



### **3. METODOLOGÍA**

#### **3.1 Criterios para la planeación del muestreo**

El plan de muestreo se realizó mediante una inspección previa para observar las especies que se desarrollan dentro de las presas y en sus inmediaciones. No todas las especies observadas en la zona se encontraron dentro de las presas, así que solo se tomaron muestras de las especies existentes en cada presa. También se identificaron las especies predominantes y su ubicación dentro de las presas. De éstas se seleccionaron 11 especies que fueron las muestreadas.

Se consideró necesario tomar muestras de plantas nativas de la zona, así como de plantas que han sido inducidas en las presas (no propias de la región). También tomar muestras tanto en los vasos de las presas abandonadas, como en las cortinas. Además se tomaron muestras de sustrato (suelo) donde crecen las plantas y del jal debajo del sustrato, aunque el análisis de éstas no es parte de este trabajo.

Otro criterio importante fue coleccionar muestras de la misma especie en cada una de las tres presas, aunque no en todas las presas se presentaron las mismas especies. Cada especie se tomó por duplicado para su identificación taxonómica y una tercera muestra para analizar la concentración de metales.

#### **3.2 Procedimiento del muestreo**

Cuando la especie vegetal se trataba de una planta pequeña, se arrancaba toda junto con la raíz. Cuando la planta era demasiado grande, se procuró tomar muestra de la raíz, tallo, ramas, hojas, flores y frutos, cuando estos existían. En el caso de los arbustos se aserró una pequeña parte del tronco

y se cortaron algunas ramas, también se cortó una pequeña porción de su raíz. Como también se encontraron nopales en el lugar, se muestrearon algunos, procurando tomar aquellos que tenían fruto (tuna) y también se tomaron muestras de su raíz. La Figura 2 expone el procedimiento de muestreo para especies con tallo grueso y la Figura 3 presenta el muestreo de una especie pequeña.



**Figura 2. Muestreo del tallo en una especie grande.**



**Figura 3. Muestreo de una planta pequeña.**

Para las muestras de sustrato, se colectaron aproximadamente ochocientos gramos tomados alrededor de la especie vegetal (ver Figura 4). Igualmente se colectaron muestras de jal, que para conseguir, fue necesario excavar en el sustrato hasta encontrar el jal. No en todos los casos fue posible diferenciar el jal del sustrato.



**Figura 4. Toma de muestra del sustrato**

Las plantas fueron tomadas por duplicado, una para identificación de género y especie, y otra para análisis químico. La figura 5 muestra cómo las plantas destinadas para su identificación taxonómica, fueron colocadas completas entre papel periódico y cartones para no sufrir daños físicos, y prensadas con rejas de madera especiales para este tipo de muestreo; ya que para poder identificarlas era necesario preservarlas intactas.



**Figura 5. Muestras empacadas para identificación taxonómica.**

Las muestras tomadas para el análisis químico, se colocaron en bolsas de plástico abiertas para que no se honguearan y se les colocó su etiqueta de identificación (Figura 6). En total se obtuvieron 29 especies vegetales. Las muestras de sustrato y jal se colocaron en bolsas de plástico.

**Figura 6. Muestra empacada para determinación de metales.**

Se tomaron las muestras en diferentes puntos del vaso y cortina de cada presa, anotando las coordenadas GPS y tomando una fotografía con la clave de la muestra para su identificación. Los datos del muestreo se registraron en una bitácora de campo. Las Figuras 7, 8 y 9 muestran la ubicación de las muestras en cada presa, en la Figura 10 se observa la forma en que se llevó el control para la identificación de cada muestra.

Como trabajo adicional, se muestrearon y analizaron una muestra de un árbol de aguacate y una muestra de planta de maíz que crecen en un huerto cercano al río Maconí, regado con aguas del mismo, aguas abajo de las presas; con el objeto de conocer si éstas especies acumulan metales.



Figura 7. Ubicación de las muestras en la presa 1.

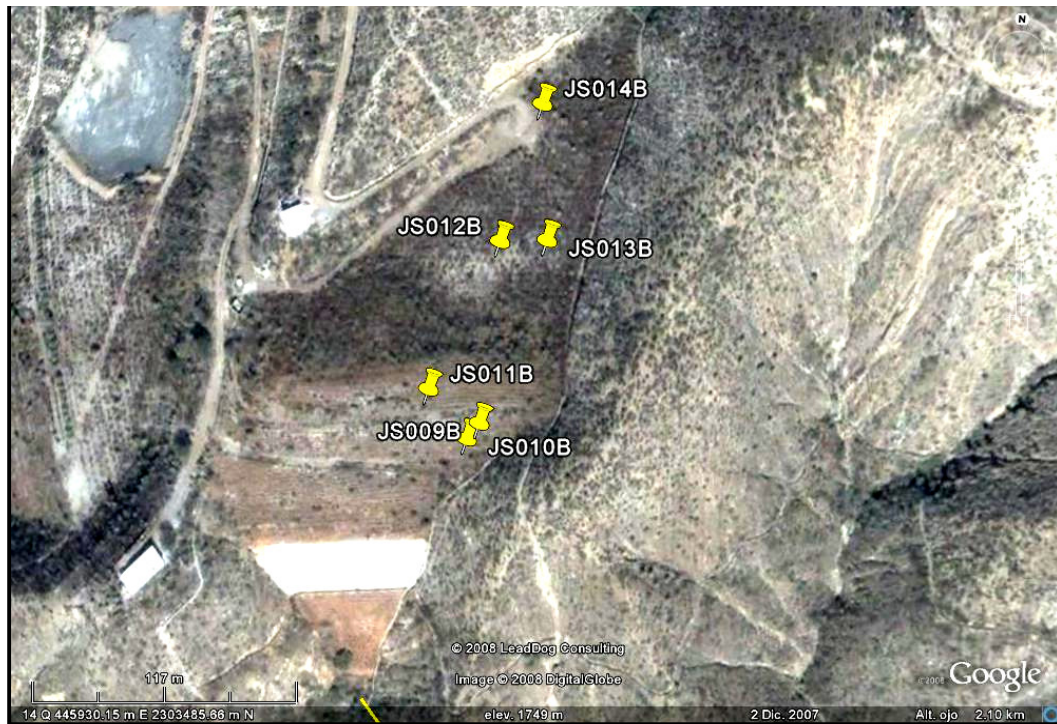


Figura 8. Ubicación de las muestras en la presa 2.



Figura 9. Ubicación de las muestras en la presa 3.



Figura 10. Tarjeta de identificación de las muestras.

### 3.3 Identificación taxonómica de las muestras

Las plantas recolectadas para identificación se enviaron al Instituto de Biología, de la UNAM, donde fueron deshidratadas en un horno de convección marca Precision, modelo 18 EM, a una temperatura de entre 50 y 55 °C, por espacio de una semana. Se fumigaron para evitar contaminación en el herbario. Finalmente, las plantas se montaron para ser incluidas en el Herbario Nacional del Instituto de Biología, como lo muestra la Figura 11.



Figura 11. Muestras montadas para herbario.

### 3.4 Análisis químico

#### 3.4.1 Preparación de las muestras

Las muestras para análisis químico se lavaron en repetidas ocasiones con agua de la llave y se enjuagaron con agua destilada hasta tres veces, posteriormente se quitó el exceso de agua con papel absorbente, cuidando

de mantener intacta la planta. Por último se guardaron en bolsas de plástico debidamente etiquetadas y se llevaron a deshidratar al Instituto de Biología, donde se prensaron entre cartones y papel estraza en una prensa de tornillos (Figura 12). Se colocaron dentro de hornos de convección (Figura 13) a 60°C por cinco días, con excepción de los nopales, que estuvieron por diez días con temperatura aproximada de 80 °C.



**Figura 12. Prensa de tornillos.**

**Figura 13. Horno de convección.**

Cuando estuvieron secas las plantas, se separaron en: raíz, tallo, rama, hoja, flor y fruto; si se tenían, ya que no todas las muestras contaban con todos los componentes. La Figura 14 expone una muestra separada en sus diferentes partes.





Figura 14. Muestra dividida en raíz, tallo, rama, hoja y flor.

### 3.4.2 Molienda

Después de separar las muestras se molieron con ayuda de un molino manual para granos (Figura 15), al cual eliminamos la pintura en su interior para evitar contaminación. Cuando la muestra era poca o muy suave, como algunas hojas y flores, se molieron en un mortero de cerámica. El procedimiento de molienda fue el siguiente: cuando la muestra se trataba de tallo o raíz, se trituraba manualmente antes de introducirla al molino, para facilitar su molienda. Algunas muestras con textura fibrosa fueron molidas tres o cuatro veces por el molino y cernidas en un tamiz de 30# (Figura 16) para obtener una porción fina representativa por debajo de la malla 30. Entre cada muestra se desarmó y limpió el molino con ayuda de una brocha y de aire comprimido, también se limpiaron los recipientes donde se depositaba la muestra a la salida del molino. Por último, con la ayuda de un imán, se eliminaron las rebabas de metal que desprendió el molino sobre la muestra.



**Figura 15. Molino para granos.  
molienda.**



**Fig. 16. Cernido del producto de  
molienda.**

### **3.4.3 Digestión**

Luego de la molienda las muestras se llevaron al laboratorio de espectrofotometría del Instituto de Ingeniería; para realizar las digestiones en digestor de microondas marca CEM modelo MDS-2000 (Figura17). Se tomó como referencia el método 3051a de la EPA (U.S. Environmental Protection Agency), el procedimiento fue como sigue: se pesaron aproximadamente 0.5g de muestra en una balanza analítica OHAUS Analytical Plus AP210 20g X 0.1mg (Figura 18) y se colocó en el “liner” del carrusel con capacidad para 12 liners, se agregaron 10mL de ácido nítrico ( $\text{HNO}_3$ ) y se prepararon para introducirlos al digestor. El tiempo de residencia se dividió en dos pasos; el primero fue de 5 minutos con 80% de potencia y 90 psi de presión y el segundo paso de 10 minutos con 100% de potencia y 100 psi de presión. Terminando el ciclo se dejó enfriar aproximadamente 5 minutos y después se desconectó el carrusel del vaso colector de gases y destaparon los “liners” en la campana de extracción, dejando salir los gases (óxido nítrico) por aproximadamente 5 minutos antes de filtrar. Se filtró con papel filtro

Whatman del número 4 (Figura 19) y se aforó a 50 mL con agua destilada. Por último se guardó la solución en frascos de plástico con contratapa para leer sus valores posteriormente (Figura 20). Como control analítico, en el carrusel de 12 liners se colocaban 10 muestras, un duplicado y un blanco.



Figura 17 Digestor de microondas.

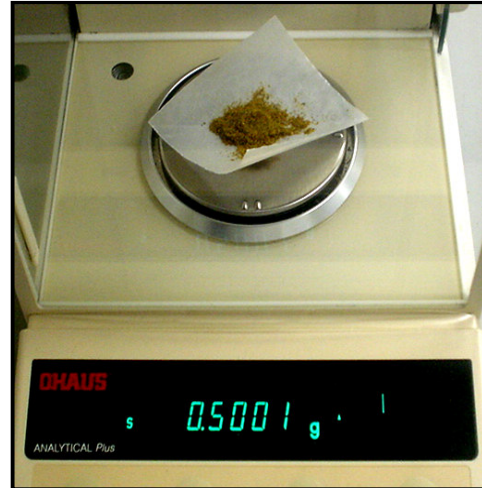


Figura 18. Balanza analítica.



Figura 19. Filtración de las muestras.



Figura 20. Envasado de las muestras.

#### **3.4.4 Determinación de Arsénico por ICP**

Lo siguiente fue la lectura de los valores de arsénico (As) en el Espectrofotómetro de Emisión de Plasma Inductivamente Acoplado (ICP) marca Thermo Jarrell, modelo IRIS/AP Duo. Para calibrar el equipo se prepararon soluciones estándar con concentraciones de 0.05, 0.5, 1.0, 2.0 y 4.0 mg/L con una solución de referencia marca High purity de 100 ppm de As.

Se calibró el equipo y se revisó la correlación en todas las líneas de la curva, una vez revisado se tomaron lecturas de las concentraciones conocidas de 0.05 y 2.0 ppm correspondientes a las soluciones de menor concentración y la mediana.

Luego de calibrar se procedió a tomar las lecturas de las muestras (Figura 21). Se hicieron en lotes de diez y luego se volvían a revisar las soluciones de 0.05 y 2.0 ppm y después de 70 muestras se volvió a elaborar la curva de calibración, con la que se terminaron de realizar las lecturas.

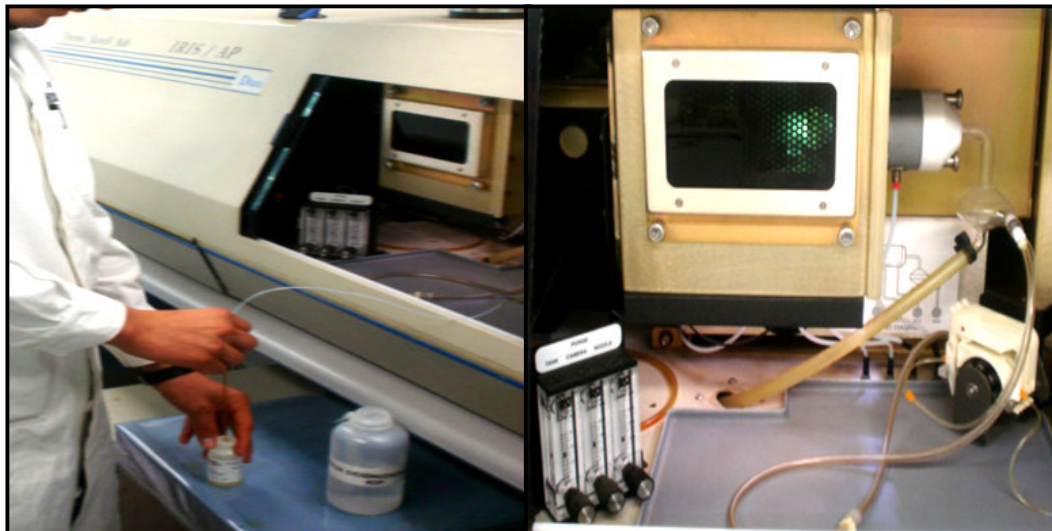


Figura 21. Lectura en el ICP.

#### **3.4.5 Determinación de Cobre, Plomo, Cadmio y Zinc por AA**

Se leyeron estos valores en un espectrofotómetro de absorción atómica marca Perkin Elmer Analyst 300 (Figura 22) y se calibró con las siguientes concentraciones:

Cu 1, 3 y 5 mg/L; Cd 1.5, 3 y 4.5 mg/L; Zn 1, 3 y 5 mg/L; Pb 3, 6 y 9 mg/L

Se tomaron las lecturas en lotes de 40 muestras; es decir, se rotaron las lámparas cada 40 muestras para evitar lecturas erróneas. Terminado el primer lote, se dejó enfriar al equipo alrededor de dos horas y luego se recalibró para iniciar con el siguiente lote.

Cada 10 lecturas se revisaban dos de las soluciones estándar para verificar que el equipo seguía calibrado.



**Figura 22. Lectura por Absorción Atómica.**