



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE QUÍMICA

**PRESENCIA O AUSENCIA DE COMPUESTOS TÓXICOS EN AGUAS SUPERFICIALES USANDO UNA
METODOLOGÍA DE BAJO COSTO**

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

QUÍMICA DE ALIMENTOS

PRESENTA

ADRIANA MILLÁN PUEBLA

MÉXICO, D.F.

19 de Noviembre

AÑO 2013





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:	Profesor PEDRO VALLE VEGA
VOCAL:	Profesora MARÍA DEL CARMEN DURÁN DOMÍNGUEZ
SECRETARIO:	Profesora LANDY IRENE RAMÍREZ BURGOS
1er. SUPLENTE:	Profesora MARISELA BERNAL GONZÁLEZ
2° SUPLENTE:	Profesora ALEIDA MINA CETINA

SITIO DONDE SE DESARROLLÓ EL TEMA:

LABORATORIOS DE INGENIERÍA QUÍMICA AMBIENTAL Y DE QUÍMICA AMBIENTAL, L-301, 302, 303, EDIFICIO E-3, CONJUNTO E, FACULTAD DE QUÍMICA, UNAM

ASESOR DEL TEMA:

DRA. MARÍA DEL CARMEN DURÁN DOMÍNGUEZ DE BAZÚA _____
(nombre y firma)

SUSTENTANTE (S):

MILLÁN PUEBLA ADRIANA _____
(nombre y firma)



Universidad Nacional Autónoma de México

Facultad de Química



PRESENCIA O AUSENCIA DE COMPUESTOS TÓXICOS EN AGUAS SUPERFICIALES USANDO UNA METODOLOGÍA DE BAJO COSTO

Contenido

	Página
Glosario	11
Resumen	12
1. Problemática	14
1.1. Introducción	14
1.2. Objetivos	19
1.3. Aplicación y alcances	19
2. Principios	20
2.1. Resumen del método	22
2.2. Indicadores biológicos para aguas contaminadas	24
2.3. Aplicaciones a la contaminación por metales pesados	26
2.4. Efectos del cobre en el ser humano	29
2.5. Efecto del cobre en las plantas	30
2.6. Situación actual del agua en México y el mundo	33
2.7. Indicadores de calidad del agua	35
3. Metodología	39
3.1. Metodología en el laboratorio: Equipo y materiales, reactivos y patrones	39
3.1.1. Equipos y materiales	39
3.1.2. Reactivos y patrones	39
3.2. Interferencias en el método	42
3.3. Desarrollo del experimento	43
3.3.1. Pruebas iniciales (Chandra y col., 2005; Fiskesjö, 1985; Smaka-Kincl y col., 1996)	43



Universidad Nacional Autónoma de México

Facultad de Química



Facultad de Química

3.4.	Calibración	44
3.5.	Cálculos	46
3.6.	Experimentación	48
3.6.1.	Material biológico	54
3.6.2.	Contenido de cobre en las muestras en estudio	55
3.6.3.	Contenido de material oxidable en las muestras en estudio	56
3.7.	Análisis estadísticos	56
4.	Resultados y discusión	57
4.1.	Concentraciones de cobre y de materia orgánica oxidable	57
4.2.	Resultados experimentales con las cebollas	62
4.2.1.	Mediciones de longitud de las raíces	62
4.2.2.	Comparación entre los datos experimentales del ensayo biológico con los contenidos de cobre medidos por espectrometría de absorción atómica, EAA	64
4.3.	Análisis estadístico	67
4.4.	Discusión final	71
5.	Conclusiones y recomendaciones	74
5.1.	Conclusiones	74
5.2.	Recomendaciones	75
Anexo 1.	Recolección, preservación, transporte y almacenamiento de	76

	muestras acuosas (Cadena de custodia)	
Anexo 2.	Datos experimentales	84
Anexo 3.	Fotografías y figuras	106
Anexo 4.	Manejo de residuos	110
Anexo 5.	Presentación en congreso internacional	112
Referencias		129

Índice de imágenes, figuras, etc.

		Página
Mapa 3.1.	Lago de Chapultepec en la Ciudad de México (Coordenadas 19.4239142, -99.1850424). Fuente: http://www.worldatlas.com/es/lago-de-chapultepec/lugares_reconditos30/busquedaLibreDetalle-0-6458967	49
Mapa 3.2.	Mapa del Estado de México con la población de Tejupilco de Hidalgo que se encuentra a 20 km de Almoloya de las Granadas (Fuente: http://www.mapascarreteras.com.mx/mex/tejupilco.html)	50
Figura 1.1.	Tomada del artículo pionero de Fiskesjö(1985) sobre el efecto de metales disueltos en agua en <i>Allium cepa</i> L. var. <i>aggregatum</i>	18
Figura 2.1.	Ubicación de meristemas radiculares: Los meristemas apicales o primarios son los responsables de la formación del cuerpo primario de la planta. Se encuentran en los ápices de raíces y tallos, principales y laterales (Anónimo, 2012d)	23
Figura 2.2.	Porcentaje del agua disponible en la superficie del planeta (Semarnat, 2007)	33
Figura 3.1.	Cebollas Cambray con raíces antes de limpiarse (Tomada en	41



el Laboratorio 301. Edificio E-3, Conjunto E, Facultad de Química, UNAM)

Figura 3.2.	Diagrama de bloques de la metodología empleada (Castillo-Morales, 2004)	43
Figura 3.3a.	Bulbos de cebolla inmersas en las muestras de estudio	44
Figura 3.3b.	Análisis y registro de elongación de raíces de cebolla	44
Figura 3.4.	Medición de la elongación de las raíces de los bulbos de cebolla	46
Imagen 4.1.	Límites máximos permisibles de metales pesados. NOM-001-ECOL-1996 (DOF, 1996)	59
Figura 4.1.	Resultados experimentales con las cebollas Cambray de las muestras de agua estudiadas	63
Figura 4.2.	Crecimiento final obtenido de raíces de cebolla con respecto de las concentraciones de cobre obtenidas de las mediciones en el equipo de espectrometría de absorción atómica, EAA	66
Figura 4.3.	Análisis de varianza, andeva (ANOVA, en inglés)	68
Figura 4.4.	Análisis de medias en las muestras	69
Figura 4.5.	Análisis Tukey-Kramer	70
Figura 4.6.	Manantial de Almoloya de las Granadas (Edo. de México). Lugar de toma de muestra	73
Figura A1.1.	Curva patrón de cobre	77
Figura A1.2.	Análisis por espectroscopía de absorción atómica de las muestras problema	78
Figura A3.1.	Cebollas Cambray antes de realizar la limpieza	106
Figura A3.2.	Inmersión de las cebollas en muestras problema	106

Figura A3.3.	Cebollas Cambray en periodo de incubación durante 72 horas	106
Figura A3.4.	Cebollas Cambray expuestas a cambios de temperatura, ocasionando podredumbre y palidez en las hojas	107
Figura A3.5.	Cebollas Cambray expuestas a Solución de Sulfato cúprico, con crecimiento nulo, o escaso	107
Figura A3.6.	Cebollas Cambray expuestas al Agua de Riachuelo, con crecimiento medio	107
Figura A3.7.	Cebollas Cambray expuestas al Agua de Manantial, con crecimiento abundante	108
Figura A3.8.	Cebollas Cambray expuestas al Agua de CU, con crecimiento medio y abundante	108
Figura A3.9.	Comparación de crecimiento de cebollas Cambray de diferentes tipos de muestras	108
Figura A3.10.	Análisis de cebollas Cambray concentraciones de 2ppm, 10ppm de Cobre	109
Figura A3.11.	Crecimiento después de incubación de 72 horas, de izquierda a derecha Agua de CU, muestra 2 ppm de Cobre y muestra 10 ppm de Cobre	109
Figura A4.1.	Diagrama de tratamiento de residuos	110
Figura A4.2.	Diagrama de tratamiento de residuos –Absorción atómica	111
Tabla 2.3.	Ensayos empleando bioindicadores de diferente naturaleza	27
Tabla 2.4.	Toxicidad de cobre en distintos organismos (Anónimo, 2012b)	32
Tabla 2.5.	Indicadores de calidad de agua, <i>ica</i> (Semarnat, 2008)	36
Tabla 3.1.	Medio de crecimiento para <i>Allium</i> sp. (Castillo-Morales, 2004)	40
Tabla 3.2.	Medición de la elongación de las raíces de cebollas de Cambray en condiciones estándar (mm). Ejemplo	47
Tabla 3.3.	Muestras analizadas en el proyecto	51
Tabla 4.1.	Concentración de cobre de las muestras de agua	57
Tabla 4.2.	Escalas de clasificación de la calidad del agua (Fuente:	60



Universidad Nacional Autónoma de México

Facultad de Química



Facultad de Química

Semarnat, Comisión Nacional del Agua, Estadísticas del Agua en México, 1a edición, CNA, México, 2008)

Tabla 4.3.	Análisis de DQO de las muestras en estudio	62
Tabla 4.4.	Promedio de la elongación de las raíces de cebolla (<i>Allium cepa</i> L. var. <i>aggregatum</i>)	64
Tabla 4.5.	Promedio de la elongación de las raíces de cebolla (<i>Allium cepa</i> L. var. <i>aggregatum</i>) en las muestras de agua de la Ciudad Universitaria	65
Tabla 4.6.	Concentración de cobre medida en el equipo de espectrometría de absorción atómica, EAA, y el crecimiento de las raíces de las cebollas de Cambray después de 3 días	66
Tabla A1.1.	Concentración de cobre en curva patrón	78
Tabla A1.2.	Concentración de Cobre en las muestras problema	79
Tabla I.	Medición de la elongación de las raíces de cebollas (mm).	80
Tabla II.	Medición de la elongación de las raíces de cebollas (mm).	81
Tabla III.	Medición de la elongación de las raíces de cebollas (mm).	83
Tabla A-1a.	Medición de la elongación de las raíces de cebollas a temperatura ambiente(mm). Prueba 1	84
Tabla A-1b.	Medición de la elongación de las raíces de cebollas a temperatura ambiente (mm). Réplica 1	85
Tabla A-1c.	Medición de la elongación de las raíces de cebollas a temperatura ambiente (mm). Réplica 2	86
Tabla A-2a.	Medición de la elongación de las raíces de cebollas a temperatura ambiente (mm). Prueba 1	88

Tabla A-2b.	Medición de la elongación de las raíces de cebollas a temperatura ambiente (mm). Réplica 1	89
Tabla A-2c.	Medición de la elongación de las raíces de cebollas a temperatura ambiente (mm). Réplica 2	91
Tabla A-3a.	Medición de la elongación de las raíces de cebollas a temperatura ambiente (mm). Prueba 1	92
Tabla A-3b.	Medición de la elongación de las raíces de cebollas a temperatura ambiente (mm). Réplica 1	93
Tabla A-3c.	Medición de la elongación de las raíces de cebollas a temperatura ambiente (mm). Réplica 2	94
Tabla A-4a.	Medición de la elongación de las raíces de cebollas a temperatura ambiente (mm). Prueba 1	95
Tabla A-4b.	Medición de la elongación de las raíces de cebollas a temperatura ambiente (mm). Réplica 1	97
Tabla A-4c.	Medición de la elongación de las raíces de cebollas a temperatura ambiente (mm). Réplica 2	98
Tabla A-5a.	Medición de la elongación de las raíces de cebollas a temperatura ambiente (mm). Prueba 1	100
Tabla A-5b.	Medición de la elongación de las raíces de cebollas a temperatura ambiente (mm). Réplica 1	101
Tabla A-5c.	Medición de la elongación de las raíces de cebollas a temperatura ambiente (mm). Réplica 2	102
Tabla A-6a.	Medición de la elongación de las raíces de cebollas a temperatura ambiente (mm). Prueba 1	103
Tabla A-6b.	Medición de la elongación de las raíces de cebollas a temperatura ambiente (mm). Réplica 1	104
Tabla A-6c.	Medición de la elongación de las raíces de cebollas a temperatura ambiente (mm). Réplica 2	105

Nota:

Esta tesis usa el punto decimal



Universidad Nacional Autónoma de México

Facultad de Química



Facultad de Química

GLOSARIO

ADN	Ácido desoxirribonucleico
ACS	Siglas en inglés para <i>American Chemical Society</i> y que se usan para definir que una sustancia es grado reactivo analítico
CNA	Siglas para la Comisión Nacional del Agua (México), dependiente de la Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales, Semarnat
EC50	Concentración efectiva media, por sus siglas en inglés (<i>Effective concentration for 50% of the studied species</i>)
EPA	Agencia de Protección Ambiental de los EEUU (<i>U.S. Environmental Protection Agency</i>) por sus siglas en inglés.
HAP	Hidrocarburos aromáticos policíclicos (<i>PAHs</i> en inglés)
LC50	Concentración letal media por sus siglas en inglés (<i>Lethal concentration for 50% of the studied species</i>)
LGPGIR	Ley General para la Prevención y Gestión Integral de Residuos (México)
MCLG	Siglas en inglés para la meta-objetivo de nivel máximo de contaminantes (<i>Maximum contaminant level goal</i>)
P700	El fotosistema I de los eucariontes está asociado a las formas de clorofila a, que absorben a longitudes de onda de 700 nm
P680	El fotosistema II tiene un centro de reacción que absorbe a una longitud de onda de 680 nm
Promedio de elongación	Término medio (cantidad igual o más próxima a la media aritmética) del alargamiento
SEMARNAT	Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales (México)

Resumen

El desarrollo de las poblaciones, ha traído consigo un incremento en el aporte de diversos materiales antropogénicos hacia los cuerpos de agua, causando la mayoría de las veces efectos adversos en la biota acuática, desde efectos subletales hasta letales. Los ensayos biológicos son herramientas de diagnóstico adecuadas para determinar el efecto de agentes físicos y químicos sobre organismos de prueba bajo condiciones experimentales específicas y controladas. La norma ISO 5667-16 1998 recomienda considerar la duración del periodo de almacenamiento y la eficiencia de los modos de conservación, aspectos que dependerán de la naturaleza de la muestra y, en especial, de su actividad biológica. En la norma NOM-001-ECOL-1996 se establecen los límites que debe contener el agua contaminada, con el objeto de proteger la calidad y posibilitar los usos del agua. En esta investigación realizada en los Laboratorios 301 al 303 del Conjunto E de la Facultad de Química de la UNAM, se evalúa a las cebollas (*Allium cepa* L. var. *aggregatum*) como indicadores para determinar el efecto tóxico agudo de cobre en cinco muestras de agua, como organismo de prueba. El efecto puede determinarse en forma indirecta, mediante la comparación de la elongación de las raíces de cebollas expuestas a los posibles agentes tóxicos respecto a un control, después de un periodo de prueba de 72 horas que fue como se realizó en este ensayo. La cuantificación del efecto se realizó elaborando un análisis estadístico tipo andeva (ANOVA, en inglés) para continuar con una prueba de diferenciación de Tukey-Kramer estableciendo si existen o no diferencias entre las diferentes muestras, solamente tomando en cuenta el crecimiento de las raíces. Además se realizó un análisis cuantitativo por medio de espectrofotometría de absorción atómica y se realizó un análisis de DQO para saber el grado de contaminación orgánica en las muestras. Entre los hallazgos obtenidos en el ensayo, las muestras de agua que fueron tomadas del grifo del Laboratorio 302 de la FQ de la UNAM, así como del río, de grifo y del manantial de una comunidad en el Estado de México denominada Almoloya de las Granadas y del Lago de Chapultepec no contuvieron niveles por arriba de la concentración reportada como peligrosa para la salud de cobre, para agua de río y manantial según la norma pertinente (2 mg/L). El método estadístico empleado dio



Universidad Nacional Autónoma de México

Facultad de Química



Facultad de Química

como resultado de diferencias significativas solamente al comparar las muestras en estudio contra la que contenía el tóxico de referencia (control negativo). El crecimiento de las raíces de cebollas mostró diferencias visibles en cuanto al grado de contaminación y pureza de las muestras indicando la bondad de la prueba.

Palabras clave: Compuestos tóxicos en aguas superficiales, metodología de bajo costo, *Allium cepa* L. var. *aggregatum*, cebollas de Cambray

CAPÍTULO 1

PROBLEMÁTICA

En la actualidad hay más de 1,200 millones de personas en todo el mundo que carecen de acceso al agua potable. El problema de la escasez del agua se acentúa por los efectos de la contaminación, producto de la actividad humana. A causa de ella, el suministro de agua se ve afectado en todo el mundo. Según la OMS (2013), 25% de la población humana no tiene acceso a agua potable segura y 40% de los habitantes del planeta tampoco puede contar con el volumen necesario para la higiene mínima. En relación con ello se registran al año entre 5 a 10 millones de muertes relacionadas con este elemento, donde también interviene la carencia de instalaciones sanitarias adecuadas (Ricart et al., 2009).

1.1. Introducción

En la búsqueda de sistemas de prueba a corto plazo, los materiales biológicos representados por las plantas o macrofitas han demostrado ser útiles en la investigación básica, así como para realizar su seguimiento en diversos medios, y de este modo ayudar en el estudio de la protección ambiental.

Las razones para el uso de este tipo de sistemas en plantas son muchas: Las plantas son fáciles de almacenar y manejar, tienen condiciones cromosómicas controladas, son de bajo costo y muestran una buena correlación con otros sistemas de pruebas.

El género *Allium*¹, del que las cebollas son una de las especies más representativas, es bien conocido y ha sido utilizado para el estudio de mecanismos básicos, así como para evaluar los efectos de las sustancias químicas. *Allium cepa* L. var. *aggregatum* (cebolla común, variante conocida como cebollita de Cambray en México) ha sido empleada como indicador para estudios toxicológicos, por lo que repetidamente ha sido sugerida

¹ Reino: Plantae. Angiospermas. Monocotiledóneas. Orden: Asparagales. Familia: Amaryllidaceae. Subfamilia: Allioideae. Género: *Allium* L. Especie *Allium cepa* L. var. *aggregatum*



Universidad Nacional Autónoma de México

Facultad de Química



Facultad de Química

como un material de ensayo estándar (Fiskesjö, 1985).

Las muestras recolectadas para este estudio fueron tomadas según lo sugerido en la Norma ISO 5667-16 (1998), específicamente en cuanto al transporte, almacenamiento y tratamiento para su análisis posterior. En caso de ser tratadas las muestras para un bioensayo esto debe hacerse preferentemente sin demora después de su toma y/o para evitar cualquier cambio en la composición inicial a través de reacciones físicas, procesos químicos y biológicos. Consultar Anexo1.

En esa norma se presentan específicamente ensayos biológicos para muestras de agua, existen otras normas mexicanas las cuales podrían usarse para análisis de metales pesados por ejemplo: NMX-AA-051-SCFI-2001, Análisis de agua - Determinación de metales por absorción atómica en aguas naturales potables, residuales y residuales tratadas y la Norma Mexicana NMX-AA-014-1980: Cuerpos receptores: muestreo = *Receiver Bodies : sampling*.

El bioseguimiento conocido en México como “biomonitoreo”² es un conjunto de técnicas basadas en la reacción y sensibilidad de distintos organismos vivos a diversas sustancias contaminantes presentes en el ambiente. Así, la toxicidad de un compuesto se mide a través de diferentes parámetros biológicos, como las alteraciones en el desarrollo y en funciones vitales, entre otros parámetros.

La evaluación de contaminación puede realizarse de dos modos:

² La palabra *monitoreo* no existe en español. Su equivalente sería seguimiento y es lo que se usará en este documento

- Mediante el estudio de los efectos sobre los organismos indicadores preexistentes en el ecosistema de interés y
- Mediante la toma de muestras del ambiente de interés y el análisis en el laboratorio de la presencia de contaminantes sobre organismos indicadores modelo

Estos índices biológicos pueden dar información no sólo de las condiciones momentáneas, sino también de lo sucedido en momentos previos a la toma de las muestras. Junto con la medición de parámetros físicos y químicos, el bioseguimiento permite evaluar el impacto que la actividad humana tiene en el ambiente, ya sea en ecosistemas abiertos como en efluentes industriales o cloacales. Pueden realizarse por una sola vez o repetirse de tiempo en tiempo para dar seguimiento a programas de control de la contaminación. También pueden compararse bioseguimientos previos y posteriores al establecimiento de una fuente de contaminación. Dado que la cantidad de contaminantes que acumulan suele correlacionarse positivamente con los niveles de contaminación, es posible evaluar las variaciones espaciales y/o temporales de la contaminación a partir de mediciones en los organismos.

En este caso, la concentración de los distintos contaminantes, para este ensayo (metales pesados) es detectada por cada sistema, expresada en algunos casos como *EC50*, concentración media efectiva y como *LC50*, concentración media letal, ambas siglas en inglés.

En cualquier lugar contaminado con compuestos tóxicos que afecten a la salud humana o a los ecosistemas, se deben establecer los criterios de depuración y lo deseable es que sea con instrumentos técnicos sencillos y poco costosos, especialmente para comunidades pequeñas. Resalta el hecho de que para su ejecución se deben haber llevado a cabo estrictos procedimientos de caracterización que permitan comprender la magnitud del pasivo ambiental existente. De esta manera, ha resurgido el interés sobre técnicas de evaluación rápida para el seguimiento de la calidad del agua en varios países con economías emergentes. En estos métodos se emplean a las comunidades biológicas existentes en un sistema acuático y se hace énfasis en el bajo costo de los



Universidad Nacional Autónoma de México

Facultad de Química



Facultad de Química

procedimientos de investigación, con un muestreo relativamente reducido y un análisis más eficiente de los datos (López-Hernández y col., 2002; Wang y Freemark, 1994).

En México, se ha incluido a los organismos acuáticos como complemento de los parámetros fisicoquímicos que se utilizaban tradicionalmente para el seguimiento rutinario de la calidad del agua. En ellos se da particular importancia a los organismos presentes en ambientes contaminados y toma en cuenta la presencia y la abundancia de los mismos. Se ha demostrado que los efectos primarios de toxicidad por metales pesados se producen en las raíces de las plantas, como es el caso de este estudio con *Allium cepa* L. var. *aggregatum*, que muestran una menor elongación después de ser expuestas a estos elementos en muestras de agua potencialmente contaminadas (Fiskesjö, 1985). Los síntomas de toxicidad descritos en la literatura para esta estructura vegetal tienen que ver con un menor crecimiento de la raíz principal por muerte del meristema apical de la raíz principal, estimulación de la formación de raíces secundarias y posterior inhibición del meristema apical de las raíces secundarias cuando la concentración de metal supera el límite de tolerancia (Figura 1.1).

Una vez sobrepasados los mecanismos de tolerancia al exceso de un contaminante específico acumulado en las raíces, la fisiología general de la planta sería afectada, produciéndose translocación excesiva de este elemento al vástago, donde afectaría negativamente la fotosíntesis y otras funciones celulares que resultan en síntomas visibles de toxicidad, tales como menor desarrollo del vástago, clorosis y enrojecimiento de las hojas (López-Hernández y col., 2002).

Por ello, en esta investigación, para apoyar a una comunidad del estado de México, se implementará esta metodología analítica usando plantas de cebolla, conocida en

México como cebollas de Cambray, *Allium cepa* L. var. *aggregatum*, para evaluar los efectos de un contaminante agregado de manera específica, una sal de cobre. El objetivo superior es establecer un método en el cual las comunidades de escasos recursos cuenten con una herramienta para determinar si el agua de consumo pudiera estar potencialmente contaminada.



Fig. 7a-d. Tracing the source of contamination by *Allium* test on river water samples. One bulb from each of four series of five bulbs.

a upstream BT Kemi AB, **b** downstream BT Kemi AB, **c** further downstream, **d** control (tap water), Lund. – The root growth is the least where the toxic concentrations are the highest: nearest to the source of contamination.

Figura 1.1. Tomada del artículo pionero de Fiskesjö (1985) sobre el efecto de metales disueltos en agua en *Allium cepa* L. var. *aggregatum*



Universidad Nacional Autónoma de México

Facultad de Química



Facultad de Química

Por tanto, de acuerdo con esta problemática, a continuación se presentan los objetivos de esta investigación en particular.

1.2. Objetivos

- Establecer un método por medio del cual las comunidades de escasos recursos cuenten con una herramienta para determinar si el agua de consumo pudiera estar potencialmente contaminada.
- Analizar por medio de un método estadísticamente confiable, si existen diferencias significativas entre las muestras de agua estudiadas con base en el crecimiento de sus raíces.
- Determinar si el método propuesto puede ser empleado para diferentes calidades de agua.

1.3. Aplicación y alcances

El presente procedimiento se utilizará para la evaluación de la toxicidad aguda de cinco muestras de agua mediante el uso como organismo de prueba de bulbos de cebolla (*Allium cepa* L. var. *aggregatum*), calculando por medio del crecimiento promedio de sus raíces el grado de contaminación en las muestras de agua. Este método de evaluación de la toxicidad, puede emplearse para muestras de cuerpos de agua dulce teóricamente no contaminados hasta mezclas acuosas complejas, tales como las aguas residuales industriales (Fiskesjö, 1985) a niveles de concentraciones no letales para el organismo de prueba.

CAPÍTULO 2

PRINCIPIOS

A continuación se presentan algunas definiciones que serán útiles para realizar el seguimiento de esta investigación. Fueron tomadas directamente de Castillo-Morales (2004).

Agua desionizada.- Es el agua que ha sido tratada para remover los iones en solución y que presenta una conductividad menor o igual a $2 \mu\text{mho/cm}$ ($\mu\text{S/cm}$ o mS/m).

Agua destilada.- Es el agua que ha sido evaporada y condensada en un aparato de destilación de vidrio de borosilicato u otro material, para remover impurezas.

Aguas residuales.- Son las aguas de composición variada provenientes de las descargas municipales, industriales, comerciales, agrícolas, pecuarias, domésticas en general o de cualquier otra.

Bioensayo: Ensayo en el cual el poder o potencia de una sustancia es medido a través de la respuesta de organismos vivos o sistemas vivientes.

Contaminante.- Es toda materia o energía en cualquiera de sus estados físicos y formas que al incorporarse o actuar en la atmosfera, agua, suelo, flora, fauna o a cualquier otro elemento natural, altere o modifique su composición o condición natural.

Cuerpos de agua.- Son los mares, lagos, lagunas, estuarios, acuíferos, redes colectoras con excepción de los sistemas de drenaje y alcantarillado urbano o municipal, ríos y sus efluentes directos o indirectos, permanentes o intermitentes, presas, cuencas, causes, canales, embalses, cenotes, manantiales y demás depósitos o corrientes de agua.



Universidad Nacional Autónoma de México

Facultad de Química



Facultad de Química

Efecto agudo.- Es aquél que se manifiesta como una respuesta inmediata de un organismo a un tóxico o tóxicos a los que ha sido expuesto. Usualmente produce inhibición de alguna función metabólica, inmovilidad o muerte.

Ensayo de toxicidad: Determinación del efecto de un material o mezcla sobre un grupo de organismos seleccionados bajo condiciones definidas. Mide las proporciones de organismos afectados (efecto cuantal) o del grado de efecto (graduado) luego de la exposición a la muestra.

Normativa³.- Norma Internacional ISO 5667-16, 1998⁴. El criterio de evaluación de los resultados de ensayo implica la revisión crítica de los datos, seguida por un procesamiento estadístico, que tiene por objeto determinar las relaciones de concentración o de dosis/respuesta.

Precisión.- Es el grado de concordancia entre resultados analíticos individuales cuando el procedimiento analítico se aplica repetidamente a diferentes alícuotas o porciones de una mezcla homogénea.

Prueba de toxicidad (bioensayo de toxicidad).- Es la exposición controlada de organismos o sustancias puras o combinadas y aguas provenientes de cuerpos de agua, para evaluar su efecto.

³ La palabra *normatividad* es un barbarismo tomado del inglés *normativity*. La palabra aceptada por el diccionario de la lengua española es *normativa*, conjunto de normas. Es interesante mencionar que, para la XXIII edición del diccionario de la lengua española, ya está siendo aceptada (Diccionario de la Real Academia de la Lengua Española, 2012)

⁴ Proporcionada por I.Q. Valia Maritza Goytia Leal, Comisión Nacional del Agua, México

Sustancia pura.- Es el elemento o conjunto de dos o más elementos combinados químicamente, que dan lugar a un compuesto con pureza no menor al 98%, por ejemplo: dicromato de potasio ($K_2Cr_2O_7$), fenol (C_6H_5OH), sulfato de zinc ($ZnSO_4$).

Tiempo de exposición.- Es el periodo durante el cual se somete a los organismos de prueba a las muestras problema en un bioensayo de toxicidad.

Toxicidad.- Es el efecto producido por un tóxico o sustancia tóxica

Toxicidad aguda.- Es el efecto medido en la reducción de luz emitida por *V. fischeri*, después de ser expuesta a un tóxico una sola vez, durante un periodo corto no mayor a 30 minutos.

Tóxico.- Es cualquier sustancia pura o combinada que al entrar en contacto con un organismo produce daños estructurales o alteraciones bioquímicas o fisiológicas e incluso la muerte, dependiendo de la concentración y del tiempo de exposición.

Tóxico de referencia.- Es la sustancia química utilizada en bioensayos de toxicidad cuyo efecto en los organismos a determinadas concentraciones es conocido y, por lo tanto, permite establecer el estado de respuesta de los mismos, así como comparar los resultados intra e inter laboratorios. El uso de estos tóxicos, proporciona también una evaluación general de la precisión (estabilidad y reproducibilidad) del método a través del tiempo.

2.1. Resumen del método

En este método de prueba las muestras de agua en estudio se exponen a las raíces de los bulbos de cebolla (*Allium cepa* L. var. *aggregatum*), conocidos en México como “cebollas de Cambray” como organismos de prueba, para determinar el efecto tóxico agudo, cuando se lleva a cabo en presencia de sustancias tóxicas, la división celular de los meristemas radiculares puede inhibirse, ya sea retardando el proceso de mitosis o

destruyendo las células. Este tipo de alteraciones generalmente impide el crecimiento normal de la raíz y, por tanto, su elongación (Figura 2.1).

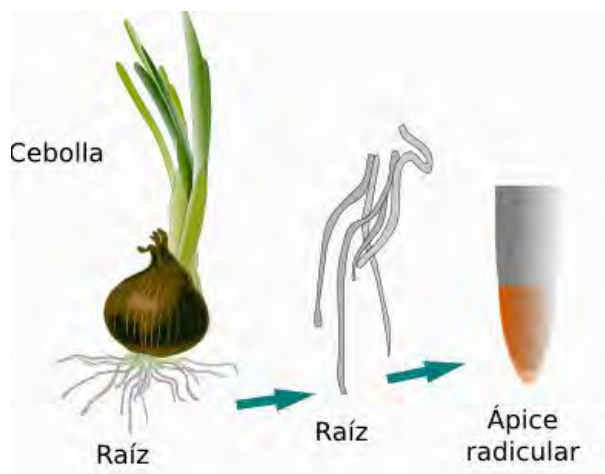


Figura 2.1. Ubicación de meristemos radiculares: Los meristemos apicales o primarios son los responsables de la formación del cuerpo primario de la planta. Se encuentran en los ápices de raíces y tallos, principales y laterales (Anónimo, 2012c)

El efecto puede determinarse en forma indirecta, mediante la comparación de la elongación de las raíces de cebollas expuestas al tóxico con las de cebollas no expuestas (control), después de un periodo de prueba de 72 h, realizando la cuantificación del efecto mediante la longitud promedio de las raíces expuestas con respecto de un control (Castillo-Morales, 2004).

2.2. Indicadores biológicos para aguas contaminadas

Dependiendo del propósito de un estudio, las mediciones en los organismos pueden ser puntuales, periódicas o continuas y abarcar diferentes escalas geográficas. Se pueden

hacer mediciones en organismos autóctonos; es decir, organismos propios del sitio, localidad o región de interés o transplantados desde sitios libres de contaminación o menos contaminados. Los programas de bioseguimiento tienen enfoques muy variados; por ejemplo, pueden ser cualitativos, semicuantitativos o cuantitativos. Pueden realizarse por una sola vez o repetirse de tiempo en tiempo para dar seguimiento a programas de control de la contaminación. Pueden utilizarse por sí mismos o servir como complemento de programas de seguimiento instrumental de la calidad del aire y/o del suelo. Usualmente permiten conocer los patrones de contaminantes atmosféricos, comparar sitios y ayudar en la identificación de fuentes contaminantes puntuales, lineales (carreteras, vías férreas) o de área. Mediante bioseguimiento se pueden detectar cambios ambientales de corto plazo (semanas o meses), pero usualmente se aplican en estudios de largo plazo (varios años) (Castillo-Morales, 2004).

Los organismos más empleados para realizar el bioseguimiento de ambientes acuáticos, que están entre los más afectados por diversas contaminaciones, son:

Microalgas: dentro de este grupo se destacan las diatomeas, un grupo de algas unicelulares pertenecientes a la Clase Bacillariophyceae, que poseen un tamaño de entre 50 y 500 μm (microplancton). Constituyen el grupo más importante del fitoplancton debido a que contribuyen con cerca del 90% de la productividad de los sistemas. Se las considera ideales para bioseguimiento dado que son fáciles y rápidas de muestrear en grandes cantidades y sobre pequeñas áreas superficiales. Además, algunas especies de este grupo son muy sensibles a los cambios ambientales ya sea en cortos o largos períodos de tiempo y esto les otorga a las diatomeas gran importancia en la detección de compuestos vertidos ocasionalmente. Otra característica que las hace ideales como indicadores es que estas algas son particularmente manejables debido a que sus paredes celulares de sílice son difíciles de dañar al ser removidas de los sustratos naturales o artificiales, y son fácilmente cultivables.

Otro grupo importante son los macroinvertebrados bentónicos: incluyen, por ejemplo, insectos acuáticos y cangrejos, empleados desde hace más de 100 años para estimar



Universidad Nacional Autónoma de México

Facultad de Química



Facultad de Química

la calidad de cuerpos de agua. Los macroinvertebrados son utilizados por ser relativamente abundantes, tienen el tamaño suficiente para ser observados con equipamientos sencillos sin necesidad de microscopios; son muy sensibles a perturbaciones; tienen un ciclo de vida lo suficientemente largo como para ser afectados por las condiciones de la calidad del agua; están relativamente inmóviles; tienden a formar distintas comunidades que están asociadas con condiciones físicas y químicas muy particulares; son fáciles de recolectar; existen métodos de evaluación y conocimiento sobre taxonomía para varias regiones.

Existen también los peces que han sido utilizados como indicadores de la calidad del agua en diversos países desde hace tiempo. Los peces son el grupo más diverso entre los vertebrados; sin embargo, muchas especies de agua dulce se encuentran amenazadas por las actividades humanas. Las comunidades de peces son consideradas como un vector de comunicación útil para sensibilizar al público y a las autoridades sobre la necesidad preservar la calidad de ríos y lagos. Por ello, su caracterización resulta muy importante porque éstas son reconocidas como una buena herramienta de ayuda para la toma de decisiones en materia ambiental y como índices de la calidad del medio acuático en el mundo, capaces de indicar diversos niveles de degradación y de definir el éxito de restauración de los ecosistemas acuáticos (Aguilar-Ibarra, 2005).

En términos prácticos se utilizan los conjuntos de especies de peces, en lugar de comunidades ecológicas como los objetos de gestión en ríos. Un conjunto de peces es definido como un grupo de especies en un sector definido independientemente de las interacciones ecológicas que existen entre ellas. En el momento que se demuestra que hay interacciones ecológicas, se puede hablar entonces de una comunidad. De hecho,

se indica que la integridad biológica se analiza mejor a nivel de comunidad o de conjuntos de especies. Estas entidades ecológicas reflejan no solamente los efectos directos e indirectos de los problemas ambientales crónicos, sino también los impactos de las perturbaciones episódicas. Por ejemplo, el restablecimiento de los conjuntos de peces después de perturbaciones catastróficas a corto plazo (inundaciones, crecidas, contaminación puntual) es relativamente rápido. En cambio, una presión constante sobre el ecosistema, como la agricultura intensa o la contaminación difusa, puede cambiar las comunidades bióticas en el largo plazo (Aguilar-Ibarra, 2005).

Hay diversos tipos de indicadores de la calidad ecológica del agua. Sin embargo, su identificación taxonómica en algunos casos puede ser difícil, especialmente para algunos invertebrados. Es por ello que, para este estudio, se llevó a cabo empleando una planta muy conocida por las personas y de fácil obtención, las cebollas conocidas como de Cambray, que ya han sido estudiadas a lo largo de muchos años, tanto desde el punto de vista de su taxonomía, sus usos, su composición, producción etc., como para pruebas de toxicidad (Fiskesjö, 1985), por lo que se cuenta con una amplia gama de conocimientos de la misma y, para esta investigación, se considera como el indicador biológico idóneo para la detección de cobre en las muestras de agua a analizar.

2.3. Aplicaciones a la contaminación por metales pesados

La Tabla 2.3 compara los resultados de ensayos de sensibilidad de distintos sistemas de “biomonitoreo” o seguimiento para metales pesados.

En este caso, la concentración de los distintos contaminantes (metales pesados) es detectada por cada sistema, expresada en algunos casos como *EC50* (concentración media efectiva) y *LC50* (concentración media letal). En otros sistemas no se utilizan valores de *EC50* o *LC50*, sino que se determinan parámetros propios, como por



ejemplo, las alteraciones o aberraciones en el ADN del organismo bioindicador (por ejemplo, los ensayos en cebolla).

Otros organismos utilizados como “biomonitores” (bioacumuladores) de contaminantes atmosféricos son los musgos y los líquenes, conocido en México como heno o *paxtle*⁵, para bioseguimiento de metales pesados e hidrocarburos aromáticos policíclicos, HAP (*PAHs* en inglés) aerotransportados.

Tabla 2.3. Ensayos empleando bioindicadores de diferente naturaleza (Segretin, 2002)

Ensayo empleado	Parámetro evaluado	Concentración de metales pesados, <i>EC50</i> o <i>LC50</i> , para cada metal evaluado				
		Cu(II), mg/L	Cd(II), mg/L	Pb(II), mg/L	Ni(II), mg/L	Zn(II), mg/L
Ensayos con cultivos celulares, bacterias, invertebrados, peces y mamíferos						
MetPLATE en <i>E. coli</i>	<i>EC50</i> de actividad galactosidasa	0.2	0.03	10	1	0.1
Microtox	<i>EC50</i>	0.6	40.8	ND	ND	14.5
Pez <i>Pimephales</i> sp.	<i>LC50</i>	0.02-0.1	0.01-2.2	0.81-5.4	3.4	0.33-1.7
Invertebrado	<i>EC50</i>	0.02-	0.02-4.7	3.6-4.9	7.6-11	0.07-5.1

⁵ *Paxtle*: Palabra náhuatl para una planta epífita de la familia de las bromeliáceas que cuelga de las ramas de los árboles, especialmente en los ahuehuetes (*Taxodium mexicanum*; *T. mucronatum*), de *atl*, agua y *huehuetl*, viejo, árbol viejo del agua. Es del género *Tillandsia usneoides* L.; *T. recurvata* L., de *pachtli*, malhojo o cierta hierba que se cría y cuelga de los árboles (Cabrera, 2002)

<i>Daphnia magna</i> (pulga de agua)		0.54				
Ensayos con plantas						
Ensayo con <i>Allium</i> sp	Formación de micronucleótidos (alteración del ADN)	>7.94	>5.6	>0.83	ND	ND
Ensayos en mutación y recombinación con <i>Arabidopsis thaliana</i>	Menor concentración que genera puntos azules	0.05	0.001-0.01	0.5	0.5	6

ND: No determinado

Algunos autores han documentado correlaciones positivas entre la cantidad de contaminantes acumulados por estas plantas y los niveles de contaminación atmosférica. De manera similar a los musgos y líquenes, *Tillandsia* obtiene su agua y los nutrientes disueltos en ella a partir de la atmósfera, por lo que se les conoce como “plantas atmosféricas” Un estudio en Brasil mostró que estas plantas acumularon hasta 25 ppm de Hg luego de sólo 45 días de ser transplantada a una zona industrial, lo que representa una captación 300 veces mayor que la registrada en el sitio de origen de la planta (Zambrano-García, 2006).

Los metales con menor abundancia promedio en las mismas son (<50 ppm: V, Zn, Ba, Sr, Pb, Li, Ni, Co, Cr, Cu, Sb y Mo), aunque también están presentes en las partículas grandes de polvos naturales, que suelen ser mayoritariamente transportados en partículas más pequeñas (<2.5 ppm), más propias de emisiones industriales y vehiculares y de la quema de desechos agrícolas y los incendios forestales. No



Universidad Nacional Autónoma de México

Facultad de Química



Facultad de Química

obstante que algunos de estos metales cumplen funciones biológicas definidas (Cr, Ni, Co, Cu, Zn, Mo), entre ellos se encuentran aquellos con propiedades moderadamente tóxicas (Co) o tóxicas (Cu, Cr, Ni, Zn, Pb) para las plantas, animales y/o seres humanos, especialmente cuando su acumulación excede ciertos límites de concentración.

Como se mencionó con anterioridad aunque el cobre (Cu) es un elemento esencial para las plantas y animales, ya que cumple diversas funciones en el metabolismo energético del N y funciones catalíticas, es tóxico cuando alcanza concentraciones relativamente altas (Zambrano-García, 2006).

2.4. Efectos del cobre en el ser humano

Algunas personas que beben agua que contiene cobre en exceso pueden, con la exposición a corto plazo, experimentar malestar gastrointestinal y, con exposición a largo plazo, puede experimentar daño hepático o renal. Las personas con enfermedad de Wilson deben consultar si la cantidad de cobre en el agua supera el llamado “nivel de acción” (límite aceptado en el agua) (Enciclopedia de la OIT, 2012).

En 1974, el Congreso de los EEUU aprobó la Ley de Agua Potable Segura. Esta ley requiere que la *EPA (U.S. Environmental Protection Agency)* determine el nivel de contaminantes en el agua potable en el que no hay efectos adversos para la salud. Basándose únicamente en los posibles riesgos y la exposición durante toda la vida, con un margen de seguridad adecuado, se denominan objetivos de nivel máximo de contaminantes (*MCLG*, en inglés). Los contaminantes son de cualquier tipo, ya sea físicos, químicos, biológicos o radiológicos o cualquier materia en agua.

El *MCLG* para el cobre es de 1.3 mg / L o 1.3 ppm. La *EPA* ha establecido este nivel de protección basadas en la mejor ciencia disponible para evitar posibles problemas de salud.

Para la mayoría de los contaminantes, la *EPA* establece una regulación aplicable llamada nivel máximo de contaminante (*MCL*) con base en el *MCLG*. Sin embargo, dado que la contaminación de cobre de agua potable a menudo resulta de la corrosión de los materiales de fontanería pertenecientes a los clientes o usuarios de los sistemas de agua, la *EPA* estableció una técnica de tratamiento en lugar de un *MCL* para el cobre. Una técnica de tratamiento es un procedimiento aplicable o el nivel de desempeño tecnológico que los sistemas de agua que debe asegurar el control de un contaminante. La regulación técnica de tratamiento para el cobre requiere de sistemas de agua para controlar la corrosividad de la misma.

El cobre puede disolverse en el agua principalmente de tubos, pero los accesorios y grifos (latón), también pueden ser una fuente. La cantidad de cobre en el agua también depende de los tipos y cantidades de minerales en el agua, el tiempo que el agua se queda en las tuberías, la cantidad de desgaste en las tuberías, la acidez del agua y su temperatura (EPA, 2013).

2.5. Efecto del cobre en plantas

Una vez que el cobre está contenido en el agua puede ser absorbido por las plantas. Se ha reportado que el cobre produce estrés oxidativo, el cual comienza con la interrupción del paso de electrones en el Fotosistema I de la fotosíntesis que provoca un daño irreversible en la célula (Rueda y col., 2012). Debido a que los eucariontes poseen los Fotosistemas I y II, el Fotosistema I está asociado a las formas de clorofila a, que absorben a longitudes de onda de 700 nm (P700), mientras que el Fotosistema II tiene un centro de reacción que absorbe a una longitud de onda de 680 nm (P680). Cada uno



Universidad Nacional Autónoma de México

Facultad de Química



Facultad de Química

de estos fotosistemas se encuentra asociado a polipéptidos en la membrana tilacoidal y absorben energía luminosa independientemente. En el Fotosistema II se produce la fotólisis del agua y la liberación de oxígeno; sin embargo, ambos fotosistemas operan en serie, transportando electrones, a través de una cadena transportadora de electrones. Ambos fotosistemas son los responsables de activar la etapa luminosa o fotoquímica de la fotosíntesis y establecer la conversión primaria de la luz en energía química (Anónimo, 2013). De esta manera, al interceptar el paso de electrones en el Fotosistema I, se interrumpe el ciclo de la fotosíntesis evitando que haya producción de energía a partir de la luz absorbida.

De manera interna, los iones de cobre en la solución del suelo en forma de Cu^+ o Cu^{2+} son absorbidos por las raíces de las plantas, así como complejos solubles de cobre. El Cu es necesario en numerosos procesos bioquímicos tales como las reacciones redox que generalmente dependen del cambio de valencia del ion. Además, también forma parte de varias enzimas que influyen la fotosíntesis y el metabolismo de los carbohidratos y del nitrógeno.

La mayor parte del cobre en la planta se encuentra en el cloroplasto, correspondiendo alrededor del 50% a la plastocianina, una proteína no enzimática, donadora primaria de electrones del Fotosistema I en la cadena de transporte electrónico de la fotosíntesis.

El exceso de cobre produce lesiones en las raíces que comienzan en el plasmalema y terminan con la destrucción de la estructura normal de la membrana; inhibe el crecimiento radicular y promueve la formación de numerosas raicillas (secundarias) cortas y de color pardo. El cobre se acumula en la corteza de las raíces y en las paredes celulares. Se produce clorosis porque el hierro es desplazado de los centros

fisiológicos del metabolismo y reemplazado por el cobre. En un mismo ecosistema, las plantas acuáticas asimilan tres veces más cobre que las plantas terrestres (Anónimo, 2012b).

A continuación se muestra en la Tabla 2.4 la dosis letal de diferentes organismos a los compuestos de cobre. Como comparación se presentan los límites máximos permitidos por la normativa mexicana, tanto para agua potable (DOF, 1994) como para agua residual vertida a cuerpos y bienes nacionales (DOF, 1996), que son relativamente elevadas cuando se comparan con estos valores.

Tabla 2.4. Toxicidad de cobre en distintos organismos (Anónimo, 2012b)

<i>Seres humanos:</i>	700-2100 µg/g, tejido hepático seco = letal
<i>Mamíferos:</i>	
Ratas	DL ₅₀ 159 mg/kg, oral (carbonato de Cu)
	DL ₅₀ 140 mg/kg, oral (cloruro de Cu)
	DL ₅₀ 470 mg/kg, oral (óxido de Cu)
	DL ₅₀ 300 mg/kg, oral (sulfato de Cu)
<i>Organismos acuáticos:</i>	
Daphnia	DL 0.8 mg/L (18 h) (sulfato de Cu)
Truchas	DL 0.8 mg/L (2-3 d) (sulfato de Cu)
Algas cianofíceas	0.03 mg/L, Cu ²⁺ = lesiones (sulfato de Cu)
Algas clorofíceas	1.1 mg/L, Cu ²⁺ = lesiones (sulfato de Cu)

NOM-127-SSA1-1994 (DOF, 1994) (<2 ppm Cu)

NOM-001-ECOL-1996 (DOF, 1996) (<6 ppm Cu)



2.6. Situación actual del agua en México y el mundo

Aunque el agua es muy abundante en la Tierra, es el agua salada contenida en los mares y océanos, la que se encuentra en un mayor porcentaje, con 97.5%, y solamente 2.5% es de agua dulce que, en realidad, también tiene sales disueltas pero en mucha menor proporción.

Una porción importante se encuentra atrapada en depósitos subterráneos profundos de difícil acceso y solamente 0.3% de esta agua dulce se localiza en lugares accesibles como lagos y ríos para ser utilizada por los seres vivos incluyendo el hombre (Figura 2.2).

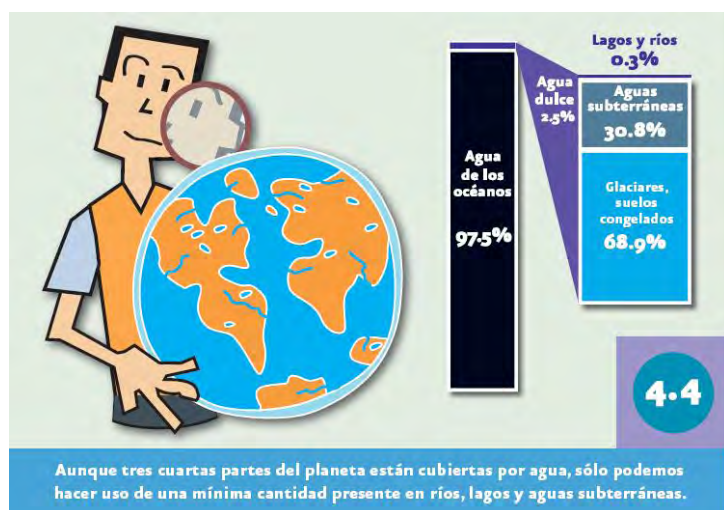


Figura 2.2. Porcentaje del agua disponible en la superficie del planeta (Semarnat, 2007)

Las aguas subterráneas representan entre 25 y 40%. Hoy en día, la mitad de las grandes ciudades de mundo incluyendo la Ciudad de México, dependen de las aguas

subterráneas, o bien, consumen un gran volumen de las mismas. En muchas comunidades rurales en las que no se dispone de otra fuente de abastecimiento, las fuentes subterráneas son todavía una fuente de agua de buena calidad a bajo costo (Semarnat, 2007).

Cuando el agua contiene materias extrañas como microorganismos, productos químicos, residuos industriales o domésticos que alteran sus características naturales se dice que está contaminada.

Debido a que los ríos y lagos frecuentemente se encuentran en las partes bajas de las cuencas, entonces la calidad del agua va a depender en gran medida de los usos que se le den a los terrenos que se encuentran alrededor y de los desechos que directamente tiran las fábricas y los sistemas de drenajes de las ciudades y los pueblos cercanos.

En México, la evaluación de la calidad del agua se realiza por medio de la Red Nacional de Seguimiento, que cuenta con 620 estaciones en ríos, lagos, lagunas costeras y acuíferos (Conagua, 2013). En cada estación se cuantifican parámetros físicos, químicos y biológicos que sirven para evaluar la calidad del agua. Los tres indicadores más usados son: la concentración de coliformes fecales, la demanda bioquímica de oxígeno y la concentración de fosfatos y nitratos, ya que todos ellos están relacionados con las principales fuentes de contaminación de las aguas nacionales.

Algunas de las normas asociadas se refieren al análisis de agua, para aguas naturales, potables, residuales y residuales tratadas. Asimismo, las Normas Mexicanas asociadas se refieren a los productos químicos utilizados en la potabilización del agua para uso y consumo humano, para fomentar el uso sustentable del agua y la calidad de los servicios de agua potable, alcantarillado y saneamiento.

Como consecuencia de esto, el abastecimiento de agua se reconoce como uno de los principales retos que determinará la sustentabilidad de la Ciudad de México. Frente a



Universidad Nacional Autónoma de México

Facultad de Química



Facultad de Química

un sistema de abastecimiento que muestra señales evidentes de degradación, falta de inversión, y reducción de la capacidad, los efectos del cambio climático requieren ser evaluados para determinar su impacto y promover las estrategias que permitan enfrentar el reto.

En los países en desarrollo, ahora conocidos como de economías emergentes, se da tratamiento a menos del 10% del agua residual que se produce (Conagua, 2013). A continuación se muestra algo de lo realizado sobre esta problemática en México y que se denomina indicadores de calidad del agua.

2.7. Indicadores de calidad del agua

A principios de los años setenta del siglo XX, ante la necesidad de encontrar un método uniforme y consistente para dar a conocer la calidad del agua de manera accesible a la población, se desarrolló un sistema estimativo de calidad del agua que requirió la medición física de los parámetros de contaminación del agua y el uso de una escala estandarizada de medición para expresar la relación entre la existencia de varios contaminantes en el agua y el grado de impacto en los diferentes usos de la misma.

Este sistema se denominó Índice de Calidad del Agua (*ica*) y es un sistema cualitativo que permite hacer comparaciones de niveles de contaminación en diferentes áreas. El *ica* se define como el grado de contaminación existente en el agua a la fecha de un muestreo, expresado como un porcentaje de agua pura. Así, agua altamente contaminada tendrá un *ica* cercano o igual a 0% y de 100% para el agua en excelentes condiciones (Semarnat, 2008).

Éste índice consideró 18 parámetros para su cálculo con distintos “pesos⁶” o ponderaciones relativos (W_i), según la importancia que se le concedía a cada uno de ellos en la evaluación total (Tabla 2.5).

Tabla 2.5. Indicadores de calidad de agua, *ica* (Semarnat, 2008)

Parámetro	Peso (W_i)	Parámetro	Peso (W_i)
Demanda bioquímica de oxígeno	5.0	Nitrógeno en nitratos	2.0
Oxígeno disuelto	5.0	Alcalinidad	1.0
Coliformes fecales	4.0	Color	1.0
Coliformes totales	3.0	Dureza total	1.0
Sustancias activas al azul de metileno (Detergentes)	3.0	Potencial de Hidrógeno (pH)	1.0
Conductividad eléctrica	2.0	Sólidos suspendidos	1.0
Fosfatos totales	2.0	Cloruros	0.5
Grasas y aceites	2.0	Sólidos disueltos	0.5
Nitrógeno amoniacal	2.0	Turbiedad	0.5

A lo largo de estas décadas, el crecimiento poblacional y principalmente el crecimiento industrial ha impactado los cuerpos de agua con sus descargas, las cuales vierten una serie de contaminantes tóxicos, tales como los metales pesados y los compuestos orgánicos, que no estaban considerados en el *ica*, por lo que la evaluación que se hace actualmente con dicho índice es parcial y no necesariamente corresponde a la realidad.

Por lo anterior y con el objeto de mejorar el criterio de evaluación de la calidad del agua, se ha considerado desarrollar un nuevo índice en sustitución del *ica* que permita considerar la mayoría de las condiciones de las estaciones de medición de la Red Nacional de “Monitoreo”.

⁶ Peso *versus* masa: El peso está relacionado con la gravedad, mientras que la masa es independiente de ella



Universidad Nacional Autónoma de México

Facultad de Química



Facultad de Química

Mientras tanto, para evaluar la calidad del agua se ha decidido utilizar tres parámetros indicadores de la misma, que muestran la influencia antropogénica desde el punto de vista de la afectación por la presencia de centros urbanos e industriales que por sus características producen desechos líquidos de calidad diferenciable.

Para ello se ha considerado utilizar la demanda bioquímica de oxígeno (DBO_5), la demanda química de oxígeno (DQO) y los sólidos suspendidos totales (SST). La DBO_5 y la DQO se utilizan para determinar la cantidad de materia orgánica presente en los cuerpos de agua proveniente principalmente de las descargas de aguas residuales, de origen municipal y no municipal.

La DBO_5 determina la cantidad de materia orgánica biodegradable y la DQO mide la cantidad total de materia orgánica. El incremento de la concentración de estos parámetros incide en la disminución del contenido de oxígeno disuelto en los cuerpos de agua con la consecuente afectación a los ecosistemas acuáticos.

Por otro lado, el aumento de la DQO indica presencia de sustancias provenientes de descargas no municipales. Su relación conocida como de biodegradabilidad, DBO_5/DQO permite definir la pertinencia de usar sistemas biológicos para su depuración $0 < (DBO/DQO) < 1.0$

Los SST tienen su origen en las aguas residuales y erosión del suelo. El incremento de los niveles de SST hace que un cuerpo de agua pierda la capacidad de soportar la diversidad de la vida acuática. Estos parámetros permiten reconocer gradientes que van desde una condición relativamente natural o sin influencia de la actividad humana;

hasta agua que muestra indicios o aportaciones importantes de descargas de aguas residuales municipales y no municipal, así como áreas con deforestación severa (véase en la Tabla 2.5) (Semarnat, 2008).

En México, solamente cerca del 23% de las aguas residuales son tratadas. Considerando descargas municipales e industriales, solamente se tratan 36% de aguas municipales y 15% de las industriales. Tomando en cuenta los incrementos de aguas municipales e industriales y el número de plantas de tratamiento de agua se seguirá muy por debajo de las necesidades del país (Semarnat, 2007).

De esta manera, ha resurgido el interés sobre técnicas de evaluación rápida para el seguimiento de la calidad del agua en varios países en desarrollo. En esos métodos emplean a las comunidades biológicas existentes en el sistema acuático y hacen énfasis en el bajo costo de la investigación, un muestreo reducido y un análisis más eficiente de los datos.

Por tanto, en México se ha optado por la utilización de organismos acuáticos como herramientas en el seguimiento rutinario de la calidad del agua, en ellos se da particular importancia a los organismos presentes en ambientes contaminados, y toma en cuenta la presencia y la abundancia de los mismos (López-Hernández y col., 2002).

Para el caso de las cebollas de Cambray, los síntomas de toxicidad descritos en la literatura para esta estructura vegetal tienen que ver con un menor crecimiento de la raíz principal por muerte del meristema apical, estimulación de la formación de raíces secundarias y posterior inhibición del meristema apical de las raíces secundarias cuando la concentración de metal llega al límite de 5 mg Cu/L para producir inhibición (Fiskesjö, 1985).



Universidad Nacional Autónoma de México

Facultad de Química



Facultad de Química

CAPÍTULO 3

METODOLOGÍA

3.1. Metodología en el laboratorio: Equipo y materiales, reactivos y patrones

3.1.1. Equipos y materiales

En este apartado sólo se mencionan los equipos y materiales que son relevantes para el estudio

Refrigerador Marca (American), modelo (CR-03)

Tubos de ensayo de vidrio de 10 cm de largo y 1,5 cm de ancho (Pyrex)

Gradilla o soportes para tubos

Bisturí

Regla para hacer mediciones en cm o mm

Pipetas Pasteur

3.1.2. Reactivos y patrones

Se usaron cebollas de Cambray (*Allium cepa* L. var. *aggregatum*) de 1.5 cm de diámetro, secos y sin formación de hojas y/o raíz. Fueron obtenidos en la Central de Abastos de la Ciudad de México. Canal de Río Churubusco S/N Esq. Canal de Apatlaco Col. Cental de Abastos. Los reactivos y soluciones utilizados en la prueba se enlistan a continuación. Deben ser tipo grado reactivo analítico marcados por la *American Chemical Society, ACS*.

Medio de crecimiento (opcional)

El medio de crecimiento utilizado para el desarrollo del ensayo se indica en la Tabla 3.1 (Castillo-Morales, 2004). También se puede utilizar agua dura o agua potable de la llave como medio de crecimiento. En el caso de usar cualquiera de estas opciones, el control negativo y el agua utilizada para preparar las diluciones de los compuestos químicos o las muestras deberá ser la misma.

Tabla 3.1. Medio de crecimiento para Allium sp. (Castillo-Morales, 2004)

Masa de sal para disolver en un litro de agua destilada	
Reactivo	mg
Ca(NO ₃) ₂ ·4H ₂ O	236.1
KNO ₃	202
MgSO ₄ ·7H ₂ O	246
KH ₂ PO ₄	136.1
Fe EDTA·3H ₂ O	67.6

Tabla 3.1. Medio de crecimiento para Allium sp. (Castillo-Morales, 2004)

Elementos traza	
Reactivo	mg
MnSO ₄	0.55(*)
CuCl ₂	0.0645(*)
NaMnO ₄	0.001(*)
ZnSO ₄	0.0007(*)
H ₃ BO ₃	0.23(*)

(*) Los componentes correspondientes a elementos traza deben ser adicionados a partir de una solución madre (conocida coloquialmente por la palabra en inglés *stock*) La solución madre preparada de acuerdo con lo indicado se diluye diez veces con agua destilada, y el pH se ajusta a siete antes de utilizar



Universidad Nacional Autónoma de México

Facultad de Química



Patrones (Castillo-Morales, 2004)

Sulfato cúprico heptahidratado ($\text{CuSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) reactivo analítico de pureza mayor a 99.5%. Generalmente se sugiere el empleo de una serie de cinco concentraciones, un control negativo y uno o dos controles positivos. Para su preparación se emplea el método de dilución en forma secuencial aplicando un factor de 0.2 o 0.3. Se recomienda igualmente utilizar agua dura o agua de la llave para el control negativo, así como para la preparación de las diluciones de la muestra y la preparación del control positivo con el tóxico de referencia Cu (II). Previo al montaje de la prueba, los bulbos deben limpiarse eliminando la epidermis seca y removiendo, con un bisturí o instrumento punzante, los restos de tejido y raíces del área radicular. (Figura 3.1).

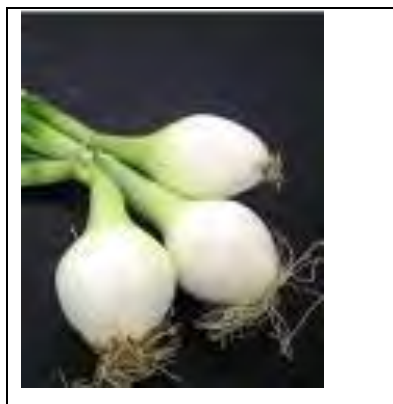


Figura 3.1. Cebollas Cambray con raíces antes de limpiarse (Fotografía tomada en el Laboratorio 301, Edificio E-3, Conjunto E, Facultad de Química, UNAM)

3.2 Interferencias

Temperatura

Pueden provocarse pérdidas importantes de agua en la epidermis del bulbo de cebolla, además de pérdidas del medio de crecimiento debido a la evaporación y a la absorción natural del bulbo de cebolla.

Luz directa

Pueden producirse deterioro en la estructura del bulbo de cebolla. Esta interferencia puede compensarse en contacto indirecto con temperatura controlada.

Sustancias insolubles en agua

Una contaminación por medio de sustancias insolubles en agua causan restricciones en el crecimiento de la raíz de las muestras.

Sustancias solubles en agua

Diferentes solventes pueden afectar de manera macroscópica la estructura de los bulbos de cebolla aunque sus componentes internos no se vean afectados de manera sustancial.

3.3. Desarrollo del experimento

El desarrollo del experimento se presenta en la Figura 3.2. En el Anexo 1, se presentan las especificaciones (recolección, transporte, etc.) para la realización del método (Castillo-Morales, 2004), de acuerdo con lo que a continuación se señala.

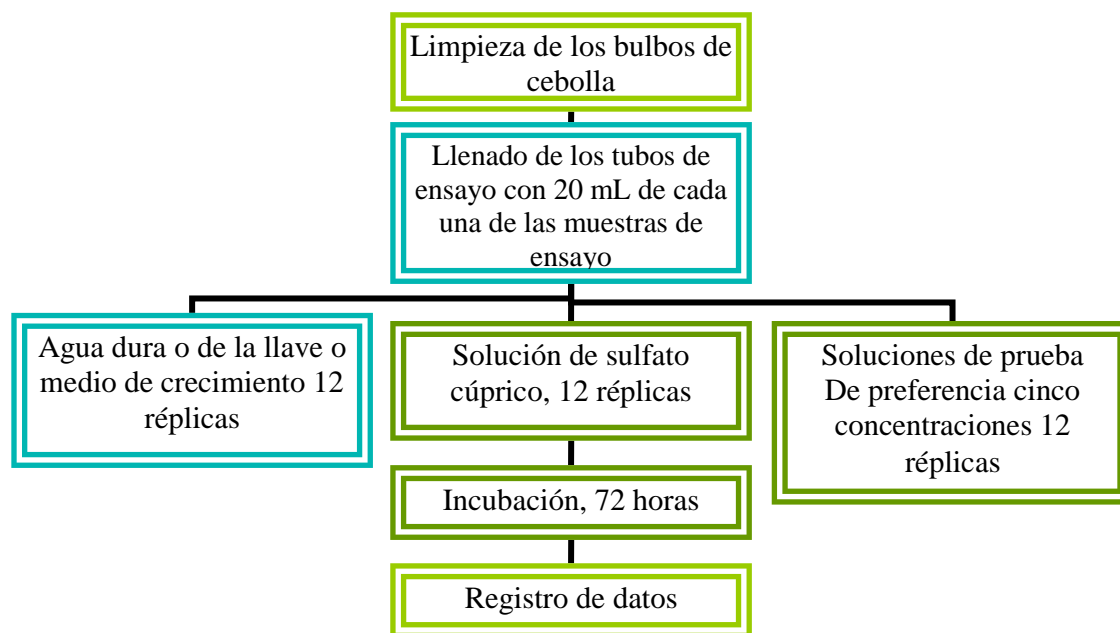


Figura 3.2. Diagrama de bloques de la metodología empleada (Castillo-Morales, 2004)

3.3.1. Pruebas iniciales (Chandra y col., 2005; Fiskesjö, 1985; Smaka-Kincl y col., 1996)

- El ensayo se inicia con el llenado de los tubos con cada una de las diluciones y controles. Este llenado deber hacerse hasta el borde del tubo.

- b) A continuación se colocan los bulbos limpios sobre la boca del tubo, cuidando que la zona radicular quede inmersa en el líquido.
- c) Los tubos se colocan en una gradilla, la cual se localiza sobre una mesa que no presente vibraciones y se mantienen a temperatura ambiente (20°C) por un periodo de 72 horas. Debe evitarse la iluminación directa.
- d) Dos veces al día durante el periodo de prueba se debe restablecer el volumen perdido por evaporación o absorción. Para restablecer este volumen se utiliza la muestra o dilución correspondiente. Se recomienda inclinar el bulbo sin sacar las raíces del tubo, adicionando cuidadosamente el volumen con ayuda de una pipeta Pasteur (Figuras 3.3a y 3.3b).



Figura 3.3a. Bulbos de cebolla inmersos en las muestras de estudio



Figura 3.3b. Análisis y registro de elongación de raíces de cebolla

3.4. Calibración

Un elemento importante en los programas de control de calidad es contar con instrumentos confiables. Por ello, debe mantenerse un programa de mantenimiento, calibración y verificación periódica para todos los equipos en uso. Cuando se utilizan



Universidad Nacional Autónoma de México

Facultad de Química



Facultad de Química

equipos o instrumentos en los que se requieren soluciones de referencia, pesas u otros artefactos para su calibración, es necesario que estos medios de calibración sean certificados. En el caso de emplear estándares de referencia, la solución patrón debe ser previamente valorada con referencia a una solución o reactivos certificados.

Establecer de preferencia la sensibilidad de los bulbos a los tóxicos de referencia y registrar mediante la confección de una carta control con, por lo menos, veinte pruebas (ésta no se llevó a cabo en este ensayo). Resultados por encima o por debajo de la sensibilidad establecida son indicativos de problemas con el material biológico utilizado.

En este proyecto, se seleccionaron tres concentraciones de cobre para ser estudiadas, 2, 10 y 26 ppm de Cu(II), conociendo que:

- a) El valor especificado por la EPA como nivel máximo de contaminante es de 1.3 mg/L o 1.3 ppm de cobre en agua para prevenir cualquier problema de salud,
- b) En el artículo de Geirid Fiskesjö (1985) donde se habla de que la concentración máxima de sulfato cúprico en contacto con las raíces de cebollas es de 5 mg/L para producir inhibición completa y
- c) El estudio de Araya y col. (2009), en donde se administraron 10mg/L de cobre a personas se encontraron algunos efectos adversos y se estimó que cuando el agua que es ingerida por las personas tuviera 16 miligramos de cobre por litro, todos los individuos sentirían náusea y una proporción de ellos además vomitarían.

Estos datos son importantes porque las aguas que se utilizan para beber en el mundo

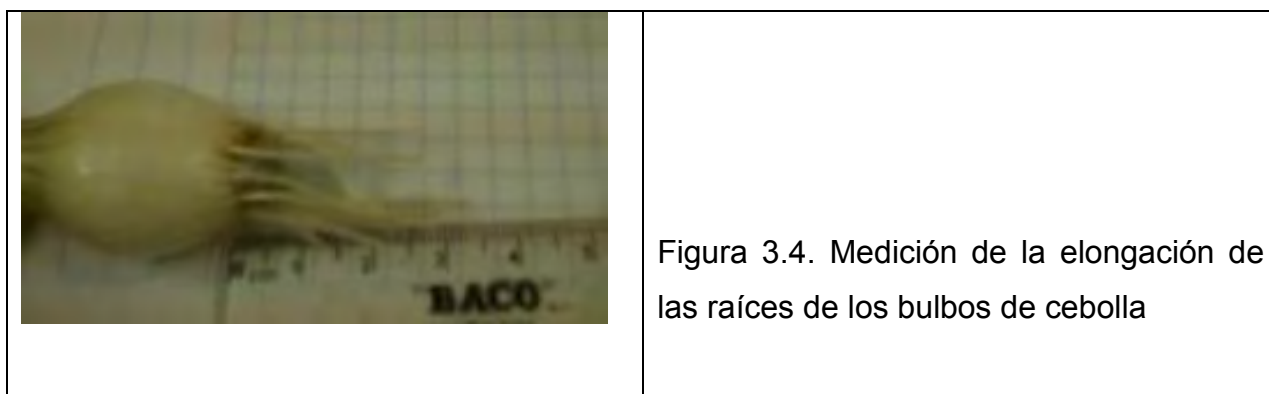
contienen menos de 2 miligramos de cobre por litro, por lo que son seguras para el consumo humano (DOF, 1994). Pensando en un problema de mayores magnitudes donde el hombre haya contaminado el agua de suministro para consumo directo se optó por trabajar con una concentración de 102 mg/L de sulfato cúprico (25.45 mg de cobre por litro) para conocer en qué medida pudiera afectar al indicador biológico, en este caso a la raíces de cebolla, así como una de 10 mg/L de Cu(II) (39.8 mg CuSO₄/L).

En el ensayo con bulbos de cebolla estas soluciones preparadas a partir de sulfato cúprico pentahidratado, una de ellas considerada como control negativo, utilizaron agua de la llave de la Ciudad Universitaria, en México D.F. El agua fue tomada de la llave o grifo directamente, en el Laboratorio 301 del Edificio E-3 Alimentos y Química Ambiental, del Conjunto E de la Facultad de Química, UNAM, México D.F. Con ello se busca conocer las características que presentan las cebollas de Cambray.

3.5. Cálculos

Medición

Al término del periodo de exposición se registra la longitud promedio de las raíces, la cual se lleva a cabo con ayuda de una regla común con escala en milímetros (Figura 3.4).



En la Tabla 3.2 se pone un ejemplo de la manera de tabular los datos de longitud de las raíces de cada réplica con los valores del crecimiento de las raíces de los bulbos de



cebolla, en condiciones estándar, a partir de ser cosechadas y con ventilación abundante.

Tabla 3.2. Medición de la elongación de las raíces de 80 cebollas en condiciones estándar (mm). Ejemplo a 72 horas

1	18	17	29	33	22	49	28	65	40
2	20	18	30	34	32	50	24	66	49
3	28	19	20	35	30	51	17	67	33
4	10	20	40	36	20	52	25	68	30
5	16	21	22	37	19	53	34	69	32
6	35	22	35	38	10	54	10	70	16
7	20	23	27	39	23	55	40	71	35
8	20	24	29	40	29	56	35	72	20
9	12	25	17	41	27	57	29	73	35
10	18	26	20	42	10	58	20	74	15
11	28	27	15	43	24	59	27	75	18
12	17	28	29	44	21	60	26	76	25
13	18	29	26	45	15	61	21	77	22
14	32	30	18	46	25	62	22	78	24
15	28	31	14	47	15	63	32	79	21
16	40	32	33	48	14	64	47	80	31

*Promedio final de crecimiento a las 72 horas= 24.78 mm

*Nota= Los promedios durante la experimentación fueron determinados con Excel 2007 con dos cifras significativas

3.6. Experimentación

Aguas en estudio

Para la realización de este estudio se escogieron diferentes puntos de toma de muestra, esperando dar un espectro amplio de concentraciones probables para corroborar la bondad de la metodología a estudiar. Se tomó una muestra que se esperaba tuviera un alto grado de contaminación en la zona urbana, el Lago de Chapultepec, el cual se ubica en el Bosque de Chapultepec, 1a sección, Col. Bosque de Chapultepec Parque Nacional, Delegación Miguel Hidalgo, México D.F. (Mapa 3-1).

Con objeto de corroborar la bondad de esta metodología se tomó como muestra una población modelo en donde hubiera agua considerada potable.

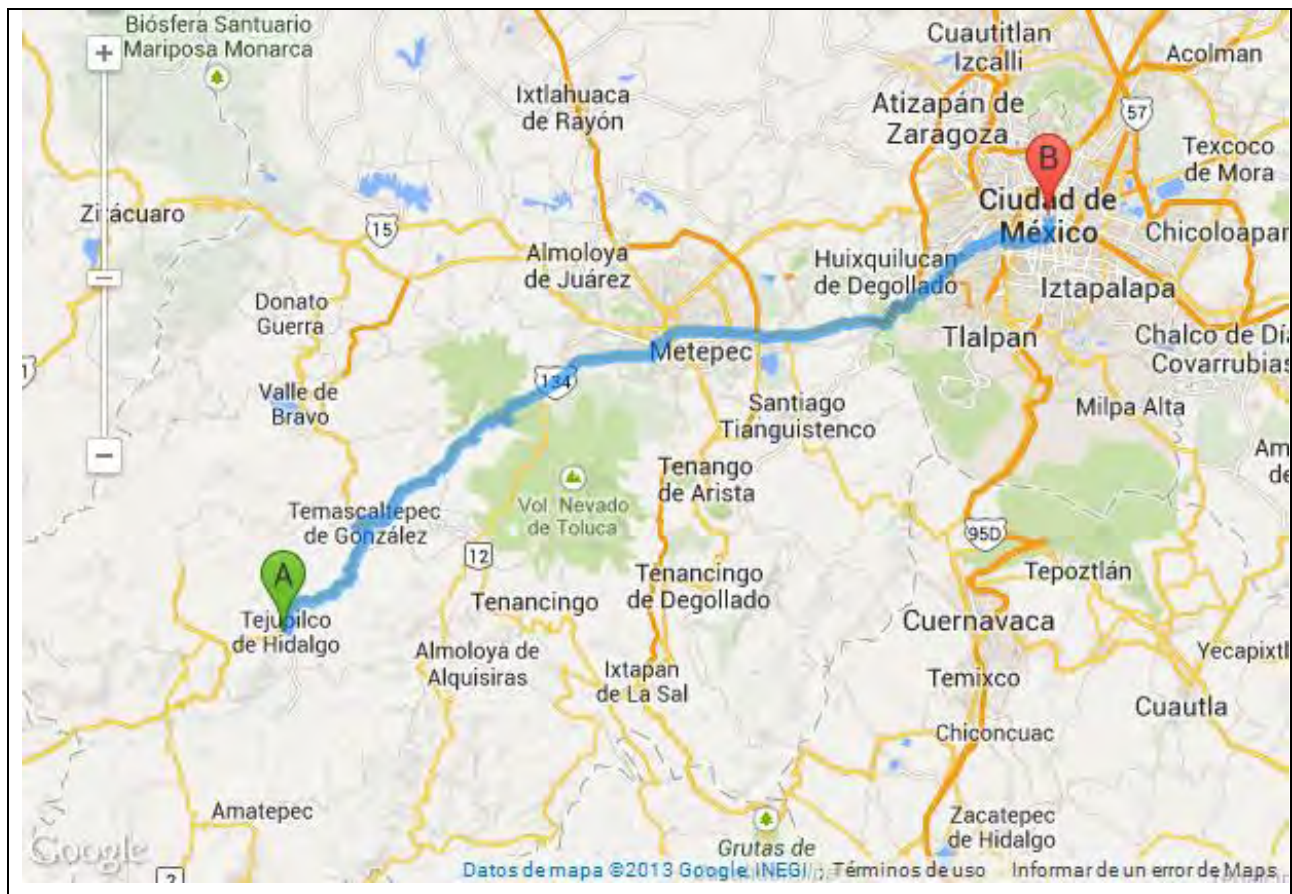
En el caso particular de esta investigación se consideró a una comunidad llamada Almoloya de las Granadas en el estado de México (Mapa 3.2), de la que se tomaron tres fuentes principales: Agua de manantial, agua de un arroyo o riachuelo, también denominado río en esta investigación y agua de la llave o grifo.

Se determinó, con base en la información que se obtuviera de las muestras de agua, incluyendo el control negativo, la pertinencia del uso de esta metodología. Para cada muestra se necesitaban al menos 12 ensayos con las cebollas Cambray para cumplir con los parámetros establecidos en la metodología propuesta (ver Figura 3.2) para este trabajo.

Mapa de Lago de Chapultepec



Mapa 3.1. Lago de Chapultepec en la Ciudad de México
(Coordenadas 19.4239142, -99.1850424). Fuente:
http://www.worldatlaspedia.com/es/lago-de-chapultepec/lugares_reconditos30/busquedaLibreDetalle-0-6458967



Mapa 3.2. Mapa del Estado de México con la población de Tejuvilco de Hidalgo que se encuentra a 20 km de Almoloya de las Granadas, 18° 45' 30" de latitud norte 99° 59' 07" de latitud oeste

(Fuente: <http://www.mapascarreteras.com.mx/mex/tejuvilco.html>)

Se realizaron pruebas preliminares en las que se constató que hubo entre 3 y 5 tubos que tuvieron que ser sacrificados por lo que solamente quedaban entre 7 y 9 de ellos para la evaluación. En esa tesitura se pusieron 15 subréplicas para los experimentos posteriores con dos duplicados, en total 45 cebollas Cambray por cada muestra.



Universidad Nacional Autónoma de México

Facultad de Química



Facultad de Química

La nomenclatura para las muestras de agua usadas para probar la metodología, así como la muestra negativa que contiene tres diferentes concentraciones de sulfato cúprico pentahidratado (alta, media y baja) se muestra a continuación en la Tabla 3.3.

Tabla 3.3 Muestras analizadas en el proyecto

Muestra 1:	Lago de Chapultepec, Ciudad de México
Muestra 2:	Manantial del Edo. de México, comunidad Almoloya de las Granadas
Muestra 3:	Agua de la llave proveniente del Edo. de México, comunidad Almoloya de las Granadas
Muestra 4:	Arroyo del Edo. de México, comunidad Almoloya de las Granadas
Muestra 5:	Agua de la llave proveniente de CU del Laboratorio 302 del Edificio E-3 del Conjunto E de la Facultad de Química de la UNAM

La muestra 1 fue tomada de la parte sur del Lago de Chapultepec, ubicado en el Bosque de Chapultepec de la Ciudad de México, el día 26/09/12. Esta muestra fue elegida debido a que en la ciudad se encuentran pocos lagos o ríos que se conserven en la actualidad, por lo que se optó por analizar esta muestra a raíz de la urbanización y afluencia a este sitio en constante crecimiento. La muestra tenía las siguientes características: una coloración verde brillante a parda y un pH de 7 medido en campo con indicadores de papel.

La muestra 2 fue tomada de un manantial de agua en la localidad de Almoloya de las Granadas en el Estado de México, poblado del municipio de Tejupilco, a una altitud media de 1,537 m.s.n.m. Cuenta con una población total de 863 habitantes (INEGI

2013), de los cuales 425 son mujeres y 438 hombres. Cuenta con un total aproximado de 223 viviendas. Algunos de los atractivos turísticos del municipio son las ferias patronales de cada poblado, en donde existen corridas de toros, peleas de gallos, bailes y juegos mecánicos. Tejupilco se encuentra entre los paralelos 18 4 y 19 01 de latitud norte los meridianos 100 00 y 100 3 de longitud oeste altitud entre 500 y 2700m. Colinda al norte con los municipios de Luvianos, Zacazonapan, Temascaltepec y San Simón de Guerrero; al este con los municipios de San Simón de Guerrero, Texcaltitlán y Sultepec ; al sur con los municipios Sultepec, Amatepec y el Estado de Guerrero; al oeste con el Estado de Guerrero y el municipio de Luvianos. Ocupa el 3.0% de la superficie del estado. Cuenta con 167 localidades y una población total de 62 547 habitantes.

En la comunidad de Almoloya de las Granadas las personas toman el agua directamente para beber debido a que la consideran como potable. La toma de muestra se realizó el día 23 de septiembre del año 2012. Este sitio de toma de muestra fue elegido debido a que se considera que es una población que puede servir como ejemplo para los usuarios potenciales de la metodología propuesta en este estudio. La muestra no presentó ninguna coloración, sin presencia de sólidos suspendidos, ni olor. Emanan directamente de la tierra. Tenía un pH de 5.5 medido en campo con indicadores de papel.

La muestra 3 fue tomada de la tubería de suministro de la comunidad de Almoloya de las Granadas, donde la gente usa el agua para realizar sus actividades cotidianas y también se usa como agua potable, el día 23 de septiembre del año 2012. Presentó una coloración blanquecina al abrir el grifo (llave) que, después, se tornó incolora, inodora, con un pH de 6 medido en campo con indicadores de papel.

La muestra 4 fue tomada de un riachuelo sin nombre cercano a la comunidad de Almoloya de las Granadas, donde la gente usa el agua para realizar sus actividades cotidianas y también se usa como agua potable, el día 23 de septiembre del año 2012.



Universidad Nacional Autónoma de México

Facultad de Química



Facultad de Química

No presentó ninguna coloración, ni presencia de sólidos suspendidos ni olor. Tenía un pH de 6 medido en campo con indicadores de papel.

Finalmente, la muestra 5 se tomó de la llave (grifo) del Laboratorio 301 del Edificio E-3 del Conjunto E de la Facultad de Química de la UNAM, en la Ciudad Universitaria, México D.F. La muestra de agua se tomó el 28 de septiembre del año 2012. El agua no presentó ninguna coloración, ni presencia de sólidos suspendidos ni olor, con un pH de 6 medido *in situ* con indicadores de papel.

A esta última, en diferentes fechas se le adicionó sulfato cúprico pentahidratado para tener tres concentraciones teóricas de 2, 10 y 26 mg Cu (II) / L. Esta concentración, como se mencionó arriba, se basa en la suposición de que si con 10 mg Cu/L ya hay problemas (Araya y col., 2009), con la última habría muchos daños.

Todas las muestras fueron conservadas en una cámara de refrigeración a una temperatura de $7\pm 2^{\circ}\text{C}$ aproximadamente.

El día de inicio de la prueba fue el 28 de septiembre del año 2012, con una duración de 72 horas en la cual se hicieron las observaciones en cuanto a la pérdida o absorción de agua en los bulbos de cebolla, así como la longitud de las raíces. Es importante mencionar que el crecimiento de las raíces se considera a partir de las primeras 24 horas.

Las cebollas se colocaron en tubos de ensayo de 16 X 150mm marca PYREX de 20 ± 1 mL. Se les adicionaron 20 mL de la muestra de agua, cuidando que cada una de las 15 réplicas tuviera el mismo volumen inicial.

Si, durante las primeras 24 horas a partir del ensayo, hubiere absorción de agua de las diferentes muestras por parte de los bulbos, se completaba con la muestra al volumen inicial. Es importante mencionar que algunos bulbos de cebolla presentaron características de rancidez por lo que fueron retirados del ensayo siendo sustituidos con otro nuevo.

Otras muestras de cebollas presentaron características de podredumbre y, en ese momento, se eliminaron o suspendieron esas muestras. Estas muestras no fueron repuestas.

Esta experimentación se repitió por triplicado, a causa de que algunas de las muestras presentaron problemas con el crecimiento y resequedad. Las muestras fueron las mismas que se conservaron en refrigeración ($7\pm 2^{\circ}\text{C}$).

3.6.1. Material biológico

Dado que la prueba con cebollas no requiere mantenimiento de un cultivo, el control de calidad debe enfatizarse en la calidad de los lotes de material a utilizar. Por esa razón, debe darse especial importancia al almacenamiento del material, así como al control de hongos que pueden afectar la viabilidad de las cebollas y su normal desarrollo. Es por ello que se recomienda disponer de un número de cebollas de, por lo menos, tres o cuatro veces mayor al requerido para las pruebas. Su almacenamiento debe hacerse en un ambiente con baja humedad, a una temperatura entre 10 y 20 grados Celsius.

Un elemento importante en la elaboración de las pruebas es el proceso de pelado de los bulbos. Durante este procedimiento debe evitarse el daño del anillo radicular. Igualmente, se debe trabajar con un alto número de réplicas para controlar la variabilidad de las pruebas. Como se mencionó en la sección anterior, es recomendable utilizar doce réplicas por muestra con el fin de descartar, por lo menos, dos de los valores más extremos. En el caso de que exista un bajo desarrollo radicular en más de



Universidad Nacional Autónoma de México

Facultad de Química



Facultad de Química

dos bulbos del control, se considera que el lote de bulbos tiene problemas y, por tanto, los resultados no serán válidos.

Debido a la susceptibilidad de las muestras a la temperatura, se observó en los ensayos preliminares que la existencia de equipos con motores que calentaban el aire ambiente del laboratorio afectaba el experimento.

Por tanto, los experimentos se realizaron en fines de semana para evitar este efecto negativo.

3.6.2. Contenido de cobre en las muestras en estudio

Para determinar la concentración de cobre en las muestras, se hizo un análisis por espectrofotometría de absorción atómica, EAA, siguiendo la metodología estandarizada en el Laboratorio 302 del Edificio E-3 del Conjunto E de la Facultad de Química de la UNAM. El equipo es de la marca Perkin Elmer, modelo AAnalyst700 (EEUU).

La curva de calibración de cobre se hizo con cinco concentraciones, que se muestran a continuación:

- 3 ppm
- 5 ppm
- 7 ppm
- 10 ppm
- 15 ppm

En el Anexo 1 se muestran las metodologías seguidas y la curva de calibración de cobre.

Esta información se comparó con los resultados obtenidos con los ensayos biológicos.

Estas concentraciones fueron elegidas a partir de la premisa de que la muestra que se esperaba fuera la más contaminada era la del Lago de Chapultepec. Esta suposición se hace debido a que la alimentación del Lago proviene de la planta de tratamiento de aguas residuales de Chapultepec y de las pequeñas descargas de agua cruda (aguas negras sin tratar) así como de los locales comerciales asentados en la periferia, tomando esta información del artículo de Rosiles-Martínez (1998).

3.6.3. Contenido de material oxidable en las muestras en estudio

Con objeto de verificar el contenido de materia orgánica oxidable en las muestras en estudio, se realizó la medición de ella empleando la metodología estandarizada en el laboratorio para la demanda química de oxígeno, DQO (Ramírez-Burgos y col., 2008). Como ya se vió en el capítulo anterior esta variable es importante para determinar la calidad de un agua.

3.7. Análisis estadísticos

Los datos experimentales fueron realizados por triplicado con sus 15 sub-réplicas de cada muestra de agua y fueron analizados estadísticamente usando el paquete computarizado JMP version 7.0.1 2007. Los datos experimentales fueron evaluados estadísticamente usando análisis de varianza, andeva (*ANOVA* en inglés) (Segretin, 2002). Cuando se encontraron diferencias significativas se empleó el método de Tukey-Kramer (Abdi y Williams, 2010).



CAPÍTULO 4

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Concentraciones de cobre y de materia orgánica oxidable

Los resultados obtenidos del análisis por espectrofotometría de absorción atómica (EAA) para contenido de cobre en las muestras de estudio se presentan en la Tabla 4.1. Asimismo, se comparan con la normativa mexicana vigente. Finalmente se muestran, como ejemplo, los datos de una de las muestras de agua usadas como control negativo con la adición de sulfato cúprico pentahidratado.

Tabla 4.1. Concentración de cobre de las muestras de agua

Muestras	Concentración, mg/L	Límite máximo permitido, mg/L
1. Lago de Chapultepec	0.167 ^a	6.0 **
2. Manantial (Estado de México, comunidad Almoloya de las Granadas)	0.103 ^b	2.0*
3. Arroyo (Estado de México, comunidad Almoloya de las Granadas)	0.114 ^b	2.0*
4. Agua de la llave (Estado de México, comunidad Almoloya de	0.159 ^a	2.0*

las Granadas)		
5. Agua de la llave proveniente de CU	0.156 ^a	2.0*
5a. Agua de la llave proveniente de CU adicionada con 102 mg/L CuSO ₄ .5H ₂ O con un valor teórico de 25.45 ppm Cu(II)	22.52	NA

^{a,b}Muestras estadísticamente diferentes ($p < 0.05$)

*NOM-127-SSA1-1994 (DOF, 1994)

**NOM-001-ECOL-1996 (DOF, 1996)

NA- No aplica

Comparando los valores obtenidos con la NOM-001-ECOL-1996 (Imagen 4.1), que hace referencia a los límites máximos permisibles de contaminantes metálicos, el metaloide arsénico y el ión cianuro en las descargas de aguas residuales en aguas y bienes nacionales, con el objeto de proteger su calidad y posibilitar sus usos y es de observancia obligatoria para los responsables de dichas descargas (DOF, 1996), puede verse que, aunque solamente sería aplicable para el agua del Lago de Chapultepec, se encuentran por debajo de los límites establecidos. Por otro lado, comparando estos datos con la norma para agua para uso y consumo humano, límites permisibles de calidad y tratamientos a que debe someterse el agua para su potabilización, que es la NOM-127-SSA1-1994 (DOF, 1994), se ve que la presencia de cobre en ellas no representa un daño o alteración en la salud puesto que todos fueron menores al límite establecido (2 ppm de Cu).



Imagen 4.1. Límites máximos permisibles de metales pesados.
 NOM-001-ECOL-1996 (DOF, 1996)

LÍMITES MÁXIMOS PERMISIBLES PARA METALES PESADOS Y CIANUROS																				
PARÁMETROS (*) (miligramos por litro)	RÍOS						EMBALSES NATURALES Y ARTIFICIALES				AGUAS COSTERAS						SUELO		HUMEDALES NATURALES (B)	
	Uso en riego agrícola (A)		Uso público urbano (B)		Protección de vida acuática (C)		Uso en riego agrícola (B)		Uso público urbano (C)		Explotación pesquera, navegación y otros usos (A)		Recreación (B)		ESTUARIOS (B)		Uso en riego agrícola (A)			
	P.M.	P.D.	P.M.	P.D.	P.M.	P.D.	P.M.	P.D.	P.M.	P.D.	P.M.	P.D.	P.M.	P.D.	P.M.	P.D.	P.M.	P.D.		
Arsénico	0.2	0.4	0.1	0.2	0.1	0.2	0.2	0.4	0.1	0.2	0.1	0.2	0.2	0.4	0.1	0.2	0.2	0.4	0.1	0.2
Cadmio	0.2	0.4	0.1	0.2	0.1	0.2	0.2	0.4	0.1	0.2	0.1	0.2	0.2	0.4	0.1	0.2	0.05	0.1	0.1	0.2
Cianuros	1.0	3.0	1.0	2.0	1.0	2.0	2.0	3.0	1.0	2.0	1.0	2.0	2.0	3.0	1.0	2.0	2.0	3.0	1.0	2.0
Cobre	4.0	6.0	4.0	6.0	4.0	6.0	4.0	6.0	4.0	6.0	4.0	6.0	4.0	6.0	4.0	6.0	4.0	6.0	4.0	6.0
Cromo	1	1.5	0.5	1.0	0.5	1.0	1	1.5	0.5	1.0	0.5	1.0	1	1.5	0.5	1.0	0.5	1.0	0.5	1.0

(*) Medidos de manera total.
 P.D. = Promedio Diario P.M. = Promedio Mensual N.A. = No es aplicable
 (A), (B) y (C): Tipo de Cuerpo Receptor según la Ley Federal de Derechos.

Como se mencionó en la metodología, aunado a estos resultados de contenido de cobre, se realizó un análisis del contenido de materiales disueltos oxidables químicamente, parámetro conocido como demanda química de oxígeno, DQO, para las diferentes muestras, con el objetivo de conocer el grado de contaminación por materia orgánica de las mismas. La Tabla 4.2 muestra las escalas de clasificación de la calidad del agua divulgada por la Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales de México, Semarnat. En ella pueden observarse los valores de la DQO.

Tabla 4.2. Escalas de clasificación de la calidad del agua

(Fuente: Semarnat, 2008)

Demanda Bioquímica de oxígeno (DBO ₅)		
DBO ₅ ≤ 3	Excelente	Azul
	No contaminada	
3 < DBO ₅ ≤ 6	Buena calidad	Verde
	Aguas superficiales con bajo contenido de materia orgánica biodegradable	
6 < DBO ₅ ≤ 30	Aceptable	Amarillo
	Con indicio de contaminación. Aguas superficiales con capacidad de autodepuración o con descargas de aguas residuales tratadas biológicamente.	
30 < DBO ₅ ≤ 120	Contaminada	Naranja
	Aguas superficiales con descarga de aguas residuales crudas, principalmente de origen municipal	
DBO ₅ > 120	Fuertemente contaminada	Rojo
	Aguas superficiales con fuerte impacto de descargas de aguas residuales crudas municipales y no municipales	
Demanda Química de Oxígeno (DQO)		
DQO ≤ 10	Excelente	Azul
	No contaminada	
10 < DQO ≤ 20	Buena calidad	Verde
	Aguas superficiales con bajo contenido de materia orgánica biodegradable y no biodegradable	
0 < DQO ≤ 40	Aceptable	Amarillo
	Con indicio de contaminación. Aguas superficiales con capacidad de autodepuración o con descargas de aguas residuales tratadas biológicamente.	
40 < DQO ≤	Contaminada	Naranja



Universidad Nacional Autónoma de México

Facultad de Química



Facultad de Química

200	Aguas superficiales con descarga de aguas residuales crudas, principalmente de origen municipal	
DQO >200	Fuertemente contaminada	Rojo
	Aguas superficiales con fuerte impacto de descargas de aguas residuales crudas municipales y no municipales	
Sólidos Suspendidos Totales (SST)		
SST ≤ 5	Excelente	Azul
	Clase de excepción, muy buena calidad	
25 < SST ≤ 75	Buena calidad	Verde
	Aguas superficiales con bajo contenido de sólidos suspendidos, generalmente condiciones naturales. Favorece la conservación de comunidades acuáticas y el riego agrícola irrestricto	
75 < DQO ≤ 150	Aceptable	Amarillo
	Aguas superficiales con indicio de contaminación. Con descargas de aguas residuales tratadas biológicamente. Condición regular para peces. Riego agrícola restringido.	
150 < DQO ≤ 400	Contaminada	Naranja
	Aguas superficiales de mala calidad con descarga de aguas residuales crudas. Agua con alto contenido de material suspendido	
DQO >400	Fuertemente contaminada	Rojo
	Aguas superficiales con fuerte impacto de descargas de aguas residuales crudas municipales y no municipales con carga de contaminante. Mala condición para peces	

Si se comparan los datos de esta Tabla 4.2 con los obtenidos para las cinco muestras en estudio puede verse algo interesante. La Tabla 4.3 especifica los niveles de contaminación para muestras de agua con diferentes rangos de DQO.

Tabla 4.3. Análisis de DQO de las muestras en estudio

Muestra	Valor DQO (mg/L)	Comparación con la Tabla 4.2
1. Chapultepec	150	Contaminada
2. Manantial (Edo. de México)	7	Excelente
3. Agua de la llave (Edo. de México)	n.d.	n.d.
4. Riachuelo (Edo. de México)	33	Aceptable
5. Agua de la llave (Ciudad Universitaria)	ND*	Excelente

ND* No detectado (menor del umbral de detección del método)

n.d. No determinado

Esta información resulta interesante, ya que aunque las muestras no contienen cobre que excede ninguna norma tienen materia oxidable que deteriora su calidad, especialmente la del Lago de Chapultepec, como se esperaba.

4.2. Resultados experimentales con las cebollas

4.2.1. Mediciones de longitud de las raíces

Los datos experimentales completos se presentan en el Anexo 2 y, a continuación, se muestra un resumen de estos resultados así como en la Figura 4.1 y en la Tabla 4.4 la comparación entre las muestras de agua en estudio.

Como puede observarse en la Figura 4.1, los valores promedio de la elongación de las raíces de las cebollas fueron mayores con la muestra del agua de manantial de la

comunidad de Almoloya de las Granadas, Estado de México, a las 72 y 48 horas de exposición con respecto de las demás muestras, ver Tabla 4.4. Las muestras que presentaron un valor promedio de elongación menor fueron las contaminadas con sulfato cúprico (Tabla 4.4).

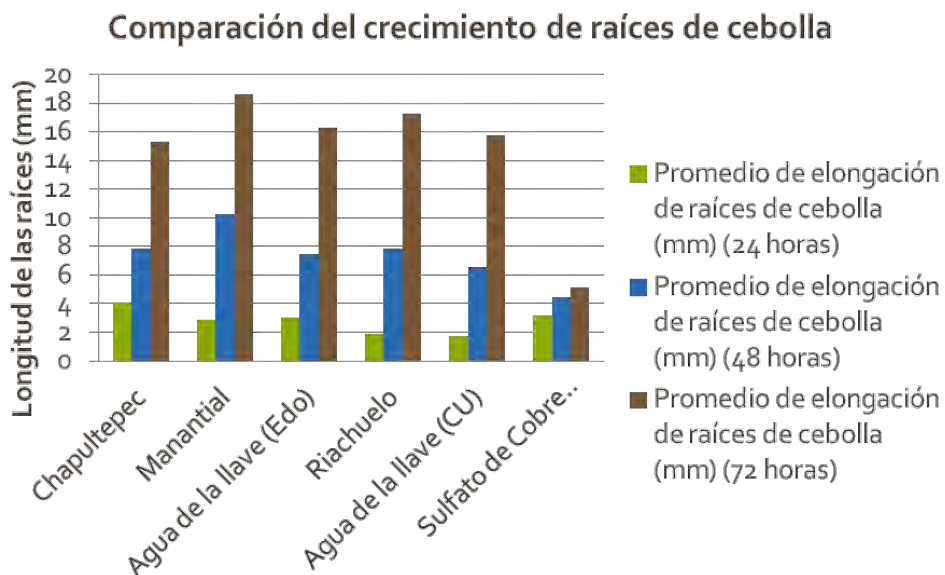


Figura 4.1. Resultados experimentales de las cebollas con las muestras de agua estudiadas

Tabla 4.4. Promedio de la elongación de las raíces de cebolla (*Allium cepa* L. var. *aggregatum*)

	Promedio de elongación de raíces de cebolla (mm) ± SD		
	1 (24 horas)	2 (48 horas)	3 (72 horas)
1. Lago de Chapultepec	4.05±2.86	7.82±5.02	15.27±8.46
2. Manantial (Edo. de México)	2.88±2.46	10.22±5.9	18.64±6.16
3. Agua de la llave (Edo. de México)	3.02±2.49	7.46±5.04	16.24±8.4
4. Riachuelo (Edo. de México)	1.86±1.68	7.81±4.92	17.22±9.64
5. Agua de la llave, Ciudad Universitaria	1.73±1.4	6.55±4.04	15.71±6.93
5c. Agua de la llave, Ciudad Universitaria con 102 mg/L CuSO₄·5H₂O (25.45 mg Cu/L)	2.95±1.95	4.42±2.11	4.92±2.22

SD = Desviación estándar, por sus siglas en inglés

4.2.2. Comparación entre los datos experimentales del ensayo biológico con los contenidos de cobre medidos por espectrometría de absorción atómica, EAA

A continuación, en la Tabla 4.5, se muestran los datos de un ensayo previo con cebollas de Cambray donde a las concentraciones de cobre de 2 y 10 se observaban algunos malestares en el ser humano. Araya y col. (2009). Los datos completos se encuentran en el Anexo 1. Si estos datos se comparan con sus concentraciones medidas en el EAA, se encuentra lo mostrado en la Tabla 4.6.



Universidad Nacional Autónoma de México

Facultad de Química



Facultad de Química

Tabla 4.5. Promedio de la elongación de las raíces de cebolla (*Allium cepa* var. *aggregatum*) en las muestras de agua de la Ciudad Universitaria

	Promedio de elongación de raíces de cebolla (mm) ± SD		
	1 (24 horas)	2 (48 horas)	3 (72 horas)
5. Agua de la llave, Ciudad Universitaria	1.1±0.30	2.7±1.83	6.10±3.86
5a. Agua de la llave, Ciudad Universitaria con 1.19 mg/0.6L CuSO₄·5H₂O (2 mg Cu/L)	1.0±0.22	2.0±1.57	3.8±1.73
5b. Agua de la llave, Ciudad Universitaria con 5.99 mg/0.6L CuSO₄·5H₂O (10 mg Cu/L)	1.0±0.22	1.4±0.75	2.65±0.74

Tabla 4.6. Concentración de cobre medida en el equipo de espectrometría de absorción atómica, EAA, y el crecimiento de las raíces de las cebollas de Cambray después de 3 días

Muestras	Cu (ppm) EAA	Crecimiento promedio de raíces de cebollas (mm) en 72 horas
Agua de la llave (grifo) CU	0.156	6.1±3.86
Agua de la llave (grifo) CU+ 1.19 mg/0.6L CuSO ₄ .5H ₂ O (2 mg Cu/L)	0.653	3.8±1.73
Agua de la llave (grifo) CU+ 5.99 mg/0.6L CuSO ₄ .5H ₂ O (10 mg Cu/L)	2.585	2.65±0.74

Estos datos, mostrados de manera gráfica indican que sí hay correlación entre la elongación de las raíces y la concentración de cobre en el agua (Figura 4.2).



Figura 4.2. Crecimiento final obtenido de raíces de cebolla con respecto de las concentraciones de cobre obtenidas de las mediciones en el equipo de espectrometría de absorción atómica, EAA



Universidad Nacional Autónoma de México

Facultad de Química



Facultad de Química

4.3. Análisis estadísticos

Como se mencionó en la metodología, los datos experimentales fueron realizados por duplicado con sus 15 sub-réplicas de cada muestra de agua y fueron analizados estadísticamente usando el paquete computarizado JMP versión 7.0.1 2007. Se empleó el análisis estadístico llamado de varianza, andeva (*ANOVA*, en inglés) (Segretin, 2002), seguido del análisis de Tukey-Kramer o test *HSD* desarrollado por Tukey y Kramer (por *honestly significant difference*, en inglés). La prueba de comparación múltiple de Tukey se utiliza ampliamente en comparaciones por pares entre las medias de los grupos. Además del análisis estándar de la varianza supuesto (*ANOVA*), el método de Tukey se deriva bajo la restricción de que las varianzas de la muestra son iguales. Por lo tanto, debe basarse cada media muestral en un número igual de observaciones (Keselman y Roga, 1978). Posteriormente, con el andeva (*ANOVA*, en inglés) y usando como hipótesis que todas las muestras son iguales, se analizaron los valores obtenidos. Para finalizar, por medio del análisis de Tukey-Kramer HSD se dieron a conocer cuáles eran las muestras donde existían diferencias significativas en cuanto al crecimiento de las raíces de cebolla comparando cada una de las muestras de agua entre sí, además de conocer cuales son relativamente iguales para este análisis. Para conocer si las muestras presentan diferencias significativas, se realizó un análisis de varianza de un solo factor para conocer si existía diferencia entre las muestras de agua que fueron estudiadas (Tabla 4.1). En la Figura 4.3 se indican las muestras de agua que son diferentes debido al dato obtenido en la *F* experimental que dio de 19.93. Después, bajo las mismas condiciones, utilizando como hipótesis que el tiempo no influye en el crecimiento de las raíces, se comprueba que debido al valor de

F experimental en este caso es de 314.21 el tiempo si es una variante que afecta en este estudio.

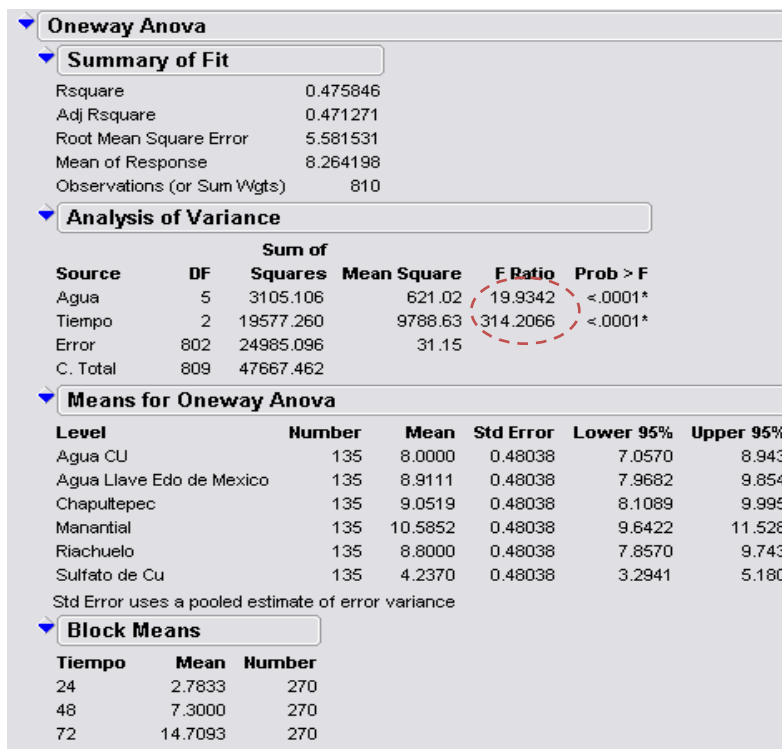


Figura 4.3. Análisis de varianza, andeva (ANOVA, en inglés)

A continuación, se observan en la Figura 4.4 las medias de las diferentes muestras analizadas y los valores extremos. Puede verse que la muestra que contiene sulfato cúprico es diferente.

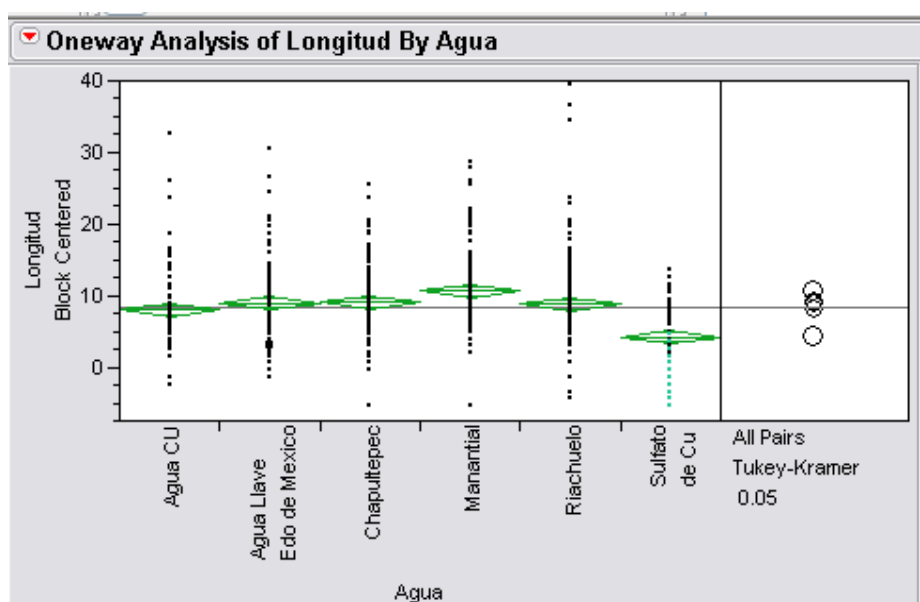


Figura 4.4. Análisis de medias en las muestras

Utilizando como antecedente el dato obtenido por el análisis de varianza, de que las muestras de agua son diferentes se buscó conocer si el método de análisis experimental por medio de cebollas de Cambray puede discernir entre diferentes calidades de agua o si son iguales, con base en la comparación de Turkey-Kramer, realizada por el programa JMP. Se observa que, para las diferencias mayores a $q=2.85663$, son significativamente distintas y las que son menores, representan que la diferencia no es relevante por lo que son iguales o similares.(Figura 4.5). Respecto a este análisis de Turkey-Kramer en la siguiente sección se ve que todas las muestras analizadas: El agua de manantial, agua del Lago de Chapultepec, el agua de la llave del

poblado de Almoloya de las Granadas, el agua de riachuelo y el agua de CU son significativamente distintas con respecto a la muestra que contiene sulfato cúprico (Figura 4.5).

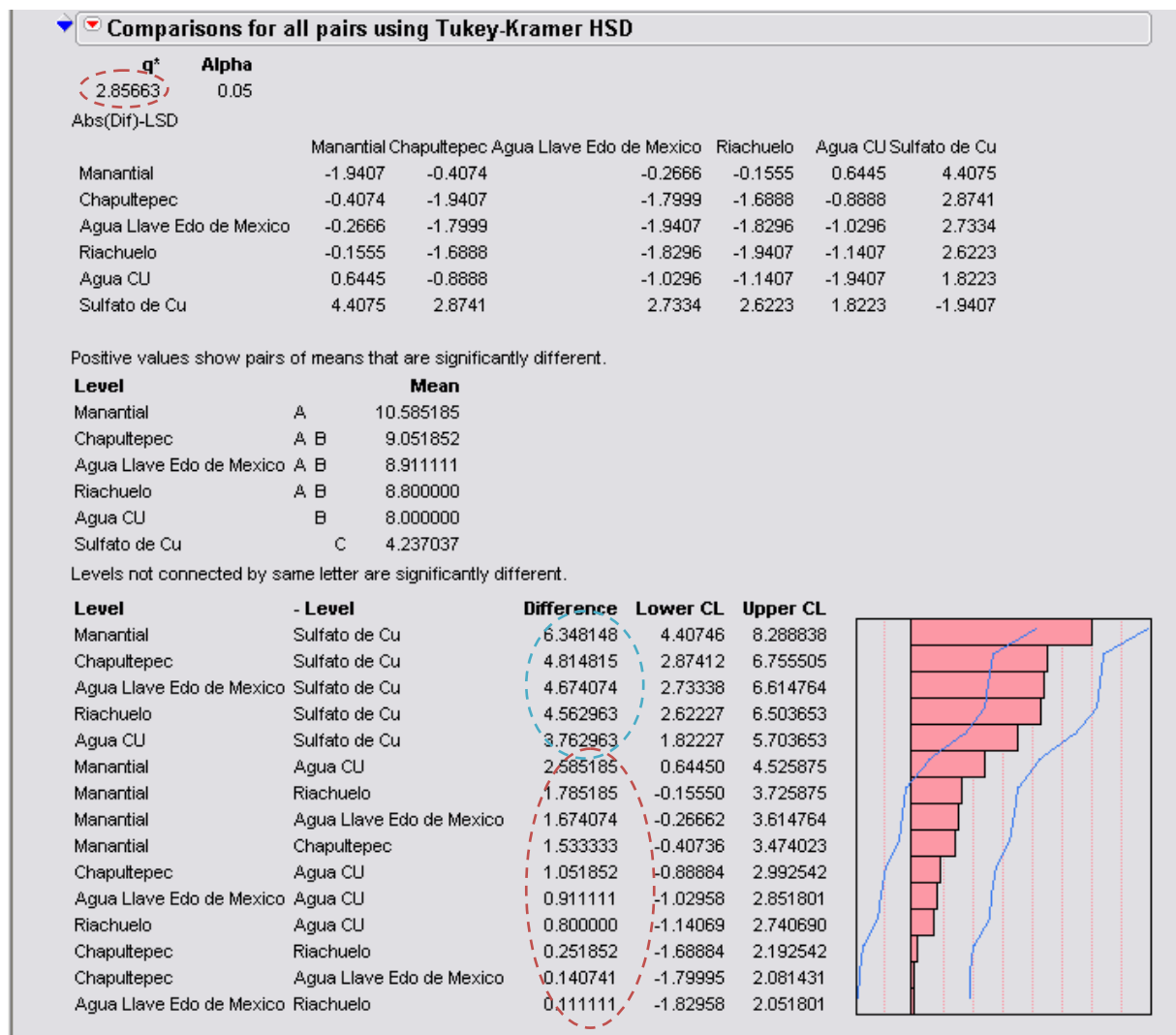


Figura 4.5. Análisis Tukey-Kramer



Universidad Nacional Autónoma de México

Facultad de Química



Facultad de Química

4.4. Discusión final

En esta investigación se estudió un método por el cual las comunidades de escasos recursos que tengan el interés de conocer si existen contaminantes como los metales pesados en el agua de consumo tales como cobre, puedan, por medio de la observación a partir de las primeras 48 horas, si la longitud de las raíces de cebollas es mayor a 11 mm o 1.1 cm, con base en los datos experimentales, que la presencia de ellos sea baja, considerando por lo menos 15 réplicas (un total de 15 cebollas de Cambray) para descartar algunas que se vieran afectadas por factores en el medio como el calor, la resequedad, etc. Los resultados fueron congruentes en lo que se refiere a la presencia del cobre. De forma interesante, el contenido elevado de material oxidable (DQO), como fue el caso del agua del Lago de Chapultepec, que mostraba claros signos de contaminación por materia orgánica no pudo ser discriminada con este método ya que la elongación de las raíces no se vio alterada por ello.

La materia prima de este ensayo fueron cebollas de la variedad conocida como de Cambray. Es importante mencionar que, por cada 100 cebollas, se pagan \$30.00 (Treinta pesos mexicanos de 2012-13) (precio de la Central de Abastos, Ciudad de México 2013). El costo para 15 cebollas sería de \$4.50 pesos, lo que puede considerarse como un bajo costo.

Para aguas que visualmente parecen ser muy limpias, el método sí pudo discriminar las que químicamente eran más limpias, ya que la elongación de las raíces de las cebollas indicaron que la muestra de manantial presenta un mayor rango de crecimiento por sus características de baja contaminación comparada con otras muestras.

Debido a que con el método estadístico Tukey-Kramer se encontraron diferencias significativas entre la muestra de agua contaminada con sulfato cúprico respecto de las demás por el crecimiento de las raíces de las cebollas Cambray, puede decirse que este método de ensayo para determinar toxicidad aguda puede ser usado como método presuntivo para determinar contaminación de agua por presencia de sustancias tóxicas.

Finalmente, se considera importante mencionar que la muestra del Lago de Chapultepec tuvo valores de DQO de 150 mg/L, que indica que está fuertemente contaminada (código de color naranja), según la Semarnat (2008). Dado que el Bosque de Chapultepec y el lago en particular son lugares públicos en donde conviven familias y, sobre todo, niños pequeños se recomienda enfatizar en los visitantes la conciencia del respeto a la naturaleza, invitándolos a reducir la basura al visitar este tipo de lugares y optar por alternativas más limpias y no tan costosas para poder conservar este tipo de ambientes.

La fotografía de la Figura 4.6 es del manantial de Almoloya de las Granadas, que fue la que tuvo el valor de DQO más bajo, de 7 mg/L, y que en la clasificación de la Semarnat está considerada como excelente y tiene el código de color azul. La marca del plástico azul que aparece en la fotografía es puesta por los lugareños para indicar que es el sitio donde el agua es más limpia y que las personas vayan a él a recolectar el agua.



Universidad Nacional Autónoma de México

Facultad de Química



Figura 4.6. Manantial de Almoloya de las Granadas (Edo. de México). Lugar de toma de muestra

CAPÍTULO 5

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1 Conclusiones

De acuerdo con los objetivos planteados en esta investigación:

- Establecer un método por medio del cual las comunidades de escasos recursos cuenten con una herramienta para determinar si el agua de consumo pudiera estar potencialmente contaminada.
- Analizar por medio de un método estadísticamente confiable, si existen diferencias significativas entre las muestras de agua estudiadas con base en el crecimiento de sus raíces.
- Determinar si el método propuesto puede ser empleado para diferentes calidades de agua.

puede concluirse lo siguiente:

El método fue exitoso en indicar para agua con bajo contenido de materia orgánica oxidable la presencia de un contaminante específico, en este caso, cobre divalente.

El análisis estadístico realizado confirma esta aseveración.

Cuando se propuso realizar la prueba de demanda química de oxígeno, se pensaba que la elongación de las raíces de las cebollas de Cambray se comportaría proporcionalmente a esta variable. Sin embargo, esto no ocurrió, ya que no hubo diferencias significativas entre la elongación promedio después de 3 días y los contenidos de DQO de las muestras en estudio (no detectable, 7, 33, 150). Esto indicaría que es una limitante del método, ya que aparentemente esta variable no influye en el crecimiento radicular (Alcocer et al., 1988).



Universidad Nacional Autónoma de México

Facultad de Química



Facultad de Química

5.2 Recomendaciones

Se aconseja continuar los experimentos con otras concentraciones de contaminantes que aparentemente no alteren las características visuales del agua para verificar si el método sigue siendo confiable.

Asimismo, se recomienda seguir estudiando la presencia de contaminantes, medidos como demanda química de oxígeno y como demanda bioquímica de oxígeno, para corroborar si lo que ocurría con la muestra del Lago de Chapultepec era que contenía una relación $DBO:DQO > 0.7$ lo que la hacía totalmente biodegradable y por ello no afectó el desarrollo radicular.

ANEXOS

ANEXO 1. METODOLOGÍAS

A1.1. Recolección, preservación, transporte y almacenamiento de muestras acuosas (Cadena de custodia)

Este ensayo no utilizó un procedimiento de muestreo conforme a la Norma NOM-014-SSA1-1993 "Procedimientos Sanitarios para el Muestreo de Agua para Uso y Consumo Humano en Sistemas de Abastecimiento de Agua Públicos y Privados" o basándose en alguna otra norma (Anónimo, 2012a), debido a la falta de personal y tiempo para realizar el muestreo. Sin embargo, para esta primera fase de la investigación se considera válido y representativo para cada uno de los lugares donde fueron tomadas las diferentes muestras.

Se recolectaron aproximadamente 2 litros de agua por muestra para realizar el ensayo en recipientes de polietileno con tapa perfectamente lavados y enjuagados previamente en forma reiterada con la propia agua de la muestra a tomar.

Se consideraron otros parámetros, como el valor de pH a partir de la toma de muestras antes de su transporte, protegiendo las muestras contra el riesgos de aumento de temperatura y contaminación externa. Se identificaron las muestras transportadas.⁷

Para el caso de este bioensayo, a partir de la toma de muestras para evitar cualquier cambio en la composición inicial a través de reacciones físicas, procesos químicos y biológicos, el tiempo máximo de almacenamiento no excedió de 24 horas a temperatura ambiente (25°C como máximo). Se mantuvieron las muestras en la oscuridad para prevenir el crecimiento de algas. Las muestras no fueron analizadas de manera continua por lo que se realizaron en diferentes intervalos de tiempo. Se mantuvieron en

⁷ Norma ISO 5667-16 (1988)



refrigeración como es recomendado por la Norma ISO 5667-16 1998, dado que el agua potable y el agua subterránea, en general son menos propensas a reacciones biológicas que las aguas superficiales y las aguas residuales tratadas o crudas.

A1.2. Construcción de la curva patrón

A continuación se realizó una curva patrón de cobre para determinar la concentración de cobre en muestras problema usando un equipo de espectrometría de absorción atómica.

Análisis de espectrometría de absorción atómica, EAA



Figura A1.1. Curva patrón de cobre

Tabla A 1.1. Concentración de cobre en curva patrón

Absorbancia	Concentración mg/L o ppm
0.0276	3
0.0409	5
0.0535	7
0.071	10
0.1059	15

A1.3. Resultados experimentales de absorción atómica

Mediciones de cobre por espectrofotometría de absorción atómica, EAA



*Muestras tomadas en el Estado de México, en la comunidad Almoloya de las Granadas

Figura A1.2. Análisis por espectroscopía de absorción atómica de las muestras

Tabla A 1.2. Concentración de cobre en las muestras

Muestras	Concentración (ppm) ± desviación estándar
Muestra 1: Lago de Chapultepec	0.167±0.008



Universidad Nacional Autónoma de México

Facultad de Química



Facultad de Química

Muestra 2: Manantial*	0.103±0.023
Muestra 3. Agua de la llave*	0.159±0.022
Muestra 4: Arroyo (riachuelo)*	0.114±0.009
Muestra 5: Agua de la llave proveniente de CU	0.165±0.014

*Muestras tomadas en el Estado de México, en la comunidad Almoloya de las Granadas

A continuación se elaboró un ensayo con bulbos de cebolla para poder evaluar las modificaciones que sufre la raíz con concentraciones de un contaminante seleccionado y que pudieran ser perjudiciales para las personas. Se estudiaron dos soluciones preparadas con agua de la llave de CU y sulfato cúprico pentahidratado con dos concentraciones (2ppm y 10 ppm) y un control negativo (25 ppm), buscando conocer las características de la planta usada como indicador biológico (cebollas de Cambray).

Muestra 5. Agua de la llave de la Ciudad Universitaria (México D.F.)

Agua de la llave (grifo) del Laboratorio 301 del Edificio E-3 del Conjunto E de la Facultad de Química de la UNAM, en la Ciudad Universitaria, México D.F., se tomó el 18/06/13 No se realizó el muestreo conforme a la normativa como se informó al inicio de este Anexo 1. La muestra tomada tenía las siguientes características: No presentó ninguna coloración de modo visual, ni presencia de sólidos suspendidos ni olor. Tenía un pH de 6 medido *in situ* con indicadores de papel. A continuación se presentan los resultados obtenidos de las muestras.

Tabla I. Medición de la elongación de las raíces de cebollas (mm)

	24 h	48 h	72 h	Agua de reposición	Observaciones
1	1	3	7	0.9 mL+0.8mL+1.0mL	Desarrollo medio
2	1	3	8	1.0 mL+0.8mL+0.9mL	Desarrollo medio
3	1	4	10	0.6 mL+0.6mL+0.5mL	Buen desarrollo
4	1	4	4	0.4 mL+0.6mL+0.6mL	Poco desarrollo
5	1	1	5	1.4 mL+0.7mL+1.7mL	Poco desarrollo
6	1	4	5	0.6 mL+0.8mL+0.7mL	Poco desarrollo
7	1	1	3	0.5 mL+0.9mL+1.1mL	Presentó resequedad
8	1	1	4	0.6 mL+0.9mL+0.6mL	Poco desarrollo
9	2	8	19	0.9 mL+0.7mL+0.8mL	Buen desarrollo
10	2	6	11	0.7 mL+0.7mL+0.9mL	Buen desarrollo
11	1	3	7	0.5 mL+0.8mL+0.6mL	Desarrollo medio
12	1	2	3	1.0 mL+0.6mL+0.6mL	Presentó resequedad
13	1	2	5	0.6 mL +0.7mL+1.0mL	Poco desarrollo
14	1	2	5	1.0 mL+0.7mL+1.0mL	Poco desarrollo
15	1	1	2	0.8 mL+0.7mL+0.7mL	Presentó resequedad
16	1	1	6	0.8 mL+1.0mL+0.7mL	Desarrollo medio
17	1	1	5	0.8 mL+0.8mL+1.0mL	Poco desarrollo
18	1	2	7	0.5 mL+1.0mL+0.8mL	Desarrollo medio
19	1	2	4	1.0 mL+0.8mL+0.6mL	Poco desarrollo
20	1	3	2	0.7 mL+0.9mL+0.8mL	Presentó resequedad
Prom	1.1	2.7	6.10		

*Promedio de elongación a las 72 horas = 6.10±1 mm

*Nota = Los promedios durante la experimentación fueron determinados con Excel 2007 con dos cifras significativas



Muestra 5a. Agua de la llave de la Ciudad Universitaria (México D.F.)+CuSO₄.5H₂O

Agua de la llave (grifo) del Laboratorio 301 del Edificio E-3 del Conjunto E de la Facultad de Química de la UNAM, en la Ciudad Universitaria, México D.F., a la que se adicionaron 4.71 mg/0.6L (7.85 mg CuSO₄/L) de sulfato cúprico pentahidratado, que corresponde a 2ppm de cobre. La muestra de agua se tomó el 18/06/13. La muestra tomada, como se mencionó arriba, tenía las siguientes características: no presentó ninguna coloración de modo visual, ni presencia de sólidos suspendidos ni olor. Tenía un pH de 6 medido *in situ* con indicadores de papel. Después de la adición de la sal de cobre el pH fue de 6 medido en campo con indicadores de papel.

Tabla II. Medición de la elongación de las raíces de cebollas (mm)

	24 h	48 h	72 h	Agua de reposición	Observaciones
1	1	3	6	0.7 mL+0.6mL+0.5mL	Desarrollo medio
2	1	2	2	0.7 mL+1.0mL+0.7mL	Presentó resequead
3	1	1	3	0.8 mL+0.7mL+0.6mL	Poco desarrollo
4	1	1	3	0.4 mL +0.8mL+0.8mL	Presentó resequead
5	1	1	6	0.4 mL+0.7mL+1.0mL	Desarrollo medio
6	1	1	3	0.7 mL+0.5mL+0.7mL	Presentó resequead
7	1	1	2	0.9 mL+1.0mL+0.7mL	Presentó resequead
8	1	4	3	0.3 mL+0.6mL+0.6mL	Poco desarrollo
9	1	2	6	0.4 mL+0.6mL+0.8mL	Buen desarrollo
10	1	7	8	0.4 mL+0.6mL+0.8mL	Buen desarrollo
11	1	1	3	0.8 mL+0.8mL+0.5mL	Poco desarrollo
12	1	1	3	0.4 mL+0.8mL+1.0mL	Presentó resequead

Tabla II. Medición de la elongación de las raíces de cebollas (mm)					
	24 h	48 h	72 h	Agua de reposición	Observaciones
13	1	1	2	0.8 mL +0.9mL+0.6mL	Presentó resequedad
14	1	3	3	0.6 mL+0.9mL+0.8mL	Poco desarrollo
15	1	4	6	0.7 mL+0.7mL+1.0mL	Presentó resequedad
16	1	1	4	0.3 mL+0.5mL+1.0mL	Poco desarrollo
17	1	1	5	0.2 mL+0.7mL+1.0mL	Desarrollo medio
18	1	1	3	0.7 mL+0.8mL+1.0mL	Poco desarrollo
19	1	3	2	0.7 mL +0.8mL+0.8mL	Presentó resequedad
20	1	2	3	0.9 mL+0.7mL+0.5mL	Poco desarrollo
Prom	1.05	2.05	3.80		

*Promedio de elongación a las 72 horas = 3.80 ± 1 mm

*Nota= Los promedios durante la experimentación fueron determinados con Excel 2007 con dos cifras significativas

Muestra 5b. Agua de la llave de la Ciudad Universitaria (México D.F.)+CuSO₄.5H₂O

Agua de la llave (grifo) del Laboratorio 301 del Edificio E-3 del Conjunto E de la Facultad de Química de la UNAM, en la Ciudad Universitaria, México D.F., a la que se adicionaron 23.57 mg/0.6L (39.28 mg CuSO₄/L) de sulfato cúprico pentahidratado (MIII), que corresponde a 10ppm de cobre. La muestra de agua se tomó el 18/06/13. La muestra, como arriba, tenía las siguientes características: no presentó ninguna coloración de modo visual, ni presencia de sólidos suspendidos ni olor. Tenía un pH de 6 medido *in situ* con indicadores de papel. Después de la adición de la sal de cobre el pH fue de 6 medido en campo con indicadores de papel.



Tabla III. Medición de la elongación de las raíces de cebollas (mm)

	24 h	48 h	72 h	Agua de reposición	Observaciones
1	1	1	3	1.0 mL+0.7mL+1.1mL	Poco desarrollo
2	1	1	2	0.8 mL+0.5mL+0.9mL	Poco desarrollo
3	1	1	3	0.8 mL+0.8mL+0.9mL	Poco desarrollo
4	1	1	3	0.7 mL +0.8mL+0.9mL	Poco desarrollo
5	1	2	3	0.6 mL+0.7mL+0.8mL	Poco desarrollo
6	1	3	2	1.0 mL+0.6mL+0.8mL	Poco desarrollo
7	1	1	3	0.5 mL+1.0mL+0.5mL	Poco desarrollo
8	1	1	4	0.6 mL+0.8mL+0.9mL	Poco desarrollo
9	1	1	2	0.8 mL +0.7mL+0.9mL	Presentó resequead
10	1	3	3	1.0 mL+1.0mL+0.7mL	Presentó resequead
11	1	1	1	0.8 mL+1.0mL+0.9mL	Presentó resequead
12	1	1	3	0.9 mL+1.0mL+0.6mL	Poco desarrollo
13	1	1	2	0.6 mL +0.7mL+0.8mL	Poco desarrollo
14	1	1	4	0.7 mL+0.8mL+0.8mL	Poco desarrollo
15	1	1	3	0.6 mL+1.0mL+0.6mL	Poco desarrollo
16	1	3	2	0.7 mL+0.5mL+0.8mL	Poco desarrollo
17	1	2	3	0.6 mL+0.6mL+0.5mL	Poco desarrollo
18	1	1	2	0.6 mL+1.0mL+0.8mL	Poco desarrollo
19	1	1	3	0.6 mL +0.8mL+0.7mL	Poco desarrollo
20	1	1	2	0.3 mL+1.0mL+0.7mL	Poco desarrollo
Prom	1.0	1.4	2.65		

*Promedio de elongación a las 72 horas = 2.65±1 mm

*Nota= Los promedios durante la experimentación fueron determinados con Excel 2007 con dos cifras significativas

ANEXO 2. DATOS EXPERIMENTALES

Cada prueba está basada en el procedimiento de la Figura 3.2, ver página 35.

Lago de Chapultepec en la Ciudad de México

Fue tomada el día 26/09/12. La muestra tenía las siguientes características: una coloración verde brillante a parda de modo visual, con la presencia de sólidos suspendidos en gran abundancia. Se tomó de la parte sur del lago, donde se considera que es más verde. Tenía un pH de 7 medido en campo con indicadores de papel. No se realizó la caracterización completa de las muestras ni se siguió un muestreo de acuerdo con la norma correspondiente.

Tabla A-1a. Medición de la elongación de las raíces de cebollas a temperatura ambiente (mm). Prueba 1

	24 h	48 h	72 h	Agua de reposición	Observaciones
1	5	8	13.5	1.1 mL+0.8mL+1.2mL	Poco desarrollo
2	6	11	21	1.2 mL+0.9mL+1.4mL	Desarrollo medio
3	6	11	23	1.1 mL+1.1mL+1.6mL	Desarrollo medio
4	6	6	6	1.2 mL+0.8mL+1.3mL	Presentó resequedad
5	7	15	30	1.4 mL+0.7mL+1.7mL	Buen desarrollo
6	1	3	11	1.1 mL+0.8mL+1.3mL	Presentó resequedad
7	7	19	32	1.4 mL+1.1mL+1.4mL	Buen desarrollo
8	1	1	1	1.2 mL+0.6mL+1.0mL	No presentó desarrollo
9	1	4	11	1.1 mL+0.8mL+1.3mL	Presentó resequedad
10	3	7	7	0.6 mL+0.5mL+0.4mL	Presentó resequedad
11	6	12	25	0.8 mL+0.6mL+0.3mL	Desarrollo medio
12	6	12	21	0.5 mL+0.3mL+0.3mL	Poca absorción de agua



Tabla A-1a. Medición de la elongación de las raíces de cebollas a temperatura ambiente (mm). Prueba 1

	24 h	48 h	72 h	Agua de reposición	Observaciones
13	5	6	12	0.6 mL +0.8mL+0.7mL	Poco desarrollo
14	8	14	25	0.4 mL+0.4mL+0.5mL	Poca absorción de agua
15	5	11	23	0.7 mL+0.4mL+0.5mL	Desarrollo medio
Prom	4.86	9.33	17.43		

*Promedio a las 72 horas= 17.43±1 mm

*Nota= Los promedios durante la experimentación fueron determinados con Excel 2007 con dos cifras significativas

Tabla A-1b. Medición de la elongación de las raíces de cebollas a temperatura ambiente (mm). Réplica 1

	24 h	48 h	72 h	Agua de reposición	Observaciones
1	6	7	11	0.5 mL+0.5mL+0.5mL	Poco desarrollo
2	5	13	26	0.4 mL+0.3mL+0.3mL	Buen desarrollo
3	8	18	27	0.7 mL+0.3mL+0.8mL	Buen desarrollo
4	1	4	6	1.0 mL+0.9mL+1.3mL	Presentó resequedad
5	8	16	30	1.1 mL+0.7mL+1.1mL	Buen desarrollo
6	6.5	15	26	0.9 mL+0.8mL+0.6mL	Buen desarrollo
7	1	3	6	1.2 mL+1.1mL+0.9mL	Presentó resequedad
8	1	5	11	0.9 mL+1.0mL+1.4mL	Poco desarrollo
9	1	3	10	1.0 mL+1.0mL+1.0mL	Poco desarrollo
10	1	4	11	1.1 mL+1.2mL+1.6mL	Poco desarrollo

Tabla A-1b. Medición de la elongación de las raíces de cebollas a temperatura ambiente (mm). Réplica 1

	24 h	48 h	72 h	Agua de reposición	Observaciones
11	1	6	8	1.0 mL+1.2mL+1.2mL	Poco desarrollo
12	1	1	13	0.8 mL+1.0mL+1.4mL	Poco desarrollo
13	1	3	11	0.7 mL +0.9mL+1.0mL	Poco desarrollo
14	1	3	10	0.5 mL+0.5mL+1.3mL	Poca absorción de agua
15	1	2	11	0.8 mL+0.9mL+0.6mL	Poco desarrollo
Prom	2.9	6.86	14.46		

*Promedio a las 72 horas= 14.46±1 mm

*Nota= Los promedios durante la experimentación fueron determinados con Excel 2007 con dos cifras significativas

Tabla A-1c. Medición de la elongación de las raíces de cebollas a temperatura ambiente (mm). Réplica 2

	24 h	48 h	72 h	Agua de reposición	Observaciones
1	2	3	7	0.5 mL+1.0mL+1.0mL	Poco desarrollo
2	6	7	7	0.8 mL+0.9mL+1.0mL	Poco desarrollo
3	1	1	1	0.6 mL+1.0mL+0.7mL	No presentó desarrollo
4	10	16	21	1.0 mL+0.6mL+1.2mL	Desarrollo medio
5	6	10	19	1.2 mL+1.1mL+1.6mL	Desarrollo medio



Tabla A-1c. Medición de la elongación de las raíces de cebollas a temperatura ambiente (mm). Réplica 2

	24 h	48 h	72 h	Agua de reposición	Observaciones
6	1	1	7	1.2 mL+0.5mL+1.6mL	Poco desarrollo
7	1	3	8	1.2 mL+0.8mL+1.2mL	Poco desarrollo
8	4	6	15	1.1 mL+1.5mL+1.5mL	Poco desarrollo
9	3.5	10	20	1.0 mL+1.4mL+1.2mL	Desarrollo medio
10	7	10	20	1.1 mL+0.8mL+1.3mL	Desarrollo medio
11	1	4	10	1.0 mL+1.3mL+1.0mL	Poco desarrollo
12	1	4	6	0.9 mL+0.8mL+0.9mL	Poco desarrollo
13	7.5	12	30	1.1 mL +0.7mL+1.0mL	Buen desarrollo
14	10	13	25	1.2 mL+0.9mL+1.1mL	Buen desarrollo
15	5	9	13	1.3 mL+1.0mL+1.3mL	Poco desarrollo
Prom	4.4	7.26	13.93		

*Promedio a las 72 horas= 13.93±1 mm

*Nota= Los promedios durante la experimentación fueron determinados con Excel 2007 con dos cifras significativas

Manantial de la comunidad de Almoloya de las Granadas en el Estado de México

Se tomó la muestra del manantial de agua donde las personas toman el agua directamente para beber, debido a que visualmente tiene características de "pureza", el día 23/09/12. La localidad es Almoloya de las Granadas en el Estado de México. Tenía

las siguientes características: No presentó ninguna coloración de modo visual, sin presencia de sólidos suspendidos ni olor. Emanaba directamente de la tierra. Tenía un pH de 5.5 medido en campo con indicadores de papel. No se realizó una caracterización de las muestras ni se siguió la normativa para su muestreo.

Algunas cebollas que presentaron problemas en su crecimiento fueron reemplazadas por nuevas cebollas de Cambray, a las que se denominaron con un inciso "a" para su identificación.

Tabla A-2a. Medición de la elongación de las raíces de cebollas a temperatura ambiente (mm). Prueba 1

	24 h	48 h	72 h	Agua de reposición	Observaciones
1	3	9	12	1.1 mL+0.5mL+0.5mL	Poco desarrollo
2	2	8	18	0.9 mL+1.0mL+1.2mL	Poco desarrollo
3	1	8	20	1.3 mL+1.3mL+1.3mL	Desarrollo medio
4	1	2	12	1.3 mL+1.5mL+1.6mL	Poco desarrollo
5	1	5	13	0.9 mL+1.5mL+1.5mL	Poco desarrollo
6	1	6	15	1.3 mL+1.3mL+1.4mL	Poco desarrollo
7	1	11	22	1.2 mL+1.5mL+1.5mL	Desarrollo medio
8	1	2	6	1.0 mL+0.8mL+1.1mL	Presentó resequead, se reemplazó
8a	6	20	24	0.5 mL+0.7mL+0.6mL	Desarrollo medio
9	1	2	10	1.1 mL+1.1mL+1.6mL	Presentó resequead, se reemplazó
9a	10	21	22	0.4mL+0.4mL+0.6mL	Desarrollo medio
10	1	12	12	1.2 mL+0.9mL+1.0mL	Presentó resequead
10a	8	13	15	0.6mL+0.3mL+0.5mL	Poco desarrollo
11	1	1	1	1.5 mL+0.9mL+1.0mL	Presentó resequead, se reemplazó
11a	6	11	16	0.9mL+0.6mL+0.4mL	Poco desarrollo
12	1	1	1	0.9 mL+0.6mL+1.1mL	Presentó resequead, se



Tabla A-2a. Medición de la elongación de las raíces de cebollas a temperatura ambiente (mm). Prueba 1

	24 h	48 h	72 h	Agua de reposición	Observaciones
12a	6	12	14	0.9mL+1.1mL+0.9mL	Poco desarrollo
13	1	4	6	0.8 mL +1.5mL+1.1mL	Presentó resequedad, se reemplazó
13a	1	1	1	0.8mL+0.8mL+0.8mL	Escaso desarrollo
14	1	6	11	1.4 mL+1.1mL+1.1mL	Presentó resequedad, se reemplazó
14a	2	11	17	0.9mL+1.3mL+0.8mL	Poco desarrollo
15	1	4	15	1.5 mL+1.0mL+1.2mL	Poco desarrollo
Prom	3.33	9.46	15.73		

*Promedio a las 72 horas= 15.73±1 mm

*Nota= Los promedios durante la experimentación fueron determinados con Excel 2007 con dos cifras significativas

Tabla A-2b. Medición de la elongación de las raíces de cebollas a temperatura ambiente (mm). Réplica 1

	24 h	48 h	72 h	Agua de reposición	Observaciones
1	1	4	12	1.1 mL+0.6mL+1.0mL	Poco desarrollo
2	1	1	1	1.2 mL+1.5mL+1.1mL	Presentó resequedad
2a	4	19	19	1.1mL+1.4mL+1.1mL	Desarrollo medio
3	1	12	22	1.6 mL+1.6mL+0.8mL	Desarrollo medio

Tabla A-2b. Medición de la elongación de las raíces de cebollas a temperatura ambiente (mm). Réplica 1

	24 h	48 h	72 h	Agua de reposición	Observaciones
4	2	2	18	1.0 mL+1.0mL+0.4mL	Poco desarrollo
5	1	11	24	1.4 mL+1.3mL+1.0mL	Desarrollo medio
6	1	2	1	1.6 mL+1.3mL+1.3mL	Presentó resequedad
6a	9	27	27	1.1mL+1.5mL+0.9mL	Buen desarrollo
7	1	3	1	1.2 mL+1.4mL+1.0mL	Presentó resequedad
7a	6	15	35	1.1mL+1.5mL+1.1mL	Buen desarrollo
8	1	1	6	1.3 mL+1.2mL+1.0mL	Presentó resequedad
8a	3	18	32	0.7mL+1.0mL+1.0mL	Buen desarrollo
9	1	11	21	1.4 mL+1.2mL+1.3mL	Desarrollo medio
10	1	5	5	1.6 mL+1.1mL+1.0mL	Presentó resequedad
10a	5	8	20	1.2mL+0.9mL+1.0mL	Buen desarrollo
11	1	11	25	1.4 mL+1.3mL+1.6mL	Desarrollo medio
12	1	15	28	1.6 mL+0.5mL+0.5mL	Buen desarrollo
13	5	14	26	1.5 mL+0.5mL+0.5mL	Buen desarrollo
14	2	10	18	0.8 mL+1.0mL+1.0mL	Poco desarrollo
15	4	11	21	1.6 mL+1.0mL+1.4mL	Desarrollo medio
Prom	3.06	12.53	23.20		

*Promedio a las 72 horas= 23.20±1 mm

*Nota= Los promedios durante la experimentación fueron determinados con Excel 2007 con dos cifras significativas



Tabla A-2c. Medición de la elongación de las raíces de cebollas a temperatura ambiente (mm). Réplica 2

	24 h	48 h	72 h	Agua de reposición	Observaciones
1	2	6	15	1.1 mL+0.5mL+0.5mL	Poco desarrollo
2	2	7	15	0.9 mL+1.0mL+1.2mL	Poco desarrollo
3	2	4	15	1.3 mL+1.3mL+1.3mL	Poco desarrollo
4	1	6	20	1.3 mL+1.5mL+1.6mL	Desarrollo medio
5	1	8	20	0.9 mL+1.5mL+1.5mL	Desarrollo medio
6	1	5	15	1.3 mL+1.3mL+1.4mL	Poco desarrollo
7	1	7	8	1.2 mL+1.5mL+1.5mL	Presentó resequedad
7^a	5	15	25	1.2mL+1.5mL+1.1mL	Buen desarrollo
8	2	3	13	1.0 mL+0.8mL+1.1mL	Poco desarrollo
9	1	6	15	1.1 mL+1.1mL+1.6mL	Poco desarrollo
10	1	10	12	1.2 mL+0.9mL+1.0mL	Poco desarrollo
11	1	4	12	1.5 mL+0.9mL+1.0mL	Poco desarrollo
12	1	6	13	0.9 mL+0.6mL+1.1mL	Poco desarrollo
13	1	1	5	0.8 mL +1.5mL+1.1mL	Presentó resequedad
13a	3	14	15	0.7mL+0.9mL+1.0mL	Poco desarrollo
14	3	11	25	1.4 mL+1.1mL+1.1mL	Desarrollo medio
15	1	1	11	1.5 mL+1.0mL+1.2mL	Presentó resequedad
15a	8	25	25	0.9mL+1.6mL+0.9mL	Buen desarrollo
Prom	2.26	8.66	17.00		

*Promedio a las 72 horas= 17.00±1 mm

*Nota= Los promedios durante la experimentación fueron determinados con Excel 2007 con dos cifras significativas

Tubería de suministro de la comunidad de Almoloya de las Granadas

Aquí la gente de la comunidad usa el agua para realizar sus actividades cotidianas y también se usa como agua potable. Fue tomada la muestra el día 23/09/12. Tenía las siguientes características: Presentó una coloración blanquecina al abrir el grifo (llave) que, después, se tornó incolora de modo visual, sin presencia de sólidos suspendidos ni olor. Tenía un pH de 6 medido en campo con indicadores de papel. Como en las muestras anteriores, no se realizó su caracterización completa ni se hizo el muestreo de acuerdo con la normativa vigente.

Tabla A-3a. Medición de la elongación de las raíces de cebollas a temperatura ambiente (mm). Prueba 1

	24 h	48 h	72 h	Agua de reposición	Observaciones
1	1	8	9	1.3 mL+1.1mL+0.9mL	Poco desarrollo
2	1	5	5	1.6 mL+1.2mL+1.0mL	Se presentó resequedad
3	1	3	10	1.6 mL+1.2mL+1.1mL	Poco desarrollo
4	1	2	11	1.5 mL+1.1mL+1.3mL	Poco desarrollo
5	1	6	15	0.9 mL+1.0mL+1.2mL	Poco desarrollo
6	1	4	15	1.2 mL+1.0mL+1.1mL	Poco desarrollo
7	1	2	6	1.2 mL+1.3mL+0.8mL	Se presentó resequedad
8	1	5.5	15	1.1 mL+1.2mL+1.2mL	Poco desarrollo
9	1	4	7	1.3 mL+1.1mL+1.2mL	Se presentó resequedad
10	6	15	31	0.9 mL+0.8mL+0.6mL	Buen desarrollo
11	3	8	20	0.6 mL+0.6mL+0.8mL	Desarrollo medio
12	4	9	15	0.6 mL+0.5mL+0.7mL	Poco desarrollo
13	4	5	12	0.6 mL +0.5mL+0.5mL	Poco desarrollo
14	7	4.5	25	0.7 mL+0.8mL+0.8mL	Desarrollo medio
15	7	15	20	1.9 mL+0.5mL+1.3mL	Desarrollo medio
Prom	2.66	6.4	14.4		



*Promedio a las 72 horas= 14.40±1 mm

*Nota= Los promedios durante la experimentación fueron determinados con Excel 2007 con dos cifras significativas

Tabla A-3b. Medición de la elongación de las raíces de cebollas a temperatura ambiente (mm). Réplica 1

	24 h	48 h	72 h	Agua de reposición	Observaciones
1	6.5	12	20	0.7 mL+1 mL+1.0 mL	Desarrollo medio
2	7	10	20	1.2 mL+0.8 mL+0.6 mL	Desarrollo medio
3	4	10	25	0.5 mL+0.5 mL+0.5mL	Desarrollo medio
4	6.5	12	27	0.5 mL+0.5 mL+0.5mL	Buen desarrollo
5	1	4	17	0.8 mL+1.5 mL+1.3mL	Poco desarrollo
6	3	8	17	1.5 mL+0.8 mL+1.2mL	Poco desarrollo
7	1	2	7	1.1 mL+1.3 mL+1.1mL	Se presentó resequedad
8	1	4	12	0.8 mL+1.4 mL+1.4mL	Poco desarrollo
9	1	4	9	1 mL+0.8 mL+1.2mL	Se presentó resequedad
10	1	3	7	0.5 mL+1.5 mL+1.1mL	Poco desarrollo
11	1	5	8	0.8 mL+1.1 mL+0.6mL	Poco desarrollo
12	1	2	8	1.3 mL+1.2 mL+1.2mL	Poco desarrollo
13	1	2	8	0.8 mL+1.0 mL+0.9mL	Poco desarrollo
14	3	15	31	0.8 mL+0.8mL+0.6mL	Buen desarrollo
15	5	10	14	1.1 mL+1.0mL+1.0mL	Poco desarrollo
Prom	2.86	6.86	15.33		

*Promedio a las 72 horas= 15.33±1 mm

*Nota= Los promedios durante la experimentación fueron determinados con Excel 2007 con dos cifras significativas

Tabla A-3c. Medición de la elongación de las raíces de cebollas a temperatura ambiente (mm). Réplica 2

	24 h	48 h	72 h	Agua de reposición	Observaciones
1	2	3	11	0.9 mL+1.2 mL+0.6 mL	Poco desarrollo
2	1	8	17	0.9 mL+1.0 mL+1.1 mL	Poco desarrollo
3	3	9	13	0.9 mL+1.0 mL+1.0 mL	Poco desarrollo
4	1	3	17	0.5 mL+1.2 mL+1.5mL	Poco desarrollo
5	8	20	37	0.9 mL+1.2 mL+1.4mL	Buen desarrollo
6	3	5	6	0.6 mL+0.9 mL+1.1mL	Se presentó resequedad
7	9	16	33	1.3 mL+1.5 mL+1.8mL	Buen desarrollo
8	1	1	12	0.9 mL+1.5 mL+1.1mL	Poco desarrollo
9	3	12	25	1.3 mL+0.9 mL+1.5mL	Desarrollo medio
10	8	20	33	1.4 mL+1.5 mL+1.5mL	Buen desarrollo
11	1	5	12	1.1 mL+0.7 mL+1.2mL	Poco desarrollo
12	6	15	26	1.6 mL+1.1 mL+1.6mL	Desarrollo medio
13	5	13	24	1.0 mL+1.0 mL+1.9mL	Desarrollo medio
14	1	5	12	0.8 mL+1.0mL+1.5mL	Poco desarrollo
15	1	2	7	1.1 mL+1.2mL+1.6mL	Poco desarrollo
Prom	3.53	9.13	19.00		

*Promedio a las 72 horas= 19.00±1 mm

*Nota= Los promedios durante la experimentación fueron determinados con Excel 2007 con dos cifras significativas.

Agua de río (riachuelo)

Riachuelo sin nombre cercano a la comunidad de Almoloya de las Granadas, donde la gente usa el agua para realizar sus actividades cotidianas y también se usa como agua



potable. Fue tomada el día 23/09/12. Tenía las siguientes características: no presentó ninguna coloración de modo visual, ni presencia de sólidos suspendidos ni olor. Tenía un pH de 6 medido en campo con indicadores de papel. Tampoco se realizó su caracterización completa ni se hizo el muestreo como marca la normativa.

Algunas cebollas que presentaron problemas en su crecimiento fueron reemplazadas por nuevas cebollas de Cambray, las que se denominaron como arriba con un inciso "a" para su identificación.

Tabla A-4a. Medición de la elongación de las raíces de cebollas a temperatura ambiente (mm). Prueba 1

	24 h	48 h	72 h	Agua de reposición	Observaciones
1	1	1	1	1.4mL+1.2mL+1.1mL	Se presentó resequedad, se reemplazó
1a	1	4	11	0.6mL+0.5mL+0.6mL	Poco desarrollo
2	1	1	1	1.3mL+1.3mL+1.6mL	Se presentó resequedad, se reemplazó
2a	1	12	23	0.9mL+0.5mL+0.5mL	Desarrollo medio
3	1	1	1	1.3 mL+0.9mL+1.5mL	Se presentó resequedad, se reemplazó
3a	3	12	22	0.8mL+0.4mL+0.6mL	Desarrollo medio
4	1	1	2	1.1 mL+1.4 mL+1.3mL	Se presentó resequedad, se reemplazó

Tabla A-4a. Medición de la elongación de las raíces de cebollas a temperatura ambiente (mm). Prueba 1

	24 h	48 h	72 h	Agua de reposición	Observaciones
4a	3	8	17	0.5mL+0.5mL+0.8mL	Poco desarrollo
5	1	1	1	1.1 mL+1.3 mL+1.2mL	Se presentó resequedad, se reemplazó
5a	4	12	27	0.8mL+0.6mL+0.9mL	Buen desarrollo
6	1	5	15	1.0 mL+1.5 mL+1.2 mL	Poco desarrollo
7	1	1	7	0.8 mL+1.0 mL+1.3 mL	Poco desarrollo
8	1	1	7	1.2 mL+1.0 mL+1.3 mL	Poco desarrollo
9	1	1	4	0.9 mL+0.8 mL+1.0 mL	Poco desarrollo, se reemplazó
9a	2	6	12	0.7mL+0.3mL+0.8mL	Poco desarrollo
10	1	2	3	0.8 mL+0.4 mL+0.8 mL	Se presentó resequedad, se reemplazó
10a	3	13	41	0.9mL+1.0mL+1.1mL	Buen desarrollo
11	1	10	25	0.7 mL+1.1 mL+1.2 mL	Desarrollo medio
12	1	11	18	1.0 mL+1.0 mL+1.1 mL	Poco desarrollo
13	2	8	12	1.0 mL+1.1 mL+1.4 mL	Poco desarrollo
14	1	6	17	0.7 mL+1.0 mL+1.2 mL	Poco desarrollo
15	1	1	1	1.3 mL+1.4 mL+1.1 mL	Se presentó resequedad, se reemplazó
15a	1	3	3	0.5mL+0.8mL+0.8mL	Escaso desarrollo
Prom	1.73	7.46	17.13		

*Promedio a las 72 horas=17.13±1 mm

*Nota= Los promedios durante la experimentación fueron determinados con Excel 2007 con dos cifras significativas



Tabla A-4b. Medición de la elongación de las raíces de cebollas a temperatura ambiente (mm). Réplica 1

	24 h	48 h	72 h	Agua de reposición	Observaciones
1	1	1	1	0.8mL+1.2mL+1.3mL	Se presentó resequedad, se reemplazó
1a	6	17	23	0.6mL+0.7mL+0.9mL	Desarrollo medio
2	1	1	5	1.0mL+1.4mL+1.1mL	Se presentó resequedad, se reemplazó
2a	3	3	5	0.7mL+0.6mL+0.4mL	Presentó resequedad
3	3	4	5	1.0 mL+0.8mL+0.5mL	Se presentó resequedad, se reemplazó
3a	1	4	17	0.8mL+0.9mL+0.8mL	Poco desarrollo
4	1	7	20	0.9 mL+1.1 mL+1.0mL	Desarrollo medio
5	1	6	14	1.5 mL+1.3 mL+1.3mL	Poco desarrollo
6	1	7	12	1.0 mL+0.9 mL+1.2 mL	Poco desarrollo
7	2	1	2	0.6 mL+0.3 mL+0.4 mL	Se presentó resequedad, se reemplazó
7a	7	19	43	0.8mL+0.9mL+1.0mL	Buen desarrollo
8	1	1	10	1.0 mL+0.9 mL+1.5 mL	Poco desarrollo
9	1	4	3	0.8 mL+0.6 mL+0.5 mL	Se presentó resequedad, se reemplazó
9a	3	15	30	0.7mL+1.1mL+1.3mL	Buen desarrollo
10	1	2	11	0.7 mL+0.7 mL+0.8 mL	Poco desarrollo
11	1	3	7	1.0 mL+1.2 mL+1.1 mL	Poco desarrollo
12	1	3	3	0.9 mL+1.1 mL+0.8 mL	Se presentó resequedad, se

Tabla A-4b. Medición de la elongación de las raíces de cebollas a temperatura ambiente (mm). Réplica 1

	24 h	48 h	72 h	Agua de reposición	Observaciones
					reemplazó
12a	1	7	25	0.8mL+0.8mL+0.6mL	Desarrollo medio
13	1	9	17	0.7 mL+1.0 mL+1.4 mL	Poco desarrollo
14	2	7	13	1.0 mL+1.0 mL+1.0 mL	Poco desarrollo
15	1	1	13	1.3 mL+1.3 mL+1.5 mL	Poco desarrollo
Prom	2.06	7.20	17.33		

*Promedio a las 72 horas= 17.33±1 mm

*Nota= Los promedios durante la experimentación fueron determinados con Excel 2007 con dos cifras significativas

Tabla A-4c. Medición de la elongación de las raíces de cebollas a temperatura ambiente (mm). Réplica 2

	24 h	48 h	72 h	Agua de reposición	Observaciones
1	2	10	19	1.1mL+1.4mL+1.5mL	Desarrollo medio
2	1	6	17	1.0mL+1.4mL+1.2mL	Poco desarrollo
3	1	6	10	1.0 mL+1.3mL+1.0mL	Poco desarrollo
4	1	6	10	1.3 mL+1.3 mL+1.2mL	Poco desarrollo
5	1	1	11	0.6 mL+0.6 mL+0.5mL	Poco desarrollo
6	1	9	19	1.2 mL+1.2 mL+1.1 mL	Desarrollo medio
7	1	5	7	1.0 mL+1.5 mL+1.1 mL	Poco desarrollo
8	2	6	23	0.4 mL+1.2 mL+1.5 mL	Desarrollo medio
9	1	1	2	0.8 mL+0.8 mL+0.6 mL	Se presentó resequedad, se reemplazó
9a	1	2	2	0.7mL+1.1mL+0.8mL	Escaso desarrollo
10	1	2	4	0.7 mL+0.3 mL+0.7 mL	Se presentó resequedad, se reemplazó
10a	2	10	22	0.7mL+1.2mL+1.0mL	Desarrollo medio



Universidad Nacional Autónoma de México

Facultad de Química



Facultad de Química

Tabla A-4c. Medición de la elongación de las raíces de cebollas a temperatura ambiente (mm). Réplica 2

	24 h	48 h	72 h	Agua de reposición	Observaciones
11	1	2	13	0.9 mL+0.4 mL+0.8 mL	Poco desarrollo
12	1	1	1	0.8 mL+1.1 mL+0.5 mL	Se presentó resequedad, se reemplazó
12a	1	3	26	0.6mL+0.9mL+0.9mL	Buen desarrollo
13	1	7	10	1.3 mL+0.7 mL+0.5 mL	Poco desarrollo
14	1	1	4	1.0 mL+0.8 mL+0.8 mL	Se presentó resequedad, se reemplazó
14a	9	22	46	0.7mL+1.1mL+1.2mL	Buen desarrollo
15	2	14	23	1.2 mL+0.5 mL+0.5 mL	Desarrollo medio
Prom	1.8	7.26	17.2		

*Promedio a las 72 horas= 17.2 ± 1 mm

*Nota= Los promedios durante la experimentación fueron determinados con Excel 2007 con dos cifras significativas

Control positivo

El control positivo también fue preparado con agua de la llave (grifo) del Laboratorio 301 del Edificio E-3 del Conjunto E de la Facultad de Química de la UNAM, en la Ciudad Universitaria, México D.F., a la que no se adicionó sulfato cúprico pentahidratado. La muestra de agua se tomó el 28/09/12. Tenía las siguientes características: no presentó ninguna coloración de modo visual, ni presencia de sólidos suspendidos ni olor. Tenía un pH de 6 medido *in situ* con indicadores de papel. Como ya se reiteró anteriormente, no se realizó caracterización de las muestras ni muestreo siguiendo la normativa.

Tabla A-5a. Medición de la elongación de las raíces de cebollas a temperatura ambiente (mm). Prueba 1

	24 h	48 h	72 h	Agua de reposición	Observaciones
1	2	4	4	1.3mL+1.1mL+0.7mL	Se presentó resequedad
2	1	10	10	1.1mL+1.3mL+0.8mL	Poco desarrollo
3	3	5	20	1.4 mL+1.4mL+1.2mL	Desarrollo medio
4	1	4	10	1.3 mL+0.9 mL+1.4mL	Se presentó resequedad
5	1	1	14	1.3 mL+0.7 mL+0.8mL	Poco desarrollo
6	1	1	1	1.5 mL+0.5 mL+0.8 mL	Se presentó resequedad
7	1	1	16	1.5 mL+0.8 mL+1.1 mL	Poco desarrollo
8	3	3	3	1.3 mL+1.3 mL+0.7 mL	Se presentó resequedad
9	3	9	18	0.9 mL+0.5 mL+1.1 mL	Poco desarrollo
10	3	3	22	1.2 mL+0.6 mL+0.8 mL	Desarrollo medio
11	1	1	1	1.2 mL+0.8 mL+1.2 mL	Se presentó resequedad
12	1	4	4	0.6 mL+0.7 mL+0.8 mL	Poco desarrollo
13	3	3	3	0.6 mL+0.9 mL+0.5 mL	Se presentó resequedad
14	3	3	10	1.4 mL+1.2 mL+0.6 mL	Poco desarrollo
15	1	3	3	0.9 mL+0.6 mL+0.7 mL	Se presentó resequedad
Prom	1.86	5.26	13.93		



*Promedio a las 72 horas= 13.93±1 mm

*Nota= Los promedios durante la experimentación fueron determinados con Excel 2007 con dos cifras significativas

Tabla A-5b. Medición de la elongación de las raíces de cebollas en condiciones estándar (mm). Réplica 1

	24 h	48 h	72 h	Agua de reposición	Observaciones
1	3	3	10	1.5mL+1.5mL+1.0mL	Poco desarrollo
2	1	3	12	1.0mL+0.6mL+0.5mL	Poco desarrollo
3	1	3	10	0.9 mL+0.7mL+0.4mL	Poco desarrollo
4	1	1	8	1.0 mL+0.9 mL+0.8mL	Poco desarrollo
5	1	1	1	0.7 mL+0.9 mL+0.8mL	Se presentó resequedad
6	1	1	1	1.4 mL+0.7 mL+0.7 mL	Se presentó resequedad
7	1	2	3	1.3 mL+1.3 mL+0.9 mL	Se presentó resequedad
8	1	3	2	1.3 mL+0.9 mL+0.8 mL	Se presentó resequedad
9	1	3	3	1.4 mL+1.3 mL+0.6 mL	Se presentó resequedad
10	3	13	4	0.4 mL+1.1 mL+0.5 mL	Poco desarrollo
11	1	1	3	1.2 mL+1.1 mL+0.8 mL	Se presentó resequedad
12	3	9	30	1.5 mL+1.1 mL+1.1 mL	Buen desarrollo
13	1	1	5	1.1 mL+0.8 mL+1.5 mL	Se presentó resequedad
14	1	1	20	1.3 mL+0.7 mL+1.0 mL	Desarrollo medio
15	1	1	12	0.8 mL+0.8 mL+1.0 mL	Poco desarrollo
Prom	1.4	6.33	15.46		

*Promedio a las 72 horas= 15.46±1 mm

*Nota= Los promedios durante la experimentación fueron determinados con Excel 2007 con dos cifras significativas

Tabla A-5c. Medición de la elongación de las raíces de cebollas en condiciones estándar (mm). Réplica 2

	24 h	48 h	72 h	Agua de reposición	Observaciones
1	1	6	9	0.6mL+0.9mL+1.0mL	Poco desarrollo
2	1	2	19	1.0mL+0.9mL+1.0mL	Desarrollo medio
3	1	1	12	1.3 mL+0.8mL+1.0mL	Poco desarrollo
4	1	1	1	0.8 mL+0.8 mL+0.4mL	Se presentó resequedad
5	1	3	1	1.1 mL+1.1 mL+0.6mL	Se presentó resequedad
6	1	7	13	1.1 mL+1.1 mL+1.1 mL	Poco desarrollo
7	1	1	11	0.9 mL+1.1 mL+1.0 mL	Se presentó resequedad
8	9	15	15	0.9 mL+0.7 mL+1.2 mL	Poco desarrollo
9	3	6	25	1.5 mL+1.2 mL+1.6 mL	Desarrollo medio
10	1	1	2	1.1 mL+0.8 mL+0.5 mL	Se presentó resequedad
11	1	7	23	1.0 mL+0.7 mL+0.4 mL	Desarrollo medio
12	1	1	9	1.5 mL+0.8 mL+0.9 mL	Poco desarrollo
13	3	25	25	1.5 mL+0.4 mL+0.5 mL	Desarrollo medio
14	1	1	1	1.6 mL+0.8 mL+1.5 mL	Se presentó resequedad
15	3	3	30	1.6 mL+0.7 mL+0.5 mL	Buen desarrollo
Prom	1.93	8.06	17.73		

*Promedio a las 72 horas= 17.73±1 mm

*Nota= Los promedios durante la experimentación fueron determinados con Excel 2007 con dos cifras significativas

Control negativo

El control negativo fue preparado con agua de la llave (grifo) del Laboratorio 301 del Edificio E-3 del Conjunto E de la Facultad de Química de la UNAM, en la Ciudad Universitaria, México D.F. Se le adicionó sulfato cúprico pentahidratado para tener una



concentración de 102 mg CuSO₄/L, que corresponde a 25.45ppm de cobre (26 mg Cu/L). La muestra de agua se tomó el 28/09/12. Tenía las siguientes características: no presentó ninguna coloración de modo visual, ni presencia de sólidos suspendidos ni olor. Tenía un pH de 6 medido *in situ* con indicadores de papel. Como en las muestras anteriores, no se realizó caracterización ni se siguió la normativa de muestreo.

Tabla A-6a. Medición de la elongación de las raíces de cebollas a temperatura ambiente (mm). Prueba 1

	24 h	48 h	72 h	Agua de reposición	Observaciones
1	4	5	6	0.9mL+0.8mL+1.2mL	Poco desarrollo
2	1	3	3	0.9mL+1.0mL+0.7mL	Se presentó resequead
3	1	1	8	0.8 mL+0.9mL+1.2mL	Poco desarrollo
4	1	1	3	1.1 mL+0.8 mL+1.3mL	Se presentó resequead
5	3	3	3	0.4 mL+0.7 mL+1.1mL	Se presentó resequead
6	2	6	6	0.8 mL+0.7 mL+1.3 mL	Poco desarrollo
7	2	5	5	0.9 mL+1.1 mL+1.3 mL	Poco desarrollo
8	1	1	2	0.8 mL+0.9 mL+1.3 mL	Se presentó resequead
9	2	5	5	1.3 mL+1.0 mL+1.1 mL	Poco desarrollo
10	4	6	6	0.3 mL+0.3 mL+0.6 mL	Poco desarrollo
11	4	6	6	1.0 mL+0.9 mL+1.0 mL	Poco desarrollo
12	1	1	1	0.6 mL+0.8 mL+0.7 mL	Se presentó resequead
13	3	4	4	0.7 mL+0.9 mL+0.7 mL	Poco desarrollo
14	6	7	7	0.7 mL+0.7 mL+1.1 mL	Poco desarrollo
15	4	5	7	1.2 mL+1.3 mL+1.5 mL	Poco desarrollo
Prom	2.6	3.93	4.8		

*Promedio a las 72 horas= 4.80±1 mm

*Nota= Los promedios durante la experimentación fueron determinados con Excel 2007 con dos cifras significativas

Tabla A-6b. Medición de la elongación de las raíces de cebollas a temperatura ambiente (mm). Réplica 1

	24 h	48 h	72 h	Agua de reposición	Observaciones
1	4	4	4	1.1mL+0.7mL+1.0mL	Poco desarrollo
2	3	4	4	1.2mL+0.6mL+1.0mL	Poco desarrollo
3	5	5	5	0.3 mL+0.3mL+0.7mL	Poco desarrollo
4	6	10	10	0.3 mL+0.5 mL+0.6mL	Poco desarrollo
5	1	1	2	0.9 mL+1.0 mL+1.3mL	Se presentó resequedad
6	4	5	5	1.4 mL+1.1 mL+1.3 mL	Poco desarrollo
7	4	8	8	1.1 mL+0.8 mL+1.5 mL	Poco desarrollo
8	1	4	4	1.0 mL+1.1 mL+0.6 mL	Poco desarrollo
9	3	6	6	0.9 mL+1.0 mL+1.0 mL	Poco desarrollo
10	4	4	4	1.0 mL+1.0 mL+1.0 mL	Poco desarrollo
11	1	4	6	0.7 mL+0.9 mL+1.1 mL	Poco desarrollo
12	1	3	3	0.5 mL+1.1 mL+0.8 mL	Se presentó resequedad
13	3	4	5	0.7 mL+1.3 mL+0.9 mL	Poco desarrollo
14	1	3	3	1.0 mL+1.3 mL+0.9 mL	Se presentó resequedad
15	2	6	6	1.3 mL+1.1 mL+1.0 mL	Poco desarrollo
Prom	2.86	4.73	5.00		

*Promedio a las 72 horas= 5.00±1 mm

*Nota= Los promedios durante la experimentación fueron determinados con Excel 2007 con dos cifras significativas



Tabla A-6c. Medición de la elongación de las raíces de cebollas a temperatura ambiente (mm). Réplica 2

	24 h	48 h	72 h	Agua de reposición	Observaciones
1	3	3	3	1.0mL+1.4mL+1.0mL	Se presentó resequead
2	1	1	1	0.7mL+0.7mL+1.0mL	Se presentó resequead
3	2	2	3	1.1 mL+1.2mL+1.1mL	Se presentó resequead
4	2	2	2	1.2 mL+1.3 mL+0.8mL	Se presentó resequead
5	3	3	6	1.1 mL+0.7 mL+1.3mL	Poco desarrollo
6	1	6	6	0.8 mL+1.2 mL+1.4 mL	Poco desarrollo
7	7	7	7	1.2 mL+0.9 mL+1.2 mL	Poco desarrollo
8	2	4	6	0.9 mL+1.4 mL+0.5 mL	Poco desarrollo
9	3	5	5	1.4 mL+0.5 mL+0.4 mL	Poco desarrollo
10	6	6	6	1.4 mL+1.2 mL+0.4 mL	Poco desarrollo
11	2	3	9	1.2 mL+0.6 mL+0.3 mL	Poco desarrollo
12	7	7	8	0.9 mL+0.5 mL+0.3 mL	Poco desarrollo
13	8	8	11	0.8 mL+0.4 mL+0.4 mL	Poco desarrollo
14	5	5	5	1.2 mL+0.6 mL+0.5 mL	Poco desarrollo
15	7	7	7	1.4 mL+0.6 mL+1.0 mL	Poco desarrollo
Prom	3.93	4.60	5.66		

*Promedio a las 72 horas = 5.66 ± 1 mm

*Nota= Los promedios durante la experimentación fueron determinados con Excel 2007 con dos cifras significativas

ANEXO 3. ACERVO FOTOGRÁFICO



Figura A3.1. Cebollas Cambray antes de realizar la limpieza



Figura A3.2. Inmersión de las cebollas en muestras problema



Figura A3.3. Cebollas Cambray en periodo de incubación durante 72 horas



Universidad Nacional Autónoma de México

Facultad de Química



Figura A3.4. Cebollas Cambray expuestas a cambios de temperatura, ocasionando podredumbre y palidez en las hojas



Figura A3.5. Cebollas Cambray expuestas a solución de sulfato cúprico, con crecimiento nulo, o escaso



Figura A3.6. Cebollas Cambray expuestas al agua de riachuelo, con crecimiento medio



Figura A3.7. Cebollas Cambray expuestas al agua de manantial, con crecimiento abundante



Figura A3.8. Cebollas Cambray expuestas al agua de CU, con crecimiento medio y abundante



Figura A3.9. Comparación de crecimiento de cebollas Cambray de diferentes tipos de muestras (agua de río y de manantial)



Universidad Nacional Autónoma de México

Facultad de Química



Facultad de Química



Figura A3.10. Análisis de cebollas Cambray concentraciones de 2ppm, 10ppm de cobre, de izquierda a derecha agua de CU, incubación de 72 horas.



Figura A3.11 Crecimiento después de incubación de 72 horas, de izquierda a derecha agua de CU, muestra 2ppm de cobre ($7.85 \text{ mgCuSO}_4/\text{L}$) y muestra 10 ppm de cobre ($39.8 \text{ mgCuSO}_4/\text{L}$)

ANEXO 4. TRATAMIENTO Y DISPOSICIÓN CONTROLADA DE LOS RESIDUOS GENERADOS EN ESTA INVESTIGACIÓN
PROGRAMA DE ENSEÑANZA INTEGRAL DEL CUIDADO DEL AMBIENTE EN LA FACULTAD DE QUÍMICA, UNAM

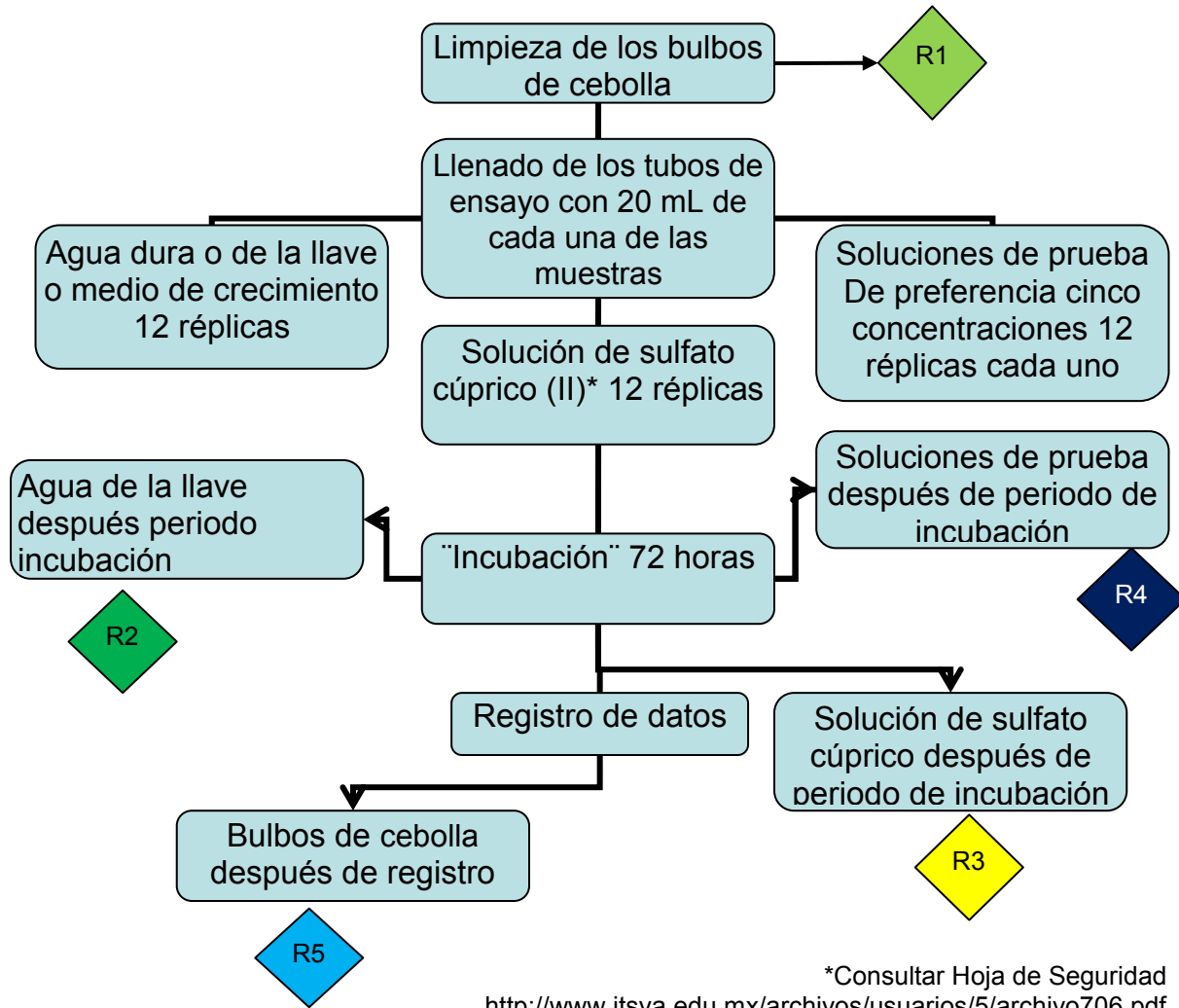


Figura A4.1 Diagrama de generación de residuos

Residuos

R1 y R5 Residuos orgánicos no peligrosos. Se envían a disposición para producir composta o se desechan en la basura orgánica, cerrados en bolsas plásticas para no producir moscas.



Universidad Nacional Autónoma de México

Facultad de Química



R2 y R4. Residuos de agua de la llave, de riachuelo, manantial del Estado de México, Ciudad Universitaria y Lago de Chapultepec, después de periodo de incubación, éstos son residuos no peligrosos, se desechan en la tarja.

R5 Residuos de sulfato cúprico (CuII)⁸ se neutraliza a pH 7 y se desecha a la tarja

Espectroscopía de absorción atómica

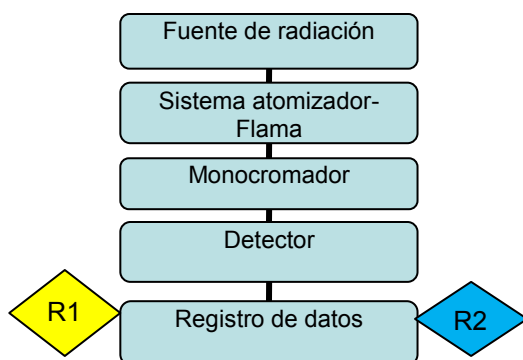


Figura A4.2 Diagrama de tratamiento de residuos –Absorción atómica

Residuos

R1 Residuos de sulfato cúprico (CuII)⁹ se neutraliza a pH 7 y se desecha a la tarja, concentraciones ppm

R2 Residuos de agua de la llave, de riachuelo, manantial del Edo de México, Ciudad Universitaria y Lago de Chapultepec, después del periodo de incubación, estos son residuos no peligrosos, se desechan en la tarja.

⁸ http://www.fq.uh.cu/dpto/qg/documentos/laboratorios/purificacion_Cu2SO4.htm

⁹ http://www.fq.uh.cu/dpto/qg/documentos/laboratorios/purificacion_Cu2SO4.htm

ANEXO 5

TRABAJO PRESENTADO EN EL

**X SIMPOSIO LATINOAMERICANO DE QUÍMICA ANALÍTICA,
AMBIENTAL Y SANITARIA**

Puebla, Puebla, México

Abril 10-13, 2013



Universidad Nacional Autónoma de México

Facultad de Química



Facultad de Química

T+L-109	<p>Medición de toxicidad aguda en muestras de agua usando como indicador bulbos de cebolla (<i>Allium cepa</i> L. var. <i>aggregatum</i>) mediante la inhibición del crecimiento promedio de sus raíces</p> <p><i>Measurement of acute toxicity in samples of water using as indicator bulbs of onion (<i>Allium cepa</i> L. var. <i>aggregatum</i>) by the growth inhibition of average roots</i></p>
----------------	--

Adriana Millán-Puebla*

Estudiante de Química de Alimentos, Facultad de Química, UNAM, México



*LIQAyQA, Facultad de Química, UNAM. Paseo de la Investigación Científica s/n, Ciudad Universitaria. Coyoacán, 04510 México, D.F. México. Tel.: +55 5622-5300 a 02 – Fax: +55 5622-5303. Correo-e (e-mail): ampfquim@gmail.com

María del Carmen Durán-Domínguez-de-Bazúa

Facultad de Química, UNAM

RESUMEN

El desarrollo de las poblaciones ha traído consigo un incremento en el aporte de diversos materiales antropogénicos hacia los cuerpos de agua, causando la mayoría de las veces efectos adversos en la biota acuática, desde efectos subletales hasta letales.

Dichos efectos pueden ser cuantificados bajo criterios tales como número de organismos muertos, fertilidad, cambios en las características morfofisiológicas, etc., que están en relación directa con las concentraciones o cantidades de compuestos químicos que pueden encontrarse en el ambiente acuático: ríos, mares, lagos, embalses, estanques, canales, estuarios, etc. En esta investigación se evalúan muestras de agua expuestas a las raíces de los bulbos de cebolla (*Allium cepa* L. var. *aggregatum*), como organismo de prueba para determinar el efecto tóxico agudo. El efecto puede determinarse en forma indirecta, mediante la comparación de la elongación de las raíces de cebollas expuestas a los posibles agentes tóxicos con respecto de las de cebollas no expuestas (control), después de un periodo de prueba de 72 horas. La cuantificación del efecto se realiza estableciendo el porcentaje de inhibición del crecimiento de las raíces respecto de la longitud promedio de las raíces del control. Entre los hallazgos obtenidos al finalizar el ensayo, las muestras que fueron tomadas del grifo de agua del Laboratorio 302 de la Facultad de Química de la UNAM y dos muestras adicionales de agua de la comunidad de Almoloya de las Granadas en el Estado de México no contuvieron niveles peligrosos de metales pesados.



Universidad Nacional Autónoma de México

Facultad de Química



Facultad de Química

ABSTRACT

*The development of the population has brought an increase in the contribution of different anthropogenic materials into bodies of water, causing mostly adverse effects on aquatic biota from sublethal to lethal effects. These effects can be quantified under various criteria such as number of dead bodies, fertility, changes in the morphophysiological characteristics, etc., which are directly related to concentrations or quantities of chemicals that can be found in the aquatic environment: rivers, lakes, reservoirs, ponds, canals, estuaries, sea, etc. In this method, water samples are evaluated through the exposure of the roots of onion bulbs (*Allium cepa* L. var. *aggregatum*) as test organisms to determine the acute toxic effect. The effect can be determined indirectly, by comparing the root elongation exposed to toxic onions, with onions unexposed (control), after a test period of 72 hours. The quantification of the effect was done by setting the percentage of inhibition of root growth on the average length of the roots of control. At the end of the essay the samples taken from tap water of the Laboratory 302, Faculty of Chemistry, UNAM, plus two additional samples from the community of Almoloya of Pomegranates in the State of Mexico did not contain harmful levels of heavy metals.*

Palabras clave: Bioseguimiento, semillas de cebolla (*Allium cepa* L. var. *aggregatum*), contaminación del agua, toxicidad aguda

Key Words: *Biomonitoring, onion seeds (Allium cepa L. var. aggregatum), water pollution, acute toxicity*

INTRODUCCIÓN

El bioseguimiento conocido en México como “biomonitoreo” es un conjunto de técnicas basadas en la reacción y sensibilidad de distintos organismos vivos a diversas sustancias contaminantes presentes en el ambiente. Así, la toxicidad de un compuesto se mide a través de diferentes parámetros biológicos, como las alteraciones en el desarrollo y en funciones vitales, entre otros parámetros.

La evaluación de contaminación puede realizarse de dos modos:

- Mediante el estudio de los efectos sobre los organismos indicadores preexistentes en el ecosistema de interés y
- Mediante la toma de muestras del ambiente de interés y el análisis en el laboratorio de la presencia de contaminantes sobre organismos indicadores modelo (Segretin, 2002)

Estos índices biológicos pueden dar información no sólo de las condiciones momentáneas, sino también de lo sucedido en momentos previos a la toma de las muestras. Junto con la medición de parámetros físicos y químicos, el bioseguimiento permite evaluar el impacto que la actividad humana tiene en el ambiente, ya sea en ecosistemas abiertos como en efluentes industriales o cloacales. Pueden realizarse por una sola vez o repetirse de tiempo en tiempo para dar seguimiento a programas de control de la contaminación. También pueden compararse bioseguimientos previos y posteriores al establecimiento de una fuente de contaminación. Dado que la cantidad de contaminantes que acumulan suele correlacionarse positivamente con los niveles de contaminación es posible evaluar las variaciones espaciales y/o temporales de la contaminación a partir de mediciones en los organismos.

En este caso, la concentración de los distintos contaminantes, para este ensayo (metales pesados) es detectada por cada sistema, expresada en algunos casos como



Universidad Nacional Autónoma de México

Facultad de Química



Facultad de Química

EC50, concentración media efectiva, y como LC50, concentración media letal (Segretin, 2002).

En cualquier lugar contaminado con compuestos tóxicos que afecten a la salud humana o a los ecosistemas, se deben establecer los criterios de depuración y lo deseable es que sea con instrumentos técnicos sencillos y poco costosos, especialmente para comunidades pequeñas. Resalta el hecho de que para su ejecución se deben haber llevado a cabo estrictos procedimientos de caracterización que permitan comprender la magnitud del pasivo ambiental existente. De esta manera, ha resurgido el interés sobre técnicas de evaluación rápida para el seguimiento de la calidad del agua en varios países con economías emergentes. En esos métodos emplean a las comunidades biológicas existentes en el sistema acuático y se hace énfasis en el bajo costo de los procedimientos de investigación, con un muestreo relativamente reducido y un análisis más eficiente de los datos (Castillo-Morales, 2004; López-Hernández y col., 2002; Wang y Freemark, 1994).

En México, se ha incluido a los organismos acuáticos como complemento de los parámetros fisicoquímicos que utilizaba se utilizaban tradicionalmente para el seguimiento rutinario de la calidad del agua. En ellos se da particular importancia a los organismos presentes en ambientes contaminados, y toma en cuenta la presencia y la abundancia de los mismos. Se ha demostrado que los efectos primarios de toxicidad por metales pesados se producen en las raíces de las plantas, como es el caso de este estudio con *Allium cepa L. var. aggregatum*, que muestran una menor elongación después de ser expuestas a estos elementos en muestras de agua potencialmente contaminadas (Fiskejo, 1985). Los síntomas de toxicidad descritos en la literatura para esta estructura vegetal tienen que ver con un menor crecimiento de la raíz principal por

muerte del meristema apical de la raíz principal, estimulación de la formación de raíces secundarias y posterior inhibición del meristema apical de las raíces secundarias cuando la concentración de metal supera el límite de tolerancia (Figura 1).

Una vez sobrepasados los mecanismos de tolerancia al exceso de un contaminante específico acumulado en las raíces, la fisiología general de la planta sería afectada, produciéndose translocación excesiva de este elemento al vástago, donde afectaría negativamente la fotosíntesis y otras funciones celulares que resultan en síntomas visibles de toxicidad, tales como menor desarrollo del vástago, clorosis y enrojecimiento de las hojas (López-Hernández y col., 2002).

Por ello, en esta investigación, para apoyar a una comunidad del estado de México, se implementará esta metodología analítica usando plantas de cebolla, conocida en México como tipo cebollitas de Cambray o cebollines, *Allium cepa L. var. aggregatum*, para evaluar los efectos de un contaminante agregado de manera específica, una sal de cobre. El objetivo es establecer un método por medio del cual las comunidades de escasos recursos cuenten con una herramienta para determinar si el agua de consumo pudiera estar potencialmente contaminada.

METODOLOGÍA

En este apartado sólo se mencionan los equipos y materiales que son relevantes para el estudio.

Equipos y materiales

Refrigerador Marca (American), modelo (CR-03)

Tubos de ensayo de vidrio de 10 cm de largo y 1,5 cm de ancho

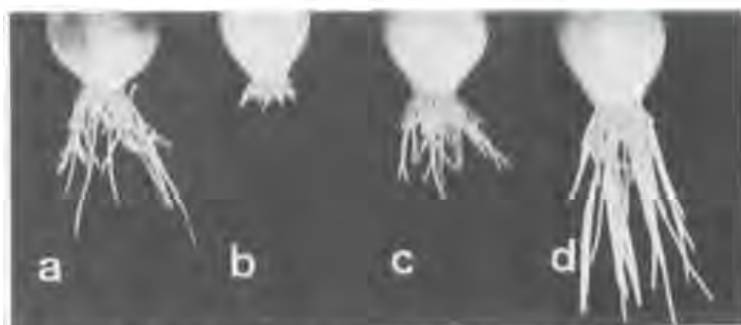


Fig. 7a-d. Tracing the source of contamination by *Allium* test on river water samples. One bulb from each of four series of five bulbs.

a upstream BT Kemi AB, **b** downstream BT Kemi AB, **c** further downstream, **d** control (tap water), Lund. – The root growth is the least where the toxic concentrations are the highest: nearest to the source of contamination.

Figura 1. Tomada del artículo pionero de Fiskejo (1985) sobre el efecto de metales disueltos en agua en *Allium cepa L. var. aggregatum*

Gradilla o soportes para tubos

Bisturí

Regla para hacer mediciones en cm o mm

Pipetas Pasteur

Reactivos y patrones

Se usaron bulbos de cebolla (*Allium cepa L. var. aggregatum*) de 1.5 cm de diámetro, secos y sin formación de hojas y/o raíz. Fueron obtenidos en la Central de Abastos de

la Ciudad de México. Canal de Río Churubusco S/N Esq. Canal de Apatlaco Col. Cental de Abastos. C.P. 09040. Los reactivos y soluciones utilizados en la prueba se enlistan a continuación, deben ser tipo ACS grado reactivo analítico marcados por la American Chemical Society.

Medio de crecimiento

El medio de crecimiento utilizado para el desarrollo del ensayo se indica en la Tabla 1. También se puede utilizar agua dura o agua potable de la llave como medio de crecimiento. En el caso de usar cualquiera de estas opciones el control negativo y el agua utilizada para preparar las diluciones de los compuestos químicos o las muestras deberá de ser la misma. En el caso particular de este ensayo, las muestras fueron tomadas en el estado de Mexico en una comunidad llamada Almoloya de las Granadas de dos fuentes principales: Agua de manantial, AM, y agua de arroyo, AA. Finalmente, la tercera muestra, agua de la llave o grifo, ALL, fue tomada del Laboratorio 301 del Conjunto E de la Facultad de Química, UNAM, México D.F.

Patrones (estándares o sustancias patrón) (Anónimo, 2012)

Sulfato cúprico heptahidratado ($\text{CuSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) reactivo analítico de pureza mayor a 99.5%. Generalmente se sugiere el empleo de una serie de cinco concentraciones, un control negativo y uno o dos controles positivos. Para su preparación se emplea el método de dilución en forma secuencial aplicando un factor de 0.2 o 0.3. Se recomienda igualmente utilizar agua dura o agua de la llave para el control negativo, así como para la preparación de las diluciones de la muestra y la preparación del control positivo con el tóxico de referencia Cu (II). Previo al montaje de la prueba, los bulbos deben limpiarse eliminando la epidermis seca y removiendo, con un bisturí o instrumento punzante, los restos de tejido y raíces del área radicular.



Tabla 1. Medio de crecimiento para *Allium* sp.

Masa de sal para disolver en un litro de agua destilada	
Reactivo	mg
Ca(NO₃)₂·4H₂O	236.1
KNO₃	202
MgSO₄·7H₂O	246
KH₂PO₄	136.1
Fe EDTA·3H₂O	67.6
Elementos traza	
Reactivo	mg
MnSO₄	0.55(*)
CuCl₂	0.0645(*)
NaMnO₄	0.001(*)
ZnSO₄	0.0007(*)
H₃BO₃	0.23(*)

(*) Los componentes correspondientes a elementos traza deben ser adicionados a partir de una solución madre (conocida coloquialmente por la palabra en inglés *stock*) La solución madre preparada de acuerdo con lo indicado se diluye diez veces con agua destilada y el pH se ajusta a siete antes de utilizar

Pruebas iniciales (Chandra y col., 2005; Fiskesjo, 1985; Smaka-Kincl y col., 1996)

a) El ensayo se inicia con el llenado de los tubos con cada una de las diluciones y controles. Este llenado deber hacerse hasta el borde del tubo.

- b) A continuación se colocan los bulbos limpios sobre la boca del tubo, cuidando que la zona radicular quede inmersa en el líquido.
- c) Los tubos se colocan en una gradilla, la cual se localiza sobre una mesa que no presente vibraciones y se mantienen a temperatura ambiente (20 °C) por un periodo de 72 horas. Debe evitarse la iluminación directa.
- d) Dos veces al día durante el periodo de prueba se debe restablecer el volumen perdido por evaporación o absorción. Para restablecer este volumen se utiliza la muestra o dilución correspondiente. Se recomienda inclinar el bulbo sin sacar las raíces del tubo, adicionando cuidadosamente el volumen con ayuda de una pipeta Pasteur

RESULTADOS Y ANÁLISIS

Mediciones de longitud de las raíces

A continuación en la Tabla 2 se muestran los datos obtenidos en el estudio, valores del crecimiento de las raíces de los bulbos de cebolla, obtenidos del control positivo con sulfato cúprico [106mg/L], y del control negativo de agua de la llave, ALL, así como de las dos muestras problema, AM y AA (Tabla 3), en un periodo de 72 horas junto con sus promedios correspondientes.

En la Tabla 4 se presenta el promedio de la longitud de las raíces de cebollas del control positivo y los controles negativos.

Tanto los datos de la Tabla 2 como de la Tabla 3 eran valores esperados, debido a las concentraciones que pudieran contener cada una de las muestras, en este caso de cobre. Es decir, se contaba con la certeza de que la muestra usada como control positivo con sulfato cúprico iba a promover la inhibición de los bulbos de cebolla que estuvieran en contacto con el agua. De la misma forma, era esperado para los controles negativos (sin presencia de cobre), los cuales tuvieron mayor crecimiento de las raíces.



Tabla 2. Elongación de las raíces de bulbos de cebolla para el control positivo (mm), estas mediciones fueron tomadas al termino de las 72 horas

			Tubo 1	Tubo 2	Tubo 3	Tubo 4	Tubo 5	Tubo 6
1^a serie sulfato cúprico								
Duplicado			3	2	3	4	3	3
Promedio			2.5	2	3	3.5	2.5	3.5

Tabla 3. Elongación de las raíces de bulbos de cebolla para el control negativo (mm), estas mediciones fueron tomadas al término de las 72 horas

			Tubo 1	Tubo 2	Tubo 3	Tubo 4	Tubo 5	Tubo 6
1^a serie Agua de la llave, ALL								
Duplicado			9	13	7	ND	10	12
Promedio			12	13	8.5	20	12.5	10
1^a muestra manantial, AM								
Duplicado			11	10	22	25	16	9
Promedio			12.5	14.5	17.5	25	17.5	7.5
2^a muestra Agua arroyo, AA								
Duplicado			8	14	12	10	15	ND
Promedio			8	12.5	9.5	12	17.5	15

ND: No Determinado

Tabla 4. Promedio de la longitud de raíces de bulbos de cebolla (mm)

Muestras	Sulfato cúprico	Agua de la llave, ALL	Agua manantial, AM	Agua arroyo, AA
Promedio elongación de raíces	16.98	75.6	94.5	74.46
Promedio de 6 valores	2.83	12.6	15.75	12.41

Nota: Se descartaron los valores extremos

Se utilizó la siguiente ecuación para calcular los porcentajes de inhibición de cada una de las muestra problema (Agua de la llave, ALL, agua de manantial, AM, y agua del arroyo, AA):

$$\% \text{ Inhibición} = [(Longitud \text{ de muestra} - Longitud \text{ del control}) / Longitud \text{ de control}] * 100$$

La Tabla 5 presenta los valores obtenidos por las muestras.

En este caso, debido a que se calculó un promedio de los dos valores obtenidos por muestra para realizar el gráfico, se calculó por medio de Excel 2003 la desviación estándar de la población, la cual fue de 53.88. Esto era esperable debido a las características específicas de cada una de las muestras.

Tabla 5. % Inhibición de las muestras

Muestra en estudio	Porcentaje de inhibición (%)
1. Agua de manantial, AM	456
2. Agua del arroyo, AA	338.5
3. Agua de la llave, ALL	345.2



Universidad Nacional Autónoma de México

Facultad de Química



Facultad de Química

DISCUSIÓN

De las tres pruebas analizadas para este estudio hubo algunas diferencias en los rangos de crecimiento de las raíces debido a las variaciones propias de los bulbos como son (tamaño, frescura, con o sin tallo, etc.). Por esta misma razón y por la susceptibilidad de los bulbos de cebolla tales como aumento de temperatura o exceso de humedad en algunas muestras hubo aparición de podredumbre, por lo que estas cebollas fueron descartadas del ensayo y no fueron reemplazadas.

En el caso de las tres muestras analizadas, podemos ver que el Agua de Manantial del Estado de México en la Comunidad de Almoloya de las Granadas presento una mayor elongación en sus raíces probablemente por sus características de mayor pureza que las otras muestras de agua, en lo que respecta al agua de la llave del Laboratorio de la Facultad de Química laboratorio 302 y al agua del Arroyo de la comunidad de Almoloya no presentaron muchas diferencias en cuanto a los valores obtenidos.

Analizando los valores de porcentaje de inhibición, se encontraron valores positivos que, en su mayoría, superan el 100%. Esto indicaría que hubo estimulación para que se diera el crecimiento de los bulbos de cebolla, por lo que esto asegura que las muestras analizadas, tales como el agua de la llave, ALL, el agua del arroyo, AA, y el agua de manantial, AM, que se tomaron como pruebas de ensayo no son tóxicas ni presentan niveles de contaminantes metálicos, en este caso de cobre, que afecten a la salud.

Un hallazgo interesante es que debido a las características observadas a lo largo de la realización de este proyecto es recomendable que se lleve a cabo un mayor número de

réplicas por cada muestra con objeto de poder descartar los bulbos que presenten problemas de podredumbre o de otras causas sin que se reduzca el número de muestras al final de la experimentación y que los resultados sean confiables.

CONCLUSIONES

Las muestras tomadas de agua de la llave del Laboratorio 302 de la Facultad de Química de la UNAM, además de las dos muestras adicionales provenientes de la comunidad de Almoloya de las Granadas en el Estado de México no contienen niveles dañinos del metal pesado en estudio, el cobre, que pudieran representar una amenaza o peligro potencial para la salud de las personas que viven en esta localidad. Debe comentarse que, de manera no formal, se hizo un análisis espectrofotométrico de absorción atómica (muy costoso para cualquier comunidad, pero que para esta investigación servía para corroborar analíticamente la presencia o no de cobre en las muestras) de las tres muestras en estudio y de la muestra patrón, corroborando de manera estadísticamente significativa ($p < 0.05$) que la concentración de cobre era la que se adicionó al agua y que las otras tres no contenían cobre en concentraciones que excedan la norma oficial mexicana para agua potable (DOF, 1994, Díaz-Báez y col., 2004). Esto indica que la metodología usando como base los resultados obtenidos con los bulbos de los cebollines o cebollitas de Cambray empleados es adecuada y poco costosa.

Un hallazgo que puede ser de utilidad para su instrumentación es la buena selección y almacenamiento de los bulbos de cebolla antes de realizar el procedimiento experimental, asegurando el control de calidad del ensayo y proporcionando resultados confiables. De este modo se evitan posibles variaciones estadísticamente significativas en el crecimiento de las raíces de los bulbos y también se evita su podredumbre.



Universidad Nacional Autónoma de México

Facultad de Química



Facultad de Química

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Anónimo. 2012. Ficha técnica de cobre. Consultada Diciembre 2012.
<http://www.ces.iisc.ernet.in/energy/HC270799/HDL/ENV/envsp/Vol318.htm>
- Chandra, S., Chauhan, L.K., Murthy, R.C, Saxena, P.N., Pande, P.N., Gupta S.K. 2005. Comparative biomonitoring of leachates from hazardous solid waste of two industries using Allium test."Science of the Total Environment. 347(1-3):46-52.
- Castillo-Morales, G. Ed. 2004. Ensayos toxicológicos y métodos de evaluación de calidad de aguas. Estandarización, intercalibración, resultados y aplicaciones. Autores: Díaz-Báez, M.C., Pica-Granados, Y., Ronco, A., Sobrero, C., Bulus-Rossini, G., Feola, G., Forget, G., Senegal, D., Sánchez-Bain, A. Centro Internacional de Investigaciones para el Desarrollo México, CIID (IDRC) e Instituto Mexicano de Tecnología del Agua, IMTA. Canadá, México.
- Fiskesjö. G. 1985. The Allium test as a standard in environmental monitoring. Hereditas. 102(1):99-112.
- López-Hernández, M., Ramos-Espinosa, M.G., Hernández-García, M. 2002. Biomonitoring rápido para evaluar la contaminación orgánica en el río Lerma. Instituto de Ciencias del Mar y Limnología, UNAM. Departamento del Hombre y su Ambiente, UAMX e Instituto Nacional de Ecología, SEMARNAT. Disponible en: http://www.ine.gob.mx/descargas/cuencas/cong_nal_06/tema_05/18_martin_lopez.pdf. Consultada en Diciembre 2012.
- Segretin M. E. 2002. Bioseguimiento ambiental y tratamiento de efluentes. CONICET – FECyN/UBA.
Disponible:<http://www.argenbio.org/adc/uploads/pdf/Biomonitoring%20y%20tratamiento%20de%20efluentes..pdf>. Consultada Diciembre 2012.

- Smaka-Kincl, V., Stegnar, P., Lovka, M., Toman, M.J. 1996. The evaluation of waste, surface and ground water quality using the Allium test procedure. *Mutation Research*. 368:171-179.
- Wang, W.C., Freemark, K. 1994. The use of plants for environmental monitoring and assessment. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 30(3):289-301.



Universidad Nacional Autónoma de México

Facultad de Química



Facultad de Química

Referencias

- Abdi H, Williams L.J., 2010. Tukey's Honestly Significant Difference (HSD) Test. In Neil Salkind (Ed.), Encyclopedia of Research Design. Thousand Oaks, CA: Sage. Disponible en: <http://www.utd.edu/~herve/abdi-HSD2010-pretty.pdf> Consultada en abril de 2013.
- Alcocer, J., Kato, E., Robles, E., Vilaclara, G. 1988. Estudio preliminar del efecto del dragado sobre el estado trófico del Lago Viejo de Chapultepec. Pub. Proyecto de Conservación y Mejoramiento del Ambiente, U.I.I.C.S.E., E.N.E.P.- Iztacala. U.N.A.M. Av. de Los Barrios s/n. Los Reyes Iztacala, 54030 Tlalnepantla, Estado de México, México.
- Aguilar-Ibarra, A. 2005. Los peces como indicadores de la calidad ecológica del agua. Revista Digital Universitaria. En línea: Agosto 2005, Volumen Número 8 • ISSN: 1067-6079. Disponible en: http://www.revista.unam.mx/vol.6/num8/art78/ago_art78.pdf Consultada en agosto de 2013.
- Anónimo 2012a. Secretaria de Salud. Norma oficial mexicana. NOM-014-SSA1-1993 "Procedimientos sanitarios para el muestreo de agua para uso y consumo humano en sistemas de abastecimiento de agua publicos y privados". Disponible en: <http://www.salud.gob.mx/unidades/cdi/nom/014ssa13.html>. Consultada en Julio de 2012
- Anónimo. 2012b. Ficha técnica de cobre. Consultada Diciembre 2012. <http://www.ces.iisc.ernet.in/energy/HC270799/HDL/ENV/envsp/Vol318.htm>
- Anónimo. 2012c. Redes electrónicas. Disponible en http://webs.uvigo.es/mmegias/1-vegetal/v-imagenes-grandes/meristemo_primario01.php. Consultada en abril de 2013

- Anónimo.2013. Disponible en: <http://almez.pntic.mec.es/~jrem0000/dpbg /Fotosintesis/fotosistemas.html>
- Araya, M., Olivares, M., Pizarro, F., Figueroa, G., Lagos, G. 2009. Cobre. Salud, Medio Ambiente y nuevas Tecnologías. Consultada en: http://www.ecosea.cl/pdfs/Cobre_Salud_Medio_Ambiente_Nuevas_Tecnologias.pdf. Consultada en enero de 2013
- Cabrera, L. 2002. Diccionario de aztequismos. Puesto en orden y revisado por J. Ignacio Dávila-Garibi. Luis Reyes-García revisó los términos nahuas y Esteban Inciarte los que aparecen en latín. Editorial Colofón, S.A. México D.F. México.
- Castillo-Morales, G. Ed. 2004. Ensayos toxicológicos y métodos de evaluación de calidad de aguas. Estandarización, intercalibración, resultados y aplicaciones. Autores: Díaz-Báez, M.C., Pica-Granados, Y., Ronco, A., Sobrero, C., Bulus-Rossini, G., Feola, G., Forget, G., Senegal, D., Sánchez-Bain, A. Centro Internacional de Investigaciones para el Desarrollo México, CIID (IDRC) e Instituto Mexicano de Tecnología del Agua, IMTA. Canadá, México.
- Chandra, S., Chauhan, L.K., Murthy, R.C, Saxena, P.N., Pande, P.N., Gupta S.K. 2005. Comparative biomonitoring of leachates from hazardous solid waste of two industries using Allium test."Science of the Total Environment. 347(1-3):46-52.
- Conagua. 2013. Disponible en: <http://www.conagua.gob.mx/Contenido.aspx?n1=2&n2=16&n3=2&n4=141>
- Diccionario de la Real Academia de la Lengua Española. 2012. Disponible en: <http://www.rae.es/rae.html> Consultada en 2012.
- DOF. 1996. Norma Oficial Mexicana NOM-001-ECOL-1996. Establece los límites máximos permisibles de contaminantes en las descargas de aguas residuales en aguas y bienes nacionales. Disponible en: <http://www.bvsde.paho.org/bvsacd/cd38/Mexico/NOM001ECOL.pdf>
- DOF. 1994. Norma Oficial Mexicana NOM-127-SSA1-1994. Salud ambiental. Agua para uso y consumo humano. Límites permisibles de calidad y tratamientos a que debe someterse el agua para su potabilización. Disponible en: <http://www.salud.gob.mx/unidades/cdi/nom/ m127ssa14.html>



Universidad Nacional Autónoma de México

Facultad de Química



Facultad de Química

EPA. 2013. Basic Information about Copper in Drinking Water EPA United States Environmental Protection Agency Mayo 2012. Disponible en: <http://water.epa.gov/drink/contaminants/basicinformation/copper.cfm> Consultado en septiembre de 2012

Fiskesjö, G. 1985. The Allium test as a standard in environmental monitoring. *Hereditas*. 102(1):99-112.

Enciclopedia de la OIT. 2012. Enciclopedia de Salud y Seguridad en el Trabajo. Disponible en: [http://www.insht.es/InshtWeb/Contenidos/Documentacion/TextosOnline/Enciclopedia de la OIT/tomo2/63.pdf](http://www.insht.es/InshtWeb/Contenidos/Documentacion/TextosOnline/Enciclopedia%20de%20la%20OIT/tomo2/63.pdf) Consultada el 15 de octubre de 2012.

INEGI, 2013. Disponible en <http://www.inegi.org.mx/>. Consultada en abril 2013.

Keselman, H.J., Roga, J.C. 1978. A comparison of the modified-Tukey and Scheffé methods of multiple comparisons for pairwise contrasts., *Journal of the American Statistical Association*.73(361):47-52. Disponible en: <http://xa.yimg.com/kq/groups/18751725/614244449/name/2286514.pdf>

López-Hernández, M., Ramos-Espinosa, M.G., Hernández-García, M. 2002. Biomonitorio rápido para evaluar la contaminación orgánica en el río Lerma. Instituto de Ciencias del Mar y Limnología, UNAM. Departamento del Hombre y su Ambiente, UAMX e Instituto Nacional de Ecología, SEMARNAT. Disponible en: http://www.ine.gov.mx/descargas/cuencas/cong_nal_06/tema_05/18_martin_lopez.pdf. Consultada en diciembre de 2012.

Norma ISO 5667-16. 1998. Comunicación personal. Proporcionada por IQ. Valia Maritza Goytia Leal, Comisión Nacional del Agua (CNA), Jefa de Proyecto Operación del Laboratorio Nacional de Referencia. Av. San Bernabé 549, San Jerónimo Lídice. Del. Magdalena Contreras, México, D.F. Consultada el día 17 de mayo de 2013.

- OMS. 2013. En http://www.bvsde.paho.org/cd-gdwq/docs_quimicos/Cobre.pdf
Consultada en agosto de 2013
- Ramírez-Burgos, L.I., Durán-de-Bazúa, C., García, A., Oaxaca-Grande, M.A., Montuy-Hernández, R. 2008. Demanda química de oxígeno de muestras acuosas: (a) Método alternativo, (b) Tratamiento de los residuos generados por el método tradicional de reflujo abierto y por el método alternativo / Chemical Oxygen Demand in Aqueous Samples: (a) Alternative Method, (b) Treatment of wastes generated by the traditional open reflux method and the alternative method. **Vol. 1. Serie: Química Ambiental De Las Substancias Y Residuos Peligrosos.** Pub. PIQAyQA-FQ-UNAM. 103 pags. ISBN 968-36-9000-9. México D.F. 100 ejemplares (2001). 105 pags., 100 ejemplares, 2a. Ed. (2004). 105 pags., Disco compacto 50 ejemplares, 3ª Ed. (2006). Disco compacto 50 ejemplares 4ª Ed. (2008)
- Ricart, J., Cassan, F., Sugobono, N., Malizia, D., Contreras, J., Glasman, M. 2009. Agua, responsabilidad de todos. Edición Nahuel Sugobono. México D.F. México. Disponible en: http://www.sadm.gob.mx/PortalSadm/Docs/Agua_Responsabilidad%20de_Todos.pdf
- Rosiles-Martínez, R. 1998 . Contenido de elementos minerales en sedimentos de algunos vasos acuícolas del centro de la República Mexicana. Consultado en: Enero 2013 [www.fmvz.unam.mx/fmvz/.../a1998 ... r m 930 .pdf](http://www.fmvz.unam.mx/fmvz/.../a1998...r%20m%20930.pdf)
- Rueda, A., Peláez, A., Rojas, M., Gil, A. 2012. Efecto de cobre y Paraquat® sobre respuestas asociadas a estrés oxidativo en dos especies relacionadas de tomate. Revista Cubana de Plantas Medicinales versión ISSN 1028-4796. 2012. Consultada 20 de Octubre 2012 en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?pid=S1028-47962012000300008&script=sci_arttext
- Segretin, M. E. 2002. Bioseguimiento ambiental y tratamiento de efluentes. CONICET – FECyN/UBA. Disponible en: <http://www.argenbio.org/adf/uploads/pdf/Biomonitoreo%20y%20tratamiento%20de%20efluentes..pdf>. Consultada Diciembre 2012



Universidad Nacional Autónoma de México

Facultad de Química



Facultad de Química

- Semarnat, 2007. ¿Y el medio ambiente? Problemas en México y el mundo. Semarnat. México. 2007. Disponible en http://www.semarnat.gob.mx/informacionambiental/Documents/sniarn/pdf/yelmedioambiente/4_agua.pdf. Consultada el 30 de septiembre de 2012
- Semarnat. 2008. Dirección General de Estadística e Información Ambiental, con base en: Comisión Nacional del Agua, Gerencia de Saneamiento y Calidad del Agua, Estadísticas del Agua en México, 1a edición, CNA, México Disponible en http://aplicaciones.semarnat.gob.mx/estadisticas/compendio2010/10.100.13.5_8080/ibi_apps/WFServlet28b9.html. Consultada en marzo 2013.
- Smaka-Kincl, V., Stegnar, P., Lovka, M., Toman, M.J. 1996. The evaluation of waste, surface and ground water quality using the Allium test procedure. Mutation Research. 368:171-179.
- Wang, W.C., Freemark, K. 1994. The use of plants for environmental monitoring and assessment. Ecotoxicology and Environmental Safety. 30(3):289-301.
- Zambrano-García, A. 2006. Primera parte: Fundamentos. Dirección de Seguridad y Medio Ambiente. Proyecto F.21393. Estudio de las emisiones de la zona industrial de Tula y su impacto en la calidad del aire regional. Bioseguimiento de metales pesados en la región de Tula, Hidalgo. Disponible en <http://132.248.8.8/Reporte%20Final%20Biomonitoreo%20anexo%20B.pdf>