



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE HIDALGO
INSTITUTO DE CIENCIAS BÁSICAS E INGENIERÍA
ÁREA ACADÉMICA DE BIOLOGÍA
LICENCIATURA EN BIOLOGÍA

T E S I S

**EVALUACIÓN DEL POTENCIAL DE RIESGO
GENOTÓXICO DE JALES MINEROS EN PACHUCA
DE SOTO, HIDALGO**

para obtener el título de

Licenciado en Biología

P R E S E N T A:

Alejandro Mendoza Velasco

Director:

Dr. Juan Carlos Gaytán Oyarzun

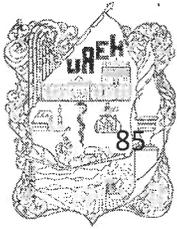
Comité tutorial

Dra. Griselda Pulido Flores

Dra. Maritza López Herrera

Dr. Pablo Octavio Aguilar

Mineral de la Reforma, Hgo., México; febrero 2023.



Mineral de la Reforma, Hgo., a 26 de enero de 2023

Número de control: ICBI-D/148/2023
Asunto: Autorización de impresión.

MTRA. OJUKY DEL ROCÍO ISLAS MALDONADO
DIRECTORA DE ADMINISTRACIÓN ESCOLAR DE LA UAEH

Con fundamento en lo dispuesto en el Título Tercero, Capítulo I, Artículo 18 Fracción IV; Título Quinto, Capítulo II, Capítulo V Fracción IX del Estatuto General de nuestra Institución, por este medio le comunico que el Jurado asignado al Pasante de la Licenciatura en Biología **Alejandro Mendoza Velasco**, quien presenta el trabajo de titulación "**Evaluación de potencial de riesgo genotóxico de jales mineros en Pachuca de Soto, Hidalgo**", después de revisar el trabajo en reunión de Sinodales ha decidido autorizar la impresión del mismo, hechas las correcciones que fueron acordadas.

A continuación, firman de conformidad los integrantes del Jurado:

Presidente Dra. Griselda Pulido Flores

Secretario: Dra. Maritza López Herrera

Vocal: Dr. Juan Carlos Gaytán Oyarzun (Director)

Suplente: Dr. Pablo Octavio Aguilar

Sin otro particular por el momento, reciba un cordial saludo.

Atentamente
"Amor, Orden y Progreso"

Dr. Otilio Arturo Acevedo Sandoval
Director del ICBI



OAAS/AEM

Ciudad del Conocimiento
Carretera Pachuca-Tulancingo km 4.5 Colonia
Carboneras, Mineral de la Reforma, Hidalgo,
México. C.P. 42184
Teléfono: 771 71 720 00 ext. 2231 Fax 2109
direccion_icbi@uaeh.edu.mx

AGRADECIMIENTOS

Al Bioterio de la UAEH, en especial al ingeniero Daniel Ramírez Rico, quien en su calidad de director me brindo su confianza al prestar sus instalaciones dentro del laboratorio del bioterio, el manejo de sus equipos y reactivos, para la realización de este trabajo de tesis, contando siempre con su apoyo, así como el del personal que labora en dicha institución, siendo parte importante para realización de este trabajo, personas comprometidas con la ciencia y el cuidado animal así como la generación de nuevo conocimiento científico, agradezco su confianza y la integración que por varios meses tuvieron para conmigo en la cual también pude adquirir nuevos conocimientos interdisciplinarios y habilidades que me ayudaran en el futuro.

A mis padres, gracias por toda la paciencia y confianza depositada en mí, a lo largo de mi vida, para lograr esta meta, por esforzarse cada día en todos los aspectos para hacer de mi la persona que actualmente soy, por todo el tiempo, el dinero y consejos que me han dado. Gracias por instruirme en la vida y cuidarme todo el tiempo, nada de esto sería posible sin ustedes, los amo.

A el Dr. Gaytán, gracias por todo el tiempo invertido en mi trabajo, por su sabiduría, así como la gran paciencia que tuvo para guiarme por tanto tiempo en este proyecto, por su apoyo y comprensión ante momentos adversos siempre recordando que la ciencia no es un camino sencillo, pero vale la pena y que hacer un trabajo de investigación durante una situación como la actual pandemia no es nada fácil.

Dra. Griselda, Dr. Pablo y Dra. Maritza, agradezco todo el tiempo y sabiduría que han dedicado, contribuyendo siempre a la mejora de este proyecto, brindándome la oportunidad de aprender de su vasta experiencia y de la riqueza de tener muchos puntos que me permitieron mejorar mucho, siempre agradecido con la dicha de contar asesores con la calidad que los representa.

A mis amigos y docentes, de los cuales a lo largo de mi formación profesional he aprendido mucho, por sus consejos, regaños palabras de apoyo, experiencias y en especial su confianza.

ÍNDICE CONTENIDO

1.	RESUMEN.....	8
2.	ABSTRACT	9
3.	INTRODUCCIÓN	10
4.	ANTECEDENTES	12
4.1	La contaminación en México	12
4.2	La minería y contaminación por MIT en el Estado de Hidalgo	13
4.3	Metales de Interés Toxicológico (MIT) As, Cd, Cr y Hg	14
4.3.1	As	15
4.3.2	Cr.....	15
4.3.3	Cd.....	16
4.3.4	Hg.....	16
4.4	Aspectos fisicoquímicos que aumentan cinética ambiental y la biodisponibilidad de los MIT...	17
4.5	Papel de la química analítica y la espectrofotometría en los estudios de ecotoxicología.....	19
4.6	Métodos y procedimientos para la evaluación de riesgos y efectos a la salud.....	20
4.6.1	Las distintas AC pueden formarse de la siguiente manera:.....	23
4.6.2	Micronúcleos	23
5.	JUSTIFICACIÓN.....	25
6.	OBJETIVOS	25
6.1	Objetivo general	26
6.1.1	Objetivos específicos.....	26
7.	METODOLOGÍA	27
7.1	Caracterización y cuantificación de MIT en suelo	27
7.2	Cartografía de cuadrantes.....	27
7.3	Caracterización física y química del tipo de suelo.	28
7.4	Identificación y cuantificación de MIT en suelo.....	28
7.4.1	Toma de muestras.....	28
7.4.2	Obtención de Lixiviados a condiciones observadas y ácidas (NOM-053-ECOL-1993; López-Domínguez y Pérez-Salazar, 2018).....	28
7.4.3	Identificación y cuantificación de MIT en lixiviados.....	29
7.5	Evaluación Rápida del Potencial de Riesgos Genotóxicos en la zona de estudio.....	29
7.5.1	Identificación y caracterización del peligro	30
7.5.2	Cociente de peligro ambiental.....	30

7.5.3	Evaluación de la exposición y la vulnerabilidad	31
7.5.4	Evaluación del efecto biológico	34
7.5.5	Caracterización de riesgos con base a la Evaluación Rápida del Potencial de Riesgo Genotóxico	36
7.6	Evaluación de citotoxicidad y genotóxica en <i>Vicia faba L.</i> (Haba)	37
7.6.1	Montaje y calibración (Sánchez-Olivares, 2018).....	37
7.6.2	Curva de toxicidad	39
7.6.3	Citotoxicidad	39
7.6.4	Genotoxicidad	40
8.	RESULTADOS	41
8.1	Resultados Caracterización de suelos y MIT encontrados en jales	42
8.2	Evaluación Rápida del Potencial de Riesgos Genotóxicos	43
8.2.1	Identificación y caracterización del peligro	43
8.2.2	Evaluación de la exposición y la vulnerabilidad	45
8.2.3	Evaluación de la relación dosis respuesta	48
8.2.4	Caracterización de riesgos con base en la Evaluación Rápida del Potencial de Riesgos Genotóxicos.....	51
8.3	Evaluación de la citotoxicidad y genotoxicidad en <i>V. faba L.</i>	52
8.3.1	Citotoxicidad de lixiviados y sus diluciones a pH 7 Y pH 3.....	52
8.3.2	Genotoxicidad de lixiviados y sus diluciones a pH 7 Y pH 3	54
8.3.3	Micronúcleos inducidos por lixiviados y sus diluciones a pH7 Y pH 3.....	56
9.	DISCUSIÓN	59
9.1	Caracterización de suelos y MIT encontrados en jales	59
9.2	Evaluación Rápida del Potencial de Riesgos Genotóxicos	59
9.2.1	Identificación y caracterización del peligro	59
9.2.2	Evaluación de la exposición y la vulnerabilidad	60
9.2.3	Evaluación de la relación dosis respuesta	61
9.2.4	Caracterización del riesgo, por medio de la técnica ERPRG	61
9.3	Evaluación de la citotoxicidad y genotoxicidad en <i>V. faba</i> por lixiviados.....	63
9.3.1	Citotoxicidad	63
9.3.2	Genotoxicidad de lixiviados y sus diluciones a pH 7 Y pH 3	63
9.3.3	Micronúcleos inducidos por lixiviados y sus diluciones a pH7 Y pH 3.....	64
10.	CONCLUSIONES	66
11.	ANEXO 1: Indicadores de peligro (Autoría propia)	69

12.	ANEXO 2: Indicadores de exposición (Autoría propia)	70
13.	ANEXO 3: Indicadores de efecto (Autoría propia).....	71
14.	ANEXO 4: Resultados pruebas de citotoxicidad y micronúcleos (Autoría propia).....	72
15.	ANEXO 5: Límites permisibles (ppm) de metales pesados en alimentos, agua y suelo según normas internacionales y locales.....	73
16.	REFERENCIAS	74

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1.	Identificación y cuantificación de MIT de interés toxicológico en lixiviados de los jales en Pachuca Hgo.....	42
Tabla 2.	MIT presentes en lixiviados del jal Santa Julia I, coeficiente de peligro ambiental y coeficiente de riesgo a la salud.....	44
Tabla 3.	Interpretación de los indicadores de peligro para MIT presentes en lixiviados del Jal Santa Julia I	45
Tabla 4.	Indicadores de riesgo para MIT presentes en lixiviados del Jal Santa Julia I.....	45
Tabla 5.	Resultados del análisis integrado de exposición	46
Tabla 6.	Resultados del análisis integrado de vulnerabilidad.....	47
Tabla 7.	Indicadores de exposición para MIT presentes en lixiviados del Jal Santa Julia 1	48
Tabla 8.	Resultados de los indicadores de dosis-efecto de los MIT presentes en lixiviados del jal Santa Julia I.....	49
Tabla 9.	Resultados de los indicadores de riesgo de efectos no cancerígenos de MIT presentes en lixiviados del jal Santa Julia I	50
Tabla 10.	Indicadores de efecto para MIT presentes en lixiviados del Jal Santa Julia I	50
Tabla 11.	Matriz de dos vías con variables y valores obtenidos de la evaluación de potencial de riesgo genotóxico	52
Tabla 12.	Determinación de la citotoxicidad de las diluciones del lixiviado con pH 7	53
Tabla 13.	Determinación de la citotoxicidad de las diluciones del lixiviado con pH 3	53
Tabla 14.	Anormalidades cromosómicas inducidas por lixiviado y sus diluciones a condiciones observadas (pH7) en <i>Vicia faba</i>	55
Tabla 15.	Anormalidades cromosómicas inducidas por lixiviados y sus diluciones en condiciones ácidos (pH3) en <i>Vicia faba</i>	56
Tabla 16.	Índice de micronúcleos inducidas por lixiviados y sus diluciones en condiciones observadas (pH 7) en <i>Vicia faba</i>	57

Tabla 17. Índice de micronúcleos inducidos por diluciones de lixiviados ácidos (pH 3) de jales mineros de la ciudad de Pachuca Hgo.....	58
---	----

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Presas mineras del distrito minero Pachuca-Real del monte (Moreno-Tovar et al., 2009).....	14
Figura 2. Lixiviación de metales en suelo. (Autoría propia).....	19
Figura 3. Dimensiones, interrelaciones y principales criterios como resultado de la unificación más actual, correspondiente a la Evaluación de potencial de riesgo genotóxico de compuestos xenobióticos (Gaytán-Oyarzun et al., 2020).....	21
Figura 4. Tipos de aberraciones cromosómicas	23
Figura 5. Zona de estudio y lugares de alta exposición (Autoría propia).....	27
Figura 6. Puntos de muestreo (Autoría propia)	28
Figura 7. a) Malla metálica; b) Sistema de lixiviación (Autoría propia).....	29
Figura 8. Evaluación Rápida de Potencial de Riesgo Genotóxico (Autoría propia)	30
Figura 9. Análisis integrado de probabilidad de exposición (Autoría propia)	33
Figura 10. Análisis integrado de vulnerabilidad (Autoría propia)	34
Figura 11. Ponderaciones colorimétricas (Sánchez-Olivares et al., 2021).....	37
Figura 12. Metodología para la obtención de muestras microscópicas (Autoría propia).....	38

INDICE DE ACRONIMOS

AQP	Agentes Químicos Peligrosos
ATSDR	Agencia para Sustancias Tóxicas y el Registro de Enfermedades
CDI	Ingesta Diaria Crónica
CFS	Factor Dependiente de Cáncer
CP	Cociente de Peligro ambiental
CONAGUA	Comisión Nacional del Agua
DDE	Dosis Diaria de Exposición
ERPRG	Evaluación Rápida de Potencial de Riesgo Genotóxico
HQ	Hazard Coefficient
IARC	Agencia Internacional para la Investigación sobre el Cáncer
IC	Incidencia de cáncer
ILCRI	Riesgo de Desarrollo de Cáncer a lo Largo de la Vida
IM	Índice Mitótico
IMn	Índice de Micronúcleos
INEGI	Instituto Nacional de Estadística y Geografía
IRIS	Sistema Integrado de Información de Riesgos
LC50	Concentración Letal 50
LMP	Límites Máximos Permisibles
MIT	Metales de Interés Toxicológico
N/D	No Define
NOMs	Normas Oficiales Mexicanas
Dil/50	Dilución de lixiviado 50% de la LC50
Dil/25	Dilución de lixiviado 25% de la LC50
OMS	Organización Mundial de la Salud
pCa	Potencial Carcinogénico
PE	Probabilidad de Exposición
PFQ	Propiedades Fisicoquímicas
pKs	Constante de Equilibrio de solubilidad
pMu	Potencial Mutágeno
PT	Potencial Tóxico
pTe	Potencial Teratógeno
RfD	Dosis de Referencia
RSU	Residuos Sólidos Urbanos
SEMARNAT	Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales
SDil	Lixiviado a la concentración LC50
SGM	Servicio Geológico Mexicano
TEH	Tasa de Exposición Humana
TER	Técnicas de Evaluación Rápida
TMa	Tiempo de vida Media en agua
USEPA	Agencia de Protección Ambiental de Estados Unidos

1. RESUMEN

Los Metales de Interés Toxicológico (MIT) son unos de los contaminantes ambientales más peligrosos en la actualidad, son elementos tóxicos, no biodegradables y bioacumulables. En Pachuca, Hgo., hay residuos de la actividad minera denominados “jales mineros”, que contienen As, Hg, Cd y Cr como residuos de los procesos de extracción, que pudieran tener un potencial de riesgos a la salud. En el presente estudio, se realizó la caracterización química de un lixiviado del “Jal Santa Julia I” a través de la técnica de espectrofotometría de absorción atómica, en búsqueda de MIT, complementado con una Evaluación Rápida de Potencial de Riesgo Genotóxico (ERPRG), para evaluar su potencial efecto a la salud en ciertas condiciones ambientales; por lo cual se realizó un análisis de genotoxicidad mediante el bioensayo de micronúcleos y de estructuras anafásicas en *V. faba*. (haba), con dos lixiviados a dos diferentes pH (7 y 3); los tratamientos experimentales se hicieron con 3 diluciones distintas en cada uno de los lixiviados. Como resultado, se destaca la presencia de los cuatro MIT evaluados (As, Hg, Cd y Cr) en ambos lixiviados y que a las concentraciones observadas se pudo inducir daño citotóxico y genotóxico en células meristemáticas del haba, observándose aberraciones cromosómicas (puentes anafásicos dobles y sencillos, cromosomas y fragmentos retardados), así como micronúcleos. Finalmente, se concluye que no hay diferencias estadísticamente significativas en el efecto biológico asociado a la acidez del medio; por lo tanto, el potencial de riesgo actual de estos jales, puede aumentar una vez que el suelo pierda su capacidad amortiguadora por la presencia de lluvia ácida, la cual puede estar presente en el sitio de estudio debido al aumento actual de la contaminación ambiental en la zona metropolitana de la ciudad de Pachuca, Hgo.

Palabras clave: lluvia ácida, contaminación, micronúcleos, bioensayo

2. ABSTRACT

Metals of Toxicological Interest (MIT) are one of the most dangerous environmental pollutants today, they are toxic, non-biodegradable and bioaccumulative elements. In Pachuca, Hgo., there are residues from the mining activity called “mining tailings”, which contain As, Hg, Cd and Cr as residues from the extraction processes, which could have potential health risks. In the present study, the chemical characterization of a leachate from "Jal Santa Julia I" was carried out through the atomic absorption spectrophotometry technique, in search of MIT, complemented with a Rapid Evaluation Genotoxic Risk Potential (ERPRG), to assess its potential effect on health in certain environmental conditions; For this reason, a genotoxicity analysis was carried out using the bioassay of micronuclei and anaphase structures in *V. faba*. (broad bean), with two leachates at two different pH (7 and 3); the experimental treatments were made with 3 different dilutions in each of the leachates. As a result, the presence of the four MIT evaluated (As, Hg, Cd and Cr) in both leachates stands out, and that at the observed concentrations it was possible to induce cytotoxic and genotoxic damage in meristematic cells of the broad bean, observing chromosomal aberrations (double and single anaphasic bridges, delayed chromosomes and fragments), as well as micronuclei. Finally, it is concluded that there are no statistically significant differences in the biological effect associated with the acidity of the medium; therefore, the current risk potential of these tailings may increase once the soil loses its buffering capacity due to the presence of acid rain, which may be present at the study site due to the current increase in environmental contamination in the metropolitan area of the city of Pachuca, Hgo.

Key words: acid rain, pollution, micronuclei, bioassay

3. INTRODUCCIÓN

En la actualidad la contaminación representa uno de los principales problemas en los ecosistemas y la salud pública. La contaminación se divide en natural y antropogénica, esta última aporta la mayor parte de contaminantes en las matrices ambientales (suelo, aire y agua). La contaminación antrópica derivada de la agricultura, ganadería, crecimiento de las ciudades, industria y minería, generando desechos que en altas concentraciones pueden ser tóxicos, poniendo en riesgo a los organismos (Vargas-Marcos, 2005; Estrada-Paneque *et al.*, 2016).

La contaminación del suelo está influida principalmente por actividades como: industria minera, agrícola, industria de pinturas, automotriz entre otras; en las zonas urbanas el suelo presenta contenidos de Pb, Zn, Cd y Cu asociados a otros elementos que pueden ser o no asimilados por los seres vivos (Covarrubias-Hernández y Peña-Cabriales, 2017). Además de la presencia de metales pesados, pesticidas, fertilizantes, hidrocarburos, pinturas y plásticos derivados de los residuos sólidos urbanos (RSU), por mencionar algunos. Estos residuos son fuentes importantes de contaminación en los suelos, tanto agrícolas como urbanos (Alloway, 2012).

La presencia de metales pesados derivados de la actividad minera representa una fuente de contaminación peligrosa en las ciudades mineras del país, no es nada nuevo que la actividad minera es de las industrias que más contamina las matrices ambientales con la presencia de metales pesados como As, Pb, Hg, Cd, Cr, Cu, Ni y Zn que pueden contaminar las aguas superficiales y los sedimentos (Oyuela-Leguizamo *et al.*, 2017), por efectos de lixiviación (Puga, 2014), que a su vez pueden contaminar el suelo debido al arrastre y posterior asentamiento de dichos elementos en los suelos adyacentes (Roca-Fernández, 2014).

Hidalgo es un estado con más de 400 años de historia minera, su cercanía con la ciudad de México fue un detonante importante en el crecimiento y explotación de las mineras del estado (Moreno-Tovar *et al.*, 2012), entre ellas las minas de Zimapán y Pachuca-Real del Monte. Diversos autores han señalado los riesgos que representan los desechos mineros derivados de la extracción “jales” que presentan una mineralogía variable y compleja constituida por silicatos, sulfuros y sulfosales además de elementos como el As, Cr, Sb, Se, Zn, Cu, Pb, Cd, Bi, Hg y Mn, que pueden encontrarse en altas concentraciones y ser potencialmente tóxicos (Moreno-Tovar, 2009).

Los MIT se definen como elementos de elevado peso atómico, con propiedades potencialmente tóxicas (Reyes- Hernández *et al.*, 2012), cuando los MIT se encuentran en concentraciones por arriba de las normas, pueden causar efectos negativos severos. De acuerdo con lo establecido por organismos no gubernamentales como la Organización Mundial de la Salud (OMS) y gubernamentales como la Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos (USEPA), de acuerdo a la clasificación del Centro Internacional para la Investigación sobre el Cáncer (IARC) se considera a metales como Hg, Pb y Cd como posibles carcinógenos para los seres humanos (IARC, 2014).

La exposición a MIT provoca severos daños a la salud (Nava-Ruíz y Méndez-Armenta, 2011), debido a su toxicidad, metales como el Pb y el As son neurotóxicos, otros metales como el Cd, el Cr y el Hg, son carcinogénicos, en concentraciones elevadas, por lo tanto, no se puede catalogar en riesgo 0 (Nordberg, 1998), a pesar de que se encuentren en bajas concentraciones, son de importancia por su potencial citotóxico y genotóxico, dada su capacidad inherente de hacer daño se consideran de importancia toxicológica (Rosa-Cálaho y Marrugo-Negrete, 2013; García-Gallegos *et al.*, 2014).

La ecotoxicología es la disciplina científica que estudia el efecto de las sustancias y compuestos químicos sobre los ecosistemas. Los estudios ecotoxicológicos nos permiten visualizar el potencial de riesgo de las sustancias xenobióticas en la exposición real a la que están expuestos los organismos, actualmente las evaluaciones ecotoxicológicas se apoyan de diversas áreas del conocimiento como la química analítica que permite determinar la presencia de algún contaminante, su concentración y su cinética ambiental, además de la presencia ausencia del contaminante en muestras biológicas, sus transformación, bioacumulación y cinética dentro de las matrices biológicas (Planes y Fuchs, 2015), donde para la evaluación del efecto biológicos derivado de la exposición se realizan bioensayos con biomarcadores que permiten detectar los daños causados por los contaminantes ambientales.

A pesar de la información existente sobre el riesgo que representa la presencia y nulo mantenimiento de los desechos mineros (jales), se han realizado pocos estudios sobre los efectos biológicos de los MIT en las concentraciones encontradas y la combinación de estos elementos presentes en los jales tomando en cuenta bibliografía y normativas para la realización de estudios de los posibles efectos de estos metales con enfoques ecotoxicológicos.

4. ANTECEDENTES

4.1 La contaminación en México

La contaminación se refiere a la presencia de sustancias o componentes nocivos en el medio ambiente o entorno natural, los cuales pueden ser químicos, físicos o biológicos, mismos que figuran en un daño a los seres vivos que lo habitan. Existen dos tipos de contaminación la antrópica y la derivada de procesos naturales la cual representa un porcentaje poco significativo comparado a la contaminación antrópica (Domínguez-Gual, 2015).

Las principales fuentes de contaminación antrópica en el suelo son la expansión de las zonas urbanas (Soto-Cortés, 2015), la sustitución de la cobertura vegetal, la urbanización (Bayardo, 2013), la mala gestión de residuos metálicos con Pb, Zn, Cd y Cu, (Jiménez-Ballesta, 2017), la minería, agricultura con el uso de pesticidas, así como fertilizantes, los hidrocarburos, pinturas y plásticos por lo tanto en las ciudades la contaminación se percibe como una fuente fija que afecta a los suelos (Alloway, 2013).

Así mismo el aire se ve afectado por las emisiones naturales y las emisiones antropogénicas (quema de combustibles fósiles, industria y ganadería) siendo las principales fuentes de contaminación atmosférica, (Zhang *et al.*, 2015), aunado a las emisiones de metales pesados derivadas del tránsito vehicular que emiten principalmente óxidos de sulfuro, óxidos de nitrógeno, óxidos de carbón, ozono y compuestos orgánicos volátiles (Hsu *et al.*, 2018).

Por su parte la contaminación del agua se ve influenciada por los desechos humanos cada día se arrojan 2 millones de toneladas de desechos a los cursos de agua, según la Comisión Nacional del Agua (CONAGUA, 2015), mientras que los residuos industriales, la minería, los productos químicos, los pesticidas, así como, los fertilizantes agrícolas son las principales fuentes de contaminación de aguas superficiales y sedimentos, aunado a la presencia de (MIT) como As, Hg, Cr, Cu, Ni y Zn que están presentes de forma natural que incrementan la contaminación y sus posibles efectos nocivos para salud de los ecosistemas y el hombre (SEMARNAT, 2012; Oyuela-Leguizamo *et al.*, 2017).

En México, según la cifra más reciente (Alloway, 2013), la generación de contaminantes sólidos urbanos alcanzó 53.1 millones de toneladas, lo que representó un aumento del 61.2% con respecto

a 2003, donde se alcanzó más de 1.2 kilogramos en promedio diario, entre las causas más importantes se encuentran; el crecimiento urbano, el cambio de uso de suelo, el desarrollo industrial, las modificaciones tecnológicas y el cambio en los patrones de consumo de la población (Alloway, 2013).

4.2 La minería y contaminación por MIT en el Estado de Hidalgo

La industria minera en México aporta el 1.8 % del producto interno bruto (SGM, 2016), es una de las industrias más antiguas y de mayor utilidad para el hombre, con grandes aportes a la economía, sin embargo, sus actividades son de alto impacto debido a que afecta las matrices ambientales como; el subsuelo, suelo, atmósfera y cuerpos de agua, derivado de su explotación y la generación de residuos mineros denominados jales, los cuales son fuentes de contaminación fijas que liberan especies químicas, por efectos de lixiviación donde concentraciones de metales son arrastrados hasta aguas subterráneas, ríos o lagos aunado a la dispersión aérea y la acumulación de MIT en suelos (Reyes-Hernández *et al.*, 2006 ;Gavilán-García *et al.*, 2020).

El estado de Hidalgo, ha sido un importante estado minero en el cual se han extraído diversos materiales (Au, Ag, Zn y Cu) por más de 450 años, esto ha generado depositados de residuos a cielo abierto de gran volumen “jales”, que casi sin acciones de rehabilitación han permanecido en el ambiente urbano aunado a el manejo inadecuado y la dispersión de estos residuos, se han generado problemas de tipo ambiental además de los efectos físicos, como la generación de drenaje ácido de roca acompañado de la lixiviación de MIT lo cual aumenta su cinética ambiental (García-Fernández y Dorronsoro-Fernández, 2005; Hernández-Acosta *et al.*, 2009).

Los jales mineros presentan composiciones variables, que van desde una edafología compleja, grado de compactación y una mineralogía variable que puede estar constituida por diversas especies químicas, sulfuros metálicos residuales como FeS_2 , $\text{Fe}_1\text{-XS}$, PbS , ZnS , CuFeS_2 y FeAsS , que destacan por sus altas concentraciones, los cuales pueden ser considerados elementos potencialmente tóxicos como As, Cr, Cd, Pb, Hg, Al, Cu, Zn, entre otros, desde el punto de vista ambiental (Moreno-Tovar *et al.*, 2009; Hernández-Ávila, 2012).

El distrito minero Pachuca-Real del Monte (figura 1) contiene cuatro presas de jales, la presa Omitlán, presa dos Carlos, Presa Santa Julia I y Santa Julia II, las cuales están expuestas a las

condiciones climáticas ambientales del sitio, como la dispersión de contaminantes por medios físicos (erosión, transporte eólico y pluvial) o por su alteración y movilidad química (disolución y transporte en medio acuoso) (Moreno-Tovar *et al.*, 2009; Gavián-García *et al.*, 2020), lo cual pone en riesgo la salud humana y de la biota asociada debido a las exposiciones a contaminantes y su capacidad de causar afecciones; respiratorias, cardiovasculares, hepatotóxicas, nefrotóxicas, neurotóxicas, reproductivas e incluso carcinogénicas (Lorenzo-Monterrubio, 1995; Contreras-López, 2016; Rodarte-García y Galindo-Escamilla, 2016).

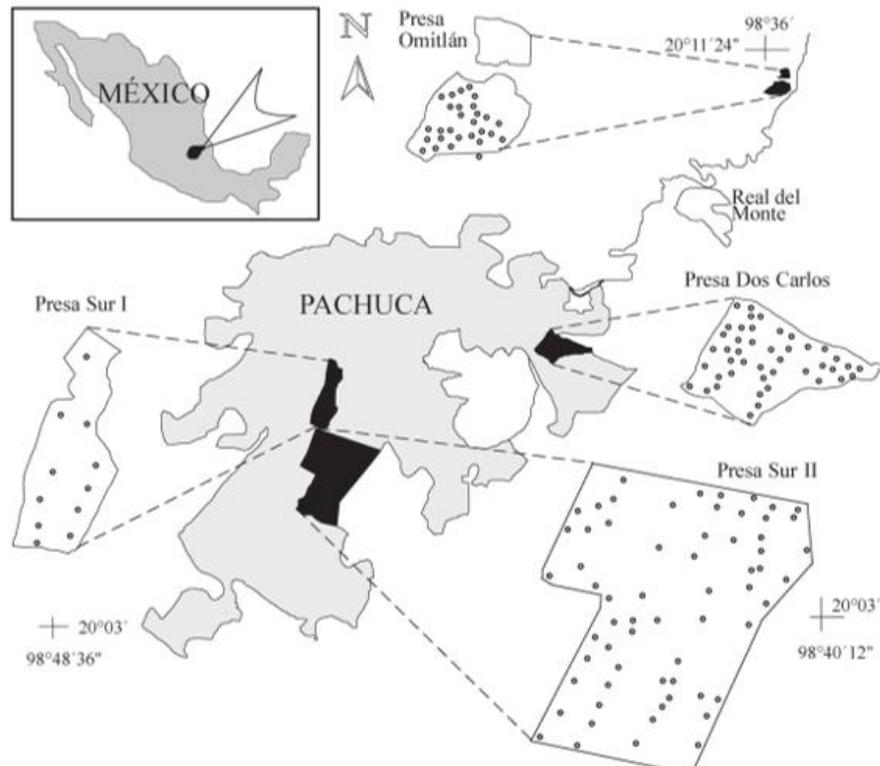


Figura 1. Presas mineras del distrito minero Pachuca-Real del monte (Moreno-Tovar *et al.*, 2009)

Lo anterior se sustenta en que los jales mineros son altamente tóxicos para los organismos, debido a su capacidad de alterar procesos fisiológicos y ecológicos (ciclo del agua, los ciclos biogeoquímicos, el flujo de energía y la dinámica de las comunidades), por lo que afecta la composición y estructura de un ecosistema (Bartkowiak y Lemanowicz, 2014) y en zonas mineras donde es predominante el clima árido o semiárido como el distrito minero Pachuca- Mineral del Monte, se ve afectada por la dispersión eólica, asociada al tamaño de partícula, siendo el mineral muy fino fácilmente transportado por el viento (Roy *et al.*, 2012; Contreras-López, 2016).

4.3 Metales de Interés Toxicológico (MIT) As, Cd, Cr y Hg

Se definen como MIT, a los elementos de elevado peso atómico, con propiedades potencialmente tóxicas, como es el caso de metales pesados y metaloides utilizados en la industria (Rodríguez-Herredia, 2017; Anbalagan y Sivakami, 2018).

Cuando los MIT se encuentran en concentraciones por arriba de las normas oficiales nacionales e internacionales, pueden causar efectos negativos; la lista de MIT prioritarios ha sido establecida por organizaciones gubernamentales y no gubernamentales como la US EPA, la Agencia para Sustancias Tóxicas y el Registro de Enfermedades (ATSDR), la OMS, la Administración de Alimentos y Medicamentos de los Estados Unidos (FDA) entre otras, siendo un consenso de los siguiente elementos Ag, As, Cd, Cr, Cu, Hg, Ni, Pb, Sb, Sn y Tl (Galán-Huertos y Romero-Baena, 2018).

4.3.1 As

El As es un metaloide de apariencia similar al “acero”, es un elemento natural ampliamente distribuido en la corteza terrestre, el cual se encuentra en formas orgánicas (combinaciones de As, C y H) e inorgánicas presentes naturalmente en el suelo, usualmente asociada a Cu o Pb; el origen antropogénico del As se debe a la capacidad de algunas formas minerales de moverse con el agua (fertilizantes con As e insecticidas) y la alta capacidad de los residuos de procesos industriales para adherirse (vapores de soldadura, preservación de madera, baterías ácido-plomo) a partículas pequeñas que son fácilmente dispersadas y transportadas por el viento, mientras que sus formas minerales más comunes son el arsenito y el arseniato (ATSDR, 2007).

Exposición

La población en general puede estar expuesta al As por la contaminación de las matrices ambientales agua, aire y suelo aunado a el consumo de alimentos que contienen As, siendo este el principal riesgo para la población en general, al contrario de la población ocupacional que puede estar expuesta a altas cantidades de As debido a trabajar en la industria maderera, minera, de fertilizantes y sus aplicadores (Nordberg, 1998; ATSDR, 2007; Olmos y Ridolfi, 2018).

4.3.2 Cr

Origen y formas minerales

El Cr es un elemento de origen natural que se encuentra en las rocas, animales, plantas y suelo, puede presentarse en varias formas, dependiendo de la forma que adopte, puede ser líquido, sólido o gaseoso, las formas más comunes son el Cr (0), Cr (III) y Cr (VI), todas las formas de Cr no presentan sabor ni olor asociado, su forma mineral más importante es la cromita. Los aportes antropogénicos de Cr están relacionados con la combustión de combustibles industriales, comerciales, residenciales de gas natural, petróleo y carbón, así como, el aporte de las industrias metalúrgicas, galvano plásticas, curtido de cuero y textil que liberan aproximadamente 1/3 del total del Cr (VI) que se encuentra en el ambiente (ATSDR, 2012).

Exposición

La población en general puede estar expuesta al Cr a través de los alimentos donde el Cr (III) es un nutriente esencial; a través del agua potable con cantidades elevadas de Cr (III); a través de la inhalación de aire contaminado con Cr (VI); los trabajadores de aproximadamente 80 industrias pueden estar expuestos al Cr (VI) por medio de la ingesta y la inhalación principalmente debido a exposiciones ocupacionales donde la principal exposición es a partir de la producción de cromato, la producción y soldadura de acero inoxidable, el cromado, las aleaciones de ferrocromo así como la producción de pigmentos de Cr (Álvarez-Rodríguez y Fernández-Marcos, 2011; ATSDR, 2012).

4.3.3 Cd

Origen y formas minerales

El Cd se encuentra en la corteza terrestre de forma natural y se asocia comúnmente con minerales de Zn, Pb y Cu y se obtiene generalmente como subproducto del Zn, su forma mineral más importante es la greenockita (CdS), además se plantea que es un constituyente natural del agua del océano, el Cd puede estar en el ambiente a través de fuentes naturales y antropogénicas. Las principales fuentes industriales de emisiones de Cd incluyen operaciones de fundición de Zn, Pb, Cu, calderas de carbón, petróleo, así como, la fabricación de fertilizantes de fosfato e incineradores de lodos municipales y de aguas residuales (Nava-Ruíz y Méndez-Armenta, 2011).

Exposición

La población en general puede estar expuesta al Cd, a través de los alimentos, el humo del cigarrillo, el agua potable y el aire. El Cd se introduce en la cadena alimentaria a través de los suelos agrícolas, que pueden contener Cd de forma natural o de fuentes antropogénicas, a partir de utensilios enchapados en Cd, así como en equipos galvanizados utilizados en el procesamiento y la preparación de alimentos; esmaltes, barnices para cerámica con pigmentos a base de Cd, además de estabilizadores utilizados en plásticos y en los alimentos. Por su parte la exposición ocupacional al Cd ocurre en los empleos donde es necesario calentar productos que contiene Cd, así como los trabajadores de las industrias de metalúrgica, aleaciones metálicas, pigmentos, plásticos, fundición y refinación (ASTDR, 2012; Youning *et al.*, 2014).

4.3.4 Hg

Origen y formas minerales

El Hg es un elemento que se encuentra de forma natural en la tierra, es el único metal que en condiciones normales de presión y temperatura permanece en estado líquido, El Hg puede ingresar al medio ambiente a partir de procesos naturales como la actividad volcánica, depósitos minerales, incendios forestales, emisiones oceánicas y desgasificación de la corteza terrestre o a través de la descarga de desechos industriales de la fabricación de productos electrónicos, minería, iluminación fluorescente, la producción de cloro-sosa cáustica, productos dentales (empastes), procesos de cianuración, la volatilización y la lixiviación (Millán *et al.*, 2007).

Los compuestos de Hg se clasifican en tres categorías generales:

(1) Hg elemental, Hg; (2) compuestos inorgánicos de Hg (cloruro de mercurio); (3) compuestos orgánicos de Hg (Metilmercurio CH_3Hg) capas de bioacumularse y biomagnificarse, siendo la forma más frecuente el sulfuro mercúrico (HgS) (Ramírez, 2008).

Exposición

La población en general está principalmente expuesta al Hg, en forma de metilmercurio (MeHg), a través de la ingestión de alimentos, específicamente pescados y mariscos, además de la inhalación de aire contaminado o las restauraciones dentales con amalgama de Hg, lo que puede contribuir a la exposición tanto oral como inhalatoria, mientras que la exposición ocupacional al Hg puede ocurrir a través de la inhalación o el contacto dérmico de personas que trabajan con el

metal o sus compuestos, en instalaciones de reciclaje y reprocesamiento de Hg, así como en la industria minera (cinabrio) (ATSDR, 2022).

4.4 Aspectos fisicoquímicos que aumentan cinética ambiental y la biodisponibilidad de los MIT.

La movilidad y destino de las diversas especies químicas de MIT en suelo están generalmente influenciadas por sus Propiedades Físicas Químicas (PFQ), así como factores ambientales (lluvia ácida), entre los elementos de mayor preocupación se encuentran el Hg, el Cd, el Cr y el As debido a su abundancia en la corteza terrestre y su utilidad en procesos industriales (Anbalagan y Sivakami, 2018).

La cinética ambiental de los MIT depende de condiciones como la disminución o aumento del pH, debido a que en pH básico es más probable que los MIT se establezcan en el suelo aunado a la alteración de la solubilidad y transporte de los iones, pero en caso contrario los MIT pueden ser removidos del suelo por efectos de arrastre debido a la acción de las lluvias convencionales y la lluvia ácida (pH 2-6), acción que facilita la lixiviación (figura 2) que consiste en la percolación de un fluido a través de un sólido (suelo) arrastrando gran cantidad de MIT, por lo tanto la acidez del medio está directamente relacionada con la solubilidad de los MIT (Nordberg, 1998; Roca-Fernández, 2016).

Algunas de las formas más eficientes para determinar el grado de movimiento de los MIT, es realizando cálculos que permiten determinar valores: tiempo de vida media ambiental (TMA), Coeficiente de reparto Octanol-agua (Log Kow), entre otros.

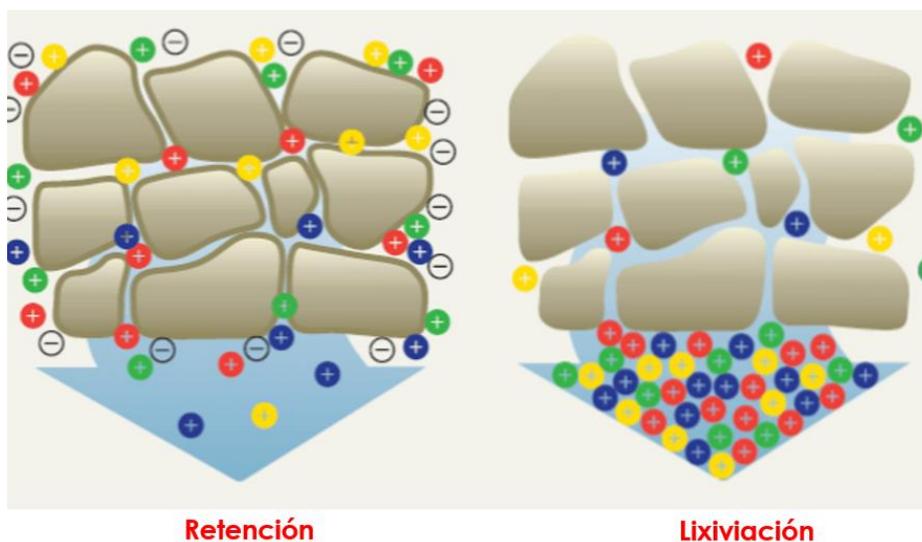


Figura 2. Lixiviación de metales en suelo. (Autoría propia)

El tiempo de vida media ambiental, está definido como el tiempo (en días, semanas o años) requerido para que la mitad de la una sustancia presente después de una aplicación se descomponga en productos de degradación. La descomposición depende de varios factores incluidos la temperatura, el pH del suelo, los microorganismos presentes en el suelo, clima, exposición de la sustancia a la luz, agua y oxígeno (Vera *et al.*, 2001).

El log Kow, mide la lipofiliidad o hidrofobicidad de un compuesto, permite identificar si una sustancia puede ser absorbida por organismos vivos. Los valores de Kow oscilan entre 10^{-3} y 10^7 L/Kg o cm^3/g . compuestos químicos con $\text{Kow} < 10$ se consideran hidrofílicos y tienden a tener alta solubilidad en agua, mientras que compuestos con $\text{Kow} > 10^4$ son hidrofóbicos y tienden a ser biodisponibles por su facilidad de atravesar membranas cuando presentan valores entre 3 y 8, caso contrario cuando se tiene un log kow bajo, la sustancia es soluble en agua lo que la vuelve más móvil por lo tanto más biodisponible (Martín-Olmedo *et al.*, 2016).

4.5 Papel de la química analítica y la espectrofotometría en los estudios de ecotoxicología

La química analítica, es una de las ramas más importantes de la química moderna, la cual estudia los métodos y técnicas que se ocupan de identificar y cuantificar los elementos o compuestos presentes en matrices ambientales y/o en tejidos y fluidos corporales (Skoog y West, 1986). Este tipo de estudios son de suma importancia para la evaluación y gestión de riesgos toxicológicos,

debido a que permiten correlacionar efectos biológicos y/o ambientales ante la presencia y concentración de Agentes Químicos Peligrosos (AQP), como es el caso de los MIT (Gaytán-Oyarzún *et al.*, 2020).

Con frecuencia, la técnica de espectrofotometría de absorción atómica es utilizada en la identificación y cuantificación en agua de elementos o compuestos de interés toxicológico debido a su amplia sensibilidad y especificidad; como es el caso en la detección y cuantificación de MIT en diversas matrices ambientales, así como en tejidos y/o fluidos corporales; por su parte, en México la norma oficial mexicana NMX-AA-051-SCFI-2001 establece la metodología para la identificación de metales pesados en agua, donde menciona a la espectrofotometría de absorción atómica como la indicada para la realización de estos estudios (Skoog y West, 1986).

Dentro de las metodologías de espectrofotometría de absorción atómica existen diversos tipos: espectrofotometría por absorción atómica de atomización en llama (FAA), espectrometría de masas con plasma acoplado inductivamente (ICP-MS), espectrofotometría por emisión óptica con plasma acoplado inductivamente (ICP-OES) y espectrofotometría de absorción atómica con horno de grafito (GFAAS) (Sánchez-Olivares, 2021).

4.6 Métodos y procedimientos para la evaluación de riesgos y efectos a la salud

La evaluación de los efectos biológicos asociados a una exposición a AQP ambientales, según la Academia Nacional de Ciencias de Estados Unidos (NAS), primero se debe de establecer la probabilidad que exprese un daño en una población o subpoblación, asociado a una exposición a un AQP en ciertas condiciones ambientales y situacionales (riesgos) (Martin-Olmedo 2016).

Para ello se debe identificar y cuantificar a los AQP presentes en el ambiente, lo que se denomina identificación del peligro; posteriormente se debe determinar los niveles de exposición, escenarios, vías de exposición y sectores expuestos, lo que se denomina evaluación de la exposición y de la vulnerabilidad, posteriormente se debe evaluar la relación dosis-respuesta, la cual consiste en establecer la gravedad de los posibles efectos a la salud relacionados con la exposición a los AQP a las concentraciones observadas lo que permite determinar la probabilidad

del riesgo y sustenta la evaluación de los efectos biológicos a través del uso de técnicas, métodos, bioensayos y biomarcadores en condiciones ambientales y/o de laboratorio (Lara-Gómez, 2021).

Diversos autores han desarrollado métodos que apoyen la toma de decisiones basados en información contextual de manera rápida, clara y eficaz, denominado Técnicas de Evaluación Rápida (TER) que se basan en el manejo de datos publicados para establecer magnitud, extensión y caracterización de una exposición o un problema, permitiendo disponer de forma sencilla y rápida de información que sustente la toma de decisiones (Sánchez-Olivares *et al.*, 2021).

Por otra parte la evaluación de potencial de riesgo (ATSDR, 2005) se ha adecuando a estas técnicas TER desde el 2019, a partir de la metodología de Evaluación Rápida de Potencial de Riesgo Genotóxico (ERPRG) (figura 3) (Gaytán-Oyarzún *et al.*, 2002), la cual se centra en el análisis de las variables ambientales, situaciones y del agente químico, que permiten identificar ambientes peligrosos, exposición y vulnerabilidad del sitio, así como efectos potenciales relacionados a las concentraciones observadas de los AQP presentes en la zona de estudio; y que en conjunto permiten determinar el incremento del potencial de riesgo derivado de una exposición (Rodríguez *et al.*, 2014; Gaytán-Oyarzún *et al.*, 2020; Lara-Gómez, 2021; Sánchez-Olivares *et al.*, 2021).

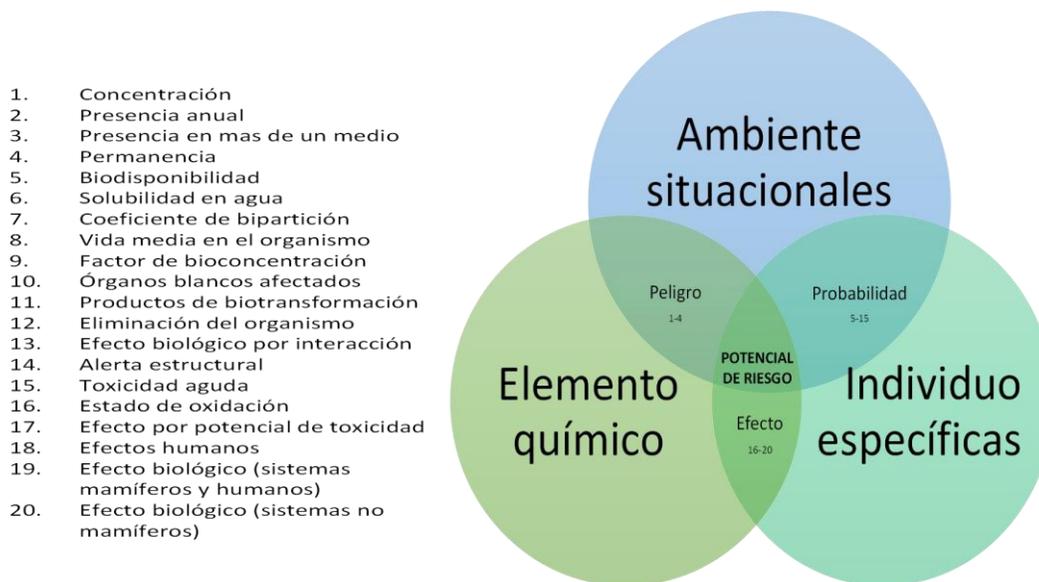


Figura 3. Dimensiones, interrelaciones y principales criterios como resultado de la unificación más actual, correspondiente a la Evaluación de potencial de riesgo genotóxico de compuestos xenobióticos (Gaytán-Oyarzún *et al.*, 2020)

En la actualidad el uso de bioensayos es uno de los métodos experimentales más utilizadas para medir el efecto biológico derivado de la exposición a xenobióticos, los cuales son técnicas

especializadas, realizadas en organismos bajo condiciones controladas de laboratorio y/o campo (Castañedo *et al.*, 2019; Ávila-Cervantes *et al.*, 2019).

La importancia del *V. faba* en investigaciones ecotoxicológicas, reside en que es un buen bioensayo debido a su eficiencia para detectar daños genotóxicos derivados de exposiciones ambientales, a su fácil mantenimiento y reproducción; bajos requerimientos económicos, además de estar ampliamente publicado como un bioensayo, el cual puede ser utilizado en evaluaciones de daño fisiológico, morfológico e inclusive genotóxico, extrapolable a otros sistemas biológicos (Nadgórska *et al.*, 2013); El ciclo celular es corto: 19.3 horas a 19 C°, las puntas de las raíz (meristemo apical) tienen una frecuencia alta de células en división (Ríos-Martínes, 2017; Sánchez-Olivares *et al.*, 2021), lo anterior se complementa con ventajas para estudios citológicos, debido a que *V. faba* cuenta con solo 4 cromosomas, fáciles de observar a 40x (Iqbal, 2016); por otra parte, se conoce ampliamente su ciclo celular, además de poseer biomarcadores de efecto fáciles de identificar y evaluar (Castañedo *et al.*, 2019).

En el ensayo para evaluar aberraciones cromosómicas y micronúcleos descrito en *V. faba*, primero se cuantifican las estructuras anafásicas como fragmentos y/o cromosomas retardos que no migran, fragmentos en anillo, puentes anafásicos sencillos y/o dobles (figura 4) (Nadgórska *et al.*, 2013); e incluso también se pueden evaluar células binucleadas, que corresponden a un daño a nivel de centriolos; se complementan con la identificación del Índice de Micronúcleos (IMn) en interfase que corresponden a fragmentos o cromosomas que no migraron en la anafase anterior; siendo estos los dos principales biomarcadores de daño genotóxico que se utilizan, principalmente identificando rompimientos de los cromosomas (clastogénesis), daño a nivel de centriolos e inactivación de centrómeros (Torres-Bugarín *et al.*, 2013).

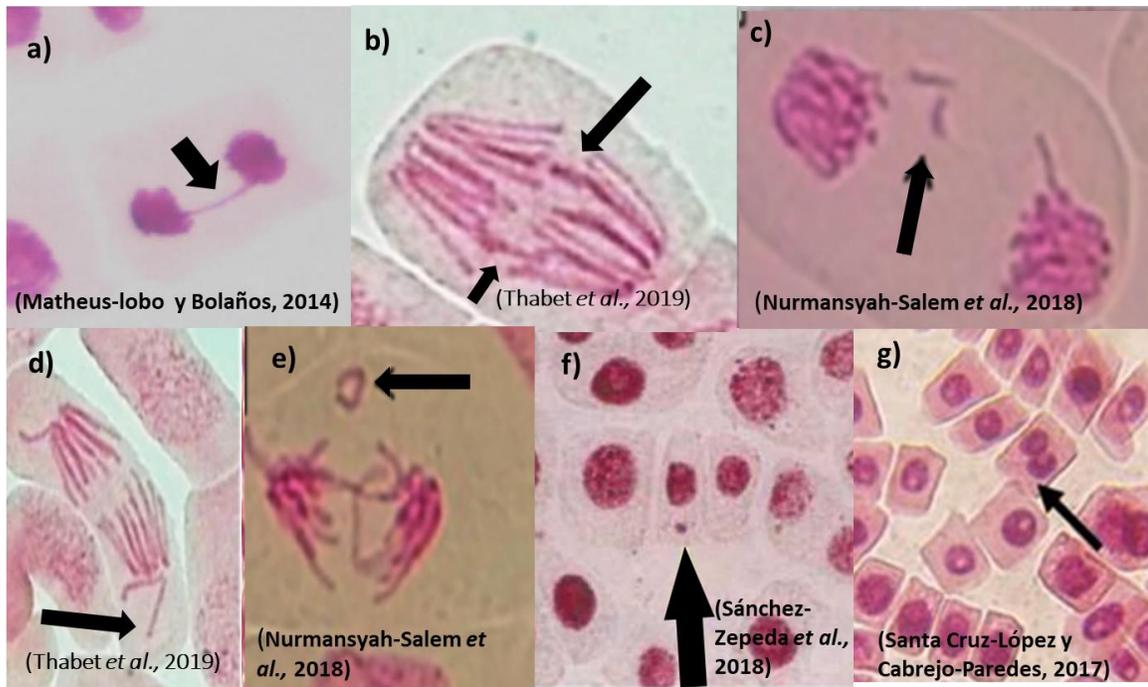


Figura 4. Tipos de aberraciones cromosómicas

4.6.1 Las distintas AC pueden formarse de la siguiente manera:

Basado en las teorías de rompimiento y unión, se pueden explicar la aparición de aberraciones cromosómicas en anafase, por ejemplo: al romperse dos cromosomas y al unirse se puede generar una combinación de un cromosoma con dos centrómeros (cromosoma dicéntrico) este se puede observar en metafase, pero si en anafase cada centrómero migra a diferente polo se forma un puente anafásico sencillo (figura 4a) (cromatídico), el cual al migrar los dos centrómeros a diferentes polos se puede romper aleatoriamente generando deleciones y duplicaciones al azar que pueden generar incluso micronúcleos (figura 4f) en la siguiente interfase (AGCOH, 2022).

De igual forma cuando un cromosoma se rompe y se forman reuniones al azar también se pueden formar cromosomas o fragmento en anillo (figura 4e), si cuenta con dos centrómeros es dicéntrico, los cuales también pueden migrar a diferentes polos generando un puente anafásico doble (figura 4b) que al igual que el puente anafásico sencillo (figura 4a) se puede romper de manera aleatoria generando fragmentos cromosómicos (figura 4c) que a la vez pueden verse en la interfase como micronúcleos (Alegre-Bayo, 2001; Suarez-Ayala *et al.*, 2016).

Un Isocromosoma (figura 4d) se forma de un cromosoma que se rompe horizontalmente generando brazos (cromatides) con la información duplicada dando dos cromosomas con centrómero inactivado (no funcional) y por lo tanto no migran (cromosomas retardados) y que a su vez también tiene oportunidad de verse como un micronúcleo en la siguiente interface al quedar fuera de la masa nuclear (Romero-Rojas *et al.*, 2020).

4.6.2 Micronúcleos

Los micronúcleos, (figura 4f) son masas de cromatina que tienen forma de pequeños núcleos y que aparecen cerca del núcleo principal en las células interfásicas (Sánchez *et al.*, 2018) presentan un diámetro entre 1/16-1/3 de la media del diámetro del núcleo principal o un diámetro que varía desde 0.4 a 1.6 micras (Corchado-Ramírez, 2015). En el caso particular de estos, existen criterios de inclusión e identificación (Valencia *et al.*, 2013) como: Apariencia no refractaria, es decir presentan una intensidad de tinción similar o superior al núcleo; tener una forma circular u ovoide, además de no tocar a el núcleo y estar separado por lo menos por una distancia equivalente a su tamaño. El índice micronúcleos (IMn) se entiende como el número total de células observadas entre el número de células con presencia de micronúcleos (Valencia-Quintana *et al.*, 2013).

5. JUSTIFICACIÓN

En la actualidad la contaminación representa uno de los principales problemas en los ecosistemas y la salud pública, debido a la presencia de AQP y MIT (Oyuela-Leguizamo *et al.*, 2017) a los cuales el ser humano y la biota en general pueden estar expuestos, ya sea de manera natural o por actividades antropogénicas como el caso de la actividad minera (Morreno-Tovar *et al.*, 2012).

En este caso los MIT, tienen PFQ que los vuelven ambientalmente peligrosos, debido a que no se biodegradan y pueden movilizarse de las matrices ambientales a los seres vivos (biodisponibilidad). Por otra parte, estas mismas PFQ dentro del organismo le confieren la capacidad de bioacumularse y biomagnificarse; incluso también le confieren propiedades toxicodinámicas importantes debido a que son altamente tóxicas (Delgadillo-López *et al.*, 2011).

Pachuca, presenta un alto grado de contaminación producida por la industria minera, la cual ha generado desechos denominados jales, que contienen MIT en concentraciones potencialmente peligrosas, aunado al crecimiento urbano, el cual ha provocado que los asentamientos humanos se encuentren cerca de estas fuentes de contaminación, aumentando el riesgo potencial; además el arrastre de MIT en el ambiente, se puede incrementar por la presencia de lluvia ácida, la cual se asocia a ambientes urbanos debido a la contaminación de la combustión interna de vehículos automotrices, precursores de óxidos de azufre (SO₂), óxidos de nitrógeno (NO_x) y dióxido de carbono (CO₂) que se relaciona con la lluvia ácida (Aimacaña-Toapanta, 2016).

La ciudad de Pachuca Hgo., actualmente cuenta con una población de 511,981 habitantes (INEGI, 2020), los cuales están expuestos constantemente a MIT; a pesar de lo mencionado las investigaciones previas se han limitado a la caracterización química e informar de la presencia de MIT, dejando de lado el efecto biológico asociado a las exposiciones por lo tanto es necesario complementar la información existente abordando la problemática de los MIT presentes en jales en la ciudad de Pachuca, desde un enfoque ecotoxicológico (Morreno-Tovar *et al.*, 2009) que contemple la caracterización y cuantificación química, una evaluación rápida de potencial riesgo genotóxico, así como análisis del daño genotóxico por medio de la técnica de bioensayo en *V. faba*. que permite evaluar los efectos biológicos “genotoxicidad” derivados de la exposición a MIT, debido a sus características que permiten extrapolar la información al ser humano.

6. OBJETIVOS

6.1 Objetivo general

Evaluar el potencial de riesgo genotóxico de los MIT presentes en lixiviados ácidos y a pH neutro de desechos mineros (jales) de la ciudad de Pachuca Hgo., a través de la cuantificación de estructuras anafásicas y la frecuencia de micronúcleos presentes en células meristemáticas en *Vicia faba* L., para contribuir al conocimiento del potencial de riesgo de estos elementos y sus efectos asociados.

6.1.1 Objetivos específicos

1. Caracterizar el tipo de suelo y cuantificar la presencia de MIT en el jal Santa Julia I de Pachuca, a través de la técnica de espectrofotometría de absorción atómica, para sustentar un análisis de potencial de riesgo basado en su peligrosidad.
2. Analizar la probabilidad de que exista un efecto nocivo en la salud asociado a la exposición a MIT identificados en el jal Santa Julia I de Pachuca. a través de la técnica de “Evaluación Rápida de Potencial de Riesgo Genotóxico” (ERPRG), para sustentar una evaluación de daño.
3. Evaluar el efecto citotóxico y genotóxico de los MIT identificados en el jal Santa Julia I de Pachuca, a través de la cuantificación del índice mitótico, el conteo de estructuras anafásicas y la frecuencia de micronúcleos en células meristemáticas de *Vicia faba* L., en condiciones ácidas y observadas para contribuir al conocimiento de los efectos ambientales asociados a una exposición.

7. METODOLOGÍA

7.1 Caracterización y cuantificación de MIT en suelo

Para caracterizar el tipo de suelo y cuantificar la presencia de MIT en el jal Santa Julia I de Pachuca, Hgo., por medio de técnicas de espectrofotometría, se requieren los siguientes pasos metodológicos: se requiere delimitar la zona de estudio, la búsqueda biográfica de parámetros climatológicos, georreferencias, entorno físico de la zona de estudio, vulnerabilidad del sitio, así como realizar la caracterización física y química del tipo de suelo además de identificar y cuantificar metales de interés toxicológico (MIT) presentes en lixiviados.

7.2 Cartografía de cuadrantes

Se realizó una cartografía de cuadrantes como lo propone la ATSDR (2005), para ellos fue necesario, conocer el área de estudio, visitas previas y herramientas de georreferenciación como Maphub, para ubicar las áreas de alta exposición (1500m a la redonda), imágenes satelitales de la periferia, los asentamientos humanos, escenarios de exposición y sitios de alta vulnerabilidad (escuelas, hospitales y áreas recreativas).

Una vez que se determinó el área de impacto, se ubicaron los sitios de interés (asentamientos humanos, escenarios de exposición y sitios de alta vulnerabilidad como se mencionó anteriormente) (figura 5).



Figura 5. Zona de estudio y lugares de alta exposición (Autoría propia)

7.3 Caracterización física y química del tipo de suelo.

La identificación del tipo de suelo se determinó a partir del porcentaje de arcillas, el tipo de suelo, pH, grado de compactación, cubierta vegetal y mineralogía, según lo recomienda la norma NOM-021-RECNAT-2000; para su caracterización se realizó una búsqueda bibliográfica, debido a su interacción con la cinética ambiental de los MIT.

7.4 Identificación y cuantificación de MIT en suelo

7.4.1 Toma de muestras

El número de muestras y distribución se realizó con la metodología propuesta por Vidal-Otálora (2014), con la cual se logró determinar 23 sitios (figura 6) (muestreo septiembre-octubre 2021). Para cada sitio se tomaron 3 submuestras de suelo seco, para posteriormente mezclarlas y formar una muestra compuesta con un total de 5 kilogramos de peso.



Figura 6. Puntos de muestreo (Autoría propia)

7.4.2 Obtención de Lixiviados a condiciones observadas y ácidas (NOM-053-ECOL-1993; López-Domínguez y Pérez-Salazar, 2018)

Para la obtención de lixiviados a pH observado y pH ácido, se utilizó la tierra del jal seca, sin humedad o materia vegetal posteriormente se colocaron 5 kilogramos en un recipiente plástico, con dos filtros en la salida (figura 7), se utilizó un matraz kishimoto de 1 lt y un vaso de precipitados con la capacidad de 4 lt conectados por dos mangueras de 50 cm y una bomba de agua con la capacidad de bombeo de 800 lt/1 hr (figura 7).

Posteriormente para iniciar el proceso de lixiviación, se ajustó el pH a 7 (neutro) en 4.8 lt de agua el cual corresponde al pH observado, con la finalidad de poner a circular agua por 24 hrs, sobre el recipiente con la muestra de suelo así logrando simular la lluvia, se realizó el mismo procedimiento para obtener lixiviados a pH ácido, ajustando 4.8 lt de agua a un pH de 3, como el de la lluvia ácida con el objetivo de evaluar como el pH influye en la disposición ambiental de estos metales.

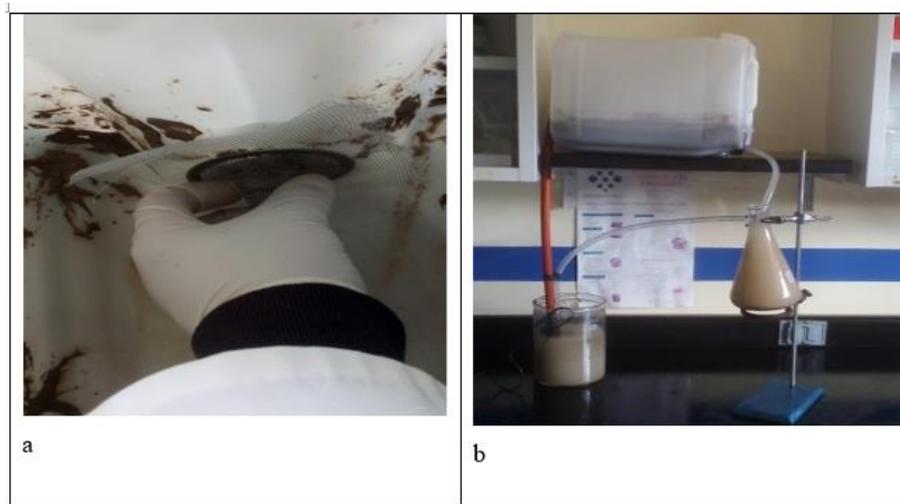


Figura 7. a) Malla metálica; b) Sistema de lixiviación (Autoría propia)

7.4.3 Identificación y cuantificación de MIT en lixiviados

Las muestras resultantes del lixiviado neutro se trasladaron en frío (4°C) en una hielera en un recipiente de poliuretano con tapa al Laboratorio Industrial Ambiental de Hidalgo. A de C. V. donde se realizó la técnica de espectrofotometría de absorción atómica mencionada en la norma NMX-AA-051, para identificación y cuantificación de Metales de Interés Toxicológico (MIT) como As, Cd, Cr y Hg de acuerdo a la bibliografía consultada, en cuando a los tipos de residuos que se pueden encontrar en los jales (Moreno-Tovar *et al.*, 2009).

7.5 Evaluación Rápida del Potencial de Riesgos Genotóxicos en la zona de estudio

Para analizar la probabilidad de que exista un efecto nocivo en la salud asociado a la exposición a MIT identificados en los jales de Pachuca, fue necesario realizar adecuaciones a las Técnicas de Evaluación Rápida (TER) reportadas (figura 8), para obtenerlos siguientes pasos metodológicos (Gaytán-Oyarzun, J. C. y López-Escamilla, 2019; Lara-Gómez, 2021; Sánchez-Olivares *et al.*, 2021).

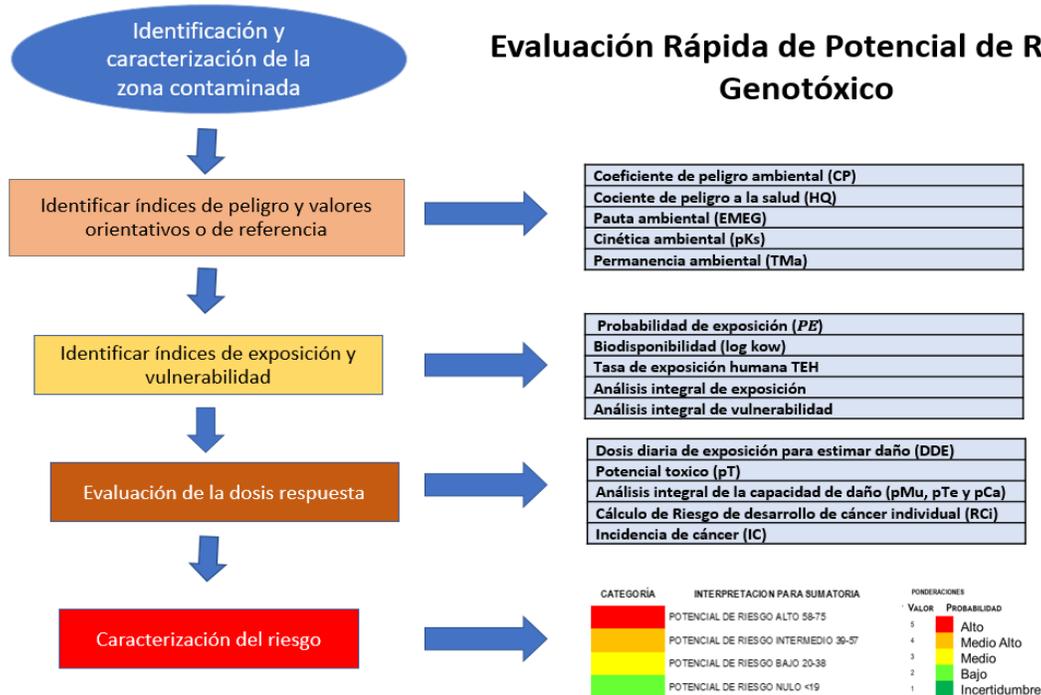


Figura 8. Evaluación Rápida de Potencial de Riesgo Genotóxico (Autoría propia)

7.5.1 Identificación y caracterización del peligro

Para la identificación y caracterización del peligro, se identifican y cuantifican los AQP que se encuentran en la zona de estudio, se consideraron sus PFQ que pudieran favorecer la exposición, cinética ambiental y permanencia; además se tomó en cuenta las características de la matriz ambiental (suelo) que pudieran aumentar su disposición, como es la textura, cantidad de materia orgánica y pH (ATSDR, 2005); de tal forma que la caracterización del peligro se obtuvo con los siguientes indicadores.

7.5.2 Cociente de peligro ambiental.

Con base en la caracterización del suelo de jales y su análisis contra los límites máximos permisibles que establece la Norma Oficial Mexicana NOM-052-SEMARNAT-2005, se estableció el cociente de peligro ambiental (CP) (Gonzales-Mille *et al.*, 2010), que se obtuvo mediante concentración observada & NOMs, con la siguiente fórmula: Para su interpretación ver anexo 1

$$CP = Ce / Cr$$

7.5.2.1 Cociente de peligro a la salud (HQ por sus siglas en ingles).

Para estimar HQ (Hazard Quotient), se comparan los valores de referencia de cada uno de los químicos a evaluar con el límite mínimo de riesgo, propuesto por ATSDR (2005) o RfD de la USEPA, (2001).

Para determinación de este indicador se tomó en cuenta que si los valores de HQ son igual o mayores a 1.0, indica efectos adversos no cancerígenos para la salud por la ingesta continua y prolongada. Para su interpretación ver anexo 1

$$HQ = CDI \text{ o } DDE \text{ (mg/kg/d)} / LMR \text{ o } Rfd \text{ (mg/kg/d)}$$

$$CDI = ((Ce) \cdot (TI)) / PCo$$

7.5.2.2 Peligrosidad con base en concentraciones ambientales.

Propuestos por la ATSDR, se trata de valores de referencia denominados: Guía de Evaluación para Medios Ambientales, por sus siglas en inglés: EMEG. es la concentración de un contaminante en suelo, agua o aire con base a su valor de ingesta, que tiene una baja probabilidad de estar asociada con cualquier riesgo apreciable de efectos deletéreos no cancerosos durante una exposición determinada.

El cálculo de EMEG se obtiene al multiplicar la Dosis de Referencia (RfD) o el límite mínimo de riesgo, por el peso corporal (PCo) y luego dividir el producto entre la tasa de ingestión diaria (TI), el contaminante cuya concentración en el ambiente supere a la EMEG se considera un contaminante crítico, lo implica que aumenta su peligrosidad (Díaz-Barriga, 1999). Para su interpretación ver anexo 1

$$EMEG = (RfD \text{ o } MRL \text{ (mg/kg/día)} \cdot PCo \text{ (Kg)}) / (TI \cdot (L/día))$$

7.5.2.3 Cinética ambiental

Peligrosidad con base en su cinética ambiental, para metales pesados, se determina con base en la constante de equilibrio de solubilidad (pKs) según Garritz-Ruiz *et al.* (2005), a un pH de entre 6.5 a 8.5 y a una temperatura de 25°C. Para su interpretación ver anexo 1

7.5.2.4 Tiempo de vida media (TMa)

Peligrosidad con base en su tiempo de vida media en agua del contaminante: es decir el tiempo que se requiere para que una sustancia química alcance la mitad de su concentración en corrientes

y cuerpos de agua (Ramírez-Espitia y Lacasaña, 2001; Martín-Olmedo *et al.*, 2016); Por lo general, debido a la naturaleza química de los MIT, la peligrosidad corresponderá a la más alta. Para su interpretación ver anexo 1

7.5.3 Evaluación de la exposición y la vulnerabilidad

La evaluación de la exposición es un paso clave en el proceso de evaluación de riesgos porque, sin una exposición, incluso la sustancia química más tóxica no representa una amenaza; por otra parte, también es importante en la evaluación de daños determinar si la probabilidad de que el xenobiótico a evaluar sea capaz de atravesar barreras biológicas (exposición efectiva o biodisponibilidad). Por lo tanto en esta etapa se determinaron la probabilidad de exposición, su biodisponibilidad, la tasa de exposición, una evaluación integral de exposición, en donde se contempló según los criterios de la ATSDR: sectores expuestos, vías de exposición, escenarios de exposición, frecuencia, duración y categoría de la exposición, así como la relación espacio temporal con la fuente de emisión; por otra parte también se contempló una evaluación integral de la vulnerabilidad en donde se identifica el porcentaje de sectores de alto riesgo expuestos, así como la vulnerabilidad del sitio por la presencia de asentamiento humanos, escuelas, hospitales, ecosistemas frágiles, además de campos de cultivo y cuerpos de agua que pudieran contaminarse (Gaytán-Oyarzún *et al.*, 2020).

7.5.3.1 Probabilidad de exposición para el sector poblacional

Para este rubro se determinó la probabilidad de exposición en la población de alto riesgo a través de la diferencia en unidades al multiplicar el porcentaje de la población por un factor de riesgo (por el cociente de peligro), entre la diferencia del sector poblacional de no riesgo. Lo cual se interpreta como una mayor probabilidad de exposición (Sánchez-Olivares *et al.*, 2021) y se calculó con la siguiente fórmula. Ver anexo 2

$$PE = \left[\frac{(SPR) \cdot (FR1)}{(SP) \cdot (FR2)} \right] \cdot (100)$$

7.5.3.2 Biodisponibilidad a través del coeficiente de partición o reparto (Octanol-agua)

Exposición efectiva basada en su afinidad a lípidos a través del Coeficiente de partición o de reparto LogKow (Octanol-Agua: solubilidad en fase orgánica/solubilidad en agua). Es un indicador que permite medir la biodisponibilidad de un compuesto basado en su afinidad por

lípidos, en el entendido que los compuestos más liposolubles atraviesan mejor las membranas biológicas y los hidrosolubles no (Delgado-Mota, 2014). Ver anexo 2

7.5.3.3 Tasa de Exposición Humana (TEH)

Exposición efectiva, con base en la estimación de la tasa de exposición humana, la cual puede ser comparada con un valor orientativo o de referencia, tomando en cuenta la fórmula siguiente (OMS, 2017). ver anexo 2

$$TEH = (CR \cdot TC \cdot TE) / PCP$$

7.5.3.4 Análisis integrado de la probabilidad de exposición

Se elaboró una matriz con los siguientes rubros: origen de la emisión destino ambiental, escenario de exposición, relación espacio temporal de la fuente de emisión, vías o rutas de exposición, frecuencia anual de la exposición, duración de la exposición y categoría de la exposición según la ATSDR a cada uno de los indicadores se les asignó valores de 1 a 4, donde el valor mayor corresponde al de mayor probabilidad de exposición y el valor menor se refiere a la menor probabilidad de exposición o de incertidumbre (figura 9).

		4	3	2	1
Origen o fuente de emisión del AQP		Mixto	Antropogénico	Natural	No es claro
Destino ambiental (agua, suelo, el aire, o alimentos)		2 o mas matrices ambientales mas alimentos	2 o mas matrices ambientales	Un matriz ambiental	Se desconoce
Escenario de exposición o zona (Residencial, Laboral, Recreativo, Ambiental)		Si 3 escenarios	Si 2 escenarios	Si 1 escenario	No identificado
Relación espacio temporal que favorece la exposición (elegir una opción para medir el indicador).	Cercanía a la fuente de contaminación (suelo y/o cuerpo de agua cerrado)	Alto (0-1500 m)	Mediano (1501-3000 m)	Bajo (>3000 m)	Desconocida
	Cercanía al escenario de exposición (corriente de agua superficial o subterránea)	Simultáneamente -aguas abajo de las corrientes superficiales -en la dirección del flujo de los acuíferos subterráneos.	Uno de los dos casos -aguas abajo de las corrientes superficiales -en la dirección del flujo de los acuíferos subterráneos.	Se conoce uno y se desconoce otro -aguas abajo de las corrientes superficiales -en la dirección del flujo de los acuíferos subterráneos	Desconocida
	Orientación la fuente de contaminación (suelo)	- En la dirección de los vientos dominantes	En aguas abajo de las corrientes superficiales	En la dirección del flujo de los acuíferos subterráneos	Desconocida
Vías o rutas de exposición adecuadas al tipo de AQP (Inhalatoria, Gástrica, Dérmica y/o mixta)		Si 3-4 vías	Si 2 vías	Si 1 vía	No identificado
Frecuencia anual de la exposición		Permanente	Eventual	Accidental	Desconocida
Duración de la exposición		Años (<12 meses)	Meses (1-12 meses)	Días y horas (> 30 días)	Desconocida
Categoría de la vía de exposición		Completa	Potencial	Eliminada	Desconocida
Total		32	24	16	8

Probabilidad de que exista una exposición: de 25 a 32 pts. **Alta probabilidad de exposición (5)**, de 17 a 24 pts. **Mediana probabilidad de exposición (4)**, de 8 a 16 pts. **Baja probabilidad de exposición de la exposición (3)**, >8 pts. **Exposición no determinada (1)**

Figura 9. Análisis integrado de probabilidad de exposición (Autoría propia)

7.5.3.5 Análisis integrado de vulnerabilidad

Para evaluar la vulnerabilidad individual y la del sitio, se elaboró una matriz que contempla el porcentaje de población de alto riesgo expuesta, la presencia de asentamiento humanos, escuelas,

hospitales, ecosistemas frágiles, además de campos de cultivo y cuerpos de agua que pudieran contaminarse, a cada uno de los indicadores se les asignó valores de 1 a 4, donde el valor mayor corresponde al de mayor vulnerabilidad individual y del sitio y el valor menor se refiere a la menor vulnerabilidad o de incertidumbre (figura 10). ver anexo 2

	4	3	2	1
% de la población de alto riesgo expuesta (niños, mujeres embarazadas, adultos mayores y sectores laborales altamente expuestos)	>70%	>50%	>30%	<30%
De acuerdo PFQ del compuesto y efectos reportados, identificar si hay un o más sector con mayor vulnerabilidad o mayor posibilidad de exposición	Un punto extra por cada sector que presente alta especificidad (niños, mujeres embarazadas, adultos mayores y sectores laborales altamente expuestos)			
Asentamientos humanos cerca del sitio de exposición	Alto (0-1500 m)	Mediano (1501-3000 m)	Bajo (>3000 m)	Desconocida o no hay
Escuelas y hospitales cerca del sitio de exposición	Alto (0-1500 m)	Mediano (1501-3000 m)	Bajo (>3000 m)	Desconocida o no hay
Actividades laborales cerca del sitio de exposición relacionados con el compuesto en particular	Alto (0-1500 m)	Mediano (1501-3000 m)	Bajo (>3000 m)	Desconocida o no hay
Cuerpos de agua superficiales susceptibles a contaminarse	Alto (0-1500 m)	Mediano (1501-3000 m)	Bajo (>3000 m)	No identificado
Ecosistemas frágiles o reservas protegidas, especies en riesgo	Alto (0-1500 m)	Mediano (1501-3000 m)	Bajo (>3000 m)	No identificado
Áreas de suelos agropecuarios que puedan ser afectados por una exposición	Alto (0-1500 m)	Mediano (1501-3000 m)	Bajo (>3000 m)	No identificado
Total	28	21	14	7

Probabilidad de que exista una exposición efectiva y esta se relacione con algún efecto nocivo, de 22 a 28 pts **Alta vulnerabilidad**, de 15 a 21 pts. **Mediana vulnerabilidad**, de 8 a 14 pts. **Baja vulnerabilidad** de la exposición, >7 pts. **Vulnerabilidad no determinada**

Figura 10. Análisis integrado de vulnerabilidad (Autoría propia)

7.5.4 Evaluación del efecto biológico

Busca evaluar la relación dosis-efecto es decir conocer la dosis a la que un compuesto, como un MIT u otros AQP, provocan una respuesta biológica; y así determinar la toxicidad de un agente peligroso, mecanismos de acción y efectos potenciales a la salud (ATSDR, 2019), permite regular las concentraciones de exposición, manejo e incluso disposición ambiental que pudieran estar relacionados con la salud de muchas personas involucradas directa e indirectamente (González-Ulibarry, 2019).

7.5.4.1 Dosis diaria de exposición (DDE).

La dosis de exposición, representa la magnitud de la exposición y se expresa en unidades de masa de contaminante expuesta por unidad de masa corporal y día. Para el cálculo fue necesario determinar la concentración de cada compuesto tóxico en uno de los medios (suelo) y se realizó para cada una de las vías de exposición (oral, cutánea, por inhalación) (Gaytán-Oyarzún *et al.*, 2020). Ver anexo 3.

$$DDE = (Ce \cdot TI \cdot FE) / (PCo)$$

$$FE = (F \cdot Dexp) / AT$$

7.5.4.2 Potencial de toxicidad (pT)

De acuerdo con el criterio de Degrossi (2013), para exposición crónica, los xenobióticos con un potencial de toxicidad alto pueden ocasionar efectos adversos en los organismos. Ver anexo 3

$$pT = -\log T$$

7.5.4.3 Análisis integral de la capacidad de daño (la sumatoria de pMu, pTe y pCa)

El análisis integral de la capacidad de daño es un indicador que tiene como finalidad mostrar los diferentes daños que pueden provocar los contaminantes con alta similitud como el grupo de los metales pesados, contaminantes que tienen la capacidad de producir efectos a nivel, genético (mutaciones), embrionario así como reproductivo (teratogénesis) y celular (cáncer), por lo tanto al incluir los indicadores de **pMu**, **pTe** y **pCa** el contaminante puede ser valorado de una forma integral abarcando más efectos que en un solo indicador. Para la evaluación de este indicador integral fue necesario realizar los siguientes indicadores. Ver anexo 3

7.5.4.3.1 Potencial Mutagénico (pMu)

El potencial mutagénico se refiere al efecto causado por la exposición a xenobiótico, que puede inducir cambios heredables de manera generacional por cambios en la cantidad y calidad del material genético. El efecto debe ser evaluado por medio de la categorización a la que pertenece el contaminante de interés. La información será recopilada en hojas de seguridad de PubChem. (Sánchez-Olivares *et al.*, 2021).

7.5.4.3.2 Potencial Teratogénico (pTe)

Probabilidad de un efecto nocivo a la salud, con base en su potencial de efecto teratógeno se realiza a través de reportes científicos publicados: Se refiere a la capacidad potencial de xenobióticos para producir malformaciones o defectos en la descendencia.

7.5.4.3.3 Potencial Carcinogénico (pCa)

Este rubro se refiere a la posibilidad de que un compuesto xenobiótico manifieste un efecto biológico con base en la clasificación de potencial cancerígeno establecido por la IARC

(2012). Ver anexo 3

7.5.4.4 Riesgo de desarrollo de cáncer a lo largo de la vida (ILRCi)

De acuerdo con la USEPA (2001), se contempla la posibilidad de desarrollo de cáncer por exposición a un compuesto xenobiótico, a partir del cálculo de los datos de la ingesta diaria crónica y el factor de pendiente de cáncer (CSF) de cada MIT o AQP, establecido en la base de datos IRIS de la EPA (2005) o de la ATSDR (2004). Ver anexo 3.

La posibilidad de desarrollar cáncer individual se estima utilizando la ecuación Incremental Lifetime Cancer Risk (ILCRi) propuesta por la USEPA y es el riesgo de desarrollo de cáncer individual durante el tiempo de vida de un sujeto (EPA, 2005).

$$ILCRi = (CDI \text{ (mg/kg/d)}) \cdot (CSF \text{ (mg/kg/d)})$$

7.5.4.5 Índice de cáncer (IC)

Este rubro se refiere a la posibilidad que tiene la población de desarrollar cáncer por exposición a un compuesto xenobiótico de acuerdo a Armijo-Simón (2005). Para caracterizar el riesgo cancerígeno poblacional se multiplicó el riesgo cancerígeno individual por el número total de la población para de este modo obtener la incidencia de cáncer

$$IC = ILCRi \cdot P(1E-06)$$

7.5.5 Caracterización de riesgos con base a la Evaluación Rápida del Potencial de Riesgo Genotóxico

La Evaluación Rápida de Potencial de Riesgo Genotóxico (ERPRG) fue el método, implementado en los sitio de estudio, debido a que se cuenta con reportes de la presencia de MIT en suelos circundantes a los jales, lo cual marca antecedentes de la contaminación en dicha zona que aunado a su origen antropogénico, forma mineral, propiedades fisicoquímicas ambientales y a las características propias de cada compuesto aumentan la presencia y cinética ambiental dando un alta probabilidad de ser biodisponibles, así como bioacumulables (Sánchez-Olivares *et al.*, 2021).

Para la correcta caracterización del riesgo se elaboró el diseño de una matriz de análisis y evaluación de dos vías que contó por un lado con las tres dimensiones (peligro, exposición y efecto) así como cinco indicadores por dimensión y por otro los compuestos a evaluar.

Se asignaron valores del uno al cinco de acuerdo al análisis de cada indicador, la suma total de los valores asignados, se realizó de manera vertical identificando el compuesto de mayor potencial de riesgo, para posteriormente asignar colores a cada número para así potenciar el análisis de manera cuantitativa y cualitativa (colores) (figura 11) para identificar el valor de manera técnica, sistemática y sencilla, permitiendo el análisis por cada una de la dimensiones con la finalidad de identificar las variables de cada compuesto (Gaytán-Oyarzún *et al.*, 2020).

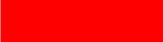
Ponderaciones			CATEGORÍA	INTERPRETACION PARA SUMATORIA
VALOR	PROBABILIDAD			
5		Alto		POTENCIAL DE RIESGO ALTO 58-75
4		Medio Alto		POTENCIAL DE RIESGO INTERMEDIO 39-57
3		Medio		POTENCIAL DE RIESGO BAJO 20-38
2		Bajo		POTENCIAL DE RIESGO NULO <19
1		Incertidumbre		

Figura 11. Ponderaciones colorimétricas (Sánchez-Olivares *et al.*, 2021)

7.6 Evaluación de citotoxicidad y genotóxica en *Vicia faba L.* (Haba)

Para la evaluación de la capacidad citotóxica de los lixiviados obtenidos del jal Santa Julia I, se utilizó el índice mitótico y la capacidad genotóxica por inducción de aberraciones cromosómicas y micronúcleos en células meristemáticas del *V. faba*, tanto al pH observado (pH 7) como a un pH ácido (pH 3), para evaluar el impacto de la lluvia ácida en la disponibilidad ambiental de los metales y por lo tanto en sus efectos a la salud, por medio de una metodología que permite visualizar las células (figura 12)

7.6.1 Montaje y calibración (Sánchez-Olivares, 2018).

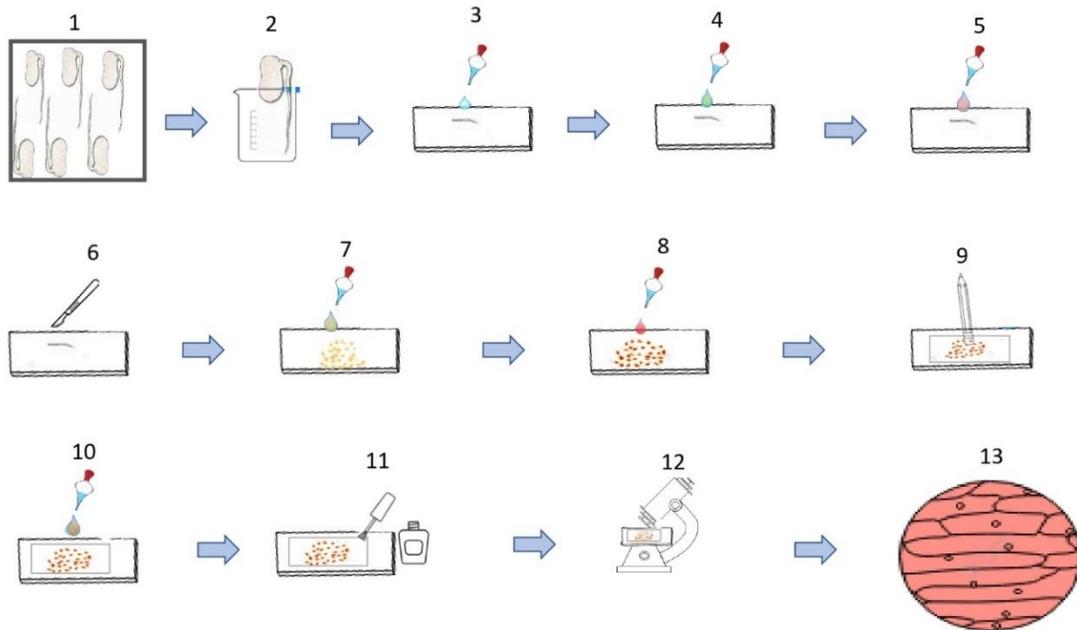


Figura 12. Metodología para la obtención de muestras microscópicas (Autoría propia)

- 1) Se utilizó meristemos radicales de semillas *V. faba*, las cuales se hicieron germinar en bandejas de plástico con algodón humedecido; una vez que las raíces alcanzaron una longitud de 3-4 cm fueron retiradas de la charola.
- 2) Exponer las raíces de *V. faba* a la sustancia a estudiar (controles, lixiviados, diluciones de lixiviado) por periodos de 4 horas de exposición y 14 de recuperación.
- 3) Se realizó el corte de los meristemos apicales (2 mm de las raíces primarias), enseguida se inhibió la división celular con colchicina (0.05%) durante 3 horas.
- 4) Se realizó la fijación de los cortes apicales, con solución de etanol ácido acético (3:1) por 24 horas bajo refrigeración (García-Gallegos *et al.*, 2012).
- 5) Se colocaron los meristemos en etanol al 70% por 15 min
- 6) Se colocaron en portaobjetos, en donde se maceran con bisturí
- 7) Se hidrolizan con ácido clorhídrico a 5 M a 28°C durante 25 min con agitación continua, pasado ese tiempo, se decantó el excedente de ácido clorhídrico y se enjuagaron los meristemos tres veces con agua destilada.
- 8) Se realizó la tinción con aceto-orceína, por 25 minutos en oscuridad, posteriormente se retiró el excedente de colorante.
- 9) Se les agregó ácido acético al 45%, y con un cubreobjetos se realizó la técnica de “squash” o aplastamiento de las raíces en monocapa, con la goma de un lápiz (Prieto-García *et al.*, 2006).
- 10) Se agregó solución salina para favorecer la conservación de la muestra
- 11) Se sellaron los bordes del cubreobjetos con barniz transparente.
- 12) Se realizó la debida identificación de la muestra. La observación microscópica de las muestras se realizó a 40x.
- 13) Se registraron, número de células en división por campo, aberraciones cromosómicas como: fragmentos cromosómicos, cromosomas retrasados, puentes anafásicos sencillos y

dobles, así como cromosomas en anillo y micronúcleos en interfase (Gómez-Arroyo & Villalobos-Pietrini, 1983).

7.6.2 Curva de toxicidad

Las curvas dosis-respuesta tienen como objetivo la evaluación de la relación que existe entre dosis administrada a un organismo y la respuesta tóxica (Sánchez-Zepeda *et al.*, 2018); la cual sirve para determinar a partir del decremento del 50% del índice mitótico la concentración letal media (CL50) con respecto a un control, en al menos 500 células evaluadas, la cual será la dosis experimental más alta para evaluar efectos secundarios sub letales y a partir de esta, se podrán determinar dosis más pequeñas denominadas dosis sub tóxicas.

Por lo tanto, se realizaron experimento, para poder calcular la CL50 (que se denominara como la concentración SDil,) a partir del lixiviado original, además se obtuvieron dos concentraciones experimentales adicionales, denominadas dosis sub tóxicas que corresponde a las diluciones del 50 y 25% respectivamente (Dil₅₀ y Dil₂₅).

La concentración letal media (**LC50**) se calculó a través de la siguiente fórmula:

$$LC50 = (IM_{exp} / IM_{esp}) \cdot 100$$

Donde:

LC50 = Concentración letal media

IM_{exp} = Índice mitótico experimental

IM_{esp} = Índice mitótico espontaneo

7.6.3 Citotoxicidad

En esta fase se realizó la técnica descrita en la figura 12, donde se evaluó el número de células en división para detectar el daño citotóxico provocado por la combinación MIT evaluados en base a los resultados de la curva de toxicidad (diluciones de los lixiviados), además de realizarse experimentos en condiciones observadas (pH 7) y ácidas (pH 3) (Gaytán-Oyarzún *et al.*, 2020)

Para la determinación del índice mitótico espontáneo se cuantifican 500 células, registrando todas las que se encuentren en cada una de las etapas de la mitosis como las que se encuentren en interfase de acuerdo a la fórmula:

$$IM = Ncd / Nct$$

Donde:

IM: índice mitótico

Ncd: número de células en división

Nct: Número de células totales

Se interpretan de la siguiente manera

- a) Decremento en el índice mitótico, es un efecto citotóxico
- b) Incremento en la en el índice mitótico, es un efecto estimulante de la división celular

El daño citotóxico se determinó mediante el índice mitótico, entendido como el número total de células en división. El tratamiento contempló un testigo negativo de solución salina al 5% y tres concentraciones experimentales, es importante el conteo y registro de los datos del índice mitótico (número de células en división por campo observado), debido a que este registro es necesario para los análisis bioestadísticos.

7.6.4 Genotoxicidad

Para determinar la inducción de aberraciones cromosómicas en anafase y micronúcleos en interfase se realizó la técnica descrita en la figura 12, con un tratamiento de diluciones de lixiviado (SDil, Dil₅₀ y Dil₂₅) en el cual se evaluó el daño inducido en G1, el cual se manifiesta como una aberración cromosómica (se produce por agentes S-independientes) o cromatínica (se induce por un agente S dependiente), cada tratamiento con lixivios se realizó tanto en condiciones observadas (pH7) y ácidas (pH3).

7.6.4.1 Aberraciones cromosómicas.

Para el análisis y registro de aberraciones cromosómicas, se realizaron observaciones en microscopio óptico a 40x, donde se realizó la cuantificación de células en anafase en toda la laminilla, contando al menos 1000 y posteriormente registrándose por campo de visión (número de campo, células en anafase, tipo de aberraciones) (Iqbal, 2016).

7.6.4.2 Micronúcleos

Para el análisis de micronúcleos, se determinará la presencia de éstos mediante su identificación en 500 células en interfase a través de la siguiente fórmula:

$$fMN = nMN / (nMN + nCM)$$

Donde:

fMN = frecuencia de micronúcleos en células meristemáticas

nMN = número de micronúcleos en células meristemáticas

nCM = número de células meristemáticas.

7.6.4.3 Análisis estadístico

Prueba estadística para la **citotoxicidad**, en todos los experimentos se realizó un conteo celular por campos, los cuales fueron registrados como repeticiones experimentales, para posteriormente someter los datos a la prueba de normalidad de Kolmogorov-Smirnov, siempre que se cumpla esta condición se realizó la prueba de ANOVA de una vía para de esta manera comprobar si existen diferencias significativas entre el control y entre los tratamientos, para posteriormente realizar la prueba ANOVA de dos vías para determinar cuál tratamiento difieren entre sí estadísticamente, para finalmente realizar una comparación entre los tratamientos ácidos y básicos de los datos resultantes de los experimentos de citotoxicidad.

Para los experimentos de **genotoxicidad**, se realizó la prueba de normalidad de Kolmogorov-Smirnov, si los datos no pasan la prueba de normalidad se optara por pruebas no paramétricas que pudieran responder si existen diferencias significativas entre los tratamientos realizados para aberraciones cromosómicas y micronúcleos con respecto a los controles y las diluciones realizadas y a su vez mostrar si existen diferencias entre los efectos de los lixiviados a condiciones pH 7 y 3, por lo tanto se realizó una matriz de $X^2 = \sum (o - e)^2 / e$ donde se contrastó cada uno de los tratamientos.

8. RESULTADOS

8.1 Resultados Caracterización de suelos y MIT encontrados en jales

Para la caracterización de los suelos se realizó una búsqueda bibliográfica extensa con la finalidad de obtener la mayor información del distrito minero Pachuca-Real del Monte, donde se determinó su localización en la porción centro-oriental de México, situado en la parte centro-meridional del estado de Hidalgo, con una superficie de 130 km², entre las coordenadas geográficas 20°07'30'' de latitud norte y 98°44'00'' de longitud oeste, además se trató de determinar su climatología, la cual indica clima templado que presenta una temperatura promedio de 17°C y una precipitación media anual de 514 mm (Moreno-Tovar *et al.*, 2009).

Se contempló el grado de compactación de las presas y las características físicas o químicas que alteran su composición, la cantidad de precipitación y la acidez de lluvia; que pudieran afectar la cinética ambiental, encontrándose las investigaciones de Moreno-Tovar *et al.* (2009) y Hernández-Acosta *et al.* (2009), donde se menciona que los jales mineros de la ciudad de Pachuca Hgo., presenta una densidad aparente alta, textura franco arenosa, pH neutro a medianamente alcalino, debido a la cantidad de minerales de calcio, muy baja cubierta vegetal además de presentar una mineralización constituida por sulfuros: pirita (FeS₂), esfalerita (ZnS), galena (PbS), calcopirita (CuFeS₂), calcocita y covelita (Cu₂S y CuS), argentita y acantita (Ag₂S) y sulfosales: polibasita (9Ag₂S y SbS₃), estefanita (5Ag₂S y Sb₂S₃), miargirita (Ag₂S y Sb₂S₃), pirargirita (3Ag₂S y Sb₂S₃), proustita (3Ag₂S y As₂S₃) y stenbergitita (Ag₂S y Fe₄S₅).

En cuanto a los resultados de la caracterización de lixiviados en los jales mineros de la ciudad de Pachuca, se puede observar en la tabla 1; los valores obtenidos de los MIT (As, Cr, Cd y Hg), es importante mencionar que todas las concentraciones observadas se encontraron a un pH 7 (neutro) y que fueron analizadas bajo el método de espectrofotometría de absorción atómica propuesto por la NMX-AA-051-SCFI-2016.

Tabla 1. Identificación y cuantificación de metales pesados de interés toxicológico en lixiviados de los jales en Pachuca Hgo.

Parámetro	Unidad	Resultado	Norma y/o Método de referencia	LMP de acuerdo a la NOM-052-SEMARNAT-2005
As	mg/L	0.0198*	NMX-AA-051-SCFI-2016	5.0
Cd	mg/L	<0.1*	NMX-AA-051-SCFI-2016	1.0
Cr total	mg/L	<0.2*	NMX-AA-051-SCFI-2016	5.0
Hg	mg/L	0.0006*	NMX-AA-051-SCFI-2016	0.2

*Valores por debajo de la norma NOM-052-SERMARNAT-2005, la cual establece las características, el procedimiento de identificación, clasificación y los listados de los residuos peligrosos

8.2 Evaluación Rápida del Potencial de Riesgos Genotóxicos

8.2.1 Identificación y caracterización del peligro

Los resultados del análisis de química analítica indican la presencia de cuatro MIT (Cr, Cd, Hg y As) en lixiviados del jal Santa Julia I (tabla 1), por lo tanto, de acuerdo a lo establecido por Martin-Olmedo et al. (2016), se realizaron los indicadores de peligro correspondientes obteniendo los siguientes resultados:

A partir de las concentraciones ambientales observada se determinó un bajo CP al encontrarse las concentraciones por debajo de la norma de referencia, pero de acuerdo a lo establecido por la ATSDR (2005), la simple presencia de estos MIT genera un peligro ambiental, el cual puede verse potenciado por cuestiones situacionales, así como por PFQ que alarguen su vida media ambiental y/o su cinética ambiental.

En cuanto a el riesgo a la salud, las concentraciones observadas permitieron determinar la dosis diaria de exposición, que al compararla con la dosis de referencia (Rfd) establecida por la ATSDR (2005), permitió determinar un cociente de peligro a la salud alto para Cr, Cd y As, al mostrar valores de $HQ \geq 6$ (tabla 2).

Tabla 2. MIT presentes en lixiviados del jal Santa Julia I, coeficiente de peligro ambiental y coeficiente de riesgo a la salud

MIT	Concentración encontrada (mg/L)	LMP (mg/L) [°]	CP	DDE (mg/kg/día)	LMR (mg/kg/día) ^{°°}	HQ
As	0.0198	5.0	0.00396*	0.0565	0.0003	188.33**
Cr	0.2	5.0	0.05*	0.5714	0.0009	634.88**
Cd	0.1	1.0	0.02*	0.2857	0.0001	2857**
Hg	0.0006	0.2	0.003*	0.0017	0.002	0.85

LMP: Límite Máximo Permissible; CP: Cociente de Peligro Ambiental; DDE: Dosis Diaria de Exposición; LMR: Límite Mínimo de Riesgo; HQ: Cociente de Peligro a la Salud o Hazard Quotient; (°): Con base en la norma NOM-052-SERMARNAT-2005; (°°) con base en la ATSDR, 2004; (*) Bajo peligro ambiental; (**) Alto peligro a la salud

Así mismo, se evaluó la capacidad de estos MIT de solubilizar en agua, esta capacidad se midió a través de la Constante de Equilibrio de Solubilidad (pKs), de acuerdo a lo reportado por Garrix-Ruiz et al. (2005), donde se obtuvieron los siguientes valores para cada una de las sales de MIT evaluadas; $\text{As}(\text{OH})_3 = -0.68$, $\text{Cr}(\text{OH})_3 = 30.65$, $\text{CdS} = 25.7$ y $\text{HgS} = 51.4$, lo que permitió identificar que dos de los MIT (Cr y Hg), tienen PFQ que le otorgan la capacidad de disolverse en agua y ser altamente móviles en el ambiente.

En la tabla 3, se observa la sumatoria de los indicadores de peligro utilizados para la población expuesta a estos metales y metaloide (Sánchez-Olivares, 2021); siendo los metales más peligrosos el Cr, seguido del Cd con valores entre 22 y 21 puntos respectivamente; en donde el Cr presentó los valores más altos en los indicadores de peligro a la salud, pauta ambiental, cinética ambiental y Permanencia, a diferencia del As que presenta los mismo valores en peligro a la salud ,pauta ambiental y tiempo de vida media, salvo a que presenta menor capacidad de moverse en el ambiente al tener un valor de cinética ambiental menor.

Tabla 3. Interpretación de los indicadores de peligro para MIT presentes en lixiviados del Jal Santa Julia 1

Peligro	Indicador	As	Cd	Cr	Hg
	Coeficiente de peligro ambiental (CP)	2	2	2	2
	Cociente de peligro a la salud (HQ)	5	5	5	2
	Pauta ambiental (EMEG)	5	5	5	3
	Cinética ambiental (pKs)	1	4	5	5
	Permanencia ambiental (TMa)	5	5	5	5
	Sumatoria (Σ)	18	21	22	17

* Los valores del uno al cinco corresponden a su peligrosidad en donde el valor más alto es de mayor peligro y el valor más bajo corresponde a incertidumbre (Lara, 2021; Sánchez et al., 2021)

8.2.2 Evaluación de la exposición y la vulnerabilidad

Como se mencionó anteriormente se evaluó, la probabilidad de exposición, su biodisponibilidad y la tasa de exposición, así como una evaluación integral de exposición y de la vulnerabilidad individual y del sitio, por separado de acuerdo a los criterios de la ATSDR (2005) y Gaytán-Oyarzún et al. (2020).

Tabla 4. Indicadores de riesgo para MIT presentes en lixiviados del Jal Santa Julia I

Indicadores	As	Cr	Cd	Hg
Probabilidad de exposición (PE) %	88.58	88.58	88.58	118.11
Biodisponibilidad (log Kow)	Baja solubilidad	Baja solubilidad	Baja solubilidad	Baja solubilidad
Tasa de exposición humana (TEH) (mg/día/kg)	188.57	317.46	142.85	0.85

En la tabla 4, se puede observar una probabilidad “Alta Exposición” conforme a los parámetros establecidos (Sánchez-Olivares *et al.*, 2021), debido a que todos los MIT evaluados presentaron valores de probabilidad de exposición por arriba del 75%; así mismo, también se determinó una

afinidad a lípidos baja, lo cual permite inferir una “Baja biodisponibilidad”, debido a que presentaron valores de Log Kow <1 (hidrofílicos) (Delgado, 2014).

Por otra parte también se midió la tasa de exposición humana (OMS, 2017), donde se encontró que el Cr, Cd y As, presentaron valores por arriba de la dosis de referencia, lo cual indica un “Riesgo alto” de acuerdo a los criterios mencionados por Díaz-Barriga (1999) y Sánchez et al. (2021), es importante mencionar que los valores obtenidos están en orden de magnitud encontrando a estos tres MIT en más de 100 veces por arriba de la dosis de referencia caso contrario del Hg, metal que presentó una tasa de exposición humana <1 por lo tanto se determinó una “Tasa de exposición baja”.

De igual forma, se realizó un análisis integrado para la exposición (tabla 5), en donde se puede observar que los cuatro MIT presentaron valores entre 30-31 pts., lo cual de acuerdo a lo antes mencionado en la metodología corresponde a una “Alta probabilidad de exposición”, debido a que se contempló de manera integral de las variables.

Tabla 5. Resultados del análisis integrado de exposición

Indicador	As	P	Cr	P	Cd	P	Hg	P
Peligro por presencia de AQP	Si	4	Si	4	Si	4	Si	4
Origen del AQP	Antropogénico	3	Antropogénico	3	Antropogénico	3	Antropogénico	3
Categoría de exposición	Completa	4	Completa	4	Completa	4	Completa	4
Escenario de exposición o zona	Residencial Recreativo Ambiental Laboral	4	Residencial Recreativo Ambiental Laboral	4	Residencial Recreativo Ambiental Laboral	4	Residencial Recreativo Ambiental Laboral	4
Relación espacio temporal	0-1500 m	4						
Vías o rutas de exposición	Inhalatoria Gástrica Dérmica	4	Inhalatoria Dérmica	3	Inhalatoria Gástrica	3	Inhalatoria Dérmica	3
Frecuencia anual de exposición	Permanente	4	Permanente	4	Permanente	4	Permanente	4
Duración de exposición	Crónica	4	Crónica	4	Crónica	4	Crónica	4
Total	31*		30*		30*		30*	

(P) ponderación otorgada en base al criterio de la evaluación integral de exposición; (*) Alta probabilidad de exposición 25-32 pts

De igual manera se realizó un análisis integral de la vulnerabilidad, integrando la vulnerabilidad individual y el sitio a evaluar (tabla 6), por lo tanto, se diseñó una adecuación de lo propuesto por la ATSDR (2005) y Martín-Olmedo et al. (2016), en donde se nuevamente se contemplan las distintas variables que vuelven vulnerable a el sitio y a los individuos, dando como resultado que los MIT que representa “Mayor riesgo con base en su alta vulnerabilidad, son el As y el Hg con 22 pts.

Tabla 6. Resultados del análisis integrado de vulnerabilidad

	As	P	Cr	P	Cd	P	Hg	P
% de la población de alto riesgo	44.85%	3	9.04%	1	9.04%	1	44.85%	3
Asentamientos humanos cerca del sitio	0-1500 m	4						
Escuelas y hospitales cerca del sitio	0-1500 m	4						
Actividades laborales cerca del sitio	0-1500 m	4						
Cuerpos de agua superficiales cerca	Desconocido	1	Desconocido	1	Desconocido	1	Desconocido	1
Reservas protegidas	>3000 m	2						
Suelos agrícolas	0-1500 m	4						
Total	22*		20*		20*		22*	

P= ponderación otorgada en base al criterio de la evaluación integral de vulnerabilidad; (*) Alta vulnerabilidad 22-28 pts

En la tabla 7 se observa la sumatoria de los indicadores de exposición para los MIT presentes en lixiviados del Jal Santa Julia I (Sánchez-Olivares, 2021), siendo el As el de mayor preocupación debido “Alta probabilidad de exposición” con 22 pts. ya que presentó los valores más altos en los indicadores de PE, TEH, Análisis Integrado de Exposición y Análisis Integrado de Vulnerabilidad, seguido el Cr y el Cd con 20 pts. Respectivamente.

Tabla 7. Indicadores de exposición para MIT presentes en lixiviados del Jal Santa Julia1

Exposición	Indicador	As	Cd	Cr	Hg
	Probabilidad de exposición (PE)	5	5	5	5
	Biodisponibilidad (log kow)	2	2	2	2
	Tasa de exposición humana TEH	5	5	5	2
	Análisis integral de exposición	5	5	5	5
	Análisis integral de vulnerabilidad	5	3	3	5
	Sumatoria (Σ)	22	20	20	19

8.2.3 Evaluación de la relación dosis respuesta

De acuerdo a los valores antes mencionados de la dosis de exposición (tabla 2), también se pudo determinar su capacidad de daño de acuerdo a el criterio mencionado por Sánchez-Olivares et al. (2021), en donde se puede observar que todos los compuestos presentaron valores por encima de 1×10^{-3} mg/kg/día y que se interpretan como una “Alta probabilidad de daño”, lo cual coincide con la interpretación de Martín-olmedo et al. (2016).

De igual manera se realizó el análisis del potencial tóxico y el análisis integrado de la probabilidad de daño (tabla 8); encontrándose que los MIT evaluados, presentaron una probabilidad de “Toxicidad baja” de acuerdo al criterio establecido (Degrossi, 2013), lo cual está relacionado con la capacidad letal de un xenobiótico (DL50) y su peso molecular; por su parte la evaluación integral de capacidad de daño, se realizó a partir de la suma del potencial mutagénico, potencial teratogénico y potencial de cancerígeno de cada compuesto (IARC, 2014).

Donde se obtuvo que el As y el Hg tienen un “Alta capacidad de daño” (tabla 8) debido a su capacidad toxicológica reportada como “Mutágeno confirmado”, “Probable teratógeno”, así como “Carcinógeno confirmado”; seguido por el Cr que presentó una probabilidad “Media de causar daño”, lo que marcó la diferencia es que el Cr no tiene efectos teratogénicos comprobados, y el Cd es solo un “Carcinógeno de preocupación”.

Tabla 8. Resultados de los indicadores de dosis-efecto de los MIT presentes en lixiviados del jal Santa Julia I

MIT	pT	pMu (1)	pTe (2)	pCa (3)	Tipo de cáncer asociado	Toxicidad específica
As	4.1319 *	Mutágeno confirmado (1)	Probable teratogénico en humanos (D)	Carcinogénico (1)	Piel, pulmón, vejiga y estómago.	Toxicidad, en la piel, pulmón, y neural, daño gastrointestinal, cardiovascular (Nordberg, 1998; Ferrer, 2003, ATSDR, 2007).
Cr	3,2839 *	Mutágeno confirmado (1)	No clasificado en humanos, probable teratogénico en bioensayos (C)	Carcinogénico (1)	Pulmón, seno para nasal y nasal	Toxicidad pulmonar, gastrointestinal, y daño reproductivo. Alergias. Problemas en la piel, riñón hígado (Nordberg, 1998 Vera <i>et al.</i> , 2001; ATSDR, 2012).
Cd	2.8718 *	Mutágeno de preocupación (2)	Probable teratogénico en humanos (D)	Probable carcinogénico en humanos (2A)	Pulmón, riñón, mama próstata y vejiga	Toxicidad en riñón, fragilidad ósea, enfermedades pulmonares. (Nordberg, 1998; Vera <i>et al.</i> , 2001; ATSDR, 2012;)
Hg	3.6108 *	Mutágeno de preocupación (2)	Teratogénico en humanos y bioensayos (X)	Probable cancerígeno en humanos (2A)	Tiroides y estomago en ratas	Toxicidad neuronal, riño, daño reproductivo, hipertensión (Nordberg, 1998; Vera <i>et al.</i> , 2001; Ferrer, 2003, ATSDR, 2022).

1 categorización del potencial mutágeno; 2 Categorización del potencial teratogénico; 3 categorización del potencial carcinogénico * potencial toxico bajo.

En la tabla 9, se puede observar los valores estimados de la dosis de ingesta crónica y el factor dependiente de cáncer, parámetros necesarios para la realización de los cálculos de los indicadores de riesgo de cáncer a lo largo de la vida (ILRCi) e índice de cáncer por sector poblacional, el cual se determinó por cada millón de habitantes (**InEc 1E-06**); en donde según la USEPA (2001), cualquier incremento por arriba de 1E-06 se considera de preocupación, lo que permitió establecer a él As como el MIT con mayor probabilidad de efecto carcinogénico.

Tabla 9. Resultados de los indicadores de riesgo de efectos no cancerígenos de MIT presentes en lixiviados del jal Santa Julia I

MIT	CDI (mg/Kg. día)	CFS (mg/Kg. día)	RCI	InEc (1E-06) *
As	0.0565	1.5	0.08485	84 850*
Cr	0.5714	0.012	0.006856	6 856*
Cd	0.2857	0.06	0.01714	17 140*
Hg	0.0017	0.035	0.0006009	601*

CDI= Dosis de ingesta crónica; CFS= Factor dependiente de cáncer; RCI= Riesgo de cáncer individual; InEc1000= Incidencia de efecto cancerígeno por cada 1000 habitantes; InEc (1E-06) = Incidencia de efecto cancerígeno por cada millón habitantes; *Valores arriba de 1/1E-06

Además se realizó la sumatoria de los indicadores utilizados para evaluar el posible efecto nocivo a la salud donde se puede observar (tabla 10) que de acuerdo a los criterios establecidos por Sánchez-Olivares (2021), el As y el Hg son los MIT con mayor capacidad de daño con 22 pts., cada uno, debido a presentar un efecto “Medio alto de causar daño” de acuerdo al el análisis integrado de capacidad de daño y presentar un potencial tóxico bajo; es importante señalar que a pesar de que los cuatro MIT evaluados presentaron un “Bajo potencial tóxico” existen diferencias observadas que se deben principalmente a su potencial mutagénico, teratogénico y carcinogénico, en donde Cd y Cr son ligeramente mente menos perjudiciales (Vera *et al.*, 2001; IARC, 2014).

Tabla 10. Indicadores de efecto para MIT presentes en lixiviados del Jal Santa Julia I

Efecto	Indicador	As	Cd	Cr	Hg
	Dosis diaria de exposición para estimar daño (DDE)	5	5	5	5
Potencial toxico (pT)	2	2	2	2	
Análisis integral de la capacidad de daño (pMu, pTe y pCa)	5	4	4	5	
Cálculo de Riesgo de desarrollo de cáncer individual (RCi)	5	5	5	5	
Incidencia de cáncer (IC)	5	5	5	5	
Sumatoria (Σ)	22	21	21	22	

8.2.4 Caracterización de riesgos con base en la Evaluación Rápida del Potencial de Riesgos Genotóxicos

La metodología de evaluación rápida de potencial de riesgo genotóxico, es un método cuyo principal interés es hacer estimaciones sobre la magnitud, extensión y características del problema en forma confiable y oportuna basado en datos científicos y estadísticos reportados, estableciendo la probabilidad de que se exprese un efecto nocivo a la salud ante una exposición en una situación determinada (Sánchez-Olivares *et al.*, 2021).

En la tabla 11, se muestra la matriz de dos vías, donde se integraron las variables de Peligro, Exposición y Efecto (Sánchez-Olivares *et al.*, 2021). De acuerdo la colorimetría y las ponderaciones asignadas a cada uno de los indicadores de acuerdo a la metodología reportada anteriormente; se puede observar la suma total por cada uno de los MIT evaluados en este caso, donde los tres MIT (As, Cr y Cd) presentaron un “Potencial de riesgo alto” señalizados con el color rojo de acuerdo a los criterios establecidos por Sánchez-Olivares (2021), donde la sumatoria fue la siguiente As, y Cr de 62 pts. mientras que para el Cd de 61 pts. y un MIT (Hg) con “Potencial de riesgo medio alto” con 57 pts., donde la principal diferencia fue marcada por los indicadores de peligro a la salud, pauta ambiental, cinética ambiental, el análisis integrado de vulnerabilidad y el análisis integrado de la capacidad de daño.

En general, la aplicación del método ERPRG en el presente trabajo, permitió establecer que, los cuatro MIT identificados en lixiviados del jal Santa Julia I, representan un peligro alto para la población expuesta permanentemente y/o que interactúa de manera temporal con este tipo de residuos de la actividad minera; por lo tanto, es necesario el estudio de estos metales con particular atención, debido a que sus PFQ y toxicológicas en las condiciones ambientales en las que se encuentran son capaces de inducir daño genotóxico a la población, siendo dentro de las características más importantes su alta permanencia ambiental, su biodisponibilidad, bioacumulación y toxicidad que se potencian debido a que en el sitio se realizan actividades económicas, recreativas y sociales, además de amplios sectores expuestos incluyendo sectores de alto riesgo (ATSDR, 2005).

Tabla 11. Matriz de dos vías con variables y valores obtenidos de la evaluación de potencial de riesgo genotóxico

	Indicador	As	Cd	Cr	Hg
Peligro	1. Coeficiente de peligro ambiental (CP)	2	2	2	2
	2. Cociente de peligro a la salud (HQ)	5	5	5	2
	3. Pauta ambiental (EMEG)	5	5	5	3
	4. Cinética ambiental (pKs)	1	4	5	5
	5. Permanencia ambiental (TMa)	5	5	5	5
Exposición	6. Probabilidad de exposición (PE)	5	5	5	5
	7. Biodisponibilidad (log kow)	2	2	2	2
	8. Tasa de exposición humana TEH	5	5	5	2
	9. Análisis integral de exposición	5	5	5	5
	10. Análisis integral de vulnerabilidad	5	3	3	5
Efecto	11. Dosis diaria de exposición para estimar daño (DDE)	5	5	5	5
	12. Potencial toxico (pT)	2	2	2	2
	13. Análisis integral de la capacidad de daño (pMu, pTe y pCa)	5	4	4	5
	14. Cálculo de Riesgo de desarrollo de cáncer individual (RCi)	5	5	5	5
	15. Incidencia de cáncer (IC)	5	5	5	5
	Sumatoria (Σ)	62	62	61	58

8.3 Evaluación de la citotoxicidad y genotoxicidad en *V. faba L*

8.3.1 Citotoxicidad de lixiviados y sus diluciones a pH 7 Y pH 3

De acuerdo a la evaluación citotóxica de los lixiviados a pH 7 se encontró que el incremento en la concentración del lixiviado disminuye significativamente el número de células en división ($F_{(2,12)} = 6.91$, $p = 0.005707$; Tabla 12), así mismo todas las concentraciones son diferentes con respecto a el control, por lo que cualquier concentración afecta la división celular en *V. faba*.

Tabla 12. Determinación de la citotoxicidad de las diluciones del lixiviado con pH 7

	Control	Dilución de lixiviados		
Concentraciones	Solución salina 5%	25% (Dil25)	50% (Dil50)	Sin dilución (SDil)
Células totales vs células en división	515/69	508/40	530/32	530/24
Índice Mitótico (IM)	IM=69*100/ 515=13.39%	IM=40*100/ 508= 7.87%	IM=34*100/ 530= 6.41%	IM=24*100/ 530= 4.52%
Concentración Letal (CL)		CL41.1 ⁽⁺⁾	CL52.2 ⁽⁺⁾	CL66.3 ⁽⁺⁾

(+) Diferencias significativas; ANOVA de una vía ($F_{(2,12)}=6.91$, $p=0.005707$).

Tabla 13. Determinación de la citotoxicidad de las diluciones del lixiviado con pH 3

	Control	Dilución de lixiviados		
Concentraciones	Solución salina 5%	25% (Dil25)	50% (Dil50)	Sin dilución (SDil)
Células totales vs células en división	501/64	500/49	507/29	505/20
Índice Mitótico (IM)	IM=69*100/ 501=13.77%	IM=49*100/ 500= 9.8%	IM=38*100/ 507= 7.49%	IM=24*100/ 505=4.75%
Concentración Letal (CL)		CL 28.8 ⁽⁺⁾	CL 45.6 ⁽⁺⁾	CL 65.5 ⁽⁺⁾

(+) Diferencias significativas; ANOVA de una vía ($F_{(3,24)} = 14.22$, $p < 0.00001$).

En cuanto a la evaluación de los efectos tóxicos a nivel celular en *V. faba* con lixiviados en condiciones ácidas (pH 3) en donde se esperaría un mayor efecto tóxico debido a una mayor disponibilidad ambiental (Vera *et al.*, 2001; Moreno-Tovar *et al.*, 2009), se pueden observar que índice mitótico, en todas sus diluciones presentó una relación concentración-respuesta, mientras mayor es la concentración de lixiviado es mayor el efecto lo cual se comprobó por la prueba de ANOVA ($F_{(3,24)} = 0.7068$, $p < 0.00001$; Tabla 13), que indica que todas las concentraciones son diferentes con respecto a el control, por lo que nuevamente cualquier concentración tiene un efecto citotóxico en *V. faba*.

En cuanto al análisis comparativo de la citotoxicidad entre lixiviados ácidos (pH 3) y observados (pH 7), se obtuvo que no existen diferencias significativas entre ambos tipos ($F_{(13,39)} = 0.7068$, $p > 0.7451$), solo hay efecto con el incremento de la concentración ($F_{(3,39)} = 20.08$, $p > 0.001$). Por lo que ambos lixiviados tienen el mismo efecto citotóxico y los factores “Tipo” - “Concentración”, son independientes.

8.3.2 Genotoxicidad de lixiviados y sus diluciones a pH 7 Y pH 3

Al igual que en la citotoxicidad, la genotoxicidad de los lixiviados obtenidos, se evaluó tanto a pH observado (pH 7) como a un pH ácido (pH 3) para evaluar el impacto de la lluvia ácida en la disponibilidad ambiental y por lo tanto en sus efectos a la salud.

8.3.2.1 Anormalidades cromosómicas inducidas por lixiviados y sus diluciones a pH 7 y 3

Respeto a la presencia de anormalidades cromosómicas inducidas por lixiviado, se tomó como concentración experimental máxima la CL50 que corresponde a la denominación Dil50 del lixiviado original y a partir de esta se obtuvieron dos diluciones más al 50% (Dil50/CL50) y al 25% (Dil25/CL50) que corresponde a dos dosis sub tóxicas todos ellos al pH 7, observándose en la tabla 14, el tipo de daños inducido genotóxicamente (puentes anafásicos sencillos, dobles, cromosomas retardados, fragmentos retardados y cromosomas en anillo, ver anexo 4) por la CL50 y sus dos dosis sub tóxicas Dil50/CL50 y Dil25/CL50, así como un control negativo concurrente (solución salina 5%), se puede observar que el incremento de anomalías cromosómicas es inversamente proporcional al aumento de las diluciones utilizadas, por lo tanto, se puede afirmar

la potencial genotóxica de los componentes del lixiviado (mezcla compleja) aumenta conforme aumenta la concentración, teniendo un efecto genotóxico positivo..

Tabla 14. Anormalidades cromosómicas inducidas por lixiviado y sus diluciones a condiciones observadas (pH7) en *Vicia faba*.

Diluciones	n	Número de anormalidades cromosómicas				
		Puentes anafásicos sencillos	Puentes anafásicos dobles	Cromosomas retardados (isocromosomas)	Fragmentos retardados	Cromosomas en anillo
Solución salina 5% (control -)	1000	0	0	1	1	0
Lixiviado al 25% *	1000	7	10	3	22	1
Lixiviado al 50% **	1000	20	18	18	67	1
LC50***	1000	14	15	12	113	0

n = # de células en anafase; LC50 = Concentración letal 50; * Dil50/CL50; ** Dil25/CL50; *** SDil/CL50.

Para la evaluación de anormalidades cromosómicas inducidas por lixiviados en condiciones ácidas y sus diluciones al 25% y 50%, todos a pH 3, se puede observar en la tabla 15, una relación concentración-respuesta con relación a las diluciones utilizadas, siendo la dilución correspondiente a la LC50 la de mayor efecto genotóxico la cual presenta mayor número de anormalidades cromosómica, producidas por la exposición a MIT presentes en el lixiviado.

En cuanto al análisis comparativo de anormalidades cromosómicas en *V. faba* inducidas por lixiviados ácidos a pH 3 y observados a pH 7, se encontró que todas las diluciones utilizadas presentan un efecto positivo para la generación de aberraciones cromosómicas y que partir la concentración Dil50 del lixiviado ácido, la genotoxicidad inducida por la presencia de agentes

xenobióticos (MIT), presenta poca variabilidad por lo tanto el pH no tuvo una influencia significativa a estas concentraciones para el aumento de aberraciones cromosómicas a partir de la segunda concentración utilizada de lixiviado a pH 7

Tabla 15. Anormalidades cromosómicas inducidas por lixiviados y sus diluciones en condiciones ácidos (pH3) en *Vicia faba*.

Diluciones	n	Número de anormalidades cromosómicas				
		Puentes anafásicos sencillos	Puentes anafásicos dobles	Cromosomas retardados (isocromosomas)	Fragmentos retardados	Cromosomas en anillo
Solución salina 5%	1000	1	0	1	3	0
Lixiviado al 25%*	1000	21	12	22	48	0
Lixiviado al 50% **	1000	30	25	40	95	2
LC50 ***	1000	32	27	60	135	0

n = # de células en anafase; LC50 = Concentración letal 50; * Dil50/CL50; ** Dil25/CL50; *** SDil/CL50.

8.3.3 Micronúcleos inducidos por lixiviados y sus diluciones a pH7 Y pH 3

Al igual que en el apartado anterior, respecto a la presencia de micronúcleos inducidos por lixiviados, se tomó como concentración experimental máxima la CL50 que correspondía a Dil50 del lixiviado original y a partir de esta se obtuvieron dos diluciones más al 50% (Dil50/CL50) y al 25% (Dil25/CL50) que corresponde a dos dosis sub tóxicas todos ellos al pH observado (pH 7) y control negativo (solución salina 5%), en la tabla 16, se pueden observar los resultados de la genotoxicidad evaluada a través del índice de micronúcleos; donde es evidente que el incremento en la concentración del lixiviado a pH 7 aumenta significativamente el número de micronúcleos presentes en las células de *V. faba*, lo cual permite determinar que todas las concentraciones son diferentes con respecto a el control, por lo que cualquier concentración induce micronúcleos, pudiéndose observar una relación concentración-respuesta, mientras mayor es la concentración

de lixiviado es mayor la frecuencia de micronúcleos encontrada (genotoxicidad).

Tabla 16. Índice de micronúcleos inducidas por lixiviados y sus diluciones en condiciones observadas (pH 7) en *Vicia faba*

	Control	Dilución de lixiviados		LC ₅₀
Concentraciones	Solución salina 5%	25%	50%	100%
Células totales / células con micronúcleos	503/3	502/23	526/41	509/52
Índice de micronúcleos (IMn)	$3 \cdot 100 / 503 = 0.59\%$	$23 \cdot 100 / 502 = 4.58\% (+)$	$41 \cdot 100 / 526 = 7.79\% (+)$	$52 \cdot 100 / 509 = 10.21\% (+)$

LC₅₀ = Concentración letal derivada del índice mitótico; (-) negativo; (+) positivo

En cuanto a la evaluación del índice de micronúcleos inducidos por lixiviados y sus diluciones en condiciones ácidas (pH 3), se pueden observar en la tabla 17, que el índice de micronúcleos, a diferentes diluciones, presenta una relación concentración-respuesta, con la presencia de mayor número de micronúcleos en la concentración más alta, además se puede observar que todas las concentraciones presentan efectos distintos con respecto a el control, por lo tanto los lixiviados analizados tienen la capacidad de ejercer efectos genotóxicos significativos.

En cuanto a el análisis comparativo de micronúcleos en *V. faba* inducidos por lixiviados ácidos a pH 3 y observados a pH 7, se obtuvo que no existen diferencias significativas entre los controles neutro (pH 7) y ácido (pH 3) de los experimentos realizados y que al igual que en las aberraciones cromosómicas, todas las diluciones tienen la capacidad de generar micronúcleos sin importar el pH en el que se encuentren además se encontró que a partir de la concentración más baja y hasta la el tratamiento 50% de la LC₅₀ del lixiviado ácido la respuesta a la generación de micronúcleos

no es estadísticamente diferente hasta la concentración correspondiente a la LC₅₀ del lixiviado a ácido la cual si difiere de la concentración más alta a pH 7 lo que pudiera indicar mayores que el pH presenta un efecto a altas concentraciones

Tabla 17. Índice de micronúcleos inducidos por diluciones de lixiviados ácidos (pH 3) de jales mineros de la ciudad de Pachuca Hgo

	Control (-)	Dilución de lixiviados		LC₅₀
Concentraciones	Solución salina 5%	25%	50%	100%
Células totales / células con micronúcleos	501/2	502/38	526/61	509/81
Índice de micronúcleos (IMn)	$2 \cdot 100 / 501 = 0.39\%$	$38 \cdot 100 / 502 = 7.56\% (+)$	$61 \cdot 100 / 517 = 11.79\% (+)$	$81 \cdot 100 / 503 = 16.10\% (+)$

LC₅₀ = Concentración letal derivada del índice mitótico; (-) negativo; (+) positivo

9. DISCUSIÓN

9.1 Caracterización de suelos y MIT encontrados en jales

La caracterización de suelos contaminados por MIT, con base en los criterios de la ATSDR (2005), es una metodología, eficiente que permite estimar de manera general los posibles escenarios de exposición a contaminantes ambientales aunado a la caracterización y cuantificaciones de las sustancias tóxicas que ahí se encuentren, como es el caso de algunos elementos tóxicos así como los MIT evaluados en este estudio, que anteriormente se habían identificado en los distintos depósitos (jales), los cuales se encuentran por debajo del límite máximo permitido establecido por la norma NOM-052-SEMARNAT-2005; lo cual coincide con lo reportado por Moreno-Tovar et al. (2009).

Es importante señalar que el pH observado en los lixiviados obtenidos fue de 7, el cual puede cambiar por efectos ambientales aumentando a medida que la capacidad amortiguadora del suelo disminuya debido al deterioro de los minerales cálcicos presentes que a su vez pudieran aumentar la cinética ambiental gracias a la textura franco arenosa que favorece la lixiviación como lo ha reportado Aimacaña-Toapanta (2016), donde menciona que los metales precipitan en condiciones ácidas, por procesos de oxidación y otros cambios de su composición química, lo que puede producir que el pH medianamente alcalino reportado se vuelva ácido y con ello aumente la lixiviación de MIT, por lo tanto es importante el constante monitoreo de las presas de jales, tomando en cuenta las variaciones de pH por efecto del agua de lluvia en sitios donde el aire está contaminado por vehículos automotrices como es caso de zonas urbanas.

9.2 Evaluación Rápida del Potencial de Riesgos Genotóxicos

9.2.1 Identificación y caracterización del peligro

Los resultados de la caracterización del peligro permitieron establecer un cociente de peligro ambiental bajo, pero dadas las características del sitio se optaron por estimar el indicador de peligro a la salud el cual presentó valores altos para tres de los MIT evaluados lo cual, sugiere que las concentraciones encontradas pudieran ser dañinas, lo que a su vez se puede ratificar si se

contempla un riesgo acumulado por la sumatoria de los potenciales de riesgos individuales (HQ) ($H_i = \sum HQ_i$), como lo ha reportado Vera et al. (2001) y Nordberg (1998).

Además, al tomarse en cuenta indicadores como el tiempo de vida media y cinética ambiental, se logró determinar un mayor riesgo lixiviación de los metales Hg y Cr lo cual coincide con lo reportado por Alvares-Rodríguez y Fernández-Marcos (2011), donde se establece que estos elementos tiene mayor movilidad al pH observado, caso contrario con el As que según lo reportado por Alvares-Rodríguez y Fernández-Marcos (2011) en medio neutro o básico este metales presenta baja movilidad, contradictoriamente el metal de menor peligrosidad fue el Hg, debido principalmente a los indicadores de peligro a la salud y pauta ambiental, por lo tanto es importante el constante monitoreo de este elemento, debido su alta permanencia y movilidad ambiental.

9.2.2 Evaluación de la exposición y la vulnerabilidad

La evaluación de la exposición y la vulnerabilidad permitió identificar la probabilidad de que los sectores vulnerables de población puedan entrar en contacto con los MIT, dando como resultado al As como el MIT de mayor preocupación seguido del Cd y Cr, que solo presentaron diferencias en el análisis integrado de vulnerabilidad con respecto al As y por último el Hg, que no puede ser descartado a pesar de presentar un riesgo medio alto debido a su potencial efecto nocivo a la salud, que autores como Millán et al. (2007) y Nordberg (1998) han señalado la especial vulnerabilidad a mujeres embarazadas y niños aunado a la interpretación del análisis integrado de vulnerabilidad que redifica la importancia del As y Hg ya que de manera específica estarían afectado aproximadamente al 44.85% (mujeres embarazadas, niños y personas de la tercera edad) de la población de un total de 511,981 habitantes según el Censo de Población y Vivienda (INEGI, 2020).

Es importante señalar que la biodisponibilidad encontrada en esta investigación es baja y no coincide con lo publicado Sánchez-Olivares (2021) donde se reporta que dichos MIT presentan una “Capacidad lipofílica media” debido a que su cálculo se estableció tomando los valores de pKs el cual se usa para medir cinética ambiental y no biodisponibilidad (Delgado-López, 2014).

9.2.3 Evaluación de la relación dosis respuesta

Los resultados de la evaluación de la relación dosis respuesta, permitieron establecer al As y Hg, como los MIT de mayor efecto en base su capacidad de producir daño a la salud, seguidos del Cd y Cr, donde la principal diferencia radicó en el análisis integrado de la capacidad de daño, debido a que los metales Cd y Cr son MIT de preocupación en parámetros como la capacidad teratógena y carcinógena (tabla 8), pero con efectos órgano específicos como los reportados por Nordberg, 1998 y Vera *et al.*, 2001, lo cual pone en evidencia la necesidad de seguir complementando los estudios de los efectos, teratógenos, carcinógenos y mutágenos de estos MIT.

Es importante señalar que los MIT evaluados permitieron establecer cálculos de desarrollo de cáncer alto, lo que se ratifica lo reportado en la literatura respecto a él efecto asociado a la exposición a MIT, que pueden producir daños a nivel celular, afectando la integridad del DNA, (Corchado-Ramírez, 2015; Rodríguez-Heredia, 2017), lo cual a su vez corresponde con lo reportado previamente por autores como Sánchez-Zepeda, (2018) y Sánchez-Olivares *et al.* (2021), en investigaciones sobre toxicidad de metales pesados, por lo que es importante tomar en cuenta los análisis de manera más integral debido a que la baja ponderación que puede presentar un indicador podría estar sugerida por la concentración, condiciones ambientales, falta de investigaciones o incluso a la incertidumbre.

9.2.4 Caracterización del riesgo, por medio de la técnica ERPRG

Los resultados de la caracterización del riesgo, por medio de la evaluación rápida de potencial de riesgo genotóxico permitieron establecer a los metales As, Cd y Cr como los metales de mayor potencial riesgo (tabla 10), pese a su gran similitud en los resultados obtenidos es importante señalar que presentan algunas diferencias que son de interés para su estudio, seguimiento y evaluación, por ejemplo el As fue el que presentó la menor movilidad ambiental debido a que al pH ambiental es poco soluble lo que coincide con lo reportado por Sánchez-Olivares (2021); por otra parte el As es el elemento que presentó mayor potencial de efecto con base en la vulnerabilidad del sitio y las personas expuestas debido a que de los tres es el único que presentó simultáneamente la clasificación de *mutágeno confirmado* y *carcinógeno confirmado*, así como

teratógeno probable humanos de acuerdo a diversas investigaciones (Nordberg, 1998; Vera et al., 2001; ATSDR, 2012).

Caso contrario del Hg que presentó la puntuación más baja, debido a los indicadores relacionados con la concentración encontrada, como pauta ambiental y tasa de exposición humana, no obstante, es importante tomar en cuenta que es un MIT de preocupación debido a que su movilidad es alta, misma que puede verse influenciada por la textura franco-arenosa del jal, la pérdida de la capacidad amortiguadora del suelo y el decremento del pH como lo han reportado autores como Vera et al. (2001); Millán et al. (2007) y Méndez-Ortiz et al. (2012).

En cuanto a la metodología de evaluación rápida de potencial de riesgo genotóxico, tiene sus virtudes que le permiten un mejor uso e interpretación de la información sustentada en valores de referencia clasificaciones preestablecidas de cálculos sobre la estimación del riesgo a la salud además de ayudar a los tomadores de decisiones, la cual al basarse en una metodología TER, presenta diversas ventajas como la obtención de información derivada de una búsqueda bibliográfica sistemática y dirigida que permite optimizar el tiempo del estudio; aunado a que esta metodología no requiere una fase experimental para la obtención de información. Una desventaja es que depende directamente la existencia de información bibliográfica de los contaminantes, concentraciones, caracterización de la matriz ambiental y especiación química de los contaminantes lo cual también ha sido señalado por autores como Sánchez-Olivares (2021) y Lara-Gómez (2021).

Por otra parte, esta metodología presenta ventajas operacionales, debido a su versatilidad en la aplicación de diversos sitios, compuestos y/o poblaciones, así como sectores expuestos que le permite adaptarse a diferentes problemáticas ecotoxicológicas (Gaytán-Oyarzún et al., 2020) y que a su vez da sustento a la evaluación de los efectos que pudieran presentarse derivados de las exposiciones a dichas concentraciones y condiciones del sitio, por medio de uso de técnicas, métodos y bioensayos para evaluar los efectos.

9.3 Evaluación de la citotoxicidad y genotoxicidad en *V. faba* por lixiviados

9.3.1 Citotoxicidad

Los resultados de citotoxicidad (tablas 12 y 13) indican que las exposiciones a diluciones de lixiviados de jales mineros tienen como consecuencia un efecto inhibitorio de la división celular (citotoxicidad) estadísticamente positivo en *V. faba*, lo cual es un buen marcador de daño celular en los estudios toxicológicos ya que permite categorizar los efectos de las sustancias tóxicas como menciona Rosa-Cálaho y Marrugo-Negrete et al. (2013), todas variaciones en el índice mitótico son una prueba de la citotoxicidad para todos los sistemas biológicos, donde los valores del índice mitótico por debajo del testigo negativo pueden indicar que el crecimiento y desarrollo de los organismos expuestos ha sido afectado por los contaminantes (Sánchez-Olivares, 2021).

De acuerdo a la variable establecida de cambiar el pH a uno más ácido (pH 3), los resultados estadísticos permitieron establecer que no existen diferencias significativas entre ambos tratamientos ($F_{(3,13)} = 0.7068$, $p > 0.7451$), pero que su vez mostró una relación concentración-respuesta, mientras mayor es la concentración de lixiviado es mayor el efecto ($F_{(3,24)} = 0.7068$, $p < 0.00001$; Tabla XVII), lo cual coincide con lo mencionado por autores como Santa Cruz-López y Cabrejo-Paredes (2019), donde se ha demostrado que las mayores concentraciones serán los efectos que presentes los organismos.

9.3.2 Genotoxicidad de lixiviados y sus diluciones a pH 7 Y pH 3

Los resultados de la genotoxicidad derivada del análisis de estructuras anafásicas en *V. faba* a pH 7 y 3 (tablas 14 y 15) permitieron identificar una relación entre el aumento de la presencia de aberraciones cromosómicas y el aumento de la concentración de los lixiviados utilizados por lo que permite inferir una capacidad recombinogénica y clastogénica de estos compuestos presentes en lixiviados de los jales mineros como lo mencionado por Zalacain et al. (2005) donde la cantidad de lesiones nucleares y rompimiento de cromosomas fue mayor al aumentar la concentración de Cd y Pb en los tratamientos experimentales y que su vez es confirmado por la literatura (Nadgórska et al., 2013).

Es importante tomar en cuenta la presencia de anomalías cromosómicas ya que son un buen biomarcador de genotoxicidad en individuos expuestos por este tipo de mezclas complejas (lixiviados de jales mineros) que contienen como elementos críticos a los MIT de acuerdo a lo mencionado por Rosa-Cálah y Marrugo-Negrete et al. (2013), que han trabajado con la toxicidad de metales a nivel genético y su movilidad ambiental

9.3.3 Micronúcleos inducidos por lixiviados y sus diluciones a pH7 Y pH 3

Los resultados obtenidos del análisis de índice de micronúcleos con lixiviados a pH 7 y 3 (tablas 16 y 17), permitieron establecer un efecto genotóxico que crece conforme aumenta la concentración de lixiviado, lo que indica que a mayor concentración de MIT mayor será el efecto asociado lo cual ratifica, lo observado por autores como Arya et al. (2013), con *Allium cepa*, en donde establecen que al incrementar las concentraciones de metales pesados en los tratamientos de exposición de los tejidos al contaminante, produce alteraciones celulares cada vez más evidentes al igual que lo ocurre en *V. faba* con un mayor número de micronúcleos en cada dilución en comparación con el control (Zalacain *et al.*, 2005 y Ríos-Martínez, 2017).

Derivado de los análisis estadísticos se logró identificar que existen diferencias significativas entre los tratamientos experimentales y los controles, demostrando que existe un efecto genotóxico a partir de las exposiciones a lixiviados y una relación concentración-respuesta semejante a el análisis de anomalías cromosómicas, además se logró identificar que a partir de la tercera dilución de lixiviado a pH 3, los resultados presentan variabilidad con respecto a el pH utilizado, por lo cual es importante el monitoreo de este parámetro a lo largo del tiempo ya que la acidez del medio pudiera aumentar la liberación de MIT a medida que el pH del suelo cambie y aumente su cinética ambiental como lo ha mencionado Méndez-Ortiz et al. (2012).

Los resultados obtenidos sobre el potencial genotóxico de los MIT evaluados, demuestran que dichos metales tiene la capacidad de hacer daño aun a concentraciones por debajo de las normativas ambientales mexicanas, lo cual ha sido corroborado por autores como Sánchez-Olivares (2021), donde a concentraciones similares, dichos metales, presentaron efectos tóxicos letales en peces además presentar una capacidad teratógena o investigaciones como la Sánchez-Zepeda et al. (2019), donde los efectos dañinos del Cd a concentraciones similares presenta

efectos citotóxicos y genotóxicos en *V. faba* que se va agravando conforme aumenta la concentración y el tiempo de exposición.

Es importante señalar que la interpretación del riesgo asociado a las concentraciones máximas permitidas por las normas, es un indicador que permite identificar sitios de preocupación con base a el grado de contaminación no obstante la toma de decisiones, basada únicamente en este indicador limita las investigaciones ecotoxicológicas debido a que como se ha demostrado en esta investigación y trabajos anteriores los MIT pueden producir efectos nocivos aun a bajas concentraciones, tanto que autores como Díaz-Barriga (1999) han desarrollado indicadores complementarios como HQ y Hi los cuales permiten no descartar un área contaminada únicamente por presentar concentraciones por debajo de las normas ambientales de referencia.

Si bien las normas oficiales mexicanas (NOMs) en materia ambiental están sustentadas en normas internacionales y en reportes científicos; por alguna razón llegan a ser más flexibles en algunos lugares que en otros, en cuanto a las concentraciones permisibles, posiblemente por intereses particulares, temporales o espaciales de cada lugar; lo cual afecta las tomas de decisiones en países como México, provocando que estemos expuestos a niveles potencialmente perjudiciales a la salud (ver anexo 5), así mismo es importante tomar en cuenta que en la naturaleza las especies químicas de los contaminantes, están sujetas a diversos factores que las vuelven más o menos riesgosas según la situación en la que se encuentren, además de estar coexistiendo con otros químicos con los cuales entramos en contacto y de lo cual se ha investigado poco, como es el caso de esta investigación donde se trabajó con un muestra compleja resultado de la lixiviación de jales, donde los MIT no se encuentran aislados y sus efectos tratan de asemejarse a los derivados de las exposiciones reales que ocurren día a día.

10. CONCLUSIONES

Con base en lo anterior se puede concluir

La técnica de espectrofotometría de absorción atómica, es un método analítico eficiente, para identificación de metales totales en lixiviados, el cual permitió identificar tres metales pesados de interés toxicológico (Hg, Cd, Cr) y un metaloide (As) a el pH observado (pH 7), lo que a su vez permitió identificar la peligrosidad del sitio.

Los metales pesados identificados presentaron un bajo cociente de peligro ambiental (CP) al estar por debajo de la norma de referencia NOM-052-SEMARNAT-2005, pero su simple presencia representa una peligrosidad potencial del sitio. Tomando en cuenta los criterios de la ATSDR, al comparar la dosis de ingesta potencial con la dosis de referencia, se identificó un alto riesgo a la salud (HQ), lo cual los vuelve potencialmente peligrosos para los sectores expuestos, por vivir en la cercanía (<1500 m) y/o interactuar con este tipo de residuos; sin olvidar en cualquier tipo de estudio ambiental, los contaminantes no están solos en el ambiente y en cualquier matriz ambiental se encuentran acompañados de elementos potencialmente peligrosos, por lo que agencias como la ATSDR recomiendan identificar el riesgo acumulado a través del “Hazard index” (Hi)

Con base en el valor del pKs de los MIT evaluados, se estima que ha pH neutro (pH 7) existe una baja lixiviación, la cual puede verse potenciada a condiciones ácidas, además se establecido que el Hg y el Cr son los MIT de mayor movilidad ambiental en las condiciones observadas.

En cuanto a la evaluación de la exposición en el sitio de estudio, se estableció una exposición completa para los cuatro MIT de acuerdo a los criterios de la ATSDR, lo que implica que se conoce la fuente de contaminación, destino ambiental, escenarios de exposición y vías de exposición, permitiendo estimar una “probabilidad alta de exposición” para los sectores expuestos, por vivir en la cercanía (<1500 m) y/o interactuar con este tipo de residuos.

Las propiedades fisicoquímicas de las sales en las que se podrían encontrar los cuatro MIT en el sitio de estudio, favorecen la biodisponibilidad, por lo tanto, existe una alta posibilidad de una exposición efectiva al interactuar con este tipo de residuos.

Al estimar la tasa de exposición humana en el sitio de estudio se pudo determinar para As, Cr y Cd una “alta tasa de exposición” y una “baja tasa exposición” para el Hg, debido a que este último presentó la concentración ambiental más baja.

En cuanto a la vulnerabilidad del sitio y la población expuesta, el As y Hg presentaron los valores más altos, debido a su capacidad de daño a los sectores de alto riesgo, sin descartar que el Cd y Cr presentaron valores ligeramente menores por lo que se consideran MIT de preocupación con base en su capacidad de daño.

Los cuatro MIT evaluados presentan una alta capacidad de daño, siendo ligeramente más importantes el As y Hg con base su capacidad mutagénica, teratogénica y carcinogénica principalmente.

En cuanto a la evaluación rápida de potencial de riesgo genotóxico, que incluye de manera integral las evaluaciones de peligro, exposición y efecto, se logró identificar al As, Cd y el Cr como los metales de “alto potencial de riesgo”, mientras que el Hg mostró un valor menor (Potencial de riesgo medio alto), debido a su concentración ambiental encontrada.

Con base en los experimentos de citotoxicidad se puede concluir, que tanto los lixiviados a condiciones pH 3 y 7, presentaron un efecto citotóxico en células meristemáticas de *V. faba*, estadísticamente positivo con una relación dosis-respuesta, siendo los tratamientos con mayor concentración los de mayor efecto, pero sin diferencias significativas entre los tratamientos.

Derivado de la experimentación se pudo establecer una relación dosis respuesta, donde a mayor sea la concentración utilizada mayor será el efecto genotóxico asociado, tanto para la formación de aberraciones cromosómicas como para la generación de micronúcleos en condiciones observadas (pH 7) y ácidas (pH 3), por lo que se logró establecer el efecto genotóxico de los lixiviados

Finalmente los resultados de esta investigación indican que existe la posibilidad de la generación de daños genotóxicos en las células de la población cerca a los jales mineros de la ciudad de

Pachuca, por lo tanto se sugiere seguir investigando sobre los efectos nocivos a la salud causados por MIT a bajas concentraciones en fuentes de contaminación permanentes como los jales mineros, donde no es suficiente la realización de la caracterización química de los mismos para estimar el riesgo asociado, por lo tanto es necesaria la investigación interdisciplinaria donde pueden interpretar de mejor forma los factores químicos, físicos y biológicos que conforman el entorno y su relación con la salud.

11. ANEXO 1: Indicadores de peligro (Autoría propia)

Indicador de peligro	Formula	Interpretación
(CP) Cociente de peligro (González-Mille et al., 2010)	$CP = Ce / (Cr \text{ o CMA})$ <p>Ce: Concentración de exposición u observada Cr: Concentración de referencia establecida como límite máximo permitido (LMP) por la NOM-127-SSA1-2017</p>	<p>a) CP= 1 peligro moderado (5) b) CP= <1 no peligro (3) c) CP= > 1 peligroso (se expresa en órdenes de magnitud) (1)</p>
(HQ) Índice de Peligro a la Salud (IP) o Hazard Quotient (HQ) (Díaz-Barriga, 1999)	$HQ = \frac{DDE \text{ o CDI}}{RID \text{ o LMR} \text{ o IDA}}$ <p>HQ: Cociente de peligro DDE: Dosis de exposición al contaminante RID: Dosis de referencia LMR: Nivel de Riesgo Mínimo IDA: Índice de ingesta diaria</p>	<p>a) HQ alto cuando es >6 (5) b) HQ medio cuando se encuentra de ente 1 a 5 (3) c) HQ bajo cuando es igual o <1 (1)</p>
(EMEG) Pauta de Evaluación para medios ambientales (CEPIS/OPS, 2005)	$EMEG = \frac{RfD \text{ ó MRL} \text{ o IDA} (mg/kg/día) \times PCo (Kg)}{TI (L/día)}$ <p>EMEG: Pauta de Evaluación para medios ambientales en agua (mg/L) RID o MRL o IDA: Dosis de Referencia o Nivel de Riesgo Mínimo, Ingesta Diaria Admisible (Banco de datos IRIS o ASTDR); PCo: Peso corporal (70 kg/adultos) TI: Tasa de Ingestión diaria de agua = 2 L/adultos.</p>	<p>a) Peligrosidad alta. La concentración ambiental supera el valor de EMEG (5) b) Peligrosidad media. La concentración ambiental es igual al valor de EMEG (3) c) Peligrosidad baja. La concentración ambiental está por debajo del valor de EMEG (1)</p>
Cinética ambiental (pKs) (Garriz-Ruiz et al., 2005)	<p>A mayor pKs, mayor solubilidad tendrá el contaminante haciéndole móvil en el ambiente (Sánchez, 2021). En caso de no encontrarse el contaminante dentro del anexo será necesario considerar para su búsqueda que el valor de -log Kps=pKs</p>	<p>a) pKs ≥26 Altamente soluble (alta movilidad) (5) b) pKs 16-25 Medianamente soluble (movilidad media) (4) c) pKs ≤15 Baja solubilidad (baja movilidad) (2) d) Se desconoce el pKs del contaminante (1)</p>
Tiempo de vida media (TMa) (MINAM, 2015)	<p>A mayor TMa, mayor permanencia en el ambiente y por ende mayor peligrosidad</p>	<p>a) Permanentes (TMa indefinido). (5) b) Persistentes (TMa de 19 hasta 20 años). (4) c) Moderadamente persistentes (TMa de 1 a 18 meses) (3) d) No persistentes (TMa <2 semanas). (2) e) Se desconoce el TMa del contaminante. (1)</p>

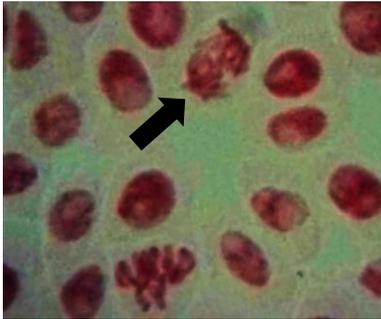
12. ANEXO 2: Indicadores de exposición (Autoría propia)

Indicadores de exposición y vulnerabilidad	Formula o criterio	Interpretación
(PE) Probabilidad de exposición (Sánchez-Olivares et al., 2021)	$PE = \frac{[(SPR)(FR1)] + [(SP)(FR2)]}{100}$ <p>PE: Probabilidad de exposición</p> <p>SPR: Sector poblacional de riesgo (conformado por niños de 0-12 años y adultos mayores >60 años);</p> <p>SP: Sector poblacional no riesgo (conformado por adolescentes de 13-18 años y adultos de 19 a 59 años)</p> <p>FR: Factor de riesgo se asume (1: Por ser miembro de la población; 2: por pertenecer a población vulnerable)</p>	<p>a) Probabilidad de exposición alta (PE ≥ 20) (5)</p> <p>b) Probabilidad de exposición media: (PE 10-19) (4)</p> <p>c) Probabilidad baja (PE ≤ 10) (3)</p> <p>d) Probabilidad de exposición desconocida (1)</p>
Biodisponibilidad basada en (LogKow) (Delgado, 2014)	<p>LogKow alto, alta afinidad por lípidos = lipofílicos</p> <p>LogKow bajo, baja afinidad por lípidos = hidrofílico</p>	<p>a) Alta biodisponibilidad (LogKow >5) (5)</p> <p>b) Mediana alta biodisponibilidad (LogKow 3.5-5) (4)</p> <p>c) Media biodisponibilidad (LogKow 3-3.5) (3)</p> <p>d) Media a media baja biodisponibilidad (LogKow 3-1) (2)</p> <p>e) Baja y/o desconocida biodisponibilidad (LogKow < 1) (1)</p>
(TEH) Tasa de exposición Humana OMS, 2017	<p>Nivel de Exposición = (TEH / ADI, RID o LMR)</p> <p>DDE: Dosis diaria de exposición (mg · kg⁻¹ · día⁻¹)</p> <p>RID: Dosis de referencia</p> <p>LMR: Límite mínimo de referencia</p>	<p>a) Alta exposición humana ((TEH / (RID o LMR) calculada es >10) (5)</p> <p>b) Media-alta exposición humana ((TEH / (RID o LMR) calculada es =1) es = 1-9,9) (4)</p> <p>c) Media exposición humana ((TEH / (RID o LMR) calculada es =1) (3)</p> <p>d) Mínima exposición humana ((TEH / (RID o LMR) calculada es <1) (2)</p> <p>e) Se desconoce la TEH (1)</p>
Análisis integrado de la exposición Modificado de la ATSDR, 1999;	<p>Peligro por presencia, Origen, Categoría de la exposición, Escenario de exposición (Relación espacio-temporal del sector expuesto), Vía o rutas de exposición, Frecuencia anual y duración de la exposición</p>	<p>a) Probabilidad de que exista una exposición de 25 a 32 pts. (5)</p> <p>b) Alta probabilidad de exposición de 17 a 24 pts. (4)</p> <p>c) Mediana probabilidad de exposición de 8 a 16 pts. (3)</p> <p>d) Baja probabilidad de exposición de la exposición >8 pts. (2)</p> <p>e) Exposición no determinada (1)</p>
Análisis integrado de Vulnerabilidad (Modificado de la ATSDR, 1999)	<p>Porcentaje de población de alto riesgo, asentamientos humanos, actividades humanas, actividades laborales cerca del sitio de exposición; cuerpos de agua, área de suelo agropecuario y/o ecosistemas susceptibles,</p>	<p>1= Alta vulnerabilidad de 22 a 28 pts. (5)</p> <p>2= Mediana vulnerabilidad 15 a 21 pts. (4)</p> <p>3= Baja vulnerabilidad de la exposición 8 a 14 pts. (3)</p> <p>4= Vulnerabilidad no determinada >7 pts. (1)</p>

13. ANEXO 3: Indicadores de efecto (Autoría propia)

Indicador de relación dosis respuesta	Formula o criterio	Interpretación
(DDE) Dosis diaria de exposición (EPA, 2001).	$DDE = (C_e \cdot T \cdot FE) / (PCo) \quad FE = (F \cdot Dexp) / AT \quad (4 \text{ y } 5)$ <p>Ce: Concentración de exposición o Concentración de contaminante en el medio considerado (mg/kg, mg/l) Ti: Tasa de consumo por ingestión, absorción o inhalación accidental (mg/día; en caso de agua es 2 l/día adulto y un 1 l/día niños y adultos mayores, o caso de suelo 100 mg/día adulto y medio suelo es de 200mg/día niños y adultos mayores) FE: Factor de la exposición (compuesto permanentemente el valor es 1) F: Frecuencia de exposición: Fracción de días de la semana ej (5/7) por número de semanas del año Dexp: Duración de la exposición (años) PCo: peso corporal del individuo (kg): 50 kg adultos mayores (>60 años); 70 a 64.5 kg adulto (>18 años < 60); 50 kg adolescentes (12 a 18 años); 36.5 kg niños de 3 a 12 años; 13-15 kg menores de tres años AT: tiempo promedio sobre el cual se promedia la exposición</p>	a) Alta probabilidad de daño: DDE (10 ⁻³ mg/kg/día) (5) b) Mediana probabilidad de daño: DDE (10 ⁻⁴ mg/kg/día) (4) c) Ligera probabilidad de daño: DDE (10 ⁻⁵ mg/kg/día) (3) d) Baja probabilidad de daño: DDE (10 ⁻⁶ mg/kg/día) (2) e) Desconocido (1)
(pT) Potencial de toxicidad (Degrossi, 2013).	$PT = -\log T$ <p>T: Dosis toxica molar en mol/kg, se calcula a partir de la DL50 oral en ratas. $T = (LD50 / 1000) / (\text{Peso molecular})$</p>	a) Potencial de toxicidad alta (T > 10) (5) b) Potencial de toxicidad media (T = 5-10) (3) c) Potencial de toxicidad baja (T = 1-5) (2) d) Potencial de toxicidad desconocido (1)
(pMu) Potencial mutagénico (SGA, 2008)	a) Probabilidad de daño alta. Pertenecer a la categoría 1 (5) b) Probabilidad de daño media Pertenecer a la categoría 2 (4) c) Probabilidad de daño media baja Pertenecer a la categoría 3 (3) d) Se desconoce la categorización. (1)	a) 13-15 puntos Alta capacidad de daño (5) b) 10-12 puntos Media alta capacidad de daño (4) c) 7-9 puntos Media capacidad de daño (3) d) 4-6 puntos Baja capacidad de daño (2)
(pte) Potencial Teratogénico (FDA, 1992).	Categoría X: Los estudios en animales o en humanos han demostrado anomalías fetales (5); Categoría D: Existe evidencia positiva de riesgo fetal en humanos (4); Categoría C: Bioensayos positivo o débiles / humanos inexistentes (3); Categoría B: Datos contradictorios en animales y no existen estudios controlados en humanos y Categoría A. Datos negativos o desconocidos pero alto sector expuesto (1)	e) 1-3 puntos Desconocida capacidad de daño (ILRCI) (1)
(pCa) Potencial carcinogénico (IARC, 2012)	Categorías Grupo 1: "Carcinógeno para el ser humano" (5); Grupo 2A: "Probablemente carcinógeno para el ser humano" (4); Grupo 2B: "Posiblemente carcinógeno para el ser humano" (3); Grupo 3: "No puede ser clasificado respecto a su carcinogenicidad para el ser humano" (2); Grupo 4: "Probablemente no carcinógeno para el ser humano" (1)	a) Riesgo alto de incidencia de cáncer (>1E-06) (5) b) Riesgo aceptable de incidencia de cáncer (1E-04 - 1E-06) (4) c) Riesgo bajo de incidencia de cáncer (1E-03 - 1E-04) (3) d) Desconocido 1E03 (1)
(ILRCI) Riesgo de desarrollo de cáncer a lo largo de la vida. (CEPIS/OPS, 2005).	$ILRCI = \left[CDI \left(\frac{mg}{kg \cdot d} \right) \right] \times [CSF \left(\frac{mg}{kg/d} \right)]$ <p>LCRI: Riesgo de desarrollo de cáncer individual durante el tiempo de vida; CDI: es la ingesta crónica diaria (mg/kg/d); SFC: es el factor de pendiente establecido en la base de datos IRIS de la EPA (2005) o de la ATSDR (2004) por contaminante (mg/kg/día). $IC = LCI \left(\frac{mg}{kg/d} \right) \times PT$</p>	a) Peligrosidad alta. Incidencia de cáncer (≥1E-06) (5) b) Peligrosidad media. Incidencia de cáncer (1E-04 - 1E-06) (4) c) Peligrosidad baja. Incidencia de cáncer (1E-03 - 1E-04) (2) d) Desconocido o menor a 1E03 (1)
(IC) Incidencia de cáncer por sector poblacional. (1E-06) de habitantes (CEPIS/OPS, 2005).	PT: Población total o por sector de riesgo o por cada (1E-06) habitantes	a) Peligrosidad alta. Incidencia de cáncer (≥1E-06) (5) b) Peligrosidad media. Incidencia de cáncer (1E-04 - 1E-06) (4) c) Peligrosidad baja. Incidencia de cáncer (1E-03 - 1E-04) (2) d) Desconocido o menor a 1E03 (1)

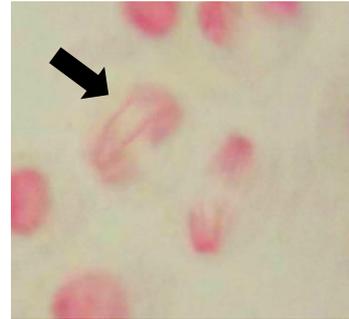
14. ANEXO 4: Resultados pruebas de citotoxicidad y micronúcleos (Autoría propia)



Células en división



Puente anafásico sencillo



Puente anafásico doble



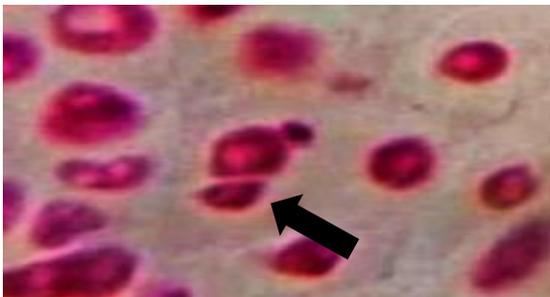
Fragmentos retardados



Cromosoma retardado



Cromosoma en anillo



Célula binucleada



Micronúcleo

15. ANEXO 5: Límites permisibles (ppm) de metales pesados en alimentos, agua y suelo según normas internacionales y locales.

Matrices	Área de aplicación	As	Cd	Hg	Pb	Fuente
Comida	Internacional	0.1-0.2	0.05-2	0.5-1	0.01-3	(Código Alimentario, 2015)
	Unión Europea	0.1-0.2	0.05-3	0.1-1	0.02-3	(Reglamento de la Comisión (CE) N° 1881/2006, 2006)
	USA	N/D	N/D	N/D	N/D	
	China	0.5	0.05	0.01	0.2	(Li <i>et al.</i> , 2006)
Agua para beber	Internacional	0.01	0.003	0.001	0.01	(Código Alimentario, 2015)
	Unión Europea	0.01	0.005	0.01	0.001	(Comisión Europea, 2019)
	USA	0.01	0.005	0.002	0.015	(USEPA, 2017)
	China	0.01	0.005	0.001	0.01	(Ministerio de Salud de China, 2006)
Agua de riego	Internacional	0.1	0.01	N/D	5	(Ayers y Westcot, 1994)
	USA	N/D	0.005-0.01	N/D	5	(USEPA, 1978)
	China	0.05	N/D	0.01	N/D	(Zhao <i>et al.</i> , 2018)
solidos	Internacional	20	0.9-3	0.03-2	30-50	(WHO/FAO 2001; de Vries <i>et al.</i> , 2003)
	Unión Europea	N/D	N/D	N/D	N/D	(Directiva del Consejo 86/278/CEE, 1986)
	Finlandia	5-100	1-20	0.5-5	60-750	(Ministerio de la Medio ambiente de Finlandia, 2007)
	Reino Unido	32-640	10-230	1-3600	450-750	(Agencia de Medio Ambiente del Reino Unido, 2009)
	USA	0.11	0.48	1	200	(US EPA 1993)
	China	20-40	0.3-0.6	0.3-1	80	(Protección del medio ambiente Ministerio de China, 2015)

(Monchanin *et al.*, 2021)

16. REFERENCIAS

- Agencia de Protección Ambiental (EPA). (2005). Sistema Integrado de Información de Riesgos (IRIS). Washington, D.C. U. S. Fecha de consulta: 19 septiembre del 2020. Disponible en: https://cfpub.epa.gov/ncea/iris_drafts/atoz.cfm?list_type=alpha
- Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos (USEPA). (2001). Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos. Directrices para la evaluación del riesgo de carcinógenos, Foro de evaluación de riesgos. Washington DC. Estados Unidos de América. Fecha de consulta: 04 octubre del 2021. Disponible en: https://19january2017snapshot.epa.gov/sites/production/files/documents/2001_national_analysis_executive_summary.pdf
- Agencia de Sustancias Tóxicas y Registro de Enfermedades: Arsénico ToxFAQs™. (2007). Centros de Control y Prevención de Enfermedades. Atlanta, GA. Fecha de consulta: 25 mayo del 2021. Disponible en: <https://www.atsdr.cdc.gov/toxguides/toxguide-2.pdf>
- Agencia de Sustancias Tóxicas y Registro de Enfermedades: Cadmio ToxFAQs™. (2012). Centros de Control y Prevención de Enfermedades. Atlanta, GA: Fecha de consulta: 25 mayo del 2021. Disponible en: <https://www.atsdr.cdc.gov/toxguides/toxguide-5.pdf>
- Agencia de Sustancias Tóxicas y Registro de Enfermedades: Cromo ToxFAQs™. (2012). Centros de Control y Prevención de Enfermedades. Atlanta, GA. Fecha de consulta: 28 mayo del 2021. <https://www.atsdr.cdc.gov/toxguides/toxguide-7.pdf>
- Agencia de Sustancias Tóxicas y Registro de Enfermedades: Mercurio ToxFAQs™. (2022). Centros de Control y Prevención de Enfermedades. Atlanta, GA. Fecha de consulta: 31 mayo del 2021. Disponible en: <https://www.atsdr.cdc.gov/toxguides/toxguide-46.pdf>
- Agencia Internacional para la Investigación del Cáncer IARC. (2014). Monográficos sobre la evaluación de riesgos cancerígenos para humanos. Lyon. Fecha de consulta: 30 de marzo del 2021. Disponible en: <http://apps.who.int/bookorders/anglais/detart1.jsp?sesslan=1&codlan=1&codcol=72&codcch=100>
- Agencia para Sustancias Tóxicas y Registro de Enfermedades (ATSDR). (2005). Evaluación de Salud Pública. Manual de Orientación (Actualización). Atlanta, Georgia: Departamento de Salud y Servicios Humanos de EE. UU. Fecha de consulta: 30 mayo del 2021. Disponible en: <https://www.atsdr.cdc.gov/hac/phamanual/toc.html>
- Aimacaña-Toapanta, F. M. (2016). Determinación del impacto de la lluvia ácida en tres sectores (norte, centro y sur) de la ciudad de Latacunga período 2015. Ingeniería de Medio Ambiente. UTC. Latacunga. 110 p.
- Alegre-Bayo, N. (2001). Reacción celular ante la radiación. Radiobiología. (1). 9– 11 ISSN 1579-3087
- Alloway, B. (2013). Fuentes de metales pesados y metaloides en suelos: En: Metales pesados en suelos. Trazas de metales y metaloides en suelos y su biodisponibilidad. Springer. Países Bajos. 11-50. https://doi.org/10.1007/978-94-007-4470-7_2
- Álvarez-Rodríguez, A. y Fernández-Marcos, J. (2011). Capítulo 3 Metales pesados en suelo: En: Gestión de residuos orgánicos de uso agrícola. Escuela politécnica superior. España. 34-47
- Anbalagan, R. y Sivakami, R. (2018). Bioacumulación de metales pesados en agua y algas de

- Mukkobu en el sistema del río Cauvery, distrito de Tiruchirappalli, Tamil Nadu, India. *Revista internacional de microbiología actual y ciencias aplicadas*. 7(1): 1067- 1072. <https://doi.org/10.20546/ijcmas.2018.701.129>
- Armijo-Simón J. A. (2014). Farmacocinética: absorción, distribución y eliminación de los fármacos. En: *Farmacología humana*. 6ª. Edición. Elsevier Ed. Jesús Florez. España. Centro Panamericano de Ingeniería Sanitaria y Ciencias del ambiente/Organización Panamericana de la Salud (CEPIS/OPS), (2005). Curso de autoinstrucción. Obtenido de Evaluación de Riesgo asociado a Contaminantes de Aire. España. Fecha de consulta: 4 julio del 2021. Disponible en: http://www.bvsde.paho.org/cursoa_riesgoaire/lecciones/leccion2d.html
- Arya, S. Basu, A. y Mukherjee, A. (2013). Genotoxicidad y citotoxicidad inducidas por plomo en células de raíz de *Allium cepa* y *Vicia faba*. *Núcleo*. 56: 183-189. <https://doi.org/10.1007/s13237-013-0099-z>
- Atlas de Genética y Citogenética en Oncología y Hematología (AGCOH). (2022). EE. UU. Fecha de consulta: 12 septiembre del 2021. Disponible en: <https://www.chromosomesincancer.eu/Educ/PolyMecaSp.html>
- Ávila-Cervantes, R. A. Mancilla-Montelongo, G. González-Pech, P. G. Sandoval-Castro, C. A. y Torres-Acosta, F. J. (2019). Bioensayos in vitro de relevancia en las ciencias biológicas y agropecuarias. *Bioagrociencias*. 12(1): 34- 41.
- Bartkowiak, A. y Lemanowicz, J. (2014). Aplicación de pruebas bioquímicas para evaluar la contaminación de los suelos de la Cuenca de Unislaw con metales pesados. *Revista Medio Ambiente*. 8 (1): 93-100. DOI:10.22059/IJER.2014.698
- Cálah-Ramos, C. R. y Marrugo-Negrete, J. L. (2013). Efectos genotóxicos asociados a metales pesados en una población humana de la región de La Mojana, Colombia. *Biomédica*. 139-51. <http://dx.doi.org/10.7705/biomedica.v35i0.2392>
- Castañedo, A. Águila, E. Marrero, O. Meneses, A. Sifontes, S. Seijo, M. y Santana, A. (2019). Bioensayo de toxicidad aguda en tres biomodelos utilizando compuestos de referencia. *Revista Toxicol*. 36: 128- 133.
- Causil-Vargas, L. A. Coronado-González, J. L. Verbel-Muñoz, L. F. Vega-Jiménez, M. F. Donado-Elías, K. A. y Pacheco-Guerra, C. (2017). Efecto citotóxico del hipoclorito de sodio (NaClO), en células apicales de raíces de cebolla (*Allium cepa* L.). *Revista Colombiana de Ciencias Hortícolas*. 11(1): 97- 104. <https://doi.org/10.17584/rcch.2017v11i1.5662>
- Censo de Población y Vivienda INEGI. (2020). Panorama sociodemográfico de Hidalgo: Censo de Población y Vivienda 2020: CPV / Instituto Nacional de Estadística y Geografía. México: 98p.
- Conagua. (2015) *Estadísticas del Agua en México*. SEMARNAT. México. Fecha de consulta: 05 septiembre del 2021. Disponible en: http://www.conagua.gob.mx/conagua07/Publicaciones/Publicaciones/eam_junio2005.pdf
- Contreras-López, C. (2016). Oblitopías: recuperación del espacio abierto contaminado en asentamientos humanos ubicados sobre depósitos de jales mineros. México: Facultad de Arquitectura, UNAM. D.F. México.145 p.
- Corchado-Ramírez J. (2015). Tesis de diploma. Biomonitorio citogenético de trabajadores del CBQ mediante el ensayo de micronúcleos. Universidad Central “Marta Abreu” de las

- Villas Facultad de Ciencias Agropecuarias. Departamento de Biología. Santa clara. Villa Clara, Cuba. 135p.
- Covarrubias-Hernández, S. A. y Peña-Cabriales, J. J. (2017). Contaminación ambiental por metales pesados en México: problemática y estrategias de fitorremediación. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*. 33: 7-21. DOI: 10.20937/RICA.2017.33.esp01.01
- Degrossi, M. C. (2013). Toxicología de Alimentos Universidad de Belgrano. Ed. Facultad de Ciencias de la Salud, Argentina. Fecha de consulta: 23 noviembre del 2021. Disponible en: <http://repositorio.ub.edu.ar/handle/123456789/3890>
- Delgadillo-López, A. E., González-Ramírez, C. A., Prieto-García, F. Villagómez-Ibarra, J. R. y Acevedo-Sandoval, O. (2011). Fitorremediación, una alternativa para eliminar la contaminación. *Trop Subtrop Agroecosyst*. 14(2): 597-612. Disponible en: http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S18700462201100020002&lng=es
- Delgado-Mota, O. F. (2014). Cálculo de la permeabilidad de un modelo de membrana celular hacia dos agentes antifímicos. Tesis de Maestría. Universidad Autónoma de Nuevo León, Facultad de Ciencias Químicas. México. 61p
- Diario Oficial de la Federación (DOF). (2001). NMX-AA-051-SCFI-2001. Análisis de agua
- Díaz-Barriga, F. (1999). Metodología de identificación y evaluación de riesgos para la salud en sitios contaminados. Perú: Ed. Centro Panamericano de Ingeniería Sanitaria (OPS)/ Organización Panamericana de Salud. 93p.
- Domínguez-Gual, M. C. (2015). La contaminación ambiental, un tema con compromiso social. *Producción + Limpia*. 10(1): 9-21. Fecha de consulta: 12 septiembre del 2021. Disponible en: http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1909-04552015000100001&lng=en&tlng=es.
- Estrada-Paneque, A. Gallo-González, M, y Nuñez-Arroyo, E. (2016). Contaminación ambiental, su influencia en el ser humano, en especial: El sistema reproductor femenino. *Revista Universidad y Sociedad*. 8(3): 80-86. Recuperado en 27 de julio de 2022, de http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2218-36202016000300010&lng=es&tlng=es.
- Galán-Huertos, E. y Romero-Baena, A. (2008). Contaminación de Suelos por Metales Pesados. *Revista de la Sociedad Española de Mineralogía*. 10: 48-60
- García-Fernández, I. y Dorronsoro-Fernández, C. (2005). Contaminación por Metales Pesados. En *Tecnología de Suelos*. Universidad de Granada. Departamento de Edafología y Química Agrícola. <http://edafologia.ugr.es>.
- García-Gallegos, E. García-Nieto, E., Juárez-Santillán, L. F. Juárez-Santacruz, L. Montiel-González, J. M. R. y Gómez-Camarillo, M. A. (2012). La respuesta de haba (*Vicia faba* L.) cultivada en un suelo contaminado con diferentes concentraciones de cadmio. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*. 28 (2): 119-126.
- Garriz-Ruiz, A. Gasque-Silva, L. y Martínez-Vázquez, A. (2005). Equilibrios de solubilidad. En: *Química Universitaria*. Pearson Educación, México. 609-621.
- Gavilán-García, I. C. Ladino-Moreno, L. Franco-Farfán, E. F. y Juárez-Díaz, J. A. (2020). Determinación de factores involucrados en la valoración del riesgo potencial asociado a la dispersión atmosférica de metales pesados y a su ingestión. *Revista internacional de contaminación ambiental*. 36(1): 127-138. <https://doi.org/10.20937/rica.2020.36.53384>
- Gaytán-Oyarzun, J. C. y López-Escamilla, M. (2019). Plaguicidas uso y potencial de riesgo en

- Sustentabilidad y gestión ambiental. Universidad Autónoma de Zacatecas. 103-118.
- Gaytán-Oyarzun, J. C., Sánchez-Olivares, M. A. y Cabrera-Cruz, R. B. E. (2020). Evaluación de riesgo genotóxico de compuestos xenobióticos. En Investigaciones actuales en medio ambiente II. Universidad Autónoma de Tamaulipas. 87-100.
- Gómez-Arroyo, S. y Villalobos-Pietrini, R. (1983). Alteraciones cromosómicas inducidas por algunas sales de cromo. *Cytologia*. 48: 185-195.
- Gonzales-Ulibarry, P. (2019). efecto de los plaguicidas sobre la salud humana. Biblioteca del Congreso de Nacional de Chile. 8p. Fecha de consulta 12 de septiembre del 2021. Disponible en: https://obtienearchivo.bcn.cl/obtienearchivo?id=repositorio/10221/26823/2/Efecto_de_los_plaguicidas_en_la_Salud.pdf
- González-Mille, D. J. Ilizaliturri-Hernández, C. A., Espinosa-Reyes, G. Costilla-Salazar, R., Díaz-Barriga, F. Ize-Lema, I. y Mejía-Saavedra, J. (2010). Exposure to persistent organic pollutants (POPs) and DNA damage as an indicator of environmental stress in fish or different feeding habits of Coatzacoalcos, Veracruz, México. *Ecotoxicology*. 19: 1238-1248.
- Hernández-Acosta, E. Mondragón-Romero, E. Cristóbal-Acevedo, D. Rubiños-Panta, J. y Robledo-Santoyo, E. (2009). Vegetación, residuos de mina y elementos potencialmente tóxicos de un jal de Pachuca, Hidalgo, México. *Revista Chapingo serie ciencias forestales y del ambiente*. 15(2): 109-114. Recuperado en 05 de julio de 2022, de http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2007-40182009000200004&lng=es&tlng=es
- Hsu, C. Chiang, H. Shie, R. Ku, C. Lin, T. Chen, M. Chen, N. y Chen, Y. (2018). COV ambientales en áreas residenciales cercanas a un complejo petroquímico a gran escala: variación espaciotemporal, distribución de fuentes y riesgo para la salud. *Environmental Pollution*. 240: 95-104. http://www.infoagro.com/abonos/contaminacion_suelos_metal_pesados.htm http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S102687742012000300009&lng=es&tlng=es https://apps1.semarnat.gob.mx:8443/dgeia/informe15/tema/pdf/Informe15_completo.pdf <https://dx.doi.org/10.1590/S0101-20612006000100016>
- Iqbal, M. (2016). *Vicia faba*. Bioensayo para el control de la toxicidad ambiental *Chemosphere*. 144: 785-802. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2015.09.048>
- Jiménez-Ballesta, R. (2017). Introducción a la contaminación de suelos. Mundi prensa. 5-9
- Lara-Gómez, A. (2021). Propuesta metodológica para la evaluación rápida de potencial de riesgo genotóxico (ERPRG) en agua. Tesis de Licenciatura. Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo. México. 130p.
- López-Domínguez, M. G. y Pérez-Salazar, A. (2018). Pruebas de lixiviación como evaluación ambiental de materiales. *Publicación Técnica*. 515: 52p.
- Lorenzo-Monterrubio, A. (1995). Evolución urbana de la ciudad de Pachuca. Pachuca: Gobierno del Estado de Hidalgo. 26p.
- Martínez-Angoa, J. (2016). Análisis de dicéntricos en linfocitos humanos expuestos a radiación ionizante mediante el sistema automatizado y microscopio óptico. Tesis de licenciatura. Universidad Autónoma del Estado de México, Facultad de Química, Toluca. México. 98p.
- Martín-Olmedo, P. Carroquino-Saltó, M. Ordóñez-Iriarte, J. y Moya, J. (2016). La Evaluación

- de riesgos en salud. Guía metodológica. Aplicaciones prácticas de la metodología de Evaluación de riesgos en salud por exposición a químicos. Madrid. Sociedad Española de Sanidad Ambiental y Escuela Andaluza de Salud Pública. Serie “De aeribus, aquis et locis”. 3: 250p.
- Matheus-Lobo, T. y Bolaños, A. (2014). Micronúcleos: biomarcador de genotoxicidad en expuestos a plaguicidas. *Salud*. 18 (2): 18-26.
- Méndez-Ortiz, B. Carrillo-Chávez, A., Monroy-Fernández, M. y Levresse, G. (2012). Influencia del pH y la alcalinidad en la adsorción de As y metales pesados por oxihidróxidos de Fe en jales mineros de tipo skarn de Pb-Zn-Ag. *Revista mexicana de ciencias geológicas*. 29(3): 639-648.
- Millán, R., Carpena, R., Schmid, T., Sierra, M., Moreno, E. Peñalosa, J. Gamarra, R. y Esteban, E. (2007). Rehabilitación de suelos contaminados. *Ecosistemas* 16 (2):56-66
- Monchanin, C. Jean-Marc, D y Barrón, A. (2021). Niveles permisibles de contaminantes de metales pesados. Daño a los invertebrados terrestres. *Hal, Science*. 32p. Fecha de consulta 07 de junio del 2021. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0048969721014662>
- Moreno-Tovar, R. Monroy, M. y Castañeda, E. (2009). Evaluación geoquímica de residuos mineros (jales o colas) de mineralización de tipo epitermal, Hidalgo, México. *Revista Geológica de América Central*. (41): 79-97. Fecha de consulta 4 de marzo de 2021. ISSN: 0256-7024. Disponible en: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=454/45437348007>
- Moreno-Tovar, R. Téllez-Hernández, J. y Monroy-Fernández, M. G. (2012). Influencia de los minerales de los jales en la bioaccesibilidad de arsénico, plomo, zinc y cadmio en el distrito minero Zimapán, México. *Revista internacional de contaminación ambiental*, 28(3): 203-218. Fecha de consulta: 25 de marzo del 2021. Disponible en: http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S01884999201200030003&lng=es&tlng=es.
- Nadgórska, A. Kafel, A. Kandziora, M. Gospodarek, J. y Zawisza, A. (2013). Acumulación de metales pesados y respuestas antioxidantes en plantas *de Vicia faba* cultivadas en suelo contaminado con monometalicos. *Environ. Sci. Pollut.* 20: pp. 1124–1134. DOI 10.1007/s11356-012-1191-7
- Nava-Ruíz, C. y Méndez-Armenta, M. (2011). Efectos neurotóxicos de metales pesados (cadmio, plomo, arsénico y talio). *Arch Neurocién*. 16(3), 140–147.
- Nordberg, G. (1998). 63. Metales: propiedades químicas y toxicidad en la Enciclopedia de salud y seguridad en el trabajo. Chantal Dufresne, Barcelona, España. 63.1-63.75
- Norma Oficial Mexicana. NOM-021-RECNAT-2000. Que establece las especificaciones de fertilidad, salinidad y clasificación de suelos. Estudios, muestreo y análisis.
- Norma Oficial Mexicana. NOM-052-SEMARNAT-2005. Que establece las características, el procedimiento de identificación, clasificación y los listados de los residuos peligrosos.
- Nurmansyah-Salem, S. Alghamdi-Hussein, M. M. y Muhammad-Farooq. (2018). Anomalías morfológicas y cromosómicas en genotipos de habas mutagenizados inducidos por radiación gamma. *International Journal of Radiation Biology*. 94: 174-185 <https://doi.org/10.1080/09553002.2018.1409913>
- Olmos, V. y Ridolfi, A. (2018). Hidroarsenicismo: mecanismos de acción asociados a la toxicidad del arsénico. *Acta toxicológica argentina*, 26(1): 32-44. Fecha de consulta 29 de agosto de 2022. Disponible en:

- http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S18513743201800010004&lng=es&tlng=es
- Organización de las Naciones Unidas para la Educación, la Ciencia y la Cultura (Unesco) (2014). Informe de las Naciones Unidas sobre el Desarrollo de los Recursos Hídricos en el Mundo. Resumen Ejecutivo, Unesco, París, Francia. Fecha de consulta 21 de agosto de 2022. Disponible en: unesdoc.unesco.org/images/0022/002269/226962s.pdf.
- Organización Mundial de la Salud (2017). El mercurio y la salud. Fecha de consulta 25 de mayo de 2022. Disponible en <https://www.who.int/es/news-room/factsheets/detail/mercuryandhealth#:~:text=El%20mercurio%20elemental%20y%20el,c on%20consecuencias%20a%20veces%20fatales.>
- Organización Mundial de la Salud (OMS) (2017). Herramienta de evaluación de riesgos para la salud humana de la OMS: peligros químicos. Ed. Organización Mundial de la Salud (OMS). Documento 8 del Proyecto de armonización del IPCS. Ginebra. 110p.
- Oyuela-Leguizamo, M. A., Fernández-Gómez, W. D. y Gutiérrez-Sarmiento, M. C. (2017). Especies de plantas herbáceas nativas con uso potencial en fitorremediación de metales pesados, foco en humedales. *Chemosphere*. 168: 1230-1247. <http://dx.doi.org/10.1016/j.chemosphere.2016.10.075>
- Pérez-López, E. y Alvarado-Rodríguez, D. C. (2018). Cuantificación por absorción atómica de Cu, Fe y Zn en alcohol destilado y agua. *Cuadernos de Investigación UNED*. 10(2): 387-396 ISSN digital:1659-441X.
- Planes, E. y Fuchs, J. (2015) Cuales son los aportes de la ecotoxicología a las regulaciones ambientales. *Ciencia e investigación*. (65) 2: 46-47.
- Prieto-García, F. Lechuga-Vargas, M. Méndez-Marzo, M. A. Barrado-Esteban, E. y Gaytán-Oryazún, J. C. (2006). Daños tóxicos en tejidos vegetales, producidos por aguas contaminadas con arsénico en Zimapán, Hidalgo, México. *Food Science and Technology*. 26(1): 94-97
- Puga, M., Toutcha, C. y Campos, A. (2006). Contaminación por metales pesados en suelo provocada por la industria minera. *Ecología Aplicada*. 5(1-2): 149-155.
- Ramírez, V. (2008). Intoxicación ocupacional por mercurio. *Anales de la Facultad de Medicina*. 69(1): 46-51. Fecha de consulta 09 noviembre del 2022. Disponible en [http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S10255583200800010010&lng=es&tlng=es.](http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S10255583200800010010&lng=es&tlng=es)
- Ramírez-Espitia, J. A. Lacasaña, M. (2001). Plaguicidas: clasificación, uso, toxicología y medición de la exposición. *Arch Prev Riesgos Labor*. 4(2): 67-75.
- Reyes-Hernández, H. Aguilar-Robledo, M., Aguirre-Rivera, J. y Trejo-Vazquez, I. (2006). Cambios en la cubierta vegetal y uso del suelo en el área del proyecto Pujal-Coy, San Luis Potosí, México, 1973- 2000. *Investigaciones geográficas*. 59: 26-42. Fecha de consulta 12 de agosto de 2022. Disponible en: http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S018846112006000100003&lng=es&tlng=es
- Ríos-Martínez, C. F. (2017). Evaluación genotóxica de suelos y residuos mineros con células de raíz de haba (*vicia faba*). Tesis de maestría. Universidad Autónoma de San Luis Potosí. México. 146p.
- Roca-Fernández, A. J. (2016). Contaminación del suelo por metales pesados. INFOAGRO. Fecha de consulta 22 de agosto de 2021. Disponible en: https://infoagro.com/abonos/contaminacion_suelos_metales_pesados.htm

- Rodarte-García, R. y Galindo-Escamilla, E. (2016). Espacio rural, espacio urbano el eterno conflicto, el valle de Pachuca, Hidalgo. Mérida, Yucatán: AMECIDER..
- Rodríguez, A., Gaytán-Oyarzun, J. C., Gordillo, J., Prieto-García, F., Gordillo, A. y Marmolejo, F. (2014). “Modelo para estimar el potencial de riesgo ambiental por presencia de fármacos antiinflamatorios no esteroideos (AINE) de alto consumo”. *Ciencia y Técnica Vitivinícola*. 29: 51-76.
- Rodríguez-Heredia, D. (2017). Intoxicación ocupacional por metales pesados. *MEDISAN*, 21(12): 3372-3385
- Rosa-Calao, C. y Marrugo-Negrete, J. (2013). Efectos genotóxicos asociados a metales pesados en una población humana de la región de La Mojana, Colombia, *Biomédica*. 139-51 doi: <http://dx.doi.org/10.7705/biomedica.v35i0.2392>
- Roy, P. Singh, G. y Kumar, A. (2012). Prorrato en la fuente de PM10 ambiental: un estudio de caso de un cinturón minero de Orissa. *Atmósfera*. 25 (3): 311-324.
- Sánchez-Olivares, M. (2021) Evaluación toxicológica y gestión de riesgos del agua potable de Zimapán, Hidalgo. Tesis de Doctorado. Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo. 209p.
- Sánchez-Olivares, M. A., Gaytán-Oryazún, J. C., Prieto-García, F. y Cabrera-Cruz R. B. E. (2021). Evaluación Rápida de Potencial de Riesgo Genotóxico (ERPRG) asociada a metales pesados en agua potable: Caso de estudio Zimapán, Hidalgo, México. *Publicación Semestral Pädi*. 1-7
- Sánchez-Zepeda, M. Gordillo-Martínez, J, López-Herrera, M. Prieto-García, F y Gaytán-Oyarzún, J.C. (2018). Cadmio: Bioacumulación y efecto en el desarrollo vegetativo de haba (*Vicia faba* L.) como propuesta de bioensayo. *Revista Científica Biológico Agropecuaria Tuxpan*. 6 (2): 24p ISSN:2007-6940
- Santa Cruz-López, C y Cabrejo-Paredes, J. (2019). Efecto citotóxico y genotóxico del extracto acuoso de hojas de *Physalis peruviana* L. (Aguaymanto) sobre células meristemáticas de *Allium cepa* (cebolla). *Revista Ciencia y Tecnología*. 15(1). 137p. Fecha de consulta 12 de octubre de 2022. Disponible en: link.gale.com/apps/doc/A597517539/IFME?u=anon~e1d6eb67&sid=googleScholar&xid=e720fd33.
- SEMARNAT (Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales). (2012). En Informe de la Situación del Medio Ambiente en México. Compendio de Estadísticas Ambientales. Ciudad de México, México. Fecha de consulta 23 de agosto de 2020. Disponible en:
- Servicio Geológico Mexicano. (2016). Anuario Estadístico de la Minería Mexicana, 2015, México. Fecha de consulta 06 de agosto de 2021. Disponible en http://www.sgm.gob.mx/productos/pdf/Anuario_2015_Edicion_2016.pdf
- Skoog, D y West, D. (1986). Introducción a la química analítica. Reverte S. A. Barcelona.
- Soto-Cortés, J. J. (2015). La modificación del suelo agrícola a urbano en el municipio de Texcoco, estado de México. *Espacio I+D*. 5(10): 1-6
- Thabet, A.F. Galal, O.A. El-Samahy, M.F.M y Tuda, M. (2019). Mayor toxicidad del TiO₂ a nanoescala y genotoxicidad dependiente de la dosis del SiO₂ a nanoescala en la citología y el desarrollo de plántulas de haba *Vicia faba*. *SN Apl. Ciencia*. 1. 956 (2019). <https://doi.org/10.1007/s42452-019-0960-z>
- Torres-Bugarín, O. Zavala-Cerna, M. Macriz-Romero, N. Flores-García, A y Ramos- Ibarra, M. (2013). Procedimientos básicos de la prueba de micronúcleos y anormalidades nucleares en células exfoliadas de mucosa oral. *El Residente*. 8 (1): 4- 11

- Vargas-Marcos, F. (2005). La contaminación ambiental como factor determinante de la salud. *Revista Española de Salud Pública*. 79(2): 117-127. Fecha de consulta 27 de julio del 2022. Disponible en: http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S113557272005000200001&lng=es&tlng=es
- Vera, G. Tam, J, Vera, V y Pinto, E. (2001). Pruebas ecotoxicológicas con cadmio y cromo usando postlarvas del pejerrey *Odontesthes (Austromenidia) regia regia* Hildebrand. *Revista peruana de biología*. 8(2). Fecha de consulta 22 de febrero del 2021. Disponible en: https://sisbib.unmsm.edu.pe/bvrevistas/biologia/v08_n2/puebas_ecoto.htm
- Vidal-Otálora, M. P. (2014). Guía para el muestreo de suelos. MAVET. Lima, Perú. 72p.
- Youning, H. Wang, D. Wei, L. Zhang, X. y Song, B. (2014). Bioacumulación de metales pesados en hojas de plantas de la ciudad de Yan'an de la meseta de Loess, China. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 11: 82–88. DOI:10.1016/j.ecoenv.2014.08.021
- Zalacain, M. Sierrasésúмага, L, y Patiño, A. (2005). El ensayo de micronúcleos como medida de inestabilidad genética inducida por agentes genotóxicos. *Anales del Sistema Sanitario de Navarra*. 28(2): 227-236. Fecha de consulta 14 de mayo del 2021. Disponible en: http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S113766272005000300007&lng=es&tlng=es
- Zhang, R. Wilson, V. Hou, A. y Meng, G. (2015). Fuente de contaminación por plomo, su influencia en la salud pública y las contramedidas. *International Journal of Health and Animal Sci*.



TESIS
DIGITAL