porque son las que después de pasar a través de la garganta y nariz, entran a los pulmones. La EPA agrupa la contaminación por partículas finas en dos categorías:

- A) “Partículas inhalables gruesas o  $\text{PM}_{10}$ ”, como aquellas encontradas cerca de las carreteras e industrias polvosas, son mayores a 2.5  $\mu\text{m}$  y menores a 10  $\mu\text{m}$  en diámetro.
- B) “Partículas finas o  $\text{PM}_{2.5}$ ”, como aquellas encontradas en el humo y la niebla cuyo tamaño es igual o menor a 2.5  $\mu\text{m}$ . Estas partículas pueden ser directamente emitidas de fuentes como combustión de la madera, máquinas de gasolina y diesel, o de procesos industriales a altas temperaturas como fundidoras y acerías, o se pueden formar y emitir en los gases de las plantas de energía, industria química y automóviles.

Además del tamaño, la composición química de las partículas, que varía dependiendo de la fuente de emisión, juega un papel importante en relación con los daños específicos a la salud, aunque también es muy importante la cantidad, que depende de las condiciones geográficas y meteorológicas como temperatura, humedad y viento (Tzintzun et al., 2005). Las partículas pueden ser transportadas eólicamente largas distancias y luego pueden depositarse sobre el suelo, árboles y cuerpos de agua.

#### **1.1.5. Manganeso en animales y humanos**

Se ha demostrado que la deficiencia de manganeso puede causar defectos bioquímicos y estructurales en varias especies, incluyendo ratas, ratones, cerdos, pollos y ganado vacuno, además de tener efectos significativos en la producción de ácido hialurónico, sulfato de condroitina, heparina y otras formas de mucopolisacáridos que son importantes para el crecimiento y mantenimiento de tejido conectivo, cartílago y hueso. Las consecuencias de la deficiencia de Mn incluyen alteraciones al metabolismo de carbohidratos, un sistema de defensa oxidante deteriorado, reducción en la asimilación de la glucosa, metabolismo lipídico anormal y perturbaciones en el metabolismo de factor de crecimiento. Si la deficiencia se presenta durante el desarrollo temprano, pueden producirse anomalías esqueléticas pronunciadas y ataxia irreversible.

Se conocen casos de deficiencias de Mn en seres humanos, en los cuales se reportan síntomas que incluyen dermatitis, retraso en el crecimiento del cabello y las uñas, disminución de los niveles de colesterol en suero y disminución en los niveles de proteínas de coagulación (Keen, 1994). Friedman et al. (1987) indujeron una deficiencia de Mn en varones adultos mediante la administración de una dieta deficiente en Mn durante 39 días. Los sujetos desarrollaron una dermatitis temporal, un aumento de calcio sérico y fósforo y un aumento de la actividad fosfatasa alcalina sugerente de la resorción ósea. Además, se han reportado varias enfermedades que se caracterizan por concentraciones arteriales de Mn bajas, incluyendo epilepsia, enfermedad Mseleni, síndrome de

Down, osteoporosis y la enfermedad de Perthes. La deficiencia de manganeso también ha sido citada como un posible factor etiológico para algunas malformaciones congénitas y varios errores innatos del metabolismo se han asociado con el mal estado de Mn, por ejemplo, fenilcetonuria, enfermedad de la orina de jarabe de arce (Keen, 1994).

#### **1.1.6. Manganeso en plantas**

Los requerimientos de elementos esenciales de muchas de las plantas cultivadas han sido analizados con detalle desde hace tiempo, especialmente a partir de 1860 que se introdujo la hidroponía, lo que ha permitido llevar a cabo, con un mejor control este tipo de estudios (Raya & Aguirre, 2009). Entre estos elementos, el manganeso es un micro-nutriente muy importante.

La absorción del Mn por las plantas depende principalmente de la forma en que este elemento se encuentre en el suelo. En suelos ácidos el Mn (IV) es reducido a la forma bivalente Mn (II), en la que es absorbido en grandes cantidades, tóxicas para las plantas, afectando principalmente la parte aérea y, en menor grado, al sistema radical (Centro Internacional de Agricultura Tropical, 1981).

En las plantas el Mn activa una gran cantidad de enzimas que catalizan los procesos de óxido-reducción, descarboxilación, síntesis de ácidos grasos y su hidrólisis. Las deficiencias de Mn en las plantas se presentan generalmente en suelos ácidos, suelos con poco contenido de minerales de Mn, suelos calcáreos pobremente drenados y suelos ricos en materia orgánica. Los síntomas de deficiencia foliar incluyen clorosis intervenal con color blanco y venas verdes oscuras.

#### **1.1.7. Fuentes de manganeso**

La concentración de Mn en la corteza terrestre es del 0.1 %, el suelo contiene entre 7 y 10 000 ppm de Mn, con un valor promedio de 440 ppm (Scăețeanu et al., 2013). Es un elemento que normalmente se encuentra en el aire, suelo, agua y alimentos (ATSDR, 2012).

En el suelo el Mn se distribuye entre la fase mineral, complejo activo inorgánico, fracción orgánica y solución. La cantidad total de este elemento en suelos depende de la composición de la roca madre y la concentración disponible depende de las condiciones de pH, potencial eléctrico, concentración de coloides, contenido de materia orgánica y humedad (Scăețeanu et al., 2013). Las plantas utilizan el Mn que se encuentra soluble o intercambiable.

El manganeso es también un constituyente común del agua subterránea y niveles elevados de manganeso pueden aparecer en algunas aguas subterráneas debido al contacto con ciertas formaciones rocosas o a fuentes de contaminación externas (naturales o antropogénicas). El principal factor responsable que puede conducir al incremento de los valores de la concentración de Mn en agua es la actividad humana. De acuerdo con la legislación europea, el límite permisible para Mn contenido en el agua potable es de 0.05 mg/L (Scăețeanu et al., 2013).

Las principales fuentes antropogénicas de manganeso incluyen a la minería y fundición, ingeniería y agricultura; así como emisiones de las plantas de tratamiento e incineración de residuos, aunque el impacto generado por estos dos últimos factores mencionados depende de la calidad del control de operación.

La dieta representa la principal fuente de ingesta de manganeso para los humanos. El Mn se encuentra en bajas concentraciones en frutas y vegetales; y en mayor cantidad en granos, aceite de oliva y ostras, entre otros (Salminen, 2006). Investigaciones recientes revelaron que el té representa una gran fuente de manganeso (Karak & Bhagat, 2012). La ingesta de manganeso después de beber té comúnmente excede los valores propuestos de ingesta adecuados de 1.8-2.3 mg Mn/día y, ocasionalmente, excede los límites superiores de 10-11 mg Mn/día (Scăețeanu et al., 2013).

## **1.2. Plomo**

### **1.2.1. Generalidades**

El plomo es un elemento que existe en forma natural en la corteza terrestre, de la cual ha sido extraído por el hombre desde épocas remotas para aprovechar su maleabilidad y ductilidad en la fabricación de objetos múltiples desde tuberías para la conducción de agua, monedas, productos de cerámica vidriada, hasta objetos de arte.

El plomo es un elemento conocido y utilizado desde la antigüedad y su comportamiento tóxico ha sido ampliamente estudiado. Se han constatado sus efectos nocivos para las funciones renal y hepática, y los sistemas hematopoyéticos, nervioso central y periférico.

La amplia utilización del plomo y sus derivados en las actividades industriales le han convertido en un contaminante muy importante en el ámbito de la prevención de enfermedades profesionales (Caballero, 2008).

Hay evidencia que ya era conocido en Asia Menor Oriental allá por el año 4000 AC. Egipcios y hebreos usaron el plomo y los fenicios trabajaron minas de plomo en España en el año 2000 AC. Hipócrates de Cos (370 AC) fue el primero en describir síntomas en trabajadores con plomo. Nicanor, en el s. II AC, relacionó directamente estreñimiento, cólico, palidez, parálisis y perturbaciones de la visión con la exposición al plomo. Plinio el Viejo y Paracelso describen el envenenamiento por plomo en los constructores de naves. Dieciséis siglos después, Bernardo Ramazón, en 1713, describe temblor y parálisis en las manos en alfareros que usan plomo para el glaseado. El primer autor moderno que describió este envenenamiento fue Tanquerel des Planches en un estudio publicado en 1839, basado en 1 200 casos de intoxicación por plomo, el cual es tan completo que hasta hoy es muy poco lo que se ha agregado a su descripción de los síntomas y signos. Laennec, en 1831, Andral y Gavarret, en 1840, llaman la atención sobre la anemia causada por el plomo. Garrod, en



1892, fue el primero en informar del aumento de porfirinas en la orina; y Behrend, en 1899, observó el punteado basófilo en los hematíes.

Para el año 1960, la intoxicación por plomo pasó de problema ocupacional a problema de salud pública, sobre todo en los niños, pues éstos pueden intoxicarse de varias maneras como son: ingestión de residuos de pinturas que contengan plomo, por vivir en ciudades industriales contaminadas o en zonas aledañas a depósitos de relaves de plomo. Por este motivo, pediatras o neurólogos cotidianamente se encuentran con niños que presentan síntomas de una intoxicación por plomo. Sin embargo, quienes deben conocer los síntomas provocados por una intoxicación por plomo son los médicos de empresas que procesan o manejan plomo (Ramírez, 2005).

El uso de cerámica vidriada para cocinar y almacenar alimentos se ha identificado como una de las fuentes más importantes de exposición al plomo. En México esto tiene gran importancia, ya que el uso de estos utensilios es frecuente, sobre todo en poblaciones rurales donde las vasijas de barro son los recipientes más empleados en la preparación y almacenamiento de alimentos.

La mayoría de los estudios refieren como una de las principales fuentes de exposición al plomo el consumo de alimentos cocinados en cerámica vidriada de baja temperatura, ya que el plomo en forma de óxido utilizado como fundente, no logra integrarse a la estructura de la sílice y puede liberarse durante la cocción.

Durante la fabricación de este tipo de cerámica vidriada, el riesgo de exposición al plomo se potencializa (Pérez et al., 2003).

### **1.2.2. Toxicocinética del plomo**

El plomo y sus compuestos penetran en el organismo por dos vías principales, inhalación e ingestión. La vía de ingreso, el tamaño de la partícula y el tipo de compuestos de plomo orgánico o inorgánico determina la concentración y la

posibilidad de difusión del plomo hacia el organismo. Se sabe que entre un 5 y 10 % de este elemento ingerido se absorbe por el tracto gastrointestinal. Algunos factores que pueden incrementar la absorción de plomo son la baja ingestión de calcio, vitamina D, hierro y proteínas (Infantas, 2005).

A nivel intestinal el plomo utiliza los mismos mecanismos de absorción del calcio, por tanto, las cantidades de calcio en la dieta influyen en la absorción del plomo en el sentido de que, dietas ricas en calcio, restringen la absorción intestinal del plomo y viceversa.

El plomo absorbido es transportado por la sangre, se establece un rápido equilibrio entre eritrocitos y plasma, llegando a diversos órganos y tejidos, el aumento en la concentración sanguínea indica una exposición reciente, por lo tanto, en los casos de exposiciones intermitentes y variables, el dato sobre la concentración de plomo en sangre tiene un uso limitado.

A partir de autopsias se sabe que el plomo tiene una fuerte tendencia a acumularse en los huesos, los cuales reflejan exposición a largo plazo, representando aproximadamente 90 % del contenido total corporal del metal. Este plomo acumulado mantiene los niveles sanguíneos elevados, aún después de cesar la exposición (Alegre et al., 2010).

Una fracción del plomo del plasma se difunde hacia dos tipos de tejidos: los duros (huesos, pelo, uñas y dientes) y los blandos (médula ósea, sistema nervioso, riñones, hígado). Se considera que sólo el plomo presente en los tejidos blandos es directamente tóxico. El plomo en los tejidos duros permanece estrechamente fijado y sólo es tóxico cuando la acumulación sirve como fuente del metal para los tejidos blandos.

Luego de ser absorbido el plomo pasa principalmente a la sangre y los huesos. La porción de éste que no es absorbida pasa a través del tracto gastrointestinal y es eliminada por las heces. El plomo que penetra en el flujo sanguíneo, pero que no es retenido, es excretado por el sistema renal; la vía fundamental de

excreción en el organismo humano es la orina (75-80 %), además se excreta por las heces (aproximadamente 15 %) y por los cabellos, uñas y sudor (8 %).

Los lactantes y niños de edad preescolar constituyen un grupo muy expuesto en lo que concierne a la absorción y toxicidad del plomo, comparativamente con los adultos, los factores influyentes pueden ser:

-Metabolismo más activo.

-Crecimiento corporal más rápido.

-Inmadurez del sistema nervioso y del sistema inmunitario.

-Desarrollo incompleto de ciertos órganos y tejidos (como los huesos y el cerebro).

Los lactantes absorben entre 40 y 53 % del plomo y retienen el 30 % aproximadamente. En los niños el sistema esquelético crece de manera exponencial; en la primera infancia el esqueleto aumenta 40 veces su masa original y durante este periodo tiene mayor capacidad para acumular plomo (Alegre et al., 2010).

Los daños causados por el plomo en los niños son permanentes. El metal se acumula en los huesos lentamente, impidiendo el crecimiento y deteriorando el cerebro (Figura 3). El envenenamiento debe ser diagnosticado por un médico, pero pueden también presentarse ciertas señales indicativas como: sueño intranquilo, comportamiento errático y dificultades en las matemáticas, la lectura, la escritura y otras fases del aprendizaje en la escuela. Si el nivel del plomo en la sangre es suficientemente alto, el niño puede morir (Caballero, 2008).

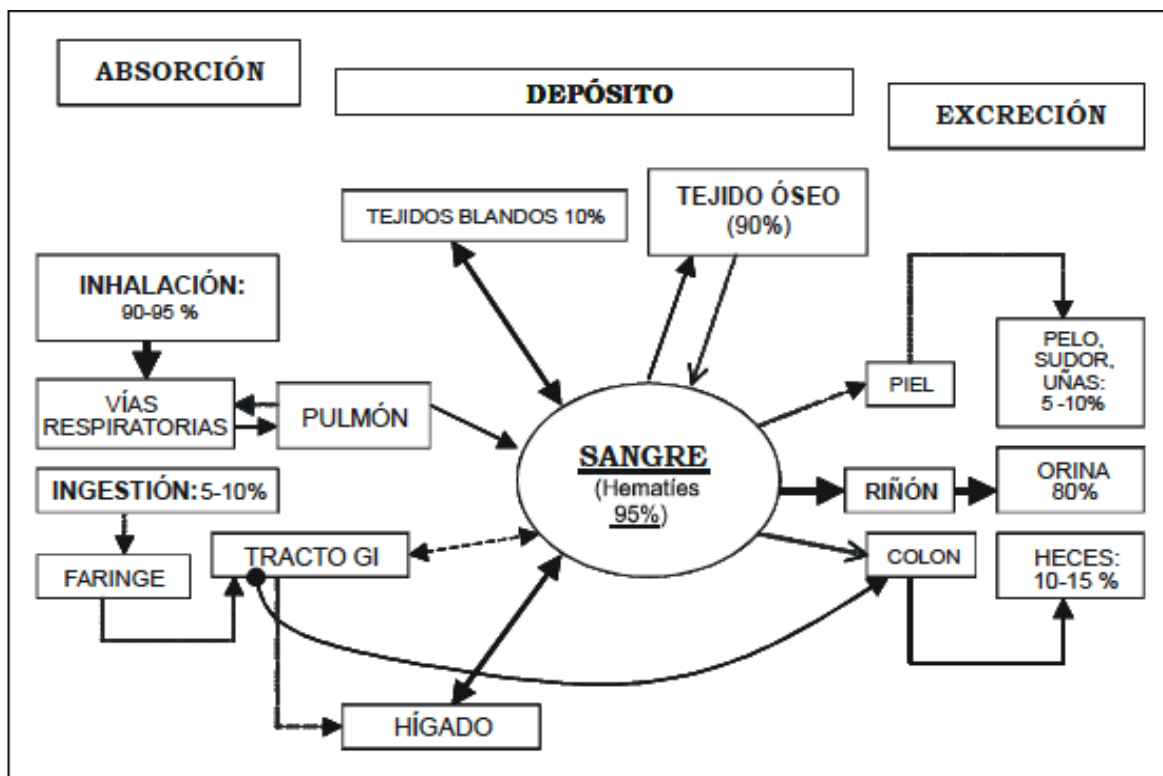


Figura 3 Modelo metabólico del plomo en el ser humano (tomado de Ramírez, 2005)

### 1.2.3. Toxicología del plomo

En los estados iniciales los pacientes presentan anemia, debilidad y cansancio, dolor de cabeza, dolor muscular, irritabilidad, falta de atención, dolor de estómago y abdomen, estreñimiento y a menudo náuseas; en un estado más avanzado (0.6 mg/kg) los eritrocitos aparecen pigmentados con una disminución de la actividad enzimática. El estudio radiológico muestra un incremento en la densidad de los huesos, especialmente en las epífisis (la parte terminal de los huesos largos). También se puede presentar un oscurecimiento en las heces (debido a un sangrado interno), mientras que las encías pueden presentar la llamada "línea de plomo" o ribete gingival.

Una intoxicación avanzada involucra al sistema nervioso, lo cual hace que se tenga una gran variedad de síntomas, como mareos, convulsiones epileptiformes, pérdida de equilibrio (en niños), pérdida de movimientos de músculos (como los de la mano, que se ve flácida), los nervios oculares son

afectados, llegándose a perder la vista. También se presenta un exceso de líquido cerebrospinal (Figura 4). Cabe señalar que el plomo proveniente de la contaminación ambiental (aire) causa irritabilidad, ansiedad, depresión, etc. Los síntomas debidos a plomo son a menudo confundidos con deficiencias de vitamina B1, diabetes o intoxicación por arsénico (Vega & Florentino, 1991).

En infantes se han realizado estudios que demuestran los efectos perjudiciales sobre su comportamiento e inteligencia cuando están expuestos a este metal y se ha concluido que a niveles de 10 a 20  $\mu\text{g/mL}$  en sangre, determinan una disminución del coeficiente intelectual, aunque la aparición de síntomas y signos dependerá del tiempo de exposición y de la edad del paciente. La forma de presentación de los síntomas puede ser aguda o crónica:

- Aguda:

La intoxicación aguda es una presentación infrecuente y puede deberse a ingestión de alimentos contaminados o a inhalación masiva de vapores de plomo.

En niños la forma más frecuente de presentación es la encefalopatía aguda, que puede estar precedida de cólicos abdominales o alteraciones de conducta. Se manifiesta por vómitos persistentes, ataxia, convulsiones intratables, alteración de la conciencia y coma.

- Crónica:

Es la forma más frecuente de presentación tanto en niños como en adultos. Los síntomas son inespecíficos afectando principalmente al sistema nervioso, gastrointestinal, renal, hematopoyético y neuromuscular. En la forma crónica toman relevancia las alteraciones neuroconductuales como la hiperactividad, disminución del juego, alteraciones del comportamiento, mal rendimiento escolar.

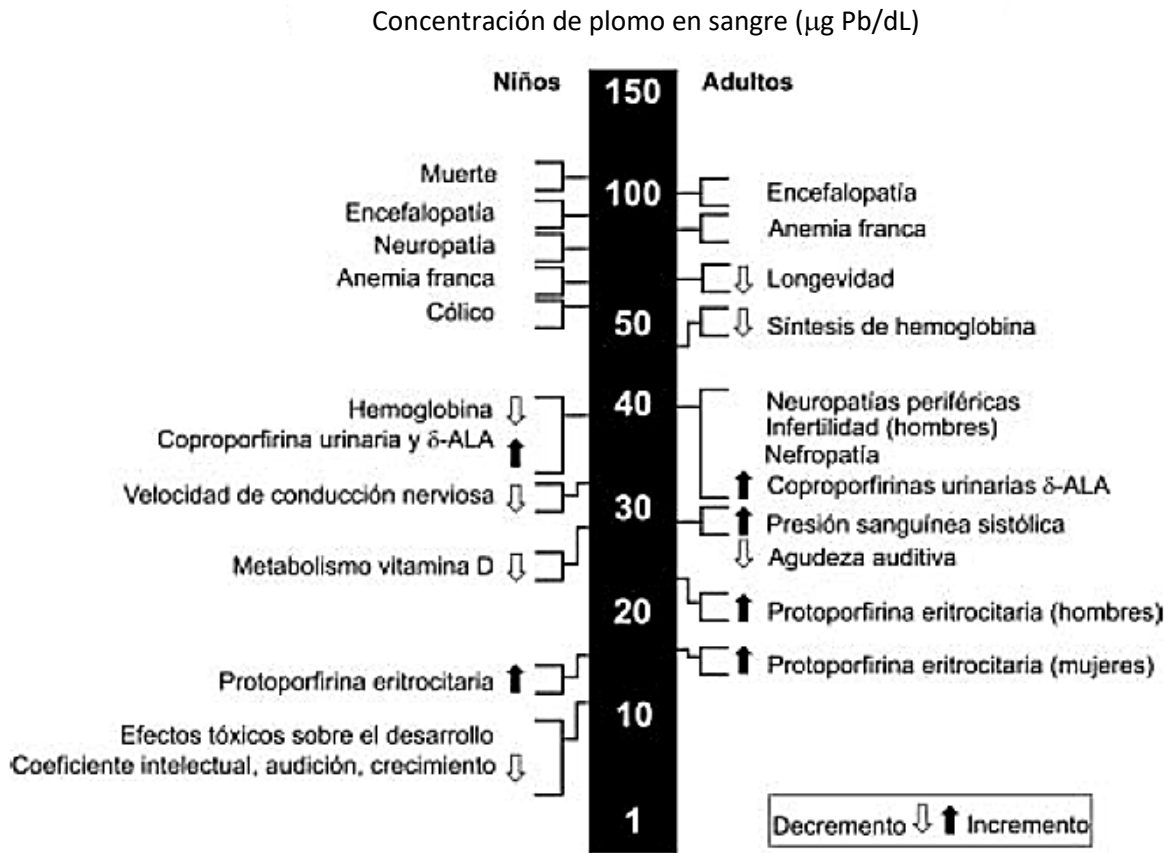


Figura 4 Correlación entre distintos niveles de plomo en sangre en humano (expresados en microgramos de plomo por decilitro de sangre) y distintas alteraciones patológicas observadas tanto en niños como en adultos (tomado de Garza et al., 2005)

#### 1.2.4. Uso del plomo en la alfarería

En la fabricación de la cerámica vidriada, el barro se recubre con una mezcla de minerales, entre los que destaca el óxido de plomo, que junto con la sílice forma vidriados brillantes y disminuye la desvitrificación de las piezas de barro con el paso del tiempo. No obstante, de acuerdo con la temperatura de cocción, el plomo puede prácticamente inmovilizarse o quedar soluble, sobre todo en presencia de alimentos y bebidas ácidas. Para disminuir el porcentaje de plomo que se libera de estos utensilios es importante que los hornos utilizados para cocer las piezas de cerámica alcancen temperaturas mayores a 1 150 °C. Además, las deficiencias en el área de fabricación tanto de higiene y orden, como de procedimientos provocan importantes aportes de plomo al ambiente

de trabajo donde se fabrican las vasijas, en consecuencia, éstas también quedan impregnadas de manera superficial con dicho metal (Calvo-Carrillo & Mendoza-Martínez, 2012).

En México existe normatividad que impone los límites permitidos para el contenido de plomo en vasijas de barro, dicha norma es la NOM-231-SSA1-2016, que indica un máximo de entre 0.5 a 2 mg/L de plomo en la solución extractora de acuerdo con el tamaño de la vasija analizada, sin embargo, a nivel nacional, existen diversos estudios que indican que las vasijas de barro son una fuente importante de contaminación por plomo, como es el caso del estado de Morelos, en donde se ha encontrado que el promedio de plomo en sangre de niños de 2 a 6 años es de 8.20 µg/dL, destacando que el 67 % de los niños estudiados consumen alimentos cocinados en vasijas de barro (Meneseses-González & Vesta, 2003). También otro estudio llevado a cabo con niños de Tláhuac muestra la misma relación con estos utensilios (Vega-Franco *et al.*, 1994). Si bien para la utilización de las vasijas suele realizarse una extracción con ácido acético conocida comúnmente como curado previo a su utilización, Torres-Sánchez *et al.* (1999) realizaron un estudio para evaluar si el curado es suficiente para asegurar una eliminación del plomo y concluyen que a pesar de haber hecho lo correspondiente a cuatro curados, se siguen cuantificando cantidades de plomo por arriba del límite permitido para las vasijas, por lo que concluyen que el curado no es una técnica confiable y suficiente para eliminar el riesgo de la contaminación por plomo.

### **1.3. Alimentos trazadores de liberación de Pb**

#### **1.3.1. Frijol**

El frijol pertenece a la familia Fabácea, subfamilia *Papilionoideae*, tribu *Phaseolae*, y especie *Phaseolus vulgaris* L. Por su alto contenido proteico (20-25 %) es, entre las leguminosas, el tercer cultivo más importante en el mundo, después de la soya y el cacahuate. Una ingesta regular de frijol favorece en la disminución de los niveles de colesterol y reduce los riesgos de padecer cáncer.

Particularmente en México, el frijol es la leguminosa de mayor consumo humano y representa el 36 % de la ingesta diaria de proteínas (Lara, 2015). El contenido de Mn en frijol común se ha reportado en valores que pueden considerarse altos, de 14.3 mg/kg en base seca (Islam et al, 2006).

Debido al lento y largo proceso de cocimiento de los frijoles, cuando se utilizan vasijas vidriadas de baja temperatura se libera Pb. En México se han realizado estudios en estados como Zacatecas, en los cuales se ha encontrado que en frijoles crudos la concentración de Pb es de 87 mg/kg, mientras que al ser cocidos en vasijas de barro vidriado la concentración aumenta a 175 mg/kg (Manzanares et al., 2006).

### **1.3.2. Salsas**

En México es muy común el consumo de salsas, tanto es así que se estima que el chile es un ingrediente que se encuentra en el 90 % de los platillos nacionales (Moreno, 2013).

Estos alimentos se encuentran ampliamente disponibles en todas las zonas del país, además, en zonas marginadas, son la base de la dieta junto con el maíz, como es el caso de algunas comunidades de la zona de estudio.

## **1.4. Relación entre manganeso y plomo**

La zona de estudio está expuesta a la dispersión de minerales y residuos ricos en manganeso, por lo que los pobladores prácticamente consideran que sus problemas de salud se deben al manganeso, dichas asociaciones se mantienen controversiales, pues, por ejemplo, en un artículo donde se reportan afectaciones a la salud (Jazcilevich et al., 2008), los autores no encuentran concentraciones significativas de Mn debidas a emisiones de la chimenea de la planta nodulizadora. Además, los pobladores también están expuestos a la ingestión de plomo pues es común el uso de vasijas de barro vidriado para la preparación de alimentos, incluso los síntomas pueden confundirse con lo que



provoca la intoxicación por manganeso. Además, puede haber efectos sinérgicos entre ambos elementos, de acuerdo con el estudio realizado por Henn et al., (2012).

## **1.5. Zona de estudio**

### **1.5.1. Generalidades**

El distrito manganesífero de Molango se caracteriza por abundantes montañas, profundas barrancas y rica vegetación. Presenta un clima templado, con lluvias regulares y altas precipitaciones (valores promedio anuales > 800 mm). Existen ríos, arroyos y manantiales como el Río Claro, el Río Malila, el río Chichapan, el arroyo del Agua Fría, los manantiales de Xochico, El Chorro y Atlapachotl, aparte de cientos de manantiales más en pueblos, rancherías y potreros, el río Caxhuacán y la Laguna de Azteca, entre otros.

La fauna está compuesta por mamíferos, tales como coyote, mapache, zorro, tejón, armadillo, liebre y ardilla; y hay una enorme variedad de aves, como el cenzone, el clarín, la primavera, el gorrión, el pájaro rico, águilas, auras y zopilotes. Abundan los reptiles como la víbora "mazacohuatl", la mahuquite y el coralillo que son mortalmente venenosas, la chirrionera verde y amarilla, la mihuaquitlapil y la siete-narices.

En Molango se encuentran diversos tipos de plantas y árboles, entre los que podemos encontrar *Platanus mexicana*, *Cnidocolus multilobus*, *Asclepius curassavica* L, *Solanum diversifolium*, *Pluchea sympitifolia*, *Equisetum hyemale*, *Xnthosoma robustum* y *Thelypteris kunthii*, las cuales, de acuerdo con Juárez et al. (2010), tienen una concentración de manganeso de entre 182.96 y 1 336.36 mg/kg en hojas.

Existen grandes bosques, principalmente de encino, pino y ocote; aunque su densidad está disminuyendo por la actividad forestal, en su mayor parte, no tecnificada. La actividad forestal es común, pero la madera se aprovecha para usos básicos con muy baja productividad, pues, por ejemplo, para fabricar una

docena de tablas, los artesanos utilizan herramientas simples no adecuadas (sierra voladora, cuña de madera, hacha y machete).

La agricultura es de temporal, por lo que la productividad de los cultivos está supeditada a las variaciones en el clima, especialmente a los regímenes pluviométricos. Además, también limita la productividad agrícola lo accidentado del terreno y los escasos insumos. Se realizan entre 2 y 3 siembras y se siguen utilizando técnicas básicamente heredadas de los ancestros, con herramientas tradicionales fabricadas con madera como palas, coas, machetes, arado, yugo de madera, así como hacha y cuñas. Bajo estas difíciles condiciones se produce principalmente café, maíz y algo de caña de azúcar. Los cultivos básicos como el frijol, el haba, la calabaza y el chile, no se comercializan, sino que son consumidos por las familias del productor o utilizados para intercambiarlos por otros alimentos, a través del sistema de trueque. En la región también se cría ganado bovino, porcino y caprino, así como guajolotes y abejas. Sin embargo, al igual que el resto de las actividades tradicionales, también son poco productivas (Inafed, 2002).

### **1.5.2. Localización geográfica**

Se encuentra aproximadamente a 180 km al NNE de la Ciudad de México y 100 km al N de Pachuca, Hidalgo.

La posición geográfica del centro del área es de  $98^{\circ}45'$  de longitud oeste y  $20^{\circ}55'$  latitud norte y está comprendida dentro de los municipios de Lolotla, Molango, Tepehuacán, Tlanchinol y Xochicoatlán (Figura 5).

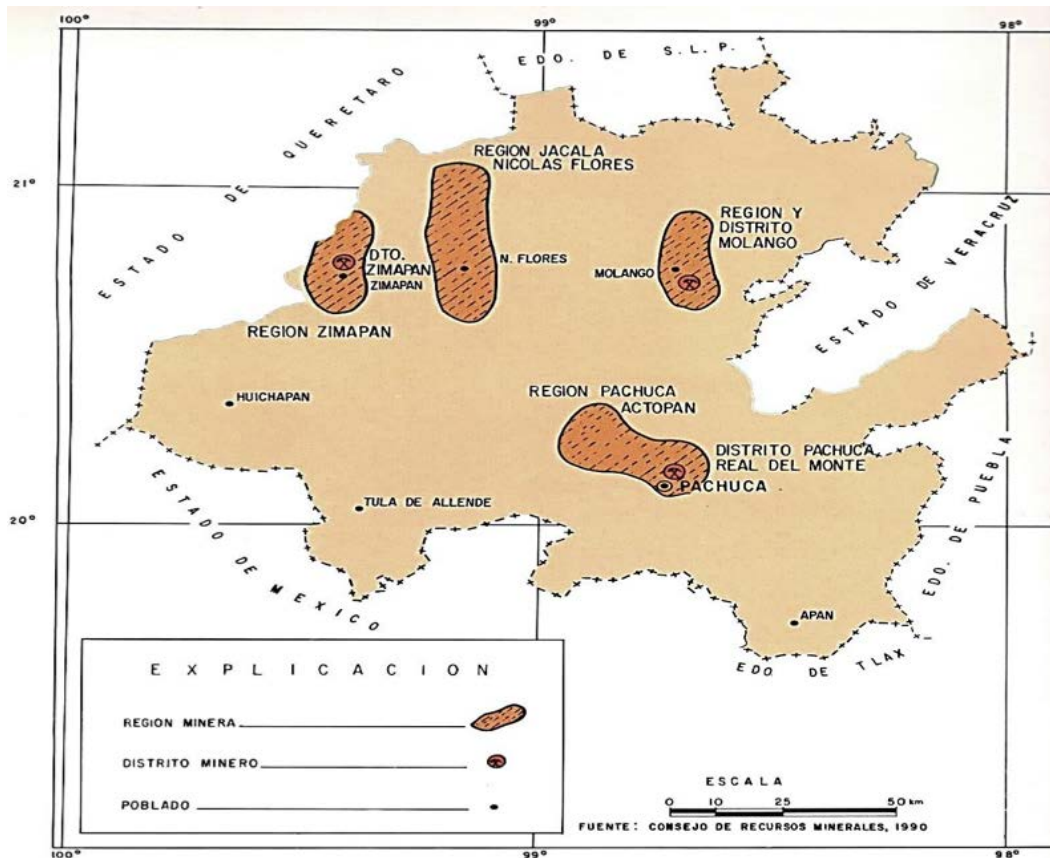


Figura 5 Regiones y distritos mineros de minerales metálicos (Consejo de Recursos Minerales)

### 1.5.3. Síntesis de la hidrología del distrito manganesífero de Molango

En general, las aguas superficiales del Estado de Hidalgo están distribuidas en dos regiones hidrológicas: RH26 “Pánuco” y RH27 “Tuxpan-Nautla”.

La región hidrológica RH26 “Pánuco” con la cuenca del Río Moctezuma cubre el 94.95 % del territorio estatal incluyendo la zona de estudio (Figura 6). Las corrientes fluyen al Río Moctezuma que desemboca en el Río Pánuco vertiendo sus aguas al Golfo de México. Entre las principales corrientes pluviales se destacan los ríos Tula, Amajac y Metztlán. El Río Tula tiene como principales afluentes los ríos Rosas, Cuautitlán, Guadalupe y Salado. Al unirse con el Río San Juan forman el Río Moctezuma, que sirve de límite con Querétaro, penetrando posteriormente a San Luis Potosí para desembocar al Río Pánuco.

El Río Claro es el más importante de la zona, conectando las áreas de estudio de sur a norte, para luego unirse con el Río Amajac, y confluír al Moctezuma, que desemboca en el Pánuco. La mina de Naopa y la planta de Otongo se encuentran en las subcuencas hidrológicas San Andrés-Clara y la planta de Nonoalco en la subcuenca Acuapa-Chinameca. Siendo el principal río de estas subcuencas el Río Claro que nace al sur de la cuenca Acuapa-Chinameca en el municipio de Eloxochitlán con el nombre de Río Agua Fría.

El Río Claro nace en el centro del estado de Hidalgo, dirigiéndose al norte del estado, uniéndose después de aproximadamente 29 km con el Río Amajac al sur de San Luis Potosí para después unirse al Río Moctezuma. (Paratodomexico)

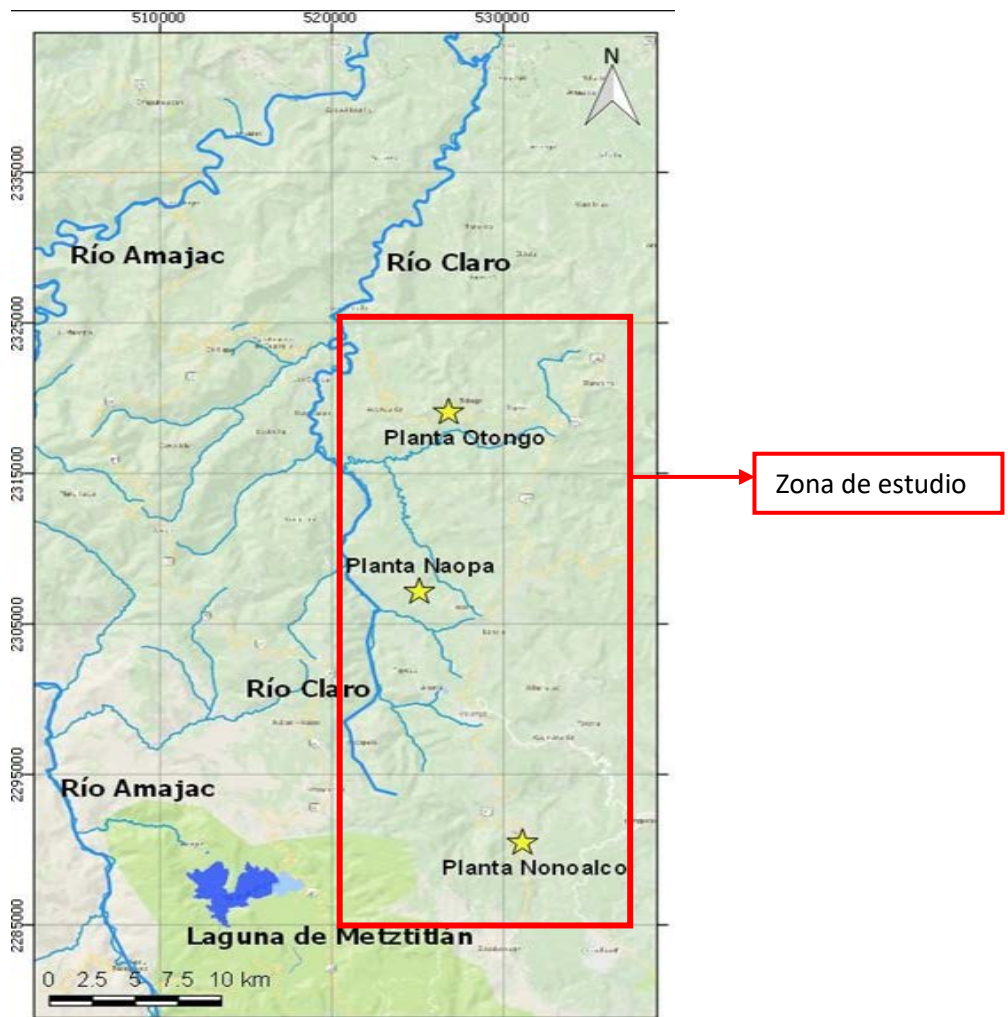
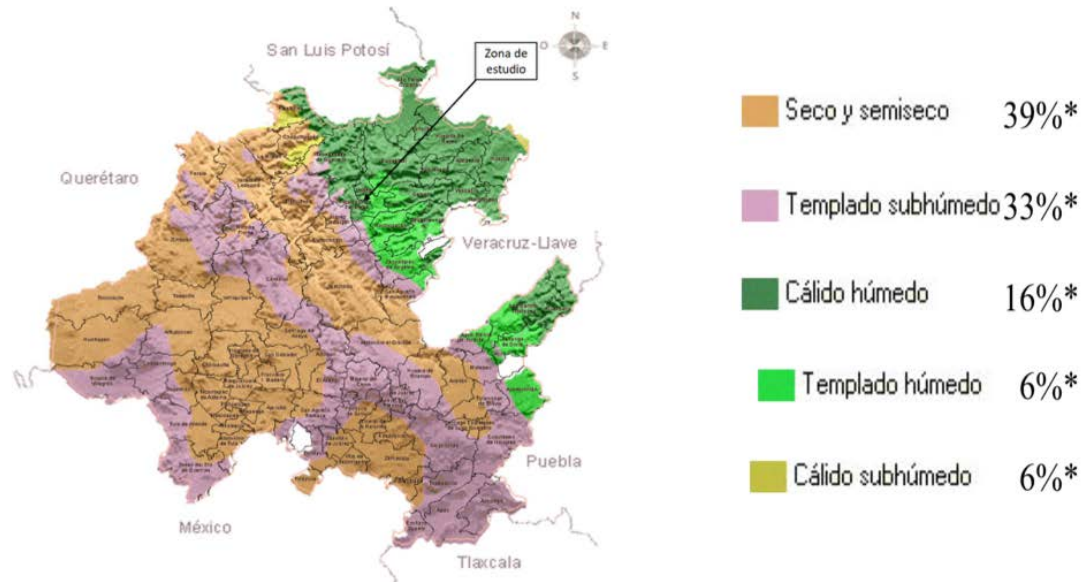


Figura 6 Mapa de hidrografía de la zona de estudio

### 1.5.4. Síntesis de la climatología del distrito manganesífero de Molango

Los datos generales de este estado son: a) temperatura media anual 16 °C (4 – 27 °C) y b) La precipitación media del estado es de 800 mm anuales. La zona de estudio se encuentra ubicada al norte del estado con climas templado y cálido húmedo (Figura 7).



\*Referido al total de la superficie estatal.  
FUENTE: Elaborado con base en INEGI. Carta de Climas 1:1 000 000.

Figura 7 Climas del estado de Hidalgo con señalización de la zona de estudio (DMM)  
(Modificado de Cuéntame INEGI)

En los cuadros 3, 4 y 5 se presentan los registros de la precipitación mensual en mm de las 3 estaciones climatológicas de la zona de estudio, información del Servicio Meteorológico Nacional. Los datos corresponden al periodo de 2008 a 2013.

Cuadro 3 Precipitación pluvial Municipio Tlanchinol (clave 013048) Latitud: 20°59'25''

<b>Total mensual de precipitación (mm)</b>							
<b>AÑO</b>	<b>ENE</b>	<b>FEB</b>	<b>MAR</b>	<b>ABR</b>	<b>MAY</b>	<b>JUN</b>	<b>JUL</b>
2008	85	42	47.5	68	103	445.6	389.3
2009	64	90.5	45	59.5	209	275.5	183
2010	93.5	97.5	25.5	132.5	45.5	118.5	903.1
2011	56.9	28.5	19	139.3	103.2	905.4	581.4
2012							
2013	35.4	62.7	40.8	18.4	145.3	357.6	323
<b>Total mensual de precipitación (mm)</b>							
<b>AÑO</b>	<b>AGO</b>	<b>SEP</b>	<b>OCT</b>	<b>NOV</b>	<b>DIC</b>	<b>Total anual</b>	
2008	280	741.5	286.5	85.5	25	2 599	
2009	149.5	402.8	432.5	169.5	90.5	2 171	
2010	305.6	591	116.7	38.4	47.3	2 515	
2011	158.2	135.1	55.7	173.3	51.1	2 407	
2012			73.2	187	55.3	316	
2013	438.7	1221.5	246.8	344.8	314	3 549	

El año 2013 fue el año con mayor precipitación pluvial, los meses más húmedos son julio, agosto y septiembre, los datos se presentan en la Figura 8.

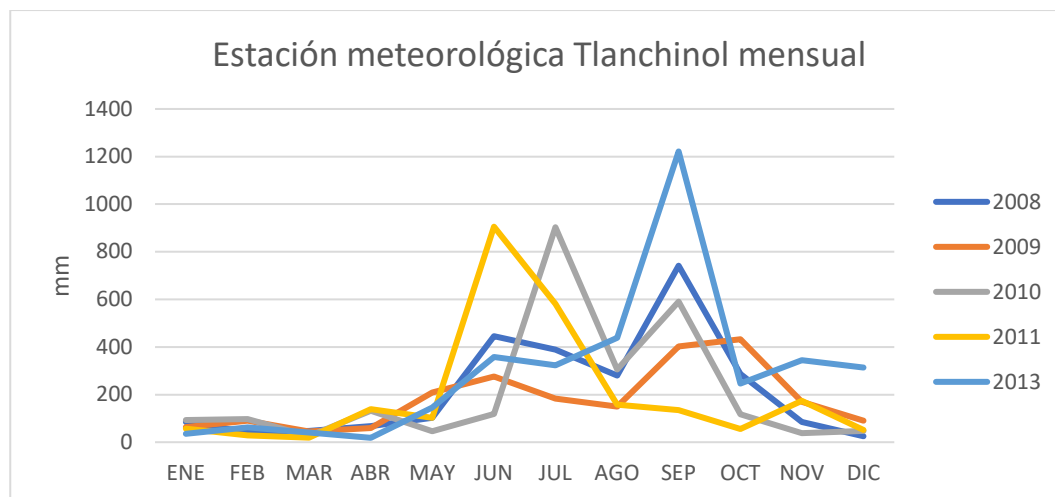


Figura 8 Gráfico de la precipitación pluvial registrada en la estación Tlanchinol años 2008-2013

En el Cuadro 4 se observa el mismo comportamiento que en el Cuadro 3, 2013 fue el año más lluvioso y septiembre el mes más lluvioso.

Cuadro 4 Precipitación pluvial Municipio Zacualtipán (clave 013042) Latitud: 20°31'52''

Total mensual de precipitación (mm)							
AÑO	ENE	FEB	MAR	ABR	MAY	JUN	JUL
2008	69	7	46	54.5	80.5	226	97.2
2009	48	73	18	23	124	61	82.5
2010	83.5	103	34.5	60.1	22.5	100.5	546
2011	26.5	7.5	15.5	37	27	417	377.5
2012	88.5	100.9	34	70	14	125	157.5
2013	6.5	32.5	28.5	15	78	276	80.5

Total mensual de precipitación (mm)						
AÑO	AGO	SEP	OCT	NOV	DIC	Total anual
2008	113.5	484.5	380.5	69.5	11	1 639
2009	75.5	464.5	248	139.5	37.5	1 395
2010	228	435	116	29	22.5	1 781
2011	222	188.5	82	100	28	1 526
2012	273.8	224.5	37	107	7	1 239
2013	201	582.5	158.5	230.5	45.5	1 735

Cuadro 5 Precipitación pluvial Municipio Molango de Escamilla (clave 013066) Latitud: 20°  
47'30 92''

Total mensual de precipitación (mm)							
AÑO	ENE	FEB	MAR	ABR	MAY	JUN	JUL
2008	67.8	13.6	22.0	42.0	113.0	234.5	361.3
2009	59.5	73.7	17.0	31.0	98.5	136.5	99.5
2010	92.0	123.5	31.0	77.5	84.0	54.0	394.0
2011	31.0	16.5	6.0	23.0	22.5	576.0	334.0
2012	57.4	98.2	12.0	38.0	50.0	262.8	346.6
2013	22.7	52.3	41.0	-	86.0	453.7	170.8

Total mensual de precipitación (mm)						
AÑO	AGO	SEP	OCT	NOV	DIC	Total anual
2008	166.2	458.3	378.3	45.0	25.8	1 928
2009	162.5	517.5	237.0	93.5	48.0	1 574
2010	264.0	362.6	63.0	27.0	45.0	1 618
2011	158.0	199.5	24.0	94.0	37.5	1 522
2012	257.7	155.8	39.0	103.5	20.7	1 442
2013	58.7	635.0	165.5	154.3	45.0	1 885

En el Cuadro 5 se presentan los datos de la estación en Molango de Escamilla, el año 2013 es el segundo año más lluvioso, el mes más lluvioso es, al igual que en los casos anteriores, septiembre.

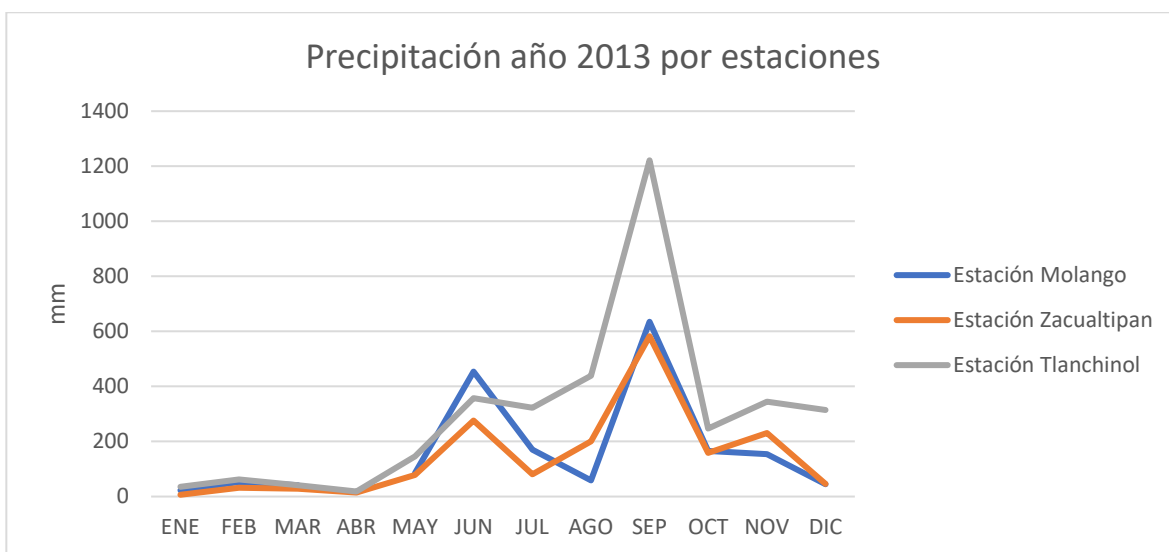


Figura 9 Gráfico de la precipitación pluvial registrada en las estaciones Tlanchinol, Zacualtipán y Molango de Escamilla año 2013



Con los datos de las 3 estaciones se construyó la gráfica que se presenta en la Figura 9 para los datos del año 2013.

El mes más húmedo es septiembre y la precipitación pluvial es mayor en Tlanchinol, se observa que desde el mes de junio comienza la época de lluvias y termina en noviembre.

#### **1.5.5. Síntesis de la eología del distrito manganesífero de Molango**

De acuerdo con Jazcilevich et al. (2012), haciendo uso de una estación meteorológica Davis vantage 2, se encontró que el porcentaje de calmas en la zona es muy alto durante el día, ya que predominan durante la mañana y el medio día y se presentaron vientos cercanos a 0 m/s y máximos menores a 1.5 m/s durante el día y menores a 2.4 m/s durante la tarde.

También se ha reportado que los vientos predominantes son del N, NNE y NNO durante todo el año (Jazcilevich *et al.*, 2008). Las rosas mensuales presentadas son similares, mostrando direcciones predominantes y velocidades de viento parecidas para todos los meses. Sin embargo, lograron percibir que en febrero, marzo y abril, además de las direcciones predominantes, también se presentan en menor cantidad vientos en las direcciones S, SSE, SE, ESE y E. En julio y agosto se presentan casi exclusivamente vientos del N y a partir de septiembre se empieza a notar una componente NNO, que se vuelve más importante al acercarse a diciembre.

Las rosas de los vientos reportadas en el informe correspondiente al año 2007 se muestran en la Figura 10

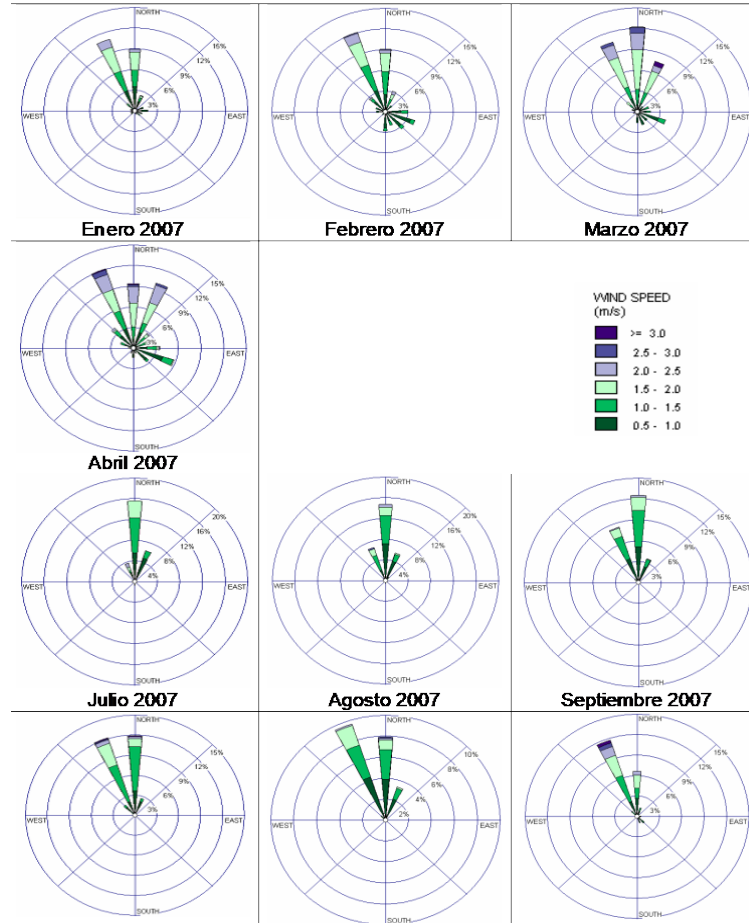


Figura 10 Rosas de los vientos para el año 2007 (tomado de Jazcilevich *et al.*, 2008)

### 1.5.6. Presencia minera en el distrito de Molango

El estado de Hidalgo se caracteriza por ser una entidad con un historial de 500 años de minería. Actualmente es un importante productor de manganeso en el país y ocupa el tercer lugar en la producción de cadmio y en menor proporción la extracción de oro, plata, plomo y zinc, de estos últimos se ha incrementado su extracción a partir del 2011.

Las regiones mineras del estado se han agrupado de acuerdo con el tipo de mineralización, tipo de yacimiento y litología (SGM, 2014), en este sentido el distrito minero de Molango se destaca por la extracción de manganeso, ya que en éste se encuentra una minera, la cual cuenta con tres unidades. Cabe

destacar que en Molango existe el único horno de nodulización y concentración de mineral en el mundo, mediante el cual se producen los nódulos de manganeso y, según Paz (2008b), desde 1991 este horno de nodulización cuenta con una chimenea con filtro de polvos.

Para el caso de estudio, la minera de la zona realiza las operaciones mineras en las unidades de Otongo y Nonoalco, ambas localizadas en el distrito manganesífero de Molango. La misma empresa opera una mina a cielo abierto y otras subterráneas. En una mina a cielo abierto, el proceso de minado consiste en retirar el material inerte y explotar el mineral, el dióxido de manganeso o los carbonatos de manganeso son extraídos y más tarde transportados a una planta procesadora donde son triturados y procesados para remover sustancias no deseadas.

En una mina subterránea los carbonatos de manganeso son explotados por un sistema de minado llamado corte y relleno en el que se aprovecha el material inerte para rellenar las zonas explotadas, según las características estructurales de la roca que envuelve al mineral. La mayoría del volumen de producción de carbonatos es enviada directamente a la zona industrial de la mina para ser triturado, luego se calcina y noduliza en un horno rotatorio tipo cementero que usa gas natural como combustible.

La mina subterránea en Molango está constituida de túneles totalizando aproximadamente 85.0 kilómetros. El método minero involucra barrenar, hacer explotar, cargar y transportar el mineral a vertederos o contrapozos por donde el material cae por gravedad a trituradoras. La mina a cielo abierto usa barrenadoras, camiones y palas cargadoras en el proceso de minado. Una vez que el carbonato de manganeso es extraído de las minas, es acarreado por una banda transportadora hasta el exterior de la mina y con camiones hacia la planta procesadora localizada en el complejo industrial en la cual el mineral es procesado para producir nódulos de manganeso.

La mina de Nonoalco es una mina a cielo abierto de dióxido de manganeso. Este producto se usa para generar dióxido de manganeso grado batería, grado cerámico y óxido manganeso. (AUTLAN, 2012)

Sin embargo, Jazcilevich (2008) menciona que los polvos resuspendidos del tráfico vehicular y la erosión de caminos sin pavimentar son recursos significantes para la contaminación atmosférica y en 2012 el mismo autor dice que niños de 6 y 10 años se han visto afectados por polvos resuspendidos en el área.

## **2. Metodología**

### **2.1. Muestreo**

Debido a que se planeó determinar si las personas están teniendo una exposición ambiental, pero en el laboratorio no se contaba con los equipos y logística necesaria para poder colocar colectores de polvos en los diferentes puntos de interés, se decidió recolectar hojas de árboles, ya que al estar en la intemperie pueden ser utilizadas como trazadores de la dispersión de polvos, pues funcionan como colectores naturales de los mismos polvos que se sedimentan en su superficie (Durán & Alzate, 2009).

Se recolectaron 53 muestras de hojas de árboles de la región, lo cual se realizó a juicio, pero cuidando que las hojas se encontraran a la altura de los ojos del muestreador, esto para asegurar que las hojas estuvieran a una altura a la cual las personas también estén expuestas. Una vez recolectadas las hojas se guardaron en bolsas de papel y se sellaron con cinta adhesiva para su transportación al LABQA para su posterior análisis.

Como estudio exploratorio para determinar si el plomo es un posible contaminante, se recolectaron muestras de frijoles negros enteros cocidos y salsas rojas preparadas de diferentes hogares de las comunidades de Chiconcoac y Tolago (Figura 11), siendo un total de 6 muestras de frijol negro de 6 diferentes hogares y 6 muestras de salsa roja de 6 diferentes hogares, todos los alimentos fueron donados por los lugareños que quisieron colaborar, además se muestrearon 4 muestras de vasijas de barro, 2 nuevas compradas en un puesto local de la zona y 2 usadas, las cuales se intercambiaron por ollas de peltre nuevas con los pobladores de la región, lo que complicó la obtención de más muestras debido a que los pobladores no se mostraban tan confiados o con el interés de querer cambiar sus utensilios con personas ajenas a la comunidad. Las muestras de alimentos fueron almacenadas en bolsas de cierre hermético y transportadas al laboratorio para su posterior registro en el LABQA (Laboratorio de Biogeoquímica Ambiental) y asignación de claves dentro del sistema de calidad (Cuadro 6).

En la Figura 11 se muestran los puntos en donde se muestrearon las hojas de árboles a lo largo del distrito minero de Molango.

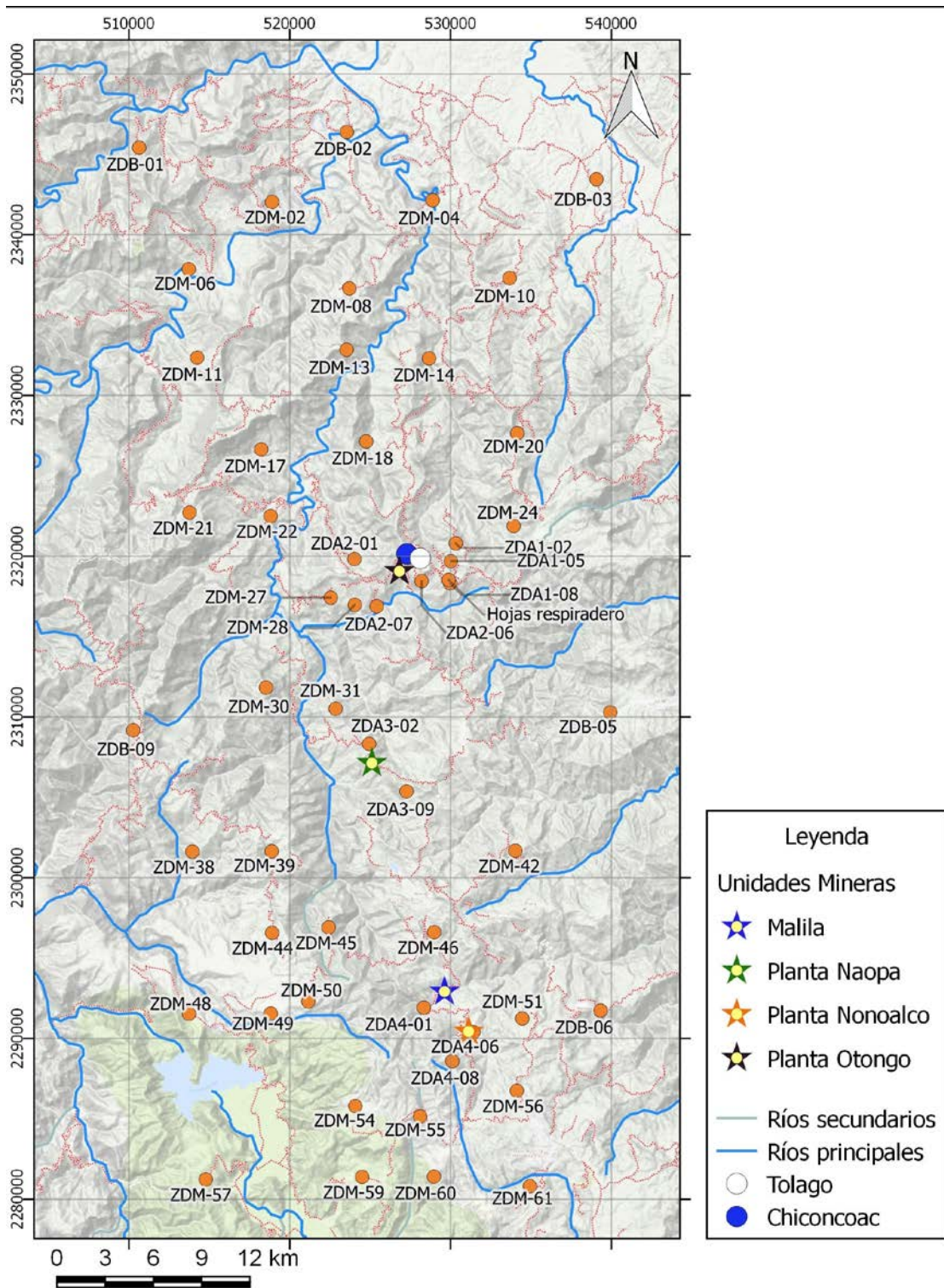


Figura 11 Mapa de muestreo de alimentos (comunidades Tolago y Chiconcoac) y de hojas de árboles (círculos naranjas)

Cuadro 6 Claves de campo y de registro LABQA de las muestras a analizar

Clave		Clave	
Campo	LABQA	Campo	LABQA
Vasija nueva grande	162-16 g	ZDM-06	039-17
Vasija nueva pequeña	162-16 p	ZDM-08	041-17
Vasija usada grande	820-16 g	ZDM-10	043-17
Vasija usada pequeña	820-16 p	ZDM-11	045-17
Bella TO-M2 frijol	1087-15	ZDM-13	047-17
Arturo TO-M4 frijol	1088-15	ZDM-14	049-17
Ana TO-M7 frijol	1089-15	ZDM-17	051-17
CH-M6 frijol	1090-15	ZDM-18	053-17
Lorenzo CH-M8 frijol	1091-15	ZDM-20	055-17
Bella CH-M9 frijol	1092-15	ZDM-21	057-17
Bella TO-M2 salsa	1093-15	ZDM-22	059-17
Arturo TO-M4 salsa	1094-15	ZDM-24	061-17
Ana TO-M7 salsa	1095-15	ZDM-27	063-17
CH-M6 salsa	1096-15	ZDM-28	065-17
Lorenzo CH-M8 salsa	1097-15	ZDM-30	067-17
Bella CH-M9 salsa	1098-15	ZDM-31	069-17
ZDA1-02	001-17	ZDM-38	071-17
ZDA1-05	003-17	ZDM-39	073-17
ZDA1-08	005-17	ZDM-42	075-17
ZDA2-01	007-17	ZDM-44	077-17
ZDA2-06	009-17	ZDM-45	079-17
ZDA2-07	011-17	ZDM-46	081-17
ZDA3-02	013-17	ZDM-48	083-17
ZDA3-09	015-17	ZDM-49	085-17
ZDA4-01	017-17	ZDM-50	087-17
ZDA4-06	019-17	ZDM-51	089-17
ZDA4-08	021-17	ZDM-54	091-17
ZDB-01	023-17	ZDM-55	093-17
ZDB-02	025-17	ZDM-56	095-17
ZDB-03	027-17	ZDM-57	097-17
ZDB-05	029-17	ZDM-59	099-17
ZDB-06	031-17	ZDM-60	101-17
ZDB-09	033-17	ZDM-61	103-17
ZDM-02	035-17	Hojas respiradero	105-17
ZDM-04	037-17		

## **2.2. Tratamiento de las muestras**

Las muestras de alimentos y hojas de árboles se secaron en horno convencional a 100 y 65 ° C, respectivamente, hasta tener peso constante. Una vez que llegaron a temperatura ambiente se procedió a moler las muestras con ayuda de un procesador de alimentos hasta obtener un polvo fino y se homogeneizaron realizando la técnica de cuarteo, se guardaron las muestras en bolsas de cierre hermético para su posterior análisis. Las vasijas de barro vidriado se lavaron y se secaron siguiendo las indicaciones de la NOM-231-SSA1-2016, y se separaron de acuerdo con su tamaño, de igual manera se guardaron en bolsas de plástico calibre 400 hasta su posterior análisis.

## **2.3. Técnicas de análisis**

### **2.3.1. Análisis de hojas de árboles**

Para el análisis de muestras de hojas de árboles se llevó a cabo una digestión ácida abierta con una mezcla de ácido sulfúrico, ácido salicílico y peróxido de hidrógeno y posteriormente se continuó la determinación rutinaria de nitrógeno total para conocer el estado de salud general de las hojas y la determinación de manganeso por ICP-OES.

Para determinar el nitrógeno total se utilizó una técnica de colorimetría publicada en Temminghoff & Houba, 2004, el procedimiento completo se puede consultar en el Apéndice 1 y el manganeso se determinó por la técnica de ICP-OES.



Un resumen de las dos metodologías anteriores se puede ver en la Figura 12.

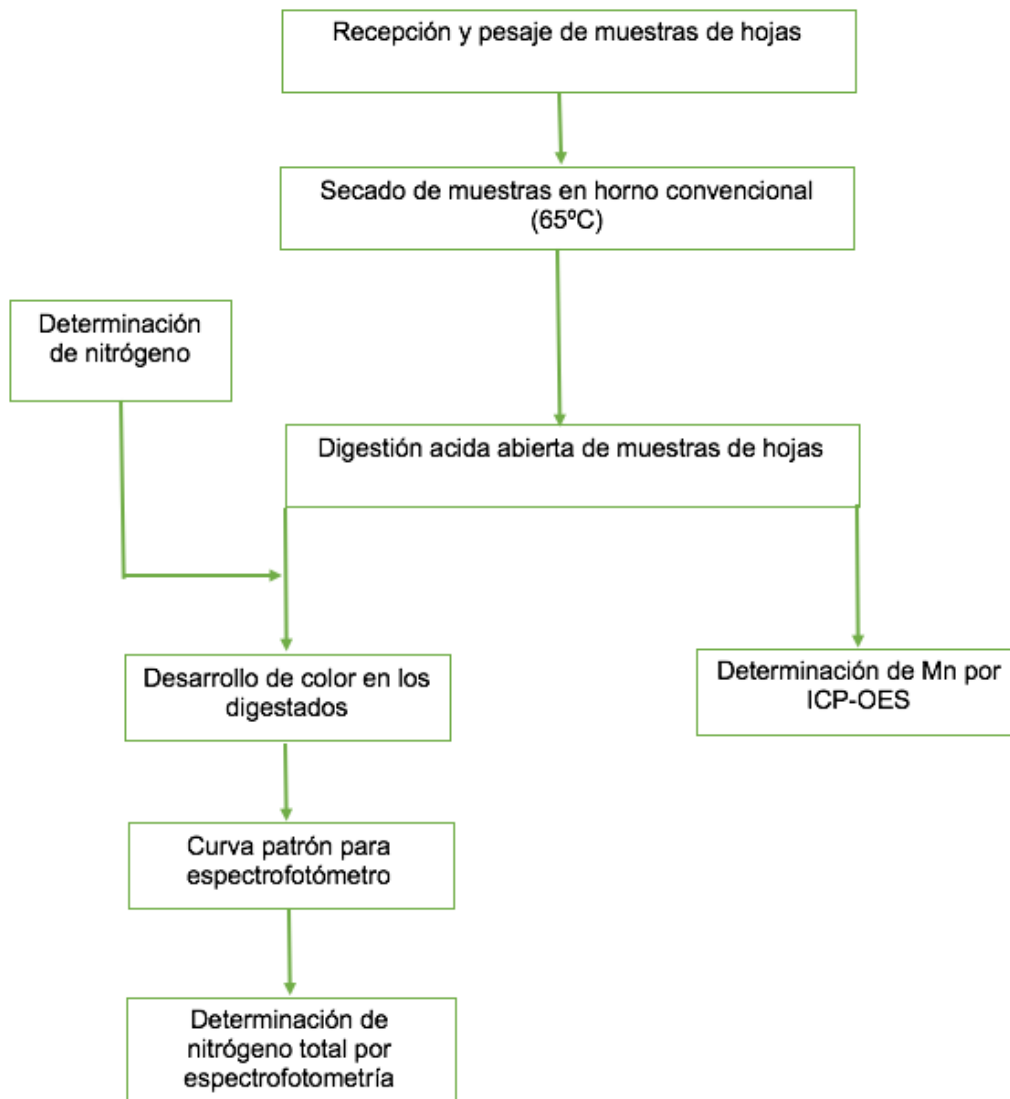


Figura 12 Metodología de análisis de hojas de árboles

### 2.3.2. Análisis de alimentos

Para realizar el análisis de los alimentos se tomó en cuenta el método publicado en la NOM-117-SSA1-1994, cabe señalar que se realizó la adecuación del método de acuerdo con el sistema de calidad interno del Laboratorio de Biogeoquímica Ambiental, Apéndice 1.

### **Adecuación del método**

Para el análisis de los alimentos lo primero que se llevó a cabo fue la adecuación del método de digestión de las muestras, utilizando muestras comerciales de salsa (Casera mexicana) y frijol (negro entero y enlatado).

Para que dicha adecuación resultara satisfactoria se debieron cumplir los parámetros de calidad internos del LABQA, los cuales indican un intervalo de recobro en muestras adicionadas de entre 70 y 130 %, además de una DER (Desviación Estándar Relativa) menor al 10 %. La adecuación completa del método se presenta en el Apéndice 1.

Las condiciones que se determinaron como óptimas para la digestión fueron las que se muestran en la Cuadro 7.

Cuadro 7 Condiciones de digestión finales

<b>Temperatura</b>	180 °C
<b>Tiempo de rampa</b>	15 minutos
<b>Tiempo de mantenimiento</b>	7.5 minutos
<b>Potencia</b>	Máxima

Empleando una mezcla 3:1 de ácido nítrico ( $\text{HNO}_3$ ) y peróxido de hidrógeno ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ).  
(9 mL de  $\text{HNO}_3$  + 3 mL de  $\text{H}_2\text{O}_2$ )

### **Análisis de muestras de interés**

Una vez que se adecuó y se aprobó el método para la digestión de muestras de alimentos, se procedió a analizar las muestras colectadas en la zona de estudio.

Se siguió el siguiente procedimiento (Figura 13):

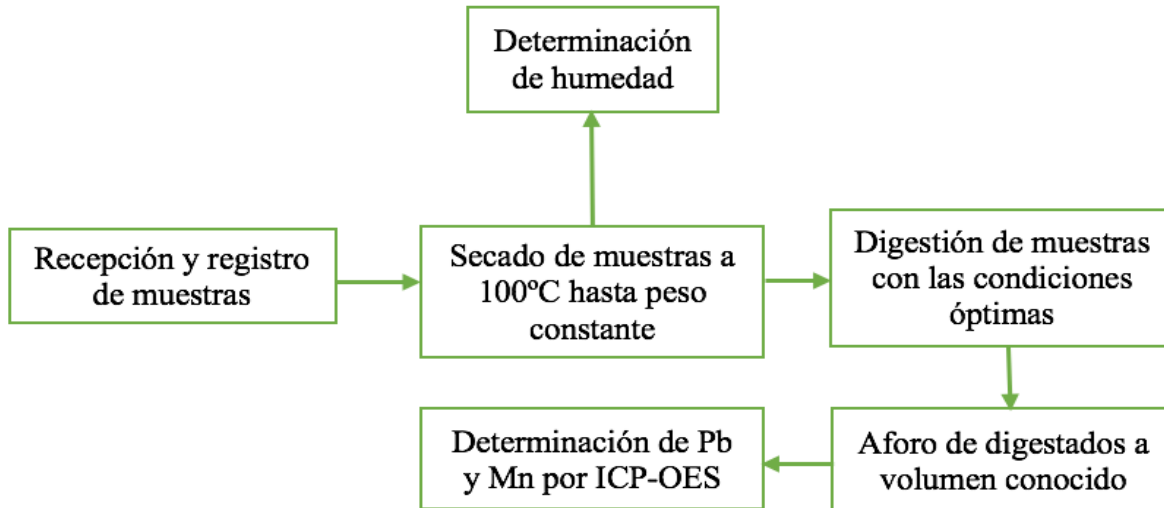


Figura 13 Diagrama del proceso de análisis de alimentos

1. Determinación de humedad: se calcula por diferencia de pesos (muestra húmeda–muestra seca) una vez que la muestra está totalmente seca haciendo uso del horno convencional a 100 °C hasta obtener peso constante.
2. Pesaje de muestras: se pesan entre 0.2 y 0.4 g con precisión de +/- 0.001 g en la balanza analítica dependiendo de la cantidad de muestra con que se cuente.
3. Digestión de muestras: se lleva a cabo en horno de microondas con las siguientes condiciones determinadas en la adecuación y aprobación del método: Rampa de 0-180 °C durante 15 min a máxima potencia y 7.5 min de mantenimiento a 180 °C, 3 mL de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> y 9 mL de HNO<sub>3</sub>. Después se lleva el digestado a aforo de 25 mL, siempre se tienen que preparar blancos y blancos adicionados para verificar que realmente se sigue cumpliendo con los parámetros de calidad del LABQA.
4. Determinación de metales en muestras: Se determinan las concentraciones de los metales de interés utilizando el ICP-OES, y se verifican los controles de calidad que en este caso son muestras adicionadas pre-digestión con estándar QCS-26 multielemental y recobro de 70-130 %, DER menor o igual a 10 % y blancos menores al límite de detección.

### 2.3.3. Análisis de vasijas de barro

Se analizó el Pb en vasijas de barro tanto nuevas como usadas, procedentes de la comunidad de interés, en una extracción realizada usando ácido acético al 4 %. La cuantificación se llevó a cabo en un equipo ICP-OES. El procedimiento basado en la NOM-231-SSA1-2016 es el siguiente:

1. Selección de piezas de ollas: se toman y pesan 3 piezas de cada olla, tratando que sea de la misma parte de la olla y de tamaño similar.
2. Extracción con ácido acético: las muestras se sumergen en una solución de ácido acético al 4 %, en la cual deben quedar totalmente sumergidas durante 24 horas. Posteriormente se ajusta el volumen de extracción a un volumen conocido.
3. Determinación de metales: Se cuantifican las concentraciones de los metales de interés en el extracto obtenido utilizando el ICP-OES.

Un resumen de dicha metodología se puede ver en la Figura 14



Figura 14 Método de análisis de vasijas de barro

### 3. Resultados y análisis

#### 3.1. Análisis de hojas de árboles

Diversos estudios que se han enfocado en la zona de estudio se basan en reportar la exposición continua a manganeso, los artículos publicados van desde Aldape *et al.*, (1999) hasta Cortez-Lugo *et al.*, (2017).

Jazcilevich *et al.*, (2008) reportan que la erosión eólica y la re-suspensión de polvos de carreteras sin pavimentar son las fuentes principales de partículas respirables de manganeso y que la contribución de la chimenea de la minera es despreciable. Para comprobar que las personas se encuentran en una continua exposición a manganeso, en esta tesis se realizó la determinación de Mn presente en las hojas de árboles que en su superficie suelen sedimentarse polvos de la intemperie.

##### 3.1.1. Concentración de manganeso en hojas de árboles

En el Cuadro 8 se presentan las concentraciones de manganeso en hojas de árboles.

Cuadro 8 Concentraciones de Mn en hojas de árboles de la zona de estudio (no lavadas)

<b>Campo</b>	<b>Concentración de Mn (mg de Mn/kg de hoja seca)</b>	<b>Campo</b>	<b>Concentración de Mn (mg de Mn/kg de hoja seca)</b>
ZDA1-02	300.30	ZDM-20	732.60
ZDA1-05	366.42	ZDM-21	882.74
ZDA1-08	316.35	ZDM-22	233.10
ZDA2-01	2 181.88	ZDM-24	632.49
ZDA2-06	549.45	ZDM-27	283.05
ZDA2-07	949.37	ZDM-28	466.20
ZDA3-02	1 015.99	ZDM-30	1 299.13
ZDA3-09	524.21	ZDM-31	2 464.20
ZDA4-01	1 115.18	ZDM-38	1 647.80
ZDA4-06	515.98	ZDM-39	266.49
ZDA4-08	249.75	ZDM-42	615.85

Cuadro 8 Concentraciones de Mn en hojas de árboles de la zona de estudio (no lavadas)  
(continuación)

<b>Campo</b>	<b>Concentración de Mn (mg de Mn/kg de hoja seca)</b>	<b>Campo</b>	<b>Concentración de Mn (mg de Mn/kg de hoja seca)</b>
ZDB-01	166.50	ZDM-44	582.56
ZDB-02	249.67	ZDM-45	532.80
ZDB-03	199.80	ZDM-46	865.51
ZDB-05	216.52	ZDM-48	416.39
ZDB-06	466.05	ZDM-49	366.42
ZDB-09	716.19	ZDM-50	2 165.22
ZDM-02	349.77	ZDM-51	1 299.13
ZDM-04	183.21	ZDM-54	366.42
ZDM-06	199.87	ZDM-55	416.11
ZDM-08	299.70	ZDM-56	416.25
ZDM-10	999.00	ZDM-57	732.60
ZDM-11	299.80	ZDM-59	183.21
ZDM-13	632.49	ZDM-60	166.50
ZDM-14	316.46	ZDM-61	216.52
ZDM-17	516.32	Hojas respiradero	4 412.25
ZDM-18	1 314.91		
<b>Muestras de hojas de árbol</b>	<b>Media de concentración (±SD)</b>	<b>Mínimo</b>	<b>Máximo</b>
Hojas en intervalo mínimo (0-300 mg/kg) n=16	227.61 (± 47.49)	166.50	300.30
Hojas en intervalo medio (301-999 mg/kg) n=28	564.56 (± 196.14)	316.35	999.00
Hojas en intervalo máximo (>1 000 mg/kg) n=9	1 824.09 (± 990.21)	1 015.99	4 412.25

n=tamaño de muestra, SD= desviación estándar, LD (mg/kg) =2.50 y LC (mg/kg) =7.50

Las concentraciones de manganeso total determinadas en hojas de árboles varían de 166 a 4 412 mg/kg peso seco, valores que indican que existe cierta influencia de la actividad minera, pues incluso Juárez et al., (2010) reportan una concentración de Mn en hojas de la zona de Molango de Escamilla que va de 182 a 1 336 mg/kg peso seco, sin reportar concentraciones tan altas como en este caso, los valores normales reportados en la literatura para las hojas se encuentran entre 20 y 500 mg/kg peso seco de Mn total en hojas (Barbazán, 1998) y se considera que existe un exceso de manganeso cuando los valores van desde 250 hasta 5 300 mg/kg, dependiendo del tipo de planta de la que se trate (Mengel *et al.*, 2000) y se observan síntomas foliares como son manchas pardas de MnO<sub>2</sub> en las hojas más maduras (Mengel *et al.*, 2000).

Sin embargo, en las hojas de árboles muestreadas no se presentaron síntomas foliares de un exceso de manganeso en la hoja, lo que hace sospechar que las concentraciones tan altas de Mn determinadas no corresponden únicamente al Mn que se encuentra absorbido en la hoja, sino también a Mn externo. Incluso estudios anteriores en la misma zona de Molango reportan que diferentes especies de plantas del lugar no presentaron una acumulación tóxica de manganeso y los niveles reportados de Mn están por debajo de los 2 mg/kg peso seco (Rivera-Becerril *et al.*, 2013).

Teniendo en cuenta lo anterior, las concentraciones altas de Mn en las hojas de árboles se podrían deber a que se está enriqueciendo de Mn externo a las hojas, el cual seguramente proviene de la erosión eólica procedente de las actividades minero-metalúrgicas de la zona.

En la Figura 15 se presentan las concentraciones obtenidas, mapeadas en su sitio de recolección, así como la localización de las unidades mineras, donde se observa que las hojas de árboles que presentaron mayores concentraciones se ubican cerca de las unidades mineras, y las hojas con concentraciones bajas en áreas más lejanas.

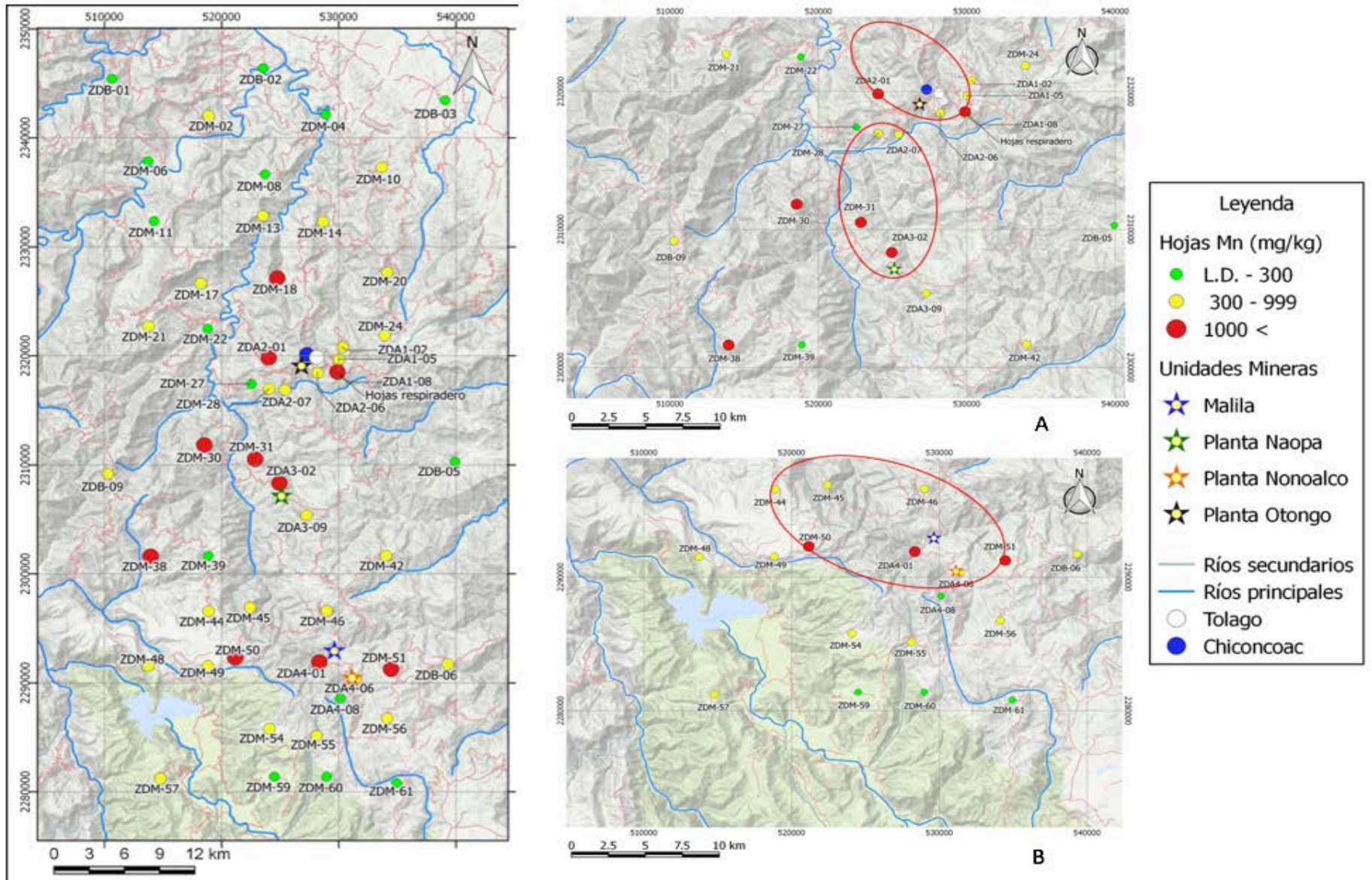


Figura 15 Mapa de localización de muestras de hojas de árboles y concentraciones de Mn (A (Planta Otongo y Naopa) y B (Planta Nonoalco) señalando la tendencia de las muestras contaminadas al norte y noreste de las plantas mineras)



A continuación, se presentan las figuras en que se relaciona la distancia con la concentración de manganeso en las hojas de los árboles. Se observa que mediante una función logarítmica en los casos de Otongo y Nonoalco existe una tendencia a que la fuente de contaminación son las unidades minero-metalúrgicas, y que el viento dispersa partículas finas posibles de inhalar por la población, como se presentó en el apartado 1.5.5. Síntesis de la eología del distrito manganesífero de Molango, los vientos presentes en la zona en el periodo de septiembre a diciembre presentan casi exclusivamente direcciones norte y nornoroeste, tendencia que se logra apreciar en la dispersión de las muestras de concentración alta en la Figura 15, pues estas muestras se ubican al norte y nornoroeste de las unidades mineras. Sin embargo, para Naopa no hay una relación de la concentración de manganeso contra distancia, lo que indica que la erosión eólica es mínima (Figuras 16, 17, 18).

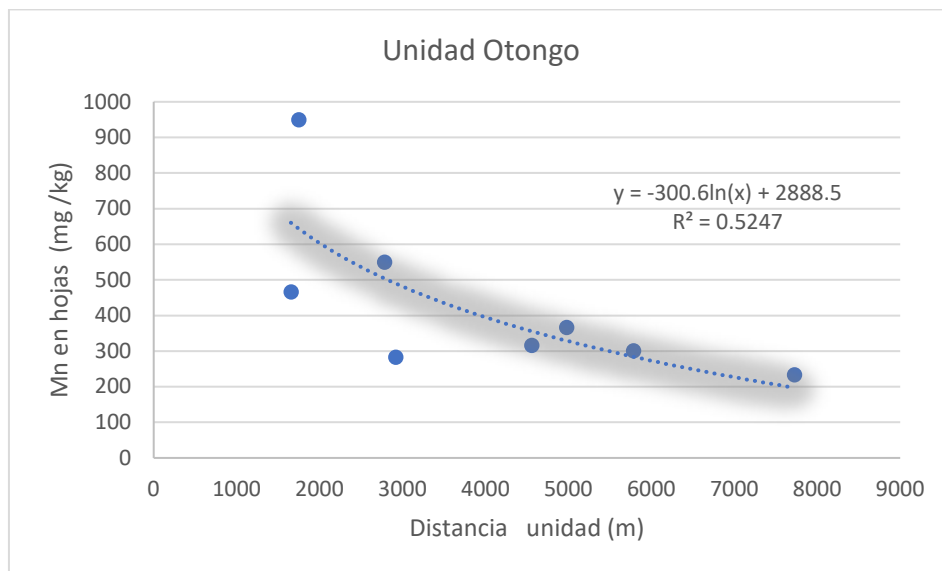


Figura 16 Concentración de Mn en hojas vs distancia a la unidad Otongo

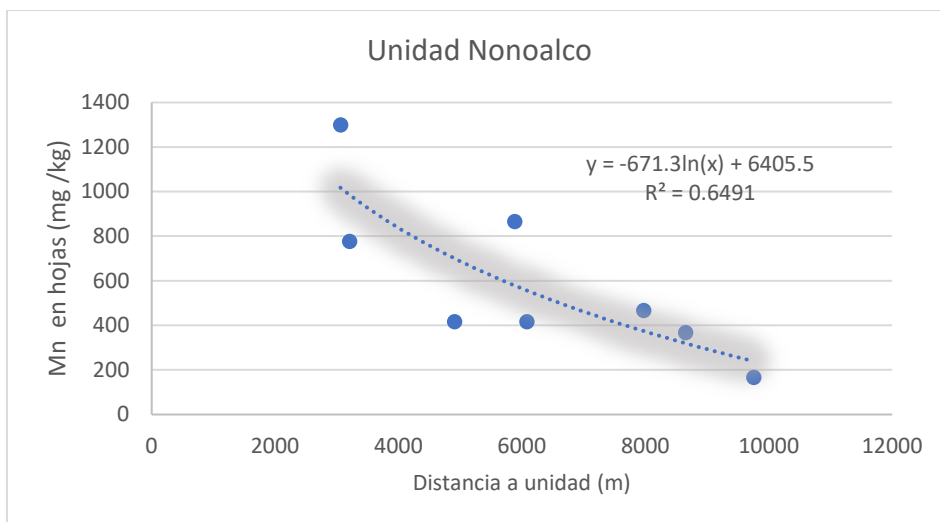


Figura 17 Concentración de Mn en hojas vs distancia a la unidad Nonoalco

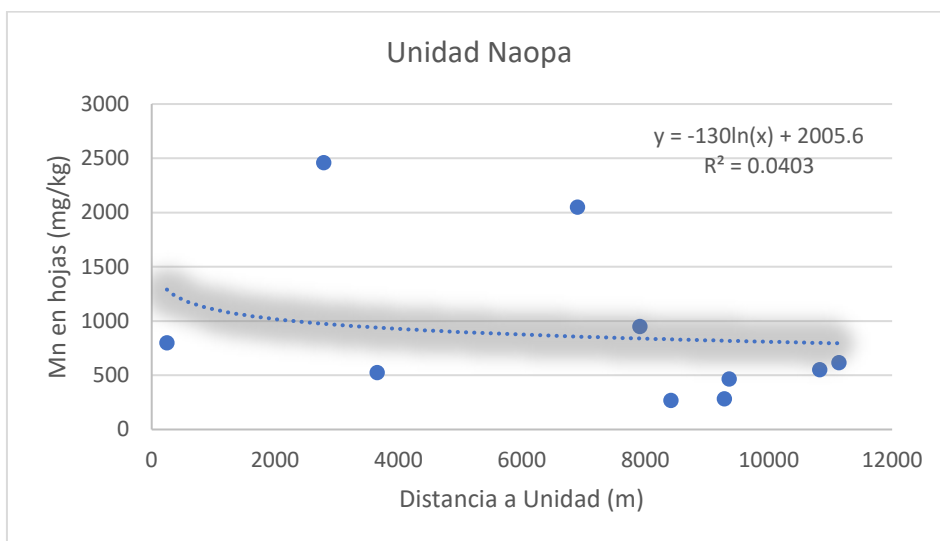


Figura 18 Concentración de Mn en hojas vs distancia a la unidad Naopa

### Prueba confirmativa de la presencia de manganeso por SEM-EPMA (Scanning Electron Microscopy-Electron Probe Micro-Analyzer)

Una vez hecha la determinación de manganeso en las muestras de hojas de árboles, se procedió a hacer la caracterización del polvo de manganeso en la superficie, utilizando un microscopio electrónico de barrido modelo TM-1000. Los resultados se presentan en las Figuras 19, 20 y en el Cuadro 9, para la muestra ZDM-11 y en las figuras 21 y 22 para la muestra Hojas respiradero, así como en el cuadro 10. Estas dos muestras fueron seleccionadas debido a que

a simple vista una parecía contener polvo adherido y otra aparentaba estar limpia.

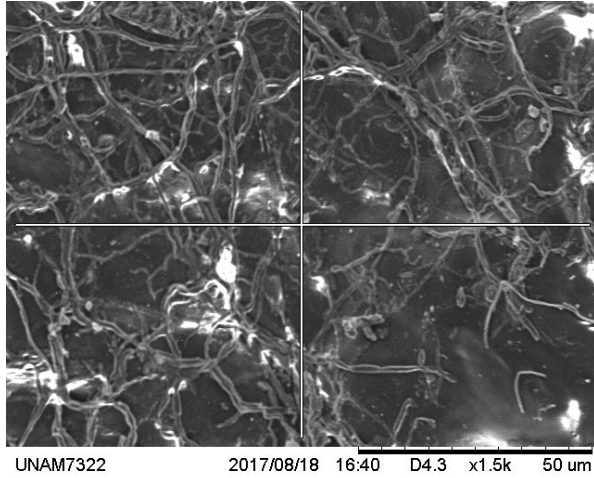


Figura 19 Microscopía Electrónica de barrido acercamiento muestra ZDM-11

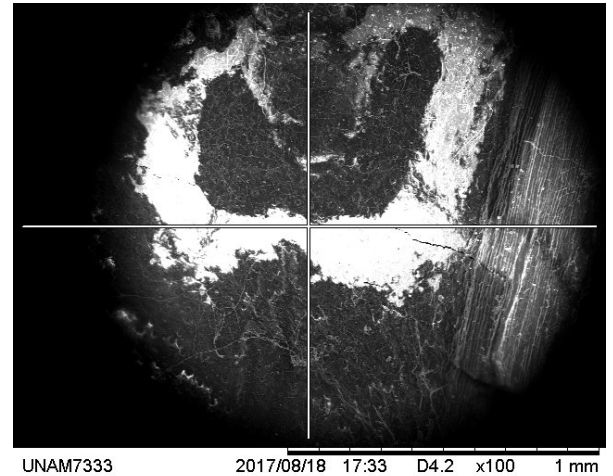


Figura 20 Microscopía Electrónica de barrido panorámica ZDM-11

Cuadro 9 Resultados en porcentaje de elemento de MEB en la muestra ZDM-11

Repetición	%Al	%Si	%K	%Ca
Punto1		74.2	25.8	
Punto2	12.5	55.2	32.3	
Punto3	22.5	37.8	39.6	
Punto4		50.1	49.9	
Punto5	32.6	41.1	26.3	
Punto6		100.0		
Punto7	50.6	49.4		
Punto8	44.3		55.7	
Punto9			100.0	
Punto10	45.5	54.5		
Punto11	59.1		20.6	20.3
Punto12			100.0	
Punto13	100.0			
Punto14	50.0		50.0	
Punto15	100.0			
Punto16	51.9		48.1	

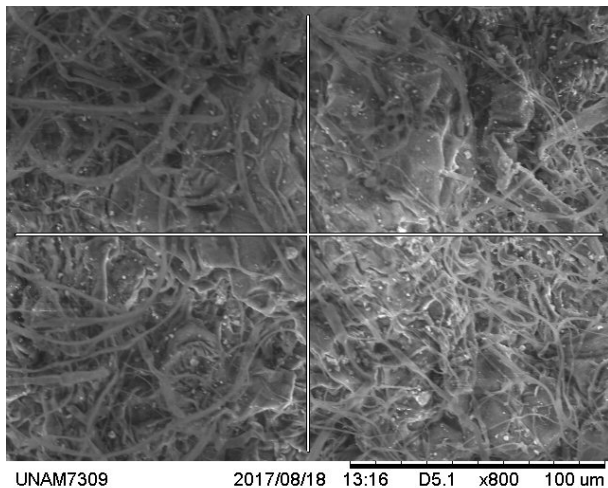


Figura 21 Microscopía Electrónica de barrido  
acercamiento muestra Hojas respiradero

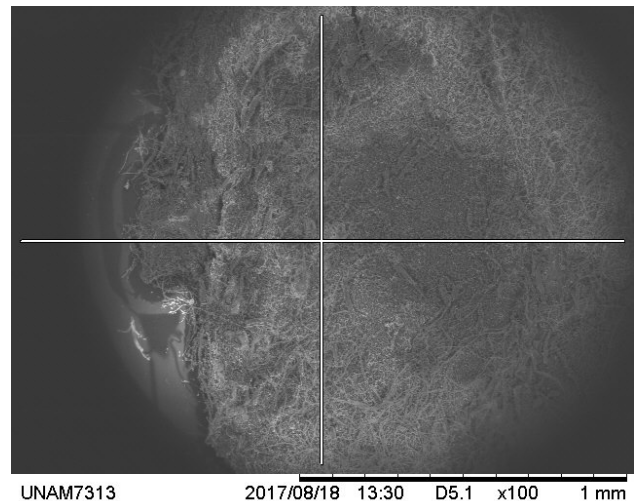


Figura 22 Microscopía Electrónica de barrido  
panorámica muestra Hojas respiradero

Cuadro 10 Resultados en porcentaje de elemento de MEB en la muestra Hojas respiradero

Punto	%Mg	%Al	%Si	%P	%S	%K	%Ca	%Mn	%Fe	%Br
Punto1			5.4	6.7	11.2	53.9	22.8			
Punto2			4.5	8.3	8.0	40.4	23.6	15.2		
Punto3						68.4	31.6			
Punto4	6.1			6.5	8.8	55.5	23.0			
Punto5				9.7	8.9	59.0	22.4			
Punto6			5.4	6.1	8.5	53.4	26.6			
Punto7			10.3			60.3	29.5			
Punto8						65.2	34.8			
Punto9			14.9			55.5	29.5			
Punto10				7.3	12.2	60.0	20.5			
Punto11		4.4	9.0	6.7	7.8	34.4	14.4	10.4	13.0	
Punto 12		4.1	11.1		8.0	38.0	14.8	12.1	11.9	
Punto 13			6.8	8.3	7.2	31.6	19.3	19.7		7.1
Punto 14		3.7	3.8	11.4	4.5	22.8	21.4	32.3		
Punto 15			4.9	8.8	7.2	39.4	20.7	19.1		
Punto 16		3.4		6.6	4.9	24.0	20.9	40.2		
Punto 17			5.8	7.8	7.4	36.6	26.5	15.8		
Punto 18		2.6	6.4	15.8	4.3	20.0	26.5	24.5		
Punto 19		4.7	9.4	6.8	7.3	35.5	12.5	12.5	11.4	
Punto 20		3.1	7.6	8.9	5.8	25.2	19.9	21.3	8.3	

Como se observa en los Cuadros 9 y 10 hay una diferencia entre los elementos que se presentaron entre una muestra y otra, cabe señalar que el equipo analiza los mismos elementos en ambas muestras, sin embargo, sólo se reportan los que se encontraron en la muestra analizada. Es importante mencionar que la muestra “Hojas de respiradero” presentó una concentración alta de Mn tanto en

ICP como en la prueba de MEB, siendo un máximo de 40 % de manganeso en masa de la hoja seca la concentración más alta y un 10 % de manganeso en masa de la hoja seca la concentración más baja, mientras que la muestra ZDM-11 que tiene una concentración de Mn baja en ICP, no presentó Mn en la prueba de MEB. Estos resultados aportan evidencias robustas de que el viento mueve partículas ricas en Mn procedentes de sitios con suelos afectados por minerales y residuos industriales.

### 3.1.2. Concentración de nitrógeno total

La determinación de nitrógeno total en hojas resulta ser una prueba rutinaria para comprobar el estado de salud en general de la hoja y se realizó la determinación con el fin de determinar si las hojas de la zona estaban presentando una salud deteriorada. En el Cuadro 11 se presentan las concentraciones de nitrógeno obtenidas para las hojas de árboles muestreadas.

Cuadro 11 Concentración de nitrógeno en hojas de árboles

<b>Campo</b>	<b>N ppm (mg N/kg muestra)</b>	<b>% m/m de N</b>	<b>Campo</b>	<b>N ppm (mg N/kg muestra)</b>	<b>% m/m de N</b>
ZDA1-02	838.63	0.08	ZDM-20	1 830.77	0.18
ZDA1-05	1 202.05	0.12	ZDM-21	2 404.10	0.24
ZDA1-08	3 546.70	0.35	ZDM-22	1 086.81	0.11
ZDA2-01	1 431.81	0.14	ZDM-24	2 287.70	0.23
ZDA2-06	2 345.05	0.23	ZDM-27	1 086.81	0.11
ZDA2-07	2 517.31	0.25	ZDM-28	800.55	0.08
ZDA3-02	1 716.50	0.17	ZDM-30	344.63	0.03
ZDA3-09	3 173.97	0.32	ZDM-31	2 060.45	0.21
ZDA4-01	1 830.16	0.18	ZDM-38	1 144.68	0.11
ZDA4-06	3 602.09	0.36	ZDM-39	687.60	0.07
ZDA4-08	2 631.31	0.26	ZDM-42	1 201.25	0.12
ZDB-01	1 715.93	0.17	ZDM-44	2 231.13	0.22
ZDB-02	3 087.98	0.31	ZDM-45	2 746.15	0.27
ZDB-03	1 316.49	0.13	ZDM-46	2 688.67	0.27
ZDB-05	2 690.46	0.27	ZDM-48	1 946.26	0.19

Cuadro 11 Concentración de nitrógeno en hojas de árboles (continuación)

<b>Campo</b>	<b>N ppm (mg N/kg muestra)</b>	<b>%m/m de N</b>	<b>Campo</b>	<b>N ppm (mg N/kg muestra)</b>	<b>%m/m de N</b>
ZDB-06	1 658.79	0.17	ZDM-49	1 946.26	0.19
ZDB-09	3 949.12	0.39	ZDM-50	1 603.29	0.16
ZDM-02	3 033.43	0.30	ZDM-51	1 659.90	0.17
ZDM-04	2 517.31	0.25	ZDM-54	1 145.44	0.11
ZDM-06	2 174.35	0.22	ZDM-55	3 374.15	0.34
ZDM-08	1 373.08	0.14	ZDM-56	1 774.18	0.18
ZDM-10	1 774.18	0.18	ZDM-57	1 258.24	0.13
ZDM-11	1 831.38	0.18	ZDM-59	1 603.29	0.16
ZDM-13	1 715.36	0.17	ZDM-60	1 316.49	0.13
ZDM-14	1 145.44	0.11	ZDM-61	1 659.90	0.17
ZDM-17	3 376.40	0.34	Hojas respiradero	2 917.58	0.29
ZDM-18	2 116.33	0.21			

Las concentraciones de nitrógeno total obtenidas en la mayoría de las muestras de hojas de árboles están en un intervalo de 0.03 a 0.39 %, mientras que los valores normales reportados para hojas sanas varían de 0.5 a 6 % del peso seco (Raya & Aguirre, 2009). Por lo que podría considerarse como una deficiencia de nitrógeno. No obstante, las hojas no presentaban los síntomas de deficiencia de nitrógeno, que son crecimiento bajo, tallos más delgados de lo común y hojas más pequeñas de lo habitual (Mengel *et al.*, 2000).

En general, se puede decir que las hojas de árboles, de acuerdo con su concentración de nitrógeno determinada presentaban una deficiencia de nitrógeno.

La alta concentración de Mn, la tendencia de las altas concentraciones ligada a la distancia de las unidades mineras y la dirección del viento comprueban que existe una exposición ambiental a Mn y que las personas de las comunidades aledañas se encuentran expuestas a concentraciones de Mn, diversos estudios han revelado daños a la salud como son temblores en las extremidades,

problemas en el aprendizaje especialmente en niños y dolor de cabeza de las personas que viven cerca de las unidades mineras (ver Anexo A).

### **3.2. Concentración de plomo y manganeso en alimentos**

Una vez comprobada la existencia de una exposición ambiental a Mn, haciendo uso de las hojas de árboles como trazadores de dispersión, surgió el interés de saber si no sólo los habitantes se encontraban expuestos a Mn, sino también a otros elementos potencialmente tóxicos como lo es el plomo, en los estudios de Santos-Burgoa et al., (2001), Rodríguez-Agudelo et al., (2006), Montes et al., (2008), Solís-Vivanco et al., (2010), Riojas et al., (2010), Hernández-Bonilla et al., (2011), se presentaron niveles de plomo en sangre que van desde 0.5 hasta 31 µg/dL, y como se presentó en la Figura 4 (Correlación entre distintos niveles de plomo en sangre y distintas alteraciones patológicas) niveles superiores a 10 µg/dL provocan efectos tóxicos sobre el desarrollo que incluyen una disminución del coeficiente intelectual, audición y crecimiento, sin embargo, en dichos artículos no le atribuyen a los niveles de plomo en sangre ninguna de estas patologías, que pueden ser confundidas con las causadas por el manganeso, sino que se las atribuyen únicamente a este último elemento, es por ello que surgió el interés de comprobar si el consumo de los alimentos cocinados en vasijas de barro, que es común entre los habitantes de la zona, resulta ser una fuente potencial de plomo para los habitantes.

En el Cuadro 12 se presentan los resultados de concentración de manganeso y plomo en alimentos, en base seca y base húmeda.

La determinación de Mn y Pb se necesita realizar con las muestras secas, sin embargo, es importante haber determinado la humedad de las muestras previamente (ver Apéndice 1) para poder reportar los resultados en base húmeda, es decir en alimento fresco, que es lo más aproximado a la manera en que se ingieren los alimentos por las personas.

Cuadro 12 Concentración de Mn y Pb en alimentos

Muestras de alimentos	Base seca		Base húmeda	
	ppm (mg del elemento/kg alimento seco)		ppm (mg del elemento /kg de alimento fresco)	
	Pb	Mn	Pb	Mn
<b><math>\lambda</math> (nm)</b>	220.55	257.61	220.553	257.61
<b>LD (mg/L)</b>	0.01	0.01	0.01	0.01
<b>LC (mg/L)</b>	0.03	0.03	0.03	0.03
Bella TO-M2 Frijol negro	5.31	9.06	1.55	2.64
Arturo TO-M4 Frijol negro	<DL	11.25	<LD	2.76
Ana TO-M7 Frijol negro	7.5	12.5	1.89	3.15
CH-M6 Frijol negro	<DL	12.49	<LD	2.30
Lorenzo CH-M8 Frijol negro	<DL	11.88	<LD	3.00
Bella CH-M9 Frijol negro	5	18.12	1.13	4.11
Bella TO-M2 Salsa	<DL	7.49	<LD	0.97
Arturo TO-M4 Salsa	<DL	16.22	<LD	2.22
Ana TO-M7 Salsa	<DL	23.71	<LD	1.13
CH-M6 Hot Salsa	<DL	14.95	<LD	1.34
Lorenzo CH-M8 Salsa	16.21	11.22	4.06	2.81
Bella CH-M9 Hot Salsa	2 217.24	<DL	192.68	<LD

LD= Límite de detección 0.01 mg/L

El manganeso está presente en mayor medida en el alimento que el plomo, ya que se encuentra en forma natural en los alimentos. Por otro lado, el plomo es un elemento que no debe estar presente en los alimentos, lo que explica que solamente se le haya detectado en 5 de 12 muestras.

En cuanto a las salsas, se determinó plomo en cantidades incluso 900 veces superior al nivel de 0.2 mg/kg de producto fresco, que es el límite máximo permitido por el *CODEX ALIMENTARIUS* en conjunto con la Food and Agriculture Organization y la World Health Organization en el 2015 (Figura 23); aunque las concentraciones son muy diferentes entre las dos salsas, todas las concentraciones determinadas se encuentran al menos 5 veces por arriba de dicho límite, igual que las muestras de frijol.



La diferencia observada se explica pues la concentración de Pb depende de varios factores, como son el método de preparación, la proporción de los ingredientes, la concentración de plomo extraíble en los recipientes utilizados y el tiempo de almacenaje. En cuanto a la diferencia entre las concentraciones de frijol y salsa, se puede deber a que los frijoles sólo están en contacto con la cerámica vidriada durante el cocimiento y, principalmente, a que las salsas son ácidas, en la normatividad mexicana se recomienda una acidez de 1 a 4.5 % de acidez (NMX-F-377-1986).

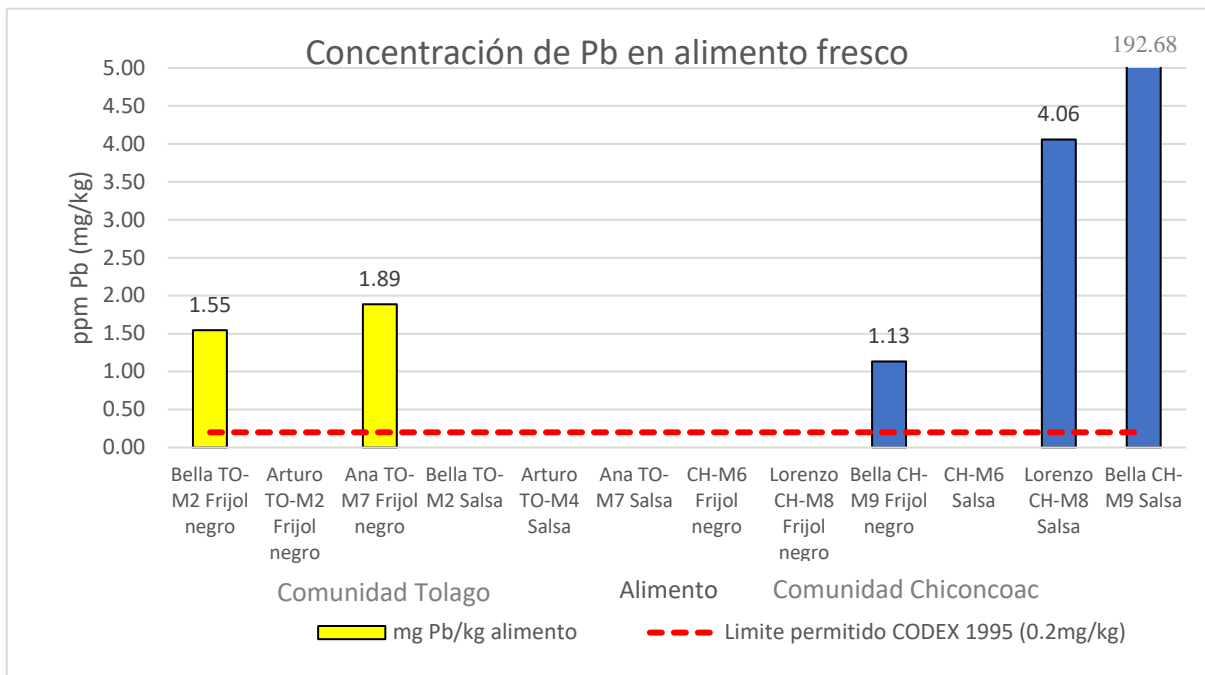


Figura 23 Niveles de plomo en alimentos

Si del plomo ingerido se absorbe entre el 10 y el 15 % en adultos; en niños y mujeres embarazadas puede aumentar hasta un 50 % (Nordberg, 2012) y tomando en cuenta que todas las muestras que tuvieron plomo presentaron concentraciones por encima del límite permitido por CODEX , se puede decir que las muestras pueden representar un daño adverso a la salud si son consumidas, esto considerando que se tienen valores de PTWI (*Provisional Tolerable Weekly Intake*) de 25  $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{semana}$  (Rubio, 2004). Por lo tanto, al consumir cotidianamente las muestras contaminadas se podría generar una intoxicación por plomo con ciertos síntomas como fatiga general, cefalea,

hiperactividad, alteraciones del comportamiento, mal rendimiento escolar, entre otros (Infantas, 2005).

Suponiendo una persona de 70 kg, lo máximo que podría consumir de plomo a la semana serían 1.75 mg, que saldría de consumir entre 1.5 y 2 kg de frijol a la semana, como se puede ver en el Cuadro 13, muchas de las zonas marginadas del país fácilmente se cumple este consumo y además, si sumamos esto con la salsa, que es de dieta diaria en estas comunidades, bastaría con poco más de un kg, y en niños la cantidad necesaria de alimentos para rebasar la PTWI sería menor dado su bajo peso corporal comparado con el de un adulto.

Cuadro 13 Estimación de la cantidad de plomo ingerida a la semana

PTWI de Pb para una persona de 70 kg = 1.75 mg/semana y para un niño de 20 kg = 0.5 mg/semana			
Alimento	Concentración de Pb (mg/kg)	Suponiendo un consumo de 1.5 kg de alimento a la semana	Cantidad de plomo ingerida en una semana en mg
Bella TO-M2 Frijol negro	1.55		2.32
Ana TO-M7 Frijol negro	1.89		2.83
Bella CH-M9 Frijol negro	1.13		1.69
Lorenzo CH-M8 Salsa	4.06		6.09
Bella CH-M9 Salsa	192.68		289.02

En cuanto al manganeso, la IDR (Ingesta Diaria Recomendada) establecida por la WHO para niños es de 1-3 mg/día y para adolescentes y adultos: 2-5 mg/día (Rubio, 2002), por lo que las muestras de alimentos analizadas también pueden ser una fuente rica en manganeso para los consumidores ya que el valor mínimo de manganeso encontrado es de 0.97 mg/kg en salsa y 2.30 mg/kg en frijol y se tienen valores máximos de hasta 2.81 mg/kg en salsa y 4.11 mg/kg en frijol. Sin embargo, en el caso del manganeso, que es un micronutriente en el organismo, no representa un riesgo mayor para la salud al ser ingerido, debido a que se tienen valores de ingesta aceptable reportados de hasta 10 mg de manganeso por día para adultos (García, 2006). Para que el manganeso represente un riesgo potencial debe ser inhalado, como en el caso de exposición ambiental comprobada con las hojas de árboles analizadas.

### 3.3. Concentración de plomo en vasijas de barro

Conociendo la presencia de plomo en los alimentos de la zona, se procedió a identificar si el uso de vasijas de barro vidriado es una fuente potencial de donde los alimentos pueden obtener al plomo. En el Cuadro 14 se presentan los resultados de concentración de plomo para las vasijas de barro nuevas y usadas, cabe señalar que no se tiene registro de que alguna de estas vasijas fuera utilizada para preparar los alimentos analizados en esta tesis.

Cuadro 14 Concentración de Pb en vasijas de barro

	Vasijas de barro vidriado	Concentración de plomo (mg/L)	Límite NOM-231 (mg/L)
Nuevas	162-16 pequeña	520.1	1
	162-16 grande	279.6	2
Usadas	820-16 pequeña	279.7	1
	820-16 grande	1.1	2

Para el análisis de vasijas de barro se recolectaron vasijas de barro usadas y nuevas, ya que con esto se pretende observar si el uso es un factor que influya en la cantidad de plomo que las vasijas puedan liberar al ser utilizadas. El método empleado es el que se encuentra en la NOM-231-SSA1-2016, la cual establece los límites máximos permitidos para el plomo extraído de las vasijas de barro vidriado, los cuales varían en un intervalo de 0.5 a 2.0 mg/L según el tipo de pieza de alfarería. Como se puede ver en el Cuadro 14, las dos muestras de vasijas nuevas analizadas presentan valores por encima de los límites marcados por la NOM-231-SSA1-2016, ya que la concentración de plomo extraído para la muestra 162-16 pequeña fue de 520 mg/L y para la muestra 162-16 grande fue de 279 mg/L y por lo tanto no se deberían utilizar para el cocimiento y/o almacenamiento de alimentos.

Las 2 muestras de vasijas usadas fueron: 820-16 pequeña y 820-16 grande, las cuales presentaron concentraciones de 279 mg/L y 1.08 mg/L, respectivamente. La muestra pequeña sobrepasa el límite máximo de la NOM-

231-SSA1-2016 de 1 mg/L al igual que las vasijas nuevas, a diferencia de la vasija grande que presentó un valor de 1.08 mg/L y dado que al ser una pieza grande su límite es de 2 mg/L, se considera que cumple con la normatividad.

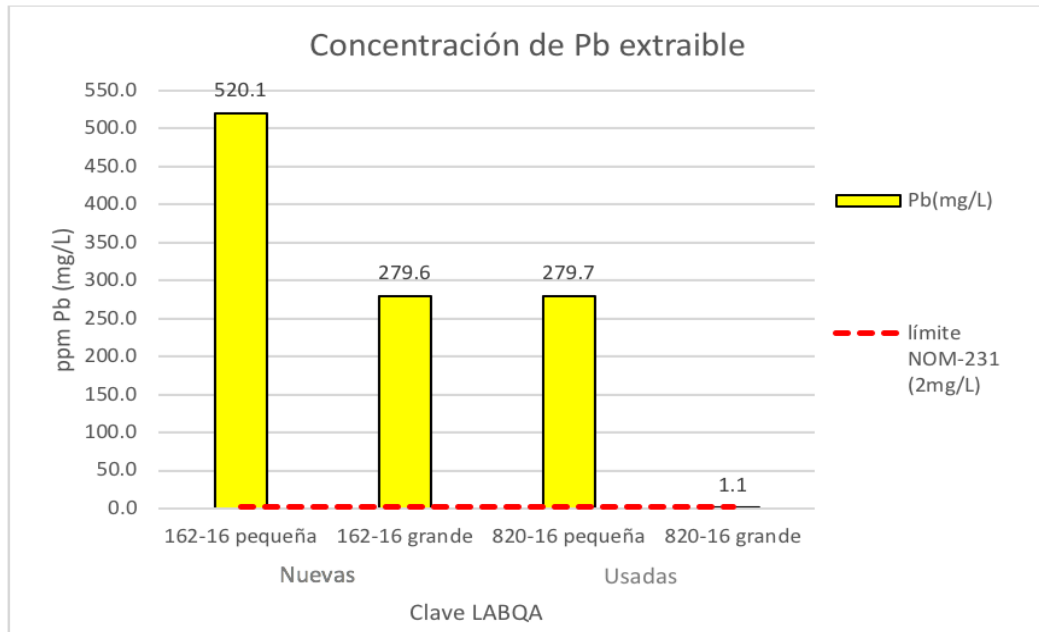


Figura 24 Niveles de plomo en vasijas de barro vidriado

En la Figura 24 se observa que las concentraciones de plomo determinadas en las vasijas usadas son diferentes, posiblemente porque las vasijas tenían diferente grado de uso. No obstante, el tiempo y frecuencia de uso influye de manera importante pues se notó una disminución del Pb en las vasijas usadas con respecto a las nuevas, lo que indica que con el tiempo la exposición a Pb disminuye.

Cabe mencionar que prácticamente es complicado contar con vasijas que tengan el mismo tiempo y frecuencia de uso, y que estos resultados son interesantes, pero es necesario contar con más muestras para tener un conjunto de datos lo suficientemente grande para conocer el comportamiento de las vasijas de barro durante su tiempo de uso.

## 4. Conclusiones y recomendaciones

### Hojas de árboles

Las concentraciones de manganeso determinadas resultaron ser altas para varias muestras de hojas de árboles demostrando que existe una dispersión de Mn que se transporta por aire, que era el objetivo de esta medición, pues en los artículos publicados no pudieron identificarlo por haber cuantificado el Mn en DPTA, ya que con esta sustancia no se extraen las partículas de mineral de Mn que es muy insoluble, sino solamente el Mn de origen natural, generalmente amorfo.

Se demostró que entre menor distancia hay entre el sitio de muestreo de hojas y la unidad minera, mayor es la cantidad de manganeso, lo cual es una robusta evidencia de que es una fuente de manganeso para el ambiente, más no necesariamente para la salud; ya que para medir el riesgo para la población es necesario cuantificar la cantidad de partículas  $PM_{2.5}$  en el polvo del suelo y determinar las concentraciones en aire en zonas de exposición. Cabe destacar que las muestras de alta concentración se encontraban al norte de las unidades mineras, lo que coincide con las direcciones del viento reportadas para la zona.

### Alimentos (frijoles y salsas)

En este estudio exploratorio se comprobó que los habitantes de las comunidades expuestas al Mn también están expuestos a la ingestión de Pb en alimentos, específicamente al consumir salsas y frijoles. La concentración de plomo determinada en los alimentos de consumo básico está por encima de los límites internacionales permitidos. En el caso del Mn no hay riesgo, pero es importante continuar estudiando el efecto sinérgico entre Pb, Fe y Ca, ya que especialmente los niños son un grupo en donde frecuentemente se presenta anemia. Por otra parte, en artículos anteriores se han reportado concentraciones de plomo en sangre de 0.5 a 31  $\mu\text{g/dL}$  y con estas concentraciones se pueden presentar síntomas como fatiga crónica, dolores de cabeza y temblores en las extremidades los cuales se le

atribuyen al manganeso, sin embargo, los datos de este estudio sugieren que el plomo es también un factor importante por considerarse.

#### Vasijas de barro

Es importante concientizar a los habitantes de la región de estudio, y en general de la población rural en México, de la presencia de Pb en las vasijas de barro que utilizan pues las concentraciones superan los límites máximos permitidos por la NOM-231-SSA1-2016.

A pesar de que hay una disminución de la cantidad de plomo en las vasijas usadas con respecto a las nuevas, esta disminución no asegura que la concentración a la que se llegue estará por debajo de los límites permitidos, y no se sabe el tiempo específico de uso para que esta disminución alcance valores por debajo de los límites máximos permitidos.

Es importante continuar con este estudio, midiendo en forma extensiva el Pb, Fe, Ca y Mn en alimentos, incluyendo otros como maíz (tortillas) y café en grano. Asimismo, correlacionar las relaciones de concentración de estos elementos en alimentos, con los valores de Pb, Fe y Mn en sangre.

Se recomienda incluir en el estudio zonas con diferente grado de exposición al Mn, pero similar al Pb, estudiando el grado de aprendizaje escolar. Esta actividad es importante pues en una población cercana a las estudiadas, que está expuesta al Mn, pero no al Pb, el rendimiento escolar es satisfactorio.

Sería muy interesante montar una metodología que permita cuantificar la cantidad de plomo que se logra transferir de las vasijas de barro a los alimentos cocinados en ellas.

Finalmente, en las hojas de los árboles, podría ser interesante diferenciar las formas del manganeso para determinar qué proporción es de origen antropogénico y qué proporción es de origen natural.

## Bibliografía

- Alegre Juárez Ricardo Isaac, Lovo Miranda Oscar Mauricio & Rivas Zamora Samuel. (2010). Determinación del contenido de plomo en alimentos cárnicos y lácteos producidos y comercializados en la zona del sitio del niño y San Juan Opico. El Salvador.
- Álvarez Romero Brenda Patricia. (2017). Génesis y contrastes mineralógicos del cuerpo manganesífero de Naopa en el distrito de Molango, Hidalgo, México. Tesis de licenciatura. Universidad Nacional Autónoma de México. 118 p
- Andersen, M. E., Gearhart, J. M., & Clewell III, H. J. (1999). Pharmacokinetic data needs to support risk assessments for inhaled and ingested manganese. *Neurotoxicology*, 20 (2), 161-172.
- Anderson, J. G., Cooney, P. T., & Erikson, K. M. (2006). Brain manganese accumulation is inversely related to  $\gamma$ -amino butyric acid uptake in male and female rats. *Toxicological Sciences*, 95 (1), 188-195.
- Arenas-Islas, D., 2012, Análisis Tafonómico de rocas siliciclásticas del sinemuriano superior (Jurásico Inferior), en la Formación Huayacocotla, centro oriente de México: Hidalgo, México, Universidad Autónoma del estado de Hidalgo, Tesis de Maestría en Ciencias, 94 p.
- Artículos de alfarería vidriada, cerámica vidriada, porcelana y artículos de vidrio- Límites máximos permisibles de plomo y cadmio solubles-Método de Ensayo. Norma Oficial Mexicana NOM-231-SSA1-2016. Diario Oficial de la Federación, 15 de diciembre de 2015.
- Asgharian, B. & Anjilvel, S. (1998). A multiple-path model of fiber deposition in the rat lung. *Toxicological Sciences*, 44 (1), 80-86.
- ATSDR (Agency for Toxic Substances and Disease Registry). (2012). Manganese. Resumen de Salud Pública. Estados Unidos de América.
- ATSDR (Agency for Toxic Substances and Disease Registry). (2016). Agency for Toxic Substances and Disease Registry. Recuperado el 16 de 02 de 2016, de [http://www.atsdr.cdc.gov/es/toxfaqs/es\\_tfacts151.pdf](http://www.atsdr.cdc.gov/es/toxfaqs/es_tfacts151.pdf), [http://www.atsdr.cdc.gov/es/phs/es\\_phs151.html](http://www.atsdr.cdc.gov/es/phs/es_phs151.html).
- Barbazán, M. (1998). Análisis de plantas y síntomas visuales de deficiencia de nutrientes. Informe de asistente de fertilidad de suelos. Facultad de Agronomía, Universidad de la República, Montevideo.
- Bravo Bravo, R. G. (2017). Determinación de la concentración de partículas contaminantes en el área urbana de Torreón, Coahuila.

- Caballero Torres, A. E. (2008). Temas de Higiene de los Alimentos. La Habana: Ciencias Médicas, 210-215.
- Calne, D., Chu, N., Huang, C., C.S., L., & Olanow, W. (1994). Manganism and idiopathic parkinsonism: similarities and differences. *Neurology*, 44, 1583-1586.
- Calvo-Carrillo, M, Mendoza-Martínez, E, (2012). Toxicología de alimentos. Mc Graw Hill. México.
- Canales-Rodríguez, M. Á., Quintero-Núñez, M., Castro-Romero, T. G., & García-Cuento, R. O. (2014). Las Partículas Respirables PM10 y su Composición Química en la Zona Urbana y Rural de Mexicali, Baja California en México. *Información Tecnológica*, 25 (6), 13-22.
- Centro Internacional de Agricultura Tropical. (1981). Síntomas de deficiencia de micro-nutrientes y de toxicidades minerales en pastos tropicales. Colombia: CIAT. 28 p
- Cevallos, Diego. (2008). MÉXICO: Minería del manganeso daña inteligencia de niños. IPS Agencia de Noticias. TIERRAMÉRICA.
- CODEX, S. STAN 193-1995. 1995. *Norma General para los Contaminantes y las Toxinas presentes en los Alimentos y piensos* ([http://www.codexalimentarius.net/download/standards/17/CXS\\_193e.pdf](http://www.codexalimentarius.net/download/standards/17/CXS_193e.pdf)).
- Couper, J. (1837). On the effects of black oxide of manganese when inhaled into the lungs. *Br Ann Med Pharm*, 1, 41-42.
- Crossgrove, J., & Zheng, W. (2004). Manganese toxicity upon overexposure. *NMR in Biomedicine*, 17 (8), 544-553.
- Cuéntame.inegi.org.mx.clima.Hidalgo.Disponible en <http://www.cuentame.inegi.org.mx/monografias/informacion/hgo/territorio/clima.aspx?tema=me&e=13>
- Diego Cevallos (23 de diciembre del 2008). MÉXICO: Minería del manganeso daña inteligencia de niños. INTER PRESS SERVICE.
- Durán Rivera, B., & Alzate Guarín, F. (2009). Intercepción de partículas suspendidas totales (PST) por cinco especies de árboles urbanos en el Valle de Aburrá.
- Elder, A., Gelein, R., Silva, V., Feikert, T., Opanashuk, L., Carter, J., Potter, R., Maynard, A., Ito, Y., Finkelstein, J., Oberdörster, G. (2006). Translocation of inhaled ultrafine manganese oxide particles to the central nervous system. *Environmental Health Perspectives*, 114 (8), 1172-1178.



- EPA. (2003). Health effects support document for manganese. Obtenido de Environmental Protection Agency: [www.epa.gov/safewater/ccl/pdf/manganese.pdf](http://www.epa.gov/safewater/ccl/pdf/manganese.pdf)
- EPA. (2016). Particulate matter (PM). Recuperado en Abril de 2016, de EPA: Environmental Protection Agency: <https://www3.epa.gov/airquality/particlepollution/>
- FAO. Informe de la 16a reunión del comité del CODEX sobre aditivos alimentarios. Programa conjunto FAO/WHO sobre normas alimentarias. 1983.
- Friedman, B.J., Freeland-Graves, J.H., Bales, C.W., Behmardi, F., Shorey-Kutschke, R.L., Willis, R.A., Crosby, J.B., Trickett, P.C., Houston, S.D., (1987). Manganese balance and clinical observations in young men fed a manganese-deficient diet. *J. Nutr.* 117, 133–143.
- García Gabarra, A. (2006). Ingesta de nutrientes: conceptos y recomendaciones internacionales (I). *Nutrición Hospitalaria*, 21 (3), 291-299.
- Garza, A., Chávez, H., Vega, R., & Soto, E. (2005). Mecanismos celulares y moleculares de la neurotoxicidad por plomo. *Salud Mental*, 28 (2), 48-58.
- Gómez, M., & Sotés, V. (2014). El Manganeso y la Viticultura: Una revisión. Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente. Madrid, España.
- Greger, J. L. (1999). Nutrition versus toxicology of manganese in humans: evaluation of potential biomarkers. *Neurotoxicology*, 20 (2-3), 205-212.
- He P, Liu DH, Zhang GQ. (1994) Effects of high-level-manganese sewage irrigation on children's neurobehavior. *Zhonghua Yu Fang Yi Xue Za Zhi*; (28), 216–218.
- Heilig, E., Molina, R., Donaghey, T., Brain, J. D., & Wessling-Resnick, M. (2005). Pharmacokinetics of pulmonary manganese absorption: evidence for increased susceptibility to manganese loading in iron-deficient rats. *American Journal of Physiology-Lung Cellular and Molecular Physiology*, 288 (5), L887-L893.
- Henn, B. C., Schnaas, L., Ettinger, A. S., Schwartz, J., Lamadrid-Figueroa, H., Hernández-Avila, M., Amarasiriwardena, C., Hu, H., Bellinger, D. C., Wright, R. O., Téllez-Rojo, M. M. (2012). Associations of early childhood manganese and lead coexposure with neurodevelopment. *Environmental Health Perspectives*, 120 (1), 126-131.
- Inafed.gob.mx. (2002). Hidalgo - Molango de Escamilla. Disponible en <http://www.inafed.gob.mx/work/enciclopedia/EMM13hidalgo/municipios/13042a.html>

- Infantas, M. M. V. (2005). Intoxicación por plomo. *Rev Soc Per Med Inter*, 18, 22-27.
- Islam, F. M. A., Basford, K. E., Redden, R. J., & Beebe, S. E. (2006). Preliminary evaluation of the common bean core collection at CIAT.
- Jazcilevich A., Siebe C., Wellens A., Rojas I., Cortez M. (2008). Finding sources of airborne manganese (Mn) in the Mining district of Molango, Mexico. Ponencia International Forum EcoHealth 2008.
- Jazcilevich, A., Wellens, A., Siebe, C., Rosas, I., Bornstein, R. D., & Riojas-Rodríguez, H. (2012). Application of a stochastic vehicular wake erosion model to determine PM2.5 exposure. *Aeolian Research*, 4, 31-37.
- Josephs, K. A., Ahlskog, J. E., Klos, K. J., Kumar, N., Fealey, R. D., Trenerry, M. R., & Cowl, C. T. (2005). Neurologic manifestations in welders with pallidal MRI T1 hyperintensity. *Neurology*, 64 (12), 2033-2039.
- Juárez Santillán L.F., Lucho-Constantino C.A., Vázquez-Rodríguez G.A., Cerón-Ubilla N.M., Beltrán-Hernández R.I. (2010). Manganese accumulation in plants of the mining zone of Hidalgo, Mexico. *Bioresource Technology* 101 (15), 5836-5841
- Karak, T., & Bhagat, R. (2012). Trace elements in tea leaves, made tea and tea infusion: a review. *Food Res Intl.*, 43, 2234-2252.
- Keen, C. (1994). Nutritional and toxicological aspects of manganese intakes: An overview. En W. Mertz, C. Abernathy, & S. Olin, *Risk assessment of essential elements* (221-235). Washington D.C.: ILSI Press.
- Keen, C. L., Ensunsa, J. L., Watson, M. H., Baly, D. L., Donovan, S. M., Monaco, M. H., & Clegg, M. S. (1999). Nutritional aspects of manganese from experimental studies. *Neurotoxicology* 20 (2-3), 213-223.
- Lara Flores, M. (2015). El cultivo del frijol en México. *Revista Digital Universitaria*.
- Manzanares-Acuña, E., Vega-Carrillo, H. R., Salas-Luévano, M. Á., Hernández-Dávila, V. M., Letechipía-de León, C., & Bañuelos-Valenzuela, R. (2006). Niveles de plomo en la población de alto riesgo y su entorno en San Ignacio, Fresnillo, Zacatecas, México. *Salud Pública de México*, 48 (3), 212-219.
- Medina Fernández, M. (2008). Estimación del riesgo en salud por exposición a manganeso en la huasteca sur de San Luis Potosí.
- Meneseses-González, MD & Vesta Richardson, MC, (2003). Niveles de plomo en sangre y factores de exposición en niños del estado de Morelos, México.

- Menezes-Fihlo, J., Bouchard, M., Sarcinelli, P., & Moreira, J. (2009). Manganese exposure and the neurophysiological effect on children and adolescents: a review. *Rev. Panam Salud Pública*. 26 (6), 541-548.
- Mengel, K. K., Mengel, E. A. K., Kirkby, E. A., Mengel, K., Kirkby, E. A., & Ernest, A. K. (2000). *Principios de nutrición vegetal* (No. 581.1335 631.811). International Potash Institute.
- Mergler, D., Baldwin, M., Belanger, S., Larribe, F., Beuter, A., Bowler, R. (1999). Manganese neurotoxicity, a continuum of dysfunction: Results from a community based study. *Neurotoxicology*, 20 (2-3), 327-342.
- Método de prueba para la determinación de cadmio, arsénico, plomo, estaño, cobre, hierro, zinc y mercurio en alimentos, agua potable y agua purificada por espectrometría de absorción atómica. Norma Oficial Mexicana NOM-117-SSA1-1994. *Diario Oficial de la Federación*, 29 de junio de 1995.
- Moreno, K., 2013. Chiles y salsas en México. Un sabor a identidad, Recuperado el 20 de junio de 2017 de <http://www.inah.gob.mx/es/reportajes/597-chiles-y-salsas-en-mexico-un-sabor-a-identidad>
- NMX-F-377-1986. Alimentos regionales. Salsa picante envasada. Normas mexicanas. Dirección General de Normas.
- Nordberg, Gunnar. (2012). Metales: propiedades químicas y toxicidad. *Enciclopedia de la OIT. España: D-INSHT (Instituto Nacional de Seguridad e Higiene en el Trabajo)*.
- Olanow, C. (2004). Manganese-induced parkinsonism and Parkinson's disease. *Annals of the New York Academy of Science*, 1012 (1), 209-223.
- Paratodomexico.com. Hidrología Hidalgo - Hidrología del Estado de Hidalgo México. disponible en <http://www.paratodomexico.com/estados-de-mexico/estado-hidalgo/hidrologia-hidalgo.html>
- Paz Salinas María Fernanda (2008a). Tensiones de la gobernanza en el México rural. *Política y Cultura*. (30), 193-208.
- Paz Salinas María Fernanda (2008b). Del caciquismo a la gobernanza. Desafíos en la construcción de acuerdos en un distrito minero en México. In: *Ajedrez ambiental Manejo de recursos naturales, comunidades, conflictos y cooperación*. Joseph S. Weiss y Teodoro Bustamante, ed., FLACSO-Ecuador. ISBN 978-9978-67.
- Paz Salinas María Fernanda. (2012). Conflictos socio-ambientales, cultura política y gobernanza: la cooperación bajo sospecha en el distrito minero de Molango en el estado de Hidalgo. En Durand, L. (coord.), *La naturaleza en contexto. Hacia una ecología política mexicana* (pp. 65-95). Cuernavaca: México.

- Peña, C. E., Carter, D. E., & Ayala-Fierro, F. (2000). Toxicología ambiental: evaluación de riesgos y restauración ambiental. In Toxicología ambiental: evaluación de riesgos y restauración ambiental. The University of Arizona.
- Pérez, J. N. C., Arizmendi, R. A. A., Ruíz, R. G., & Hernández, M. A. L. (2003). Niveles de plomo en mujeres y niños alfareros. *Revista Médica de la Universidad Veracruzana*, 3 (1), 16-22.
- Ramírez, A. V. (2005). El cuadro clínico de la intoxicación ocupacional por plomo. In *Anales de la Facultad de Medicina. UNMSM. Facultad de Medicina*. 66 (1), 57-70.
- Raya Pérez, J. C., & Aguirre Mancilla, C. L. (2009). Composición elemental de algunas especies de plantas silvestres mexicanas. *Revista Chapingo, Serie Ciencias Forestales y del Ambiente*, 15 (2), 95-99.
- Riojas Rodríguez, H., Rodríguez, A., Rosas, I., Siebe, C., Jazcilevic, A., Paz, F., & Catalán, M. (2009). Exposición a manganeso de la población residente en un distrito minero (México)-fase II: informe final.
- Riojas-Rodríguez, H., Solís-Vivanco, R., Schilman, A., & Montes, S. (2010). Intellectual Function in Mexican Children Living in a Mining Area and Environmentally Exposed to manganese. *Environmental Health Perspectives* 118, 1465-1470.
- Rivera-Becerril, F., Juárez-Vázquez, L. V., Hernández-Cervantes, S. C., Acevedo-Sandoval, O. A., Vela-Correa, G., Cruz-Chávez, E., de León-González, F. (2013). Impacts of Manganese Mining Activity on the Environment: Interactions Among Soil, Plants, and Arbuscular Mycorrhiza. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 64 (2), 219-227.
- Rodríguez-Agudelo, Y., Riojas-Rodríguez, H., Ríos, C., Rosas, I., Pedraza, E. S., Miranda, J., Santos-Burgoa, C. (2006). Motor alterations associated with exposure to manganese in the environment in Mexico. *Science of the Total Environment*, 368 (2-3), 542-556.
- Rodríguez-Rodríguez, E., Bermejo, L. M., López-Sobaler, A. M., & Ortega, R. M. (2011). Una ingesta inadecuada de manganeso podría contribuir a la aparición de resistencia a la insulina en niñas. *Nutrición Hospitalaria*, 26 (5), 965-970.
- Rubio Armendáriz, C. (2002). Ingesta dietética de contaminantes metálicos (Hg, Pb, Cd, Fe, Cu, Zn y Mn) en la Comunidad Autónoma Canaria. *Evaluación toxicológica*.
- Rubio, C., Gutiérrez, A. J., Martín Izquierdo, R. E., Revert, C., Lozano, G., & Hardisson, A. (2004). El plomo como contaminante alimentario. *Revista de Toxicología*, 21 (2). 72-80.

- Salminen, R. (2006). Manganese-Mn. Obtenido de Geochemical Atlas of Europe: <http://weppi.gtk.fi/publ/foregsatlas/text/Mn.pdf>
- Santamaria, A. B., Cushing, C. A., Antonini, J. M., Finley, B. L., & Mowat, F. S. (2007). State-of-the-science review: does manganese exposure during welding pose a neurological risk?. *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part B*, 10 (6), 417-465.
- Scăețeanu, G. V., Ilie, L., & Călin, C. (2013). An Overview on Manganese in Nature. *American Chemical Science Journal*, 3, 247-263.
- Secretaría de Salud. (2014). Norma Oficial Mexicana NOM-025-SSA1-2014, Salud ambiental. Valores límite permisibles para la concentración de partículas suspendidas PM10 y PM2.5 en aire ambiente. México.
- SGM (Servicio Geológico Mexicano). (2014). Panorama Minero en el Estado de Hidalgo. México: Secretaria de Economía.
- Temminghoff, E. E., & Houba, V. J. (Eds.). (2004). *Plant analysis procedures* (Vol. 179). Dordrecht: Kluwer Academic Publishers.
- Torres-Sánchez, L., López-Carrillo, L., & Ríos, C. (1999). Eliminación del plomo por curado casero. *Salud Pública de México*, 41, S106-S108.
- Tzintzun Cervantes, M. G., Rojas Bracho, L., & Fernández Bremauntz, A. (2005). Las partículas suspendidas en tres grandes ciudades mexicanas. *Gaceta Ecológica*, (74), 15-28.
- Unión Europea. Reglamento (UE) 2015/1005 de la comisión de 25 de junio de 2015. *Diario oficial de la Unión Europea*. 2015.
- Vega-Franco, L., Alvear, G., & Meza-Camacho, C. (1994). La cerámica vidriada como factor de riesgo de exposición al plomo. *Salud Pública de México*, 36 (2), 148-153.
- Vega, P. V., & Florentino, B. L. (1991). *Toxicología de alimentos* (No. RA 1258. V34 1991). Centro Panamericano de Ecología Humana y Salud, Programa de Salud Ambiental, Organización Panamericana de la Salud, Organización Mundial de la Salud.
- Wasserman, G. A., Liu, X., Parvez, F., Ahsan, H., Levy, D., Factor-Litvak, P., Cheng, Z. (2006). Water manganese exposure and children's intellectual function in Araihasar, Bangladesh. *Environmental Health Perspectives*, 114 (1), 124-129.
- Wright, R., Amarasiwaderna, C., Woolf, A., Jim, R., & Bellinger, D. (2006). Neuropsychological correlates of hair arsenic, manganese, and cadmium

levels in school-age children residing near a hazardous waste site.  
NeuroToxicology. 27 (2), 210-216.

# Apéndice 1: Métodos analíticos

## 1. Análisis de muestras de alimentos

Una vez que las muestras de alimentos ingresaron al laboratorio fue necesario congelar y posteriormente secar las muestras para su conservación, a la par del secado se determinó la humedad de las muestras ya que ésta será de utilidad para posteriormente reportar la concentración de plomo y manganeso. Además, se realizó la adecuación y aprobación del método para la determinación de manganeso y plomo.

### Determinación de humedad

Las concentraciones de plomo y manganeso en alimentos se suelen reportar de dos formas, la primera de ellas es en base seca (no toma en cuenta la humedad de la muestra) y la segunda en base húmeda (toma en cuenta la humedad de la muestra, también se le conoce como en peso de alimento fresco), para este último caso se debe determinar la humedad de los alimentos, en este caso, por practicidad y naturaleza de las muestras, es suficiente con utilizar un horno convencional a 100 °C hasta peso constante. Los resultados se muestran en los Cuadros 1 y 2.

Cuadro 1 Humedad de muestras de frijol

Muestra/repeticón	Masa inicial (g)	Masa seca (g)	Masa de agua (g)	Humedad (%)	Humedad media (%)	Desviación estándar relativa (%)
1087-15/1	2.02753	0.58892	1.43861	70.95	70.88	0.07
1087-15/2	2.02755	0.59185	1.43570	70.81		
1087-15/3	2.02755	0.59023	1.43732	70.89		
1088-15/1	2.02740	0.50387	1.52353	75.15	75.42	0.23
1088-15/2	2.02737	0.49589	1.53148	75.54		
1088-15/3	2.02742	0.49544	1.53198	75.56		
1089-15/1	2.02746	0.50789	1.51957	74.95	74.82	0.24
1089-15/2	2.02737	0.50744	1.51993	74.97		
1089-15/3	2.02735	0.51592	1.51143	74.55		
1090-15/1	2.02759	0.36742	1.66017	81.88	81.57	0.27
1090-15/2	2.02740	0.37695	1.65045	81.41		
1090-15/3	2.02753	0.37668	1.65085	81.42		

Cuadro 1 Humedad de muestras de frijol (continuación)

Muestra/repetición	Masa inicial (g)	Masa seca (g)	Masa de agua (g)	Humedad (%)	Humedad media (%)	Desviación estándar relativa (%)
1091-15/1	2.02745	0.51154	1.51591	74.77	74.77	0.04
1091-15/2	2.02733	0.51216	1.51517	74.74		
1091-15/3	2.02747	0.51074	1.51673	74.81		
1092-15/1	2.02747	0.46010	1.56737	77.31	77.33	0.16
1092-15/2	2.02747	0.45621	1.57126	77.50		
1092-15/3	2.02755	0.46251	1.56504	77.19		

Cuadro 2 Humedad de muestras de salsas

Muestra/repetición	Masa inicial (g)	Masa seca (g)	Masa de agua (g)	Humedad (%)	Humedad media (%)	Desviación estándar relativa (%)
1093-15/1	2.02750	0.26119	1.76631	87.12		
1093-15/2	2.02752	0.26542	1.76210	86.91		
1093-15/3	2.02743	0.26039	1.76704	87.16	87.06	0.13
1094-15/1	2.02732	0.27677	1.75055	86.35		
1094-15/2	2.02747	0.27696	1.75051	86.34		
1094-15/3	2.02740	0.28003	1.74737	86.19	86.29	0.09
1095-15/1*	17.58000	0.84000	16.74000	95.22	95.22	
1096-15/1*	13.40000	1.20000	12.20000	91.04	91.04	
1097-15/1*	7.83000	1.96000	5.87000	74.97	74.97	
1098-15/1	2.02749	0.16981	1.85768	91.62		
1098-15/2	2.02740	0.18812	1.83928	90.72		
1098-15/3	2.02743	0.17064	1.85679	91.58	91.31	0.51

\*Nota: La mayoría de los análisis en las muestras se hicieron por triplicado, sin embargo, hubo casos en los que la cantidad de muestra no fue la suficiente y se realizó un solo análisis.

Ejemplo de cálculo de humedad:

$$\%Humedad = \frac{\text{masa inicial} - \text{masa seca}}{\text{masa inicial}} * 100$$

$$\%Humedad = \frac{2.02750 - 0.26119 \text{ g}}{2.02750 \text{ g}} * 100 = 87.11 \%$$

Observando los resultados de los cuadros 1 y 2, se puede ver que, como era de esperarse, ambos alimentos son de una humedad alta, las muestras de salsa tienen



un porcentaje más elevado, esto debido a que dentro de su misma formulación se le agrega mayor cantidad de agua.

## **Adecuación y aprobación del método para análisis de alimentos**

Tomando en cuenta la NOM-117-SSA1-1994, que establece el método de prueba para la determinación de metales en alimentos, y siendo que esta norma es de carácter oficial, y dentro de su metodología permite la utilización de horno de microondas para la digestión de muestras y la lectura por ICP, sin embargo, no establece las condiciones, se procedió a realizar la aprobación del método analítico para determinar la concentración de plomo y manganeso en frijol y salsa, y cumplir con el sistema de calidad implementado en el laboratorio de trabajo.

La determinación de plomo y manganeso en alimentos se llevó a cabo por la técnica de ICP-OES, los reactivos y equipos utilizados se enlistan a continuación:

- Reactivos y equipos
- 5. Muestra (frijol / salsa comercial)
- 6. HNO<sub>3</sub> A.C.S Meyer 70 % (9 mL)
- 7. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> Meyer 29-32 % (3 mL)
- 8. Horno convencional JM Ortiz
- 9. Horno de microondas "ETHOS EASY milestone"
- 10. Balanza analítica "Ohaus modelo Discovery"
- 11. ICP-OES "Agilent technologies 5100"

Para poder realizar una experimentación confiable, se deben tener ciertos estándares de calidad internos del laboratorio, y con esto asegurar que tanto los equipos como los reactivos estén en buenas condiciones y los analistas estén capacitados para la adecuación, los estándares de calidad empleados se enlistan a continuación:

- Curva de calibración ( $r=0.995$ ). Se prepara cada vez que se introducen muestras en el instrumento analítico. Se prepara una curva de calibración de nueve puntos.
- Blanco inicial ( $< \text{Límite de detección (LD)}$ ).
- Estándar de verificación inicial ( $100 \pm 10 \%$  del valor de referencia). Se adicionaron  $200 \mu\text{L}$  de estándar multi-elemental QCS-26 (concentración en  $\mu\text{g/mL}$  de Al: 100, Sb: 100, As: 100, Ba: 100, Be: 100, B: 100, Ca: 100, Cr: 100, Co: 100, Cu: 100, Fe: 100, Pb: 100, Mg: 100, Mn: 100, Mo: 100, Ni: 100, K: 100, Se: 100, Si: 100, Ag: 100, Na: 100, Tl: 100, Ti: 100, V: 100, Zn: 100) a un matraz volumétrico de 10 mL y se añadió agua acidificada con  $\text{HNO}_3$ , hasta el aforo.
- Disolución de interferencia ( $100 \pm 15 \%$  del valor de referencia)

Estos estándares se aplican antes de iniciar el análisis de las muestras, aunado a esto se aplican otros dos estándares durante el desarrollo de la determinación de los elementos de interés, los cuales son:

- Blanco ( $< \text{LD}$ )
- Estándar de verificación continua ( $100 \pm 10 \%$  del valor de referencia). Se adicionaron  $500 \mu\text{L}$  de estándar multi-elemental QCS-26 a un matraz volumétrico de 25 mL y se añadió agua acidificada, hasta el aforo.

Los dos parámetros anteriores se deben de aplicar después de la lectura en ICP de cada 10 muestras, adicional a esto se deben tener estándares de calidad del método. En este caso utilizamos un blanco adicionado (Blanco add), el cual se debe leer al final de la determinación de los elementos de interés, también se usaron muestras adicionadas pre-digestión con duplicados con la misma concentración que el blanco adicionado ( $2 \text{ mg/L}$ ). En ambos casos se debe verificar que éste tenga un porcentaje de recobro de entre 70 y 130 % y una desviación estándar relativa (DER) menor al 10 %.

Una vez que todo esto se cumple, se considera un método aprobado dentro de los estándares de calidad del laboratorio y se pueden determinar las condiciones ideales de la experimentación, para así analizar las muestras de interés.

Se inició la adecuación del método de digestión haciendo uso de muestras comerciales de frijol (077-16), salsa (076-16) y café (078-16). Cabe destacar que, aunque aquí sólo se presentan las condiciones finales con las que el método cumplió los parámetros de calidad, para llegar a esas condiciones se probaron 3 condiciones diferentes, el principal problema de la primera determinación fue que se analizaron muestras sin adicionar, lo cual, como era de esperarse para un alimento comercial, no presentó concentración de los elementos, por lo que para las siguientes determinaciones se adicionaron triplicados (dup, trip) de las muestras comerciales con 2 mg/L de estándar multi-elemental QCS-26 (100 µg/mL) , una vez que se podía asegurar la posibilidad de calcular los parámetros de calidad (DER y % de recobro), se procedió a modificar temperatura y tiempo de la digestión hasta lograr los parámetros adecuados.

Las condiciones finales de aprobación son:

- Temperatura: 180 °C
- Tiempo de rampa: 15 minutos
- Tiempo de mantenimiento: 7.5 minutos
- Potencia: Máxima
- Mezcla de 9 mL de HNO<sub>3</sub> + 3 mL de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>

Por tratarse de un trabajo en el que se implica a dos analistas se realizaron por separado dos determinaciones, una para cada analista y así obtener la reproducibilidad del método. Con estas condiciones se logró tener una experimentación confiable y los datos de los resultados totales se muestran en el Cuadro 3.

Las condiciones del ICP-OES de las lecturas fueron para plomo: Límite de detección= 0.01 mg/L, Límite de cuantificación= 0.03 mg/L, longitud de onda

Pb=220.353 nm y para manganeso: Límite de detección= 0.01 mg/L, Límite de cuantificación= 0.03 mg/L, longitud de onda Mn= 257.61 nm.

Cuadro 3 Resultados de las determinaciones de Mn y Pb en alimentos con los parámetros de calidad

<b>Daniel Amaro Ramírez (DAR)</b>	<b>Mn(mg/L)</b>	<b>Pb(mg/L)</b>	<b>Felipe Torres Herrera (FTH)</b>	<b>Mn(mg/L)</b>	<b>Pb(mg/L)</b>
Blanco DAR	<LD	<LD	Blanco FTH	<LD	<LD
Blanco DAR add	1.90	1.82	Blanco FTH add	1.74	1.66
<b>Recobro</b>	<b>95 %</b>	<b>91 %</b>	<b>Recobro</b>	<b>87 %</b>	<b>83 %</b>
076-16 DAR	0.25	<LD	076-16 FTH	0.26	<LD
076-16 DAR dup	0.26	<LD	076-16 FTH dup	<LD	<LD
076-16 DAR trip	0.26	<LD	076-16 FTH trip	0.26	<LD
<b>DER (%)</b>	<b>2 %</b>	<b>-</b>	<b>DER (%)</b>	<b>0 %</b>	<b>-</b>
076-16 DAR add	2.06	1.71	076-16 FTH add	1.95	1.57
076-16 DAR add dup	2.07	1.71	076-16 FTH add dup	1.89	1.54
076-16 DAR add trip	2.08	1.72	076-16 FTH add trip	1.96	1.62
<b>Recobro</b>	<b>91 %</b>	<b>86 %</b>	<b>Recobro</b>	<b>84 %</b>	<b>79 %</b>
<b>DER (%)</b>	<b>0 %</b>	<b>0 %</b>	<b>DER (%)</b>	<b>2 %</b>	<b>3 %</b>
077-16 DAR	0.23	<LD	077-16 FTH	0.27	<LD
077-16 DAR dup	0.24	<LD	077-16 FTH dup	0.27	<LD
077-16 DAR trip	0.27	<LD	077-16 FTH trip	0.27	<LD
<b>DER (%)</b>	<b>8 %</b>	<b>-</b>	<b>DER (%)</b>	<b>0 %</b>	<b>-</b>
077-16 DAR add	2.19	1.81	077-16 FTH add	1.94	1.59
077-16 DAR add dup	2.20	1.80	077-16 FTH add dup	1.96	1.61
077-16 DAR add trip	2.05	1.71	077-16 FTH add trip	1.90	1.54
<b>Recobro</b>	<b>95 %</b>	<b>89 %</b>	<b>Recobro</b>	<b>83 %</b>	<b>79 %</b>
<b>DER (%)</b>	<b>4 %</b>	<b>3 %</b>	<b>DER (%)</b>	<b>2 %</b>	<b>2 %</b>
078-16 DAR	0.68	<LD	078-16 FTH	0.70	<LD
078-16 DAR dup	0.69	<LD	078-16 FTH dup	0.68	<LD
078-16 DAR trip	0.70	<LD	078-16 FTH trip	0.67	<LD
<b>DER (%)</b>	<b>1 %</b>	<b>-</b>	<b>DER (%)</b>	<b>2 %</b>	<b>-</b>
078-16 DAR add	2.46	1.69	078-16 FTH add	2.27	1.53
078-16 DAR add dup	2.48	1.71	078-16 FTH add dup	2.25	1.49
078-16 DAR add trip	2.47	1.73	078-16 FTH add trip	2.31	1.52
<b>Recobro</b>	<b>89 %</b>	<b>86 %</b>	<b>Recobro</b>	<b>80 %</b>	<b>76 %</b>
<b>DER (%)</b>	<b>0.4 %</b>	<b>1 %</b>	<b>DER (%)</b>	<b>1 %</b>	<b>1 %</b>

dup=duplicado, trip= triplicado, add dup= duplicado de las muestras adicionado, add trip= triplicado de la muestra adicionado, add= muestra adicionada.

Los resultados mostrados en el Cuadro 3 son de muestras comerciales y se realizaron en triplicados sin adicionar y adicionados con el estándar CQS-26 a una concentración de 2 mg/L. A los triplicados sin adicionar sólo es posible calcularles el DER y en el caso de los adicionados si se pueden calcular ambos parámetros % de recobro y DER. Como se observa en el Cuadro 3, para ambos analistas en todos los casos cumplieron con los parámetros fijados en el sistema de calidad. Sin embargo, para asegurar la reproducibilidad de la metodología, se hizo el análisis estadístico de los datos experimentales de ambos analistas para comprobar que el método sea reproducible, lo cual se muestra en el Cuadro 4.

Cuadro 4 Resultados de análisis de alimentos y reproducibilidad entre analistas

Muestra/ analista	Mn(mg/L)	Pb (mg/L)	Muestra/ analista	Mn(mg/L)	Pb(mg/L)
077-16 DAR	0.21	<LD	078-16 DAR	0.68	<LD
077-16 DAR dup	0.24	<LD	078-16 DAR dup	0.69	<LD
077-16 DAR trip	0.27	<LD	078-16 DAR trip	0.7	<LD
077-16 FTH	0.27	<LD	078-16 FTH	0.7	<LD
077-16 FTH dup	0.27	<LD	078-16 FTH dup	0.68	<LD
077-16 FTH trip	0.27	<LD	078-16 FTH trip	0.67	<LD
<b>DER (%)</b>	<b>10 %</b>	<b>-</b>	<b>DER (%)</b>	<b>0.02 %</b>	<b>-</b>
077-16 DAR add	2.19	1.81	078-16 DAR add	2.46	1.69
077-16 DAR add dup	2.2	1.8	078-16 DAR add dup	2.48	1.71
077-16 DAR add trip	2.05	1.71	078-16 DAR add trip	2.47	1.73
077-16 FTH add	1.94	1.59	078-16 FTH add	2.27	1.53
077-16 FTH add dup	1.96	1.61	078-16 FTH add dup	2.25	1.49
077-16 FTH add trip	1.9	1.54	078-16 FTH add trip	2.31	1.52
<b>Recobro</b>	<b>89 %</b>	<b>84 %</b>	<b>Recobro</b>	<b>84 %</b>	<b>81 %</b>
<b>DER (%)</b>	<b>6 %</b>	<b>7 %</b>	<b>DER (%)</b>	<b>5 %</b>	<b>7 %</b>
076-16 DAR	0.25	<LD	Blanco DAR add	1.9	1.82
076-16 DAR dup	0.26	<LD	Blanco FTH add	1.74	1.66
076-16 DAR trip	0.26	<LD	<b>Recobro</b>	<b>91 %</b>	<b>87 %</b>
076-16 FTH	0.26	<LD	<b>DER (%)</b>	<b>6 %</b>	<b>7 %</b>
076-16 FTH trip	0.26	<LD			
<b>DER (%)</b>	<b>2 %</b>	<b>-</b>			

Cuadro 4 Resultados de análisis de alimentos y reproducibilidad entre analistas (continuación)

<b>Muestra/ analista</b>	<b>Mn(mg/L)</b>	<b>Pb(mg/L)</b>
076-16 DAR add	2.06	1.71
076-16 DAR add dup	2.07	1.71
076-16 DAR add trip	2.08	1.72
076-16 FTH add	1.95	1.57
076-16 FTH add dup	1.89	1.54
076-16 FTH add trip	1.96	1.62
<b>Recobro</b>	<b>87 %</b>	<b>82 %</b>
<b>DER (%)</b>	<b>4 %</b>	<b>5 %</b>

dup=duplicado, trip= triplicado, add dup= duplicado de las muestras adicionada, add trip= triplicado de la muestra adicionada, add= muestra adicionada

Como se puede observar en el Cuadro 4 la experimentación se puede realizar por cualquiera de los dos analistas, ya que, al determinar los parámetros de calidad establecidos (% de recobro entre 70 y 130 % y un DER <10 %) de manera conjunta, éstos se siguen cumpliendo y se puede decir que existe una buena reproducibilidad.

Una vez aprobado el método con la ayuda de muestras comerciales de las matrices a estudiar, se prosiguió a analizar las muestras de interés provenientes de la zona de Molango, utilizando las condiciones finales que se tomaron por aprobadas, sin dejar de poner importancia en los parámetros de calidad antes mencionados.

Los resultados de las determinaciones y sus parámetros de calidad calculados en las muestras provenientes de la zona de Molango se pueden ver en el Cuadro 5. Y como se puede observar en el caso de estas muestras, al contar con una cantidad limitada, no se pudo realizar la experimentación con el triplicado sin adicionar y el triplicado de adicionados, por lo que únicamente en algunos casos (1092-15, 1093-15, 1087-15) se realizó un duplicado sin adicionar y un duplicado adicionado de la muestra, en otros casos sólo se pudo analizar una muestra sin adicionar y otra adicionada (1088-15, 1094-15, 1096-15, 1091-15), y los casos en los cuales la muestra fue muy poca, únicamente se analizó la muestra sin adicionar (1089-15, 1090-15, 1095-15, 1097-15). La muestra 1098-15 presentó una concentración

elevada de Pb, tanto en la muestra sin adicionar como en la muestra adicionada y fue necesario realizar una dilución 1:10.

Cuadro 5 Resultados totales de las muestras provenientes de la zona de Molango

Masa de la muestra (g)	Muestra	Mn(mg/kg)	Pb (mg/kg)	Masa de la muestra (g)	Muestra	Mn (mg/kg)	Pb(mg/kg)
	Blanco 1	0.07	<LD	0.4001	1092-15	0.29	0.08
	Blanco 2	0.07	<LD	0.4000	1092-15 dup	0.29	0.08
	Blanco 1 add	2	1.7	0.4001	1092-15 add	1.93	1.49
	Blanco 2 add	1.94	1.61	0.4000	1092-15 add dup	1.83	1.47
	<b>Recobro</b>	<b>95 %</b>	<b>83 %</b>		<b>Recobro</b>	<b>80 %</b>	<b>70 %</b>
	<b>DPR de los adicionados</b>	<b>2 %</b>	<b>4 %</b>		<b>DPR de los adicionados</b>	<b>4 %</b>	<b>1 %</b>
0.2004	1093-15	0.06	<LD	0.4001	1087-15	0.14	0.08
0.2004	1093-15 dup	0.06	<LD	0.4000	1087-15 dup	0.15	0.09
0.2004	1093-15 add	1.72	1.53	0.4001	1087-15 add	1.93	1.68
0.2004	1093-15 add dup	1.79	1.58	0.4001	1087-15 add dup	2.04	1.84
	<b>Recobro</b>	<b>85 %</b>	<b>78 %</b>		<b>Recobro</b>	<b>92 %</b>	<b>84 %</b>
	<b>DPR de los adicionados</b>	<b>3 %</b>	<b>2 %</b>		<b>DPR de los adicionados</b>	<b>4 %</b>	<b>6 %</b>
0.4001	1088-15	0.18	<LD	0.2004	1094-15	0.13	<LD
0.4001	1088-15 add	1.95	1.62	0.2005	1094-15 add	1.86	1.62
	<b>Recobro</b>	<b>89 %</b>	<b>81 %</b>		<b>Recobro</b>	<b>87 %</b>	<b>81 %</b>
0.2007	1096-15	0.12	<LD	0.4000	1091-15	0.19	<LD
0.2007	1096-15 add	1.68	1.43	0.4001	1091-15 add	1.89	1.51
	<b>Recobro</b>	<b>78 %</b>	<b>72 %</b>		<b>Recobro</b>	<b>85 %</b>	<b>76 %</b>
0.4001	1089-15	0.2	0.12	0.2007	1098-15 dilución 1:10	<LD	17.8
0.4003	1090-15	0.2	<LD	0.2008	1098-15 add dilución 1:10	2.2	19.2
0.2003	1095-15	0.19	<LD		<b>Recobro</b>	<b>110 %</b>	<b>70 %</b>
0.2005	1097-15	0.09	0.13				

dup=duplicado, add dup= duplicado de las muestras adicionada, add= muestra adicionada

## 2. Análisis de hojas de árboles

El método para el análisis de hojas fue tomado de Temminghoff & Houba (2004). Como primer paso para el análisis de las hojas de árboles se realizó una digestión ácida de las muestras, la cual nos permitirá realizar la determinación de nitrógeno total, que es una determinación rutinaria para comprobar el estado de salud de las muestras y determinar la concentración de manganeso en el digestado de las hojas de árboles. Los reactivos y equipos utilizados se muestran en el Cuadro 6.

Cuadro 6 Equipos y reactivos para la digestión y determinación de nitrógeno total en hojas de árboles

Reactivo	Equipo
H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> concentrado 96 % (m/m)	Bausch and Lomb Spectronic 88
Ácido salicílico sólido	Agilent Technologies 5100 ICP-OES
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> "Meyer" 29 – 32 % (m/m)	Horno convencional "JM Ortiz"
Solución de hidróxido de sodio 10 M: Disolver 200 g de hidróxido de sodio en 400 mL de agua y aforar a 500 mL.	Balanza analítica "Ohaus modelo Discovery"
Solución de salicilato: Disolver 110 g de ácido salicílico en 105 mL de solución de hidróxido de sodio 10 M y aforarlo a 250 mL	
Solución de nitroprusiato: Disolver 50 mg de nitroprusiato de sodio dihidratado Na <sub>2</sub> [Fe(CN) <sub>5</sub> NO].2H <sub>2</sub> O en 100 mL de agua. Preparar justo antes de usar.	
Solución de EDTA: Disolver 4 g de Etilendiamina tetraacetato disódico dihidratado Na <sub>2</sub> EDTA. 2H <sub>2</sub> O en 100 mL de agua.	
Solución buffer pH 12.3: Disolver 26.70 g de fosfato de disodio dihidratado Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> .2H <sub>2</sub> O en un poco de agua en un matraz volumétrico de 2 L, agregar 10 mL de la solución de hidróxido de sodio 10 M y ajustar el volumen con agua.	
Solución de hipoclorito: A partir de una solución stock 1 M, diluir 20 mL de esta solución en 100 mL de agua.	
Mezcla de reactivos 1: Mezclar 50 mL de solución de salicilato con 100 mL de solución de nitroprusiato y 5 mL de solución de EDTA.	
Mezcla de reactivos 2: Mezclar 200 mL de solución de buffer con 50 mL de solución de hipoclorito.	
Solución stock de nitrógeno a una concentración de 2 500 mg/L. Disolver 11.79 g de sulfato de amonio (NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> (previamente secado a 105 °C por al menos dos horas) en un matraz volumétrico de 1 L y aforar.	



## Digestión ácida para análisis de hojas de árboles

La digestión abierta de las muestras se llevó a cabo con la siguiente metodología:

1. Recepción de muestras: las muestras a analizar son hojas de diferentes árboles situados en la zona de Molango (el muestreo se describe en el capítulo 2 metodología apartado 2.1. muestreo).
2. Secado de muestras: las muestras se llevan a sequedad en estufa a 65 °C hasta tener peso constante.
3. Molienda de muestras: se reduce el tamaño de partícula usando un procesador de alimentos y un mortero.
4. Pesaje de muestras: se pesan entre 0.1 y 0.3 g con precisión de +/- 0.001 g dependiendo de la cantidad de muestra con que se cuente.
5. Digestión de muestras: se lleva a cabo por la técnica de digestión abierta en bloques de digestión utilizando H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, ácido salicílico y H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>.
  - a. Agregar 3.3 mL de la mezcla de digestión (18 mL H<sub>2</sub>O, 100 mL ácido sulfúrico y 6 g ácido salicílico) y la muestra de planta en tubos de ensaye y agitar cuidadosamente hasta que toda la hoja se encuentre cubierta y dejar en pre-digestión toda la noche.
  - b. Calentar los tubos en parrilla hasta los 180 °C por una hora.
  - c. Remover los tubos de la parrilla y dejar enfriar, luego agregar 10 gotas de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>.
  - d. Calentar los tubos hasta 280 °C por 5 ó 10 minutos hasta que aparezcan vapores blancos.
  - e. Quitar los tubos de la parrilla, dejar enfriar y agregar 10 gotas de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> y volver a calentar de 5 a 10 minutos hasta la aparición de vapores blancos.
  - f. Repetir la adición de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> hasta que la solución sea incolora.
  - g. Retirar los tubos de la parrilla, dejar enfriar y agregar 10 mL de agua y agitar para disolver los precipitados si es necesario.
  - h. La mezcla final se lleva a aforo de 50 mL.

## Determinación de nitrógeno total

Para hacer la determinación de nitrógeno total en hojas de árboles, se empleó el digestado resultante de digestión del apartado anterior y se siguió el procedimiento siguiente.

1. Curva patrón: En matraces volumétricos de 10 mL agregar 5 mL de H<sub>2</sub>O + 0.45 mL de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> concentrado, adicionar los volúmenes de solución Stock de nitrógeno del Cuadro 7 y después aforar para construir la curva patrón.

Cuadro 7 Volúmenes de la solución stock de nitrógeno para la curva patrón

Solución Stock 2 500 mg/L (mL)
0
0.1
0.2
0.3
0.4
0.5
0.6

- 1.1. Diluir las muestras y los estándares 1:10 con agua para tener una curva patrón con las concentraciones en ppm (0, 2.5, 5, 7.5, 10, 12.5 y 15).
2. Tomar 0.2 mL de las muestras digeridas diluidas, así como de la curva patrón y colocar en tubos de ensaye, adicionar 3 mL de la mezcla 1 (50 mL de solución de salicilato + 100 mL de solución de nitroprusiato + 5 mL solución EDTA) y agitar. Después agregar 5 mL de la mezcla 2 (200 mL de solución buffer + 50 mL de hipoclorito de sodio), agitar y dejar reposar por lo menos dos horas que es cuando la coloración tiene su mayor intensidad.
3. Medir la absorbancia en el espectrofotómetro a 660 nm.

Las concentraciones y absorbancias para construir la curva patrón en esta metodología se muestran en el Cuadro 8 y la curva patrón resultante se puede observar en la Figura 1.

Cuadro 8 Concentraciones de la curva patrón

Concentración en ppm de nitrógeno	Absorbancia
0.0	0
2.5	0.06
5.0	0.17
7.5	0.22
10.0	0.3
12.5	0.37
15.0	0.43

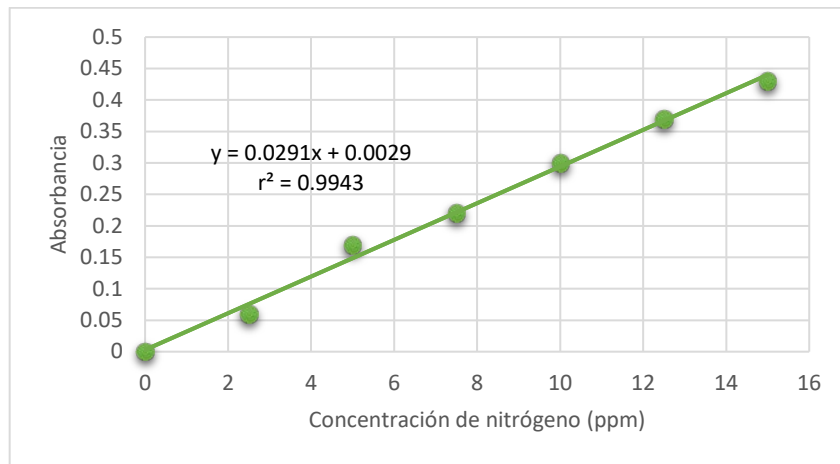


Figura 1 Curva patrón

De la curva patrón se toma la ecuación correspondiente  $Abs = 0.0291[C] + 0.0029$  y como la concentración en este caso es la incógnita se despeja:

$$\text{ecuación 05: } [C] = \frac{Abs - 0.0029}{0.0291}$$

Posteriormente cuando se cuenta con las absorbancias de las muestras únicamente se realiza el cálculo para determinar la concentración de la siguiente manera:

$$\text{ecuación 06: } [C] = \frac{0.14 - 0.0029}{0.0291} = 4.71 \text{ ppm de N}$$

Sin embargo, esta concentración no es la final, el método empleado para la determinación específica una manera de obtener el resultado confiable de nitrógeno a partir de una ecuación que expresa el contenido en mmol de N/kg de hoja.

$$\text{ecuación 07: [mmol de N/kg de hoja]} = 0.0714 * (a - b) * \frac{V}{W}$$

Donde:

a: concentración de nitrógeno en la muestra diluida en mg/L leída de la curva.

b: concentración de N en el blanco diluido de digestión en mg/L leída de la curva.

V: volumen total de aforo de la digestión en mililitros.

W: peso de la muestra en gramos.

Retomando el ejemplo de cálculo, lo siguiente sería obtener la concentración total sustituyendo en la ecuación 07:

$$[\text{mmol de N/kg de planta}] = 0.0714 * (4.71 - 0.24) * \frac{50 \text{ mL}}{0.2664 \text{ g}} = 59.90$$

Después de realizar los cálculos correspondientes se obtuvieron los resultados totales de nitrógeno en hojas, los que se muestran en el Cuadro 9.

Cuadro 9 Obtención de concentración de nitrógeno

Peso de muestra (g)	Muestra	Abs	Concentración en curva (mg/L)	Concentración total (mmol N/kg hoja)
0.2664	ZDA1-02	0.14	4.71	59.90
0.3002	ZDA1-05	0.22	7.46	85.86
0.3003	ZDA1-08	0.63	21.55	253.34
0.3002	ZDA2-01	0.26	8.84	102.27
0.3003	ZDA2-06	0.42	14.33	167.50
0.3002	ZDA2-07	0.45	15.36	179.81
0.3002	ZDA3-02	0.31	10.55	122.61

Cuadro 9 Obtención de concentración de nitrógeno (continuación)

<b>Peso de muestra (g)</b>	<b>Muestra</b>	<b>Abs</b>	<b>Concentración en curva (mg/L)</b>	<b>Concentración total (mmol N/kg hoja)</b>
0.2003	ZDA3-09	0.38	12.96	226.71
0.3004	ZDA4-01	0.33	11.24	130.73
0.3004	ZDA4-06	0.64	21.89	257.29
0.3003	ZDA4-08	0.47	16.05	187.95
0.3003	ZDB-01	0.31	10.55	122.57
0.3004	ZDB-02	0.55	18.80	220.57
0.3003	ZDB-03	0.24	8.15	94.03
0.3002	ZDB-05	0.48	16.40	192.18
0.3004	ZDB-06	0.30	10.21	118.49
0.3002	ZDB-09	0.70	23.96	282.08
0.3002	ZDM-02	0.54	18.46	216.67
0.3002	ZDM-04	0.45	15.36	179.81
0.3002	ZDM-06	0.39	13.30	155.31
0.3003	ZDM-08	0.25	8.49	98.08
0.3003	ZDM-10	0.32	10.90	126.73
0.3002	ZDM-11	0.33	11.24	130.81
0.3004	ZDM-13	0.31	10.55	122.53
0.3002	ZDM-14	0.21	7.12	81.82
0.3002	ZDM-17	0.60	20.52	241.17
0.3004	ZDM-18	0.38	12.96	151.17
0.3003	ZDM-20	0.33	11.24	130.77
0.3002	ZDM-21	0.43	14.68	171.72
0.3003	ZDM-22	0.20	6.77	77.63
0.3004	ZDM-24	0.41	13.99	163.41
0.3003	ZDM-27	0.20	6.77	77.63
0.3003	ZDM-28	0.15	5.05	57.18
0.3002	ZDM-30	0.07	2.31	24.62
0.3003	ZDM-31	0.37	12.62	147.17
0.3004	ZDM-38	0.21	7.12	81.76

Cuadro 9 Obtención de concentración de nitrógeno (continuación)

Peso de muestra(g)	Muestra	Abs	Concentración en curva (mg/L)	Concentración total (mmol N/kg hoja)
0.3002	ZDM-39	0.13	4.37	49.11
0.3004	ZDM-42	0.22	7.46	85.80
0.3004	ZDM-44	0.40	13.65	159.37
0.3003	ZDM-45	0.49	16.74	196.15
0.3004	ZDM-46	0.48	16.40	192.05
0.3002	ZDM-48	0.35	11.93	139.02
0.3002	ZDM-49	0.35	11.93	139.02
0.3002	ZDM-50	0.29	9.87	114.52
0.3002	ZDM-51	0.30	10.21	118.56
0.3002	ZDM-54	0.21	7.12	81.82
0.3004	ZDM-55	0.60	20.52	241.01
0.3003	ZDM-56	0.32	10.90	126.73
0.3003	ZDM-57	0.23	7.80	89.87
0.3002	ZDM-59	0.29	9.87	114.52
0.3003	ZDM-60	0.24	8.15	94.03
0.3002	ZDM-61	0.30	10.21	118.56
0.3003	Hojas respiradero	0.52	17.77	208.40
	<b>Blanco</b>	0.01	0.24	
	<b>Blanco 2</b>	0.01	0.24	

Para obtener las concentraciones en unidades comparables con lo reportado en la literatura es necesario obtener los resultados en mg/kg (ppm) de N y % de N de la siguiente manera:

$$\text{ecuación 08: ppm de N} = \left( \frac{59.90 \text{ mmol de N}}{\text{kg de hoja}} \right) \left( \frac{1 \text{ mol de N}}{1\,000 \text{ mmol de N}} \right) \left( \frac{14\,000 \text{ mg de N}}{1 \text{ mol de N}} \right)$$

$$= 838.63 \text{ mg/kg}$$

$$\text{ecuación 09: \% de N} = \left( \frac{838.63 \text{ ppm de N}}{1\,000\,000 \text{ ppm}} * 100 \% \right) = 0.08 \%$$

Los resultados finales de la concentración de nitrógeno total reportados en unidades comparables con la literatura se presentan en el Cuadro 10.

Cuadro 10 Concentración de nitrógeno

<b>CLAVE LABQA</b>	<b>N ppm (mg N/kg muestra seca)</b>	<b>% m/m de N</b>
ZDA1-02	838.63	0.08
ZDA1-05	1 202.05	0.12
ZDA1-08	3 546.70	0.35
ZDA2-01	1 431.81	0.14
ZDA2-06	2 345.05	0.23
ZDA2-07	2 517.31	0.25
ZDA3-02	1 716.50	0.17
ZDA3-09	3 173.97	0.32
ZDA4-01	1 830.16	0.18
ZDA4-06	3 602.09	0.36
ZDA4-08	2 631.31	0.26
ZDB-01	1 715.93	0.17
ZDB-02	3 087.98	0.31
ZDB-03	1 316.49	0.13
ZDB-05	2 690.46	0.27
ZDB-06	1 658.79	0.17
ZDB-09	3 949.12	0.39
ZDM-02	3 033.43	0.30
ZDM-04	2 517.31	0.25
ZDM-06	2 174.35	0.22
ZDM-08	1 373.08	0.14
ZDM-10	1 774.18	0.18
ZDM-11	1 831.38	0.18
ZDM-13	1 715.36	0.17
ZDM-14	1 145.44	0.11
ZDM-17	3 376.40	0.34
ZDM-18	2 116.33	0.21
ZDM-20	1 830.77	0.18
ZDM-21	2 404.10	0.24
ZDM-22	1 086.81	0.11

Cuadro 10 Concentración de nitrógeno (continuación)

<b>CLAVE LABQA</b>	<b>N ppm (mg N/kg muestra)</b>	<b>%m/m de N</b>
ZDM-24	2 287.70	0.23
ZDM-27	1 086.81	0.11
ZDM-28	800.55	0.08
ZDM-30	344.63	0.03
ZDM-31	2 060.45	0.21
ZDM-38	1 144.68	0.11
ZDM-39	687.60	0.07
ZDM-42	1 201.25	0.12
ZDM-44	2 231.13	0.22
ZDM-45	2 746.15	0.27
ZDM-46	2 688.67	0.27
ZDM-48	1 946.26	0.19
ZDM-49	1 946.26	0.19
ZDM-50	1 603.29	0.16
ZDM-51	1 659.90	0.17
ZDM-54	1 145.44	0.11
ZDM-55	3 374.15	0.34
ZDM-56	1 774.18	0.18
ZDM-57	1 258.24	0.13
ZDM-59	1 603.29	0.16
ZDM-60	1 316.49	0.13
ZDM-61	1 659.90	0.17
Hojas respiradero	2 917.58	0.29



## ANEXO A Artículos y tesis relacionados a la exposición de manganeso en Molango

Cuadro A. Artículos y tesis analizados (relacionados a la zona de Molango)

	Autores	Año	Título	Referencia	Páginas
1	Aldape F., Hernandez-Mendez B., Flores M. J	1999	Manganese survey in airborne particle matter from a mining area at Hidalgo State, Mexico	Nuclear Instruments and Methods in Physics Research Nuclear Instruments and Methods in Physics Research 150	363-369
2	Santos-Burgoa C., Rios C., Mercado L.A., Arechiga-Serrano R., Cano-Valle F., Alatorre Eden-Wynter R., Texcalac-Sangrador J.L., Villa-Barragan J.P., Rodriguez-Agudelo Y., Montes S.	2001	Exposure to manganese: health effects on general population, a pilot study in central Mexico	Environmental Research Section, 85	90-104
3	Mejía-Saavedra J, Sánchez-Armass S, Santos-Medrano G, González-Amaro R, Razo-Soto I, Rico-Martínez R, Díaz-Barriga F.	2005	Effect of coexposure to DDT and manganese on freshwater invertebrates: pore fase from contaminated rivers and laboratory studies.	Environmental toxicology and chemistry. 24 (8):	2037-2044
4	Rodríguez-Agudelo Yaneth, Horacio Riojas-Rodríguez, Camilo Ríos, Irma Rosas, Eva Sabido Pedraza, Javier Miranda, Christina Siebe, José Luis Texcalac, Carlos Santos-Burgoa	2006	Motor alterations associated with exposure to manganese in the environment in Mexico	Science of the Total Environment, 368	542 – 556
5	Riojas-Rodríguez Horacio	2006	Design of a management plan based on the results of an ecohealth study in a manganese basin in Hidalgo, Mexico	Proceedings of IDRC's participation in the 11th World Cong. On Public Health/ 8th Brazilian Congress on Collective Health. August 21st-25th, Rio de Janeiro, Brazil.	14-21
6	Montes S., Riojas-Rodríguez H., Sabido-Pedraza E., Rios C.	2008	Biomarkers of manganese exposure in a population living close to a mine and mineral processing plant in Mexico	Environmental Research, 106	89-95
7	Paz Salinas María Fernanda	2008 a	Tensiones de la gobernanza en el México rural	Política y Cultura, No. 30	193-208
8	Paz Salinas María Fernanda	2008 b	Del caciquismo a la gobernanza. Desafíos en la construcción de acuerdos en un distrito minero en México	En: Ajedrez ambiental. Manejo de recursos naturales, comunidades, conflictos y cooperación Joseph S. Weiss y Teodoro Bustamante, ed. , FLACSO- Ecuador. ISBN 978-9978-67,	---

Cuadro A. Artículos y tesis analizados (relacionados a la zona de Molango) (continuación)

	<b>Autores</b>	<b>Año</b>	<b>Título</b>	<b>Referencia</b>	<b>Páginas</b>
9	Jazcilevich A., Siebe C., Wellens A., Rosas I., Cortez M.	2008	Finding the sources of airborne manganese (Mn) in the Mining District of Molango, Mexico	International Forum EcoHealth- 2008, Proceedings.	--
10	Rodriguez-Agudelo Olga Yaneth	2008	PhD Thesis: Evaluación neuropsicológica de una población ambientalmente expuesta a manganeso.	División de Ciencias Biológicas y de la Salud, Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Iztapalapa, Ciudad de México.	556
11	Solis-Vivanco R., Rodriguez-Agudelo Y., Riojas-Rodriguez H., Rios C., Rosas I., Montes S.	2009	Cognitive impairment in an adult Mexican population non-occupationally exposed to manganese	Environmental Toxicology and Pharmacology, 28.	172-178
12	Riojas-Rodriguez H, Solis-Vivanco R., Schilman A., Montes S., Rodriguez S., Rios C., Rodriguez-Agudelo Y.	2010	Intellectual Function in Mexican Children Living in a Mining Area and Environmentally Exposed to Manganese	Environmental Health Perspectives, 18 (10).	1465-1470
13	Juarez-Santillan L.F., Lucho-Constantino C.A., Vazquez-Rodriguez G.A., Ceron-Ubilla N.M., Beltran-Hernandez R.I.	2010	Manganese accumulation in plants of the mining zone of Hidalgo, Mexico	Bioresource Technology, 101.	5836-5841
14	Catalan-Vazquez M., Schilman A., Riojas-Rodriguez H.	2010	Perceived Health Risk of manganese in the Molango mining district, Mexico	Risk Analysis, 30 (4).	619-634
15	Paz Salinas María Fernanda	2010	Tensions, contradictions et luttes de pouvoir. Un cas de pollution au manganese au Mexique	Institut d'Etudes Internationales de Montreal, UQAM. Canada	
16	C. Siebe, A. Herre & S. Cram, Y.R. Ramos-Arroyo, H. Riojas-Rodríguez	2010	Manganese mobilization from quarries and tailings in four watersheds of the Molango	Taylor & Francis Group, London, ISBN 978-0-415-60426-0	751-754
17	Hernandez-Bonilla D., Shilman A., Montes S., Rodriguez-Agudelo Y., Rodriguez-Dozal S., Solis-Vivanco R., Rios C., Riojas-Rodriguez H.	2011	Environmental exposure to manganese and motor function of children in Mexico	NeuroToxicology, 32.	615-621

Cuadro A. Artículos y tesis analizados (relacionados a la zona de Molango) (Continuación)

	<b>Autores</b>	<b>Año</b>	<b>Título</b>	<b>Referencia</b>	<b>Páginas</b>
18	Montes S., Schilmann A., Riojas-Rodriguez H., Rodriguez-Agudelo Y., Solis-Vivanco R., Rodriguez-Dozal S.L., Tristan-Lopez L.A., Rios C.	2011	Serum prolactin rises in Mexican school children exposed to airborne manganese	Environmental Research, 111.	1302-1308
19	Riojas-Rodriguez H, Rodriguez-Dozal Sandra	2012	An ecosystem study of manganese mining in Molango, Mexico	Chapter 8. in: Charron Ed. Ecohealth Research in Practice: Innovative Applications of an Ecosystem Approach to Health, Insight and Innovation in International Development 1. Ed. Springer.	87-97
20	Jazcilevich A., Siebe C., Wellens A., Rosas I., Bornstein R., Riojas-Rodriguez H.	2012	Application of a stochastic vehicular wake erosion model to determine PM <sub>2.5</sub> exposure	Aeolian Research, 4.	31-37
21	Catalan-Vazquez M., Riojas-Rodriguez H., Pelcastre-Villafuerte B.	2012	Risk perception and social participation among women exposed to manganese in the mining district of the state of Hidalgo, Molango	Science of the Total Environment 414.	43-52
22	Rivera-Becerril Facundo, Lucia V. Juarez-Vazquez, Saul C. Hernandez-Cervantes, Otilio A. Acevedo-Sandoval, Gilberto Vela-Correa, Enrique Cruz-Chavez, Ivan P. Moreno-Espindola, Alfonso Esquivel-Herrera, Fernando de Leon-Gonzalez	2012	Impacts of Manganese Mining Activity on the Environment: Interactions Among Soil, Plants, and Arbuscular Mycorrhiza	Arch Environ Contam Toxicol DOI 10.1007/s00244-012-9827-7	--
23	Paz Salinas María Fernanda	2012a	Conflictos socioambientales, cultura política y gobernanza: la cooperación bajo sospecha en el distrito minero de Molango en el estado de Hidalgo”,	In: Durand, L, F. Figueroa y M. Guzmán, La naturaleza en contexto. Hacia una ecología política mexicana, Cuernavaca, CRIM, UNAM, COLSAN, CEIICH-UNAM.	65-96
24	Paz Salinas María Fernanda	2012b	La dimensión política de la construcción y el manejo del riesgo. Reflexiones desde el distrito minero de Molango en el estado de Hidalgo.	in: Riesgos socio-ambientales en México, Ed. CIESAS, México. ISBN: 978-607-486-174-7	-

Cuadro A. Artículos y tesis analizados (relacionados a la zona de Molango) (Continuación)

	<b>Autores</b>	<b>Año</b>	<b>Título</b>	<b>Referencia</b>	<b>Páginas</b>
25	Minerva Catalán Vázquez; Horacio Riojas Rodríguez; Blanca Estela Pelcastre-Villafuerte	2012	Riesgo, ¿para quién?: representaciones sobre la actividad minera de diferentes actores sociales del distrito Manganesífero Molango, Hidalgo, México	Memorias II Congreso Regional sra-el capítulo latinoamérica (13). Sociedad para el Análisis de Riesgos	76-82
26	Torres-Agustín R., Rodríguez-Agudelo Y., Shilmann A., Solís-Vivanco R., Montes S. Riojas-Rodríguez H., Cortez-Lugo M., Ríos C.	2013	Effect of environmental manganese exposure on verbal learning and memory in Mexican children	Environmental Research; 121.	39-44
27	Guarneros M., Ortiz-Romo N., Alcaraz-Zubeldia M., Drucker-Colin R., Hudson R.	2013	Non-occupational environmental exposure to manganese is linked to deficits in peripheral and central olfactory function	Chem. Senses, 38.	783-791
28	Catalan-Vazquez M., Riojas-Rodríguez H., Pelcastre-Villafuerte B.	2014	Risk: for whom? Representations of mining activity by different social actors in the Molango Manganese District of Hidalgo, Mexico	Risk Analysis; 34 (1).	28-43
29	Cortez-Lugo M., Rodríguez-Dozal S., Rosas-Perez I., Alamo-Hernandez U., Riojas-Rodríguez H.	2015	Modeling and estimating manganese concentrations in rural households in the mining district of Molango, Mexico	Environ. Monit. Assessdoi: 10.1007/s10661-015-4982-8.	752
30	Catalan-Vazquez Minerva y Horacio Riojas-Rodríguez	2015	Inequidad de género en salud en contextos de riesgos ambientales por actividades mineras e industriales en México	Rev Panam Salud Publica 37 (6).	379-387
31	Hernandez-Bonilla, D., C. Escamilla-Nuñez, D. Mergler, S. Rodríguez-Dozal, M. Cortez-Lugo, , S. Montes, L.A. Tristan-Lopez, M. Catalan-Vazquez, A. Schilmann, Horacio Riojas-Rodríguez	2016	Effects of manganese exposure on visuoperception and visual memory in schoolchildren	NeuroToxicology 57.	230–240
32	Cortez-Lugo Marlene, Horacio Riojas-Rodríguez, Hortensia Moreno-Macias, Sergio Montes Yaneth Rodríguez-Agudelo, David Hernandez-Bonilla, Minerva Catalan-Vazquez, Raul Diaz-Godoy, Sandra Rodríguez-Dozal	2017	Evaluation of the effect of an environmental management program on exposure to manganese in a mining zone in Mexico	NeuroToxicology 64.	142-151

\_\_\_\_\_ ( e ) \_\_\_\_\_