

UNIVERSIDAD MAYOR DE SAN ANDRÉS
FACULTAD DE CIENCIAS FARMACÉUTICAS Y
BIOQUÍMICAS
CARRERA DE BIOQUÍMICA



EVALUACIÓN DEL CAMBIO DE LA ACTIVIDAD
MUTAGÉNICA DEL AGUA POTABLE TRATADA CON
PROCEDIMIENTOS FÍSICOS Y FISICOQUÍMICOS.

Tesis presentada para optar al grado de licenciatura en Bioquímica

POR: BRENDA PEÑARANDA BERSATTI

TUTORES: *Ms.Sc.* Rolando S. Sánchez Montaña †

Ms.Sc. Pablo A. Irahola Schmeisser

Lic. M. Tatiana Callejas Icuña

LA PAZ – BOLIVIA

2022

UNIVERSIDAD MAYOR DE SAN ANDRÉS
FACULTAD DE CIENCIAS FARMACÉUTICAS Y
BIOQUÍMICAS
CARRERA DE BIOQUÍMICA



EVALUACIÓN DEL CAMBIO DE LA ACTIVIDAD
MUTAGÉNICA DEL AGUA POTABLE TRATADA CON
PROCEDIMIENTOS FÍSICOS Y FISICOQUÍMICOS.

Tesis presentada para optar al grado de licenciatura en Bioquímica

POR: BRENDA PEÑARANDA BERSATTI

TUTORES: *Ms.Sc.* Rolando S. Sánchez Montaña †

Ms.Sc. Pablo A. Irahola Schmeisser

Lic. M. Tatiana Callejas Icuña

LA PAZ – BOLIVIA

Dedicatoria

Esta tesis está dedicada a la memoria de mi tutor **Dr. Rolando Sánchez Montaña †**, quién me animó en este campo de estudio, durante esta etapa fue un gran guía, formando parte importante de este trabajo con sus aportes profesionales que lo caracterizaban. Muchas gracias Dr. Sánchez por sus múltiples palabras de aliento, cuando más las necesite; por estar allí cuando mis horas de trabajo se hacían confusas, por sus orientaciones, comprensión y paciencia.



Dr. Rolando S. Sánchez Montaña †

Agradecimiento

A Dios, por ser mi guía, por acompañarme en el transcurso de mi vida y por permitirme concluir con mi objetivo.

A mis padres, por ser mi pilar fundamental y haberme apoyado en cada momento.

A mi esposo e hijos, por ser un apoyo incondicional en mi vida, que, con su amor y respaldo, me ayudan a alcanzar mis metas.

A mi familia, que han sido mi apoyo en todo momento y han creído en mí.

A mi tutor Dr. Rolando Sánchez †, por su apoyo y confianza en mi trabajo y su capacidad para guiar mis ideas ha sido un aporte invaluable, en el desarrollo de esta tesis.

A mi tutor de Dr. Pablo Irahola, quien con su experiencia, conocimiento y motivación me ayudó a finalizar mi tesis.

A mi cotutor Tatiana Callejas, por sus consejos, enseñanzas y sobre todo por la amistad brindada en todo momento.

A mis compañeros de laboratorio, que de una u otra manera me brindaron su colaboración.

Y por supuesto a la Facultad de Ciencias Farmacéuticas y Bioquímicas de la Universidad Mayor de San Andrés y a todas las autoridades, por permitirme concluir con una etapa de mi vida y contribuir en mi formación académica.

Tabla de contenido

1	PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	3
1.1	Justificación y pregunta de investigación.....	3
1.2	Objetivos	4
1.2.1	Objetivo General	4
1.2.2	Objetivos Específicos	4
2	DISEÑO TEÓRICO.....	5
2.1	Marco referencial	5
2.1.1	Antecedentes generales	5
2.2	Marco teórico	8
2.2.1	Importancia de la calidad del agua potable:	8
2.2.2	Proceso de potabilización del agua:	9
2.2.3	Eficacia del cloro como desinfectante en la inactivación de bacterias.....	18
2.2.4	Riesgos químicos asociados a la desinfección en el agua potable	19
2.2.5	Subproductos de la desinfección	19
2.2.6	Efecto del carbón orgánico total en la formación de subproductos de desinfección del agua potable	25
2.2.7	Efecto del ion bromuro en la formación de subproductos de desinfección del agua potable	27

2.2.8	Efecto del pH y el tiempo de reacción en la formación de subproductos de desinfección del agua potable	27
2.2.9	Efecto de la temperatura en la formación de subproductos de desinfección del agua potable	29
2.2.10	Efectos tóxicos de los subproductos de desinfección del agua potable.....	29
2.2.11	Tratamientos alternativos propuestos para disminuir la actividad mutagénica presente en el agua potable	32
2.2.12	Métodos de detección de mutagenicidad.....	36
2.3	Marco Conceptual	39
3	FORMULACIÓN DE LA HIPÓTESIS DE INVESTIGACIÓN (NULA Y ALTERNA).....	41
4	OPERACIONALIZACIÓN DE LAS VARIABLES EN ESTUDIO	42
5	DISEÑO METODOLÓGICO	44
5.1	Universo, Población y Muestra	44
5.2	Unidad de Muestreo	44
5.3	Ámbito de Estudio.....	46
5.4	Periodo de Investigación	46
5.5	Tipo de Investigación	46
5.6	Materiales, Métodos, Técnicas y Procedimientos a ser Empleados.....	47
5.6.1	Recolección de Muestra	48
5.6.2	Tratamientos Físicos.....	49

5.6.3	Tratamientos Fisicoquímicos.....	50
5.6.4	Determinación de Cloro Total y Cloro Libre	53
5.6.5	Medición de Potencial Redox, Temperatura, Conductividad, Resistencia, Salinidad y Sólidos Disueltos	53
5.6.6	Determinación de DQO/DBO	53
5.6.7	Extracción de los Compuestos Orgánicos	55
5.6.8	Test de Ames	56
5.7	Análisis Estadístico	57
6	RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	59
7	CONCLUSIONES	94
8	BIBLIOGRAFÍA.....	95
9	ANEXOS.....	104

Tabla de Anexo

Anexo A. Protocolo Test de Ames	104
Anexo B. Protocolo de Impregnación de Dióxido de Titanio	110
Anexo C. Determinación de Cloro Total y Cloro Libre	112
Anexo D. Protocolo de extracción de compuestos orgánicos con resinas XAD 2 y XAD 7.....	113
Anexo E. Resultados de comparaciones de cada tratamiento con los respectivos	115
Anexo F. Tablas de comparaciones de Tukey	124

Índice de tablas

Tabla 1 Distribución de (ClO)- y HClO en función del pH del agua	15
Tabla 2 Subproductos de la desinfección del agua potable	24
Tabla 3 Efecto del TOC en la formación de THM	26
Tabla 4 Efecto del pH en la formación de subproductos de la desinfección del agua potable	28
Tabla 5 Efecto del pH y el tiempo de reacción en la formación de subproductos de la desinfección del agua potable en dos sistemas que utilizan cloraminas	28
Tabla 6 Información toxicológica de los subproductos de la desinfección	32
Tabla 7 Mutaciones y características genéticas de las cepas de <i>S. typhimurium</i> utilizadas en el Test de Ames	39
Tabla 8 Operacionalización de las variables de estudio	42
Tabla 9 Procedimiento de muestreo de agua potable para análisis de parámetros de compuestos orgánicos.....	45
Tabla 10 Determinación de DQO y DBO en el proyecto “Detección de la actividad mutagénica y microbiológica del agua potable domiciliaria, en la ciudad de La Paz”.....	54
Tabla 11 Índice de mutagenicidad y número de colonias revertantes inducidos por los extractos orgánicos del muestreo 1 (Promedio \pm DS).....	66
Tabla 12 Índice de mutagenicidad y número de colonias revertantes inducidos por los extractos orgánicos del muestreo 2 (Promedio \pm DS).....	67
Tabla 13 Índice de mutagenicidad y número de colonias revertantes inducidos por los extractos orgánicos del muestreo 3 (Promedio \pm DS).....	68
Tabla 14 Índice de mutagenicidad y número de colonias revertantes inducidos por los extractos orgánicos del muestreo 4 (Promedio \pm DS).....	68

Tabla 15 Índice de mutagenicidad y número de colonias revertantes inducidos por los extractos orgánicos del muestreo 5 (Promedio \pm DS).....	69
Tabla 16 Análisis de Varianza (ANOVA), muestreo 1	69
Tabla 17 Análisis de Varianza (ANOVA), muestreo 2	72
Tabla 18 Análisis de Varianza (ANOVA), muestreo 3	74
Tabla 19 Análisis de Varianza (ANOVA), muestreo 4	77
Tabla 20 Análisis de Varianza (ANOVA), muestreo 5	79
Tabla 21 Parámetros de control de calidad del agua potable según la Norma Boliviana 512	81
Tabla 22 Parámetros Fisicoquímicos del muestreo 1.....	84
Tabla 23 Parámetros Fisicoquímicos del muestreo 2.....	86
Tabla 24 Parámetros Fisicoquímicos del muestreo 3.....	88
Tabla 25 Parámetros Fisicoquímicos del muestreo 4.....	90
Tabla 26 Parámetros Fisicoquímicos del muestreo 5.....	92

Tablas de figuras

Figura 1	Proceso de potabilización del agua: Captación del agua.....	10
Figura 2	Proceso de potabilización del agua: Coagulación	10
Figura 3	Proceso de potabilización del agua: Sedimentación.....	11
Figura 4	Proceso de potabilización del agua: Filtración.....	11
Figura 5	Proceso de potabilización del agua: Cloración.....	12
Figura 6	Proceso de potabilización del agua: Almacenamiento	12
Figura 7	Curva de punto de quiebre teórica.....	17
Figura 8	Estructura de Ácido Fúlvicos	21
Figura 9	Estructura del Ácido Húmico	22
Figura 10	Efecto de la materia orgánica natural en la formación de HAA5 y TTHM	26
Figura 11	Diseño Metodológico	47
Figura 12	Purificador de Agua Aquelix 5.....	48
Figura 13	Tratamiento por Ebullición	49
Figura 14	Tratamiento por Filtración con Carbón Activado	50
Figura 15	Tratamiento por Radiación Ultravioleta con y sin Dióxido de Titanio	51
Figura 16	Dióxido de titanio impregnado en varillas de vidrio.....	52
Figura 17	Tratamiento por Radiación Solar con y sin Dióxido de Titanio.....	52
Figura 18	Medición de cloro total y cloro libre.....	53
Figura 19	Medidor multiparamétrico portátil	54
Figura 20	Columnas de filtración	55
Figura 21	Extractos orgánicos de las muestras analizadas	56
Figura 22	Test de Ames, cepa TA 100 placa de control negativo	57

Figura 23 Comparación de número de revertantes del extracto de agua potable inicial con los extractos de agua potable sometidos a tratamientos, muestreo 1	70
Figura 24 Diferencias de medias entre tratamientos (extractos) y el agua potable inicial, muestreo 1	71
Figura 25 Comparación de número de revertantes del extracto de agua potable inicial con los extractos de agua potable sometidos a tratamientos, muestreo 2.....	72
Figura 26 Diferencias de medias entre tratamientos (extractos) y el agua potable inicial, muestreo 2.....	73
Figura 27 Comparación de número de revertantes del extracto de agua potable inicial con los extractos de agua potable sometidos a tratamientos, muestreo 3.....	75
Figura 28 Diferencias de medias entre tratamientos (extractos) y el agua potable inicial, muestreo 3.....	76
Figura 29 Comparación de número de revertantes del extracto de agua potable inicial con los extractos de agua potable sometidos a tratamientos, Muestreo 4	77
Figura 30 Diferencias de medias entre tratamientos (extractos) y el agua potable inicial, muestreo 4.....	78
Figura 31 Comparación de número de revertantes del extracto de agua potable inicial con los extractos de agua potable sometidos a tratamientos, Muestreo 5	79
Figura 32 Diferencias de medias entre tratamientos (extractos) y el agua potable inicial, muestreo 5.....	80
Figura 33 Matriz del coeficiente de correlación de Pearson entre parámetros fisicoquímicos e índices de mutagenicidad, muestreo 1	85
Figura 34 Matriz del coeficiente de correlación de Pearson entre parámetros fisicoquímicos e índices de mutagenicidad, muestreo 2	87

Figura 35 Matriz del coeficiente de correlación de Pearson entre parámetros fisicoquímicos e índices de mutagenicidad, muestreo 3	89
Figura 36 Matriz del coeficiente de correlación de Pearson entre parámetros fisicoquímicos e índices de mutagenicidad, muestreo 4	91
Figura 37 Matriz del coeficiente de correlación de Pearson entre parámetros fisicoquímicos e índices de mutagenicidad, muestreo 5	93

Tabla de abreviaturas

% = Porcentaje.

°C = Grados centígrados.

AP = Control (Agua Purificada).

ApC = Carbón Activado.

ApE = Ebullición.

ApS = Radiación Solar.

ApStio = Radiación Solar con Tio₂.

ApU = Radiación Ultravioleta.

ApUtio = Radiación Ultravioleta con Tio₂.

AST = Agua Potable Sin Tratamientos.

CIO = Ion hipocloroso.

DBP = subproductos de desinfección.

DOC = Carbón orgánico disuelto

EPSAS = Empresa Pública Social de Agua y Saneamiento.

HAA = Ácidos Haloacéticos.

HANs = Haloacetnitrilo.

HCIO = Acido hipocloroso.

IM = Índice de Mutagenicidad.

I-THM = Trihalometanos yodados.

mg = Miligramos.

mL = Mililitro.

L = Litro

OMS = Organización mundial de la salud.

ORP = Potencial redox

pH = Potencial de hidrógeno.

REV = Revertantes.

SDT = Sólidos disueltos totales.

SODIS = Desinfección solar.

THM = Trihalometanos.

TiO₂ = Dióxido de titanio.

TOC = Carbón orgánico total

ug = Microgramos.

UNT = Unidad de nefelometría de turbidez.

UV = Ultravioleta

Resumen

La presente investigación tuvo como objetivo evaluar el cambio de la actividad mutagénica en el agua potable a través del Test de Ames a consecuencia de tratamientos físicos y fisicoquímicos. Se emplearon 6 protocolos de tratamientos: filtración por carbón activado, ebullición, radiación solar, radiación solar con dióxido de titanio, radiación ultravioleta y radiación ultravioleta con dióxido de titanio; se realizaron 5 muestreos de agua potable procedentes de dos plantas de tratamiento que distribuyen agua a la ciudad de La Paz, se evaluaron un total 40 extractos orgánicos cuyos resultados se analizaron estadísticamente con el programa R Studio. Se observó que existe actividad mutagénica en las muestras, todos los tratamientos empleados inducen cambios, disminuyendo la actividad mutagénica; los tratamientos por ebullición y filtración por carbón activado tuvieron mayor eficiencia en la disminución de los índices de mutagenicidad; también se observó que existe una correlación fuertemente positiva entre la concentración de cloro y los índices de mutagenicidad.

Palabras clave

Actividad mutagénica, Subproductos de la desinfección, Ebullición, Filtración por carbón activado, Radiación solar, Radiación ultravioleta y Dióxido de titanio.

Abstract

The present research aimed to evaluate the change in mutagenic activity in drinking water through the Ames Test as a result of physical and physicochemical treatments. 6 treatment protocols were used: activated carbon filtration, boiling, solar radiation, solar radiation with titanium dioxide, ultraviolet radiation and ultraviolet radiation with titanium dioxide; 5 samples of drinking water were taken out from two treatment plants that distribute water to the city of La Paz, a total of 40 organic extracts were evaluated whose results were statistically analyzed with the R Studio program, it was observed that there is mutagenic activity in the samples, all the treatments used induce changes, decreasing the mutagenic activity; treatments by boiling and filtration by activated carbon had greater efficiency in reducing the mutagenicity index; it was also observed that there is a strong positive correlation between the chlorine concentration and the mutagenicity index.

Keywords

Mutagenic activity, Disinfection by-products, Boiling, Filtration by activated carbon, Solar radiation, Ultraviolet radiation and Titanium dioxide.

1 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

1.1 Justificación y pregunta de investigación

La calidad del agua es fundamental para el desarrollo y el bienestar humano, ya que proporcionar acceso al agua salubre es uno de los instrumentos más eficaces para promover la vida (OMS 2017).

El agua potable puede ser consumida sin restricción debido a que, gracias al proceso de potabilización, no representa riesgo para la salud (EPAS 2020) cumpliendo con los parámetros de control de calidad del agua para consumo humano según la Norma Boliviana (NB 512 2010).

En la ciudad de La Paz, la Empresa Pública Social de Agua y Saneamiento (EPSAS), tiene como función administrar el servicio de agua potable y alcantarillado, por lo tanto, controla la calidad del agua potable, sin embargo esto se realiza a nivel de las plantas de tratamiento y no así en el agua potable que llega a los domicilios, el agua potable cuando ingresa al sistema de distribución puede sufrir alteraciones en su composición, esto debido a que gran parte del sistema de distribución tiene considerable antigüedad y desgaste, estas alteraciones no pueden ser controladas debido a que, existen bacterias que se almacenan en las tuberías formando biopelículas, produciendo materia orgánica (ácidos húmicos y ácidos fúlvicos) que puede reaccionar con el cloro libre dando lugar a la formación de subproductos de la desinfección, compuestos en los que se ha comprobado actividad citotóxica y/o mutagénica que afecta la calidad del agua potable (Gougoutsa et al. 2016), ocasionando distintas afecciones en la salud, entre, ellas distintos tipos de cáncer (Grellier et al. 2015), afectando negativamente la calidad de vida de la población.

La relevancia de este tema de investigación se encuentra orientada a la importancia del agua potable, al ser un elemento indispensable en el conjunto de necesidades de la población. Con

este trabajo se pretende mejorar la calidad del agua potable en los domicilios, con la implementación de tratamientos alternativos (físicos y fisicoquímicos) que permitan disminuir la concentración de subproducto de desinfección, por ende, la disminución de la actividad mutagénica, Por tanto, este trabajo de investigación beneficiará a la población en general.

Pregunta de investigación

¿Los tratamientos alternativos físicos y fisicoquímicos, ayudarán a cambiar la actividad mutagénica presente en el agua potable?

1.2 Objetivos

1.2.1 Objetivo General

Evaluar el cambio de la actividad mutagénica en el agua potable a consecuencia de tratamientos físicos y fisicoquímicos.

1.2.2 Objetivos Específicos

- Emplear protocolos de tratamientos físicos (ebullición, filtración por carbón activado, radiación solar y radiación UV) y fisicoquímicos (radiación solar con TiO_2 y radiación UV con TiO_2) para la prevención de la presencia de agentes mutagénicos en el agua potable.
- Evaluar la actividad mutagénica del agua potable antes y después de cada tratamiento, mediante Test de Ames.
- Determinar el tratamiento más eficaz para disminuir el índice de mutagenicidad en el agua potable.
- Correlacionar parámetros de pH, temperatura, potencial redox, conductividad, salinidad, sólidos disueltos y concentración de cloro total, cloro libre con la actividad mutagénica presente en el agua potable antes y después de realizar los tratamientos.

2 DISEÑO TEÓRICO.

2.1 Marco referencial

2.1.1 *Antecedentes generales*

El agua potable es de vital importancia para el ser humano, nos ayuda a estar sanos, a tener buena digestión, mantiene la musculatura en buen estado, actúa refrigerando o calentando el cuerpo y ayuda a transportar el oxígeno entre las células de nuestro cuerpo sin causarnos algún tipo de afección.

Para obtener agua potable pasa por diferentes procesos en el que se destaca la desinfección que llega a ser una etapa esencial en la potabilización, esto para eliminar microorganismos patógenos y evitar infecciones de origen hídrico. A pesar del beneficio de la desinfección del agua mediante la cloración, el cloro se caracteriza por ser altamente reactivo, ya que genera subproductos de desinfección con la materia orgánica que se encuentra en las cañerías de distribución.

Los subproductos de la desinfección tienen propiedades mutágenos y cancerígenos, las exposiciones humanas a dichos compuestos se han asociado principalmente a cáncer de diversos tipos y a efectos adversos en neonatos de madres expuestas a dichos compuestos (Villanueva et al. 2018).

Eduardo López en su tesis “Subproductos de la cloración del agua, su formación, reglamentación y riesgos para la salud humana” (López 2016), mencionan que los subproductos de la cloración resultan de la reacción entre la materia orgánica natural y el cloro, se caracterizan por ser precursores de enfermedades cancerígenas, cuando el ser humano está expuesto a concentraciones elevadas, en dicho trabajo de investigación da a conocer la existencia de subproductos de cloración que pueden generar patologías cancerígenas y la inclusión de los límites

máximos permisibles de los subproductos de la cloración del agua en la normativa ecuatoriana, su trabajo recopiló 50 artículos científicos desde el año 2000 hasta la actualidad sobre la formación y efectos de los subproductos de desinfección presentes en el agua de consumo, en especial los subproductos de cloración. Se conocen más de 600 subproductos, de los cuales algunos han mostrado una serie de incidencias sobre la salud como mutagenicidad, teratogenicidad.

El proyecto “Detección de la actividad mutagénica y microbiológica del agua potable domiciliaria, en la ciudad de La Paz” 2018, analizó 20 muestras de agua potable tomadas en domicilios que reciben el suministro de tres plantas de tratamiento de agua potable en la ciudad de La Paz; los resultados revelaron datos de valores de índice de mutagenicidad ($IM > 2$) mediante el Test de Ames y en el Test de Allium; observaron que existe riesgo citotóxico en las muestras analizadas, concluyendo que el problema principal está en las cañerías antiguas, en las que se fueron acumulando capas de materia orgánica (Sánchez y Aliaga 2018). Para evitar que el agua tenga problemas de recontaminación por microorganismos aumentan la dosificación del cloro, donde el cloro libre llega a reaccionar con las sustancias orgánicas de las tuberías produciendo compuestos clorados (DBP) que pueden ser tóxicos para el ser humano e incluso llegar a ser cancerígenos.

En la investigación “Los riesgos epidemiológicos de los subproductos de la desinfección en el agua potable clorada apuntan a riesgos potenciales para la salud”, sugieren que los filtros de punto de uso pueden eliminar efectivamente los subproductos de desinfección en el agua potable, allí evaluaron 11 filtros de agua de grifo por su eficacia para disminuir el flúor, las bacterias y los halógenos orgánicos adsorbibles como el parámetro de suma de los subproductos de desinfección halogenados conocidos y desconocidos; seis de los filtros eliminaron efectivamente los halógenos orgánicos clorados y bromados en $> 60\%$, la ósmosis inversa y un filtro de gravedad basado en

carbón activado fueron los más efectivos (> 94% de remoción de halógenos orgánicos adsorbibles) (Stalter et al. 2016).

Rahman et al. 2011, en su trabajo “Efectos del procesamiento del agua del grifo sobre la concentración de subproductos de desinfección”, examinó los efectos sobre las concentraciones del subproducto de desinfección de los métodos domésticos comunes para procesar agua potable, investigaron los efectos del almacenamiento en el refrigerador, el filtrado de la jarra, la ebullición en un hervidor eléctrico y el suministro desde una unidad de agua en ebullición instantánea, con o sin filtrado, en cuatro especies de trihalometanos y nueve especies de ácidos haloacéticos, hubo una gran reducción en los trihalometanos en el agua hervida en caldera, el agua hervida instantáneamente, el agua filtrada en una jarra y el agua filtrada instantánea, sin embargo en el almacenamiento en el refrigerador no parece tener un efecto consecuente en los trihalometanos o ácidos haloacéticos. El estudio sugiere que los diferentes métodos de procesamiento del agua del grifo pueden cambiar la concentración de subproductos de desinfección hasta un punto que tendría un impacto significativo en la evaluación de la exposición en estudios epidemiológicos.

La Agencia de la Organización Mundial de la Salud para las investigaciones sobre el Cáncer (IARC 2006), clasifica al cloroformo y al bromodiclorometano en el grupo 2B que incluye a las sustancias posiblemente carcinogénicas en humanos, siendo estas dos sustancias componentes de los trihalometanos que son partes de los subproductos de desinfección.

Khallef et al. 2018, en sus investigaciones evaluaron la actividad mutagénica de subproductos de desinfección, en este caso cloroformo y bromoformo como resultado encontraron que en concentraciones bajas como 2,5 ug/placa estos compuestos llegan a tener actividad mutagénica, comprobado mediante el Test de Ames.

2.2 Marco teórico

El agua es esencial para la vida y todas las personas deben disponer de un suministro satisfactorio (suficiente, inocuo y accesible) (OMS 2017). La mejora del acceso al agua potable puede proporcionar beneficios tangibles para la salud, debe realizarse el máximo esfuerzo para lograr que la inocuidad del agua de consumo sea la mayor posible (NB 512 2010).

El agua potable por sus características organolépticas, fisicoquímicas, microbiológicas y radiactivas, se considera apta para el consumo humano, y cumple con lo establecido en la Norma Boliviana 512 esto quiere decir que no ocasiona ningún riesgo significativo para la salud cuando se consume durante toda una vida (NB 512 2010).

2.2.1 Importancia de la calidad del agua potable:

El agua juega un papel primordial en el desarrollo de los seres vivos sobre la tierra, pudiéndose decir que es la base de la vida, ya que la mayor parte de estos organismos, y por lo tanto también de los seres humanos, están formado por aguas. Además de su función biológica, el agua es utilizada por las personas en multitud de usos: doméstico, comercial, industrial y agrícola, entre otros, siendo por tanto primordial controlar la calidad, durante siglos el hombre ha sufrido enfermedades como el cólera y muchas otras a los que ha dado lugar el agua contaminada (OMS 2017). Sin embargo con la desinfección del agua se ha logrado la inactivación o eliminación de los microorganismos patógenos existentes, la efectividad del proceso de desinfección se mide por el porcentaje de organismos muertos o inactivos dando lugar a la disminución de enfermedades de transmisión hídrica (Montesinos 2015).

Las Guías para la Calidad del Agua de la Organización Mundial de la Salud destacan (OMS 2017):

«Ha de señalarse que la utilización de desinfectantes químicos para tratar el agua da lugar, por lo común, a la formación de productos químicos secundarios, algunos potencialmente peligrosos. No obstante, los riesgos que esos productos representan para la salud son extremadamente pequeños en comparación con los que supone una desinfección insuficiente, y es importante que el intento de controlar los productos secundarios de ese tipo no ponga en peligro la eficacia de la desinfección».

2.2.2 *Proceso de potabilización del agua:*

El proceso de potabilización de aguas de consumo humano consta de dos fases:

- Proceso preliminar: su objetivo es reducir la demanda biológica de oxígeno en un 20% y los sólidos en suspensión en un 50%, a través de tamizado, trituración, desarenado, sedimentación, y tanques de decantación para la eliminación de fangos.

- Proceso secundario (biológico): su objetivo es eliminar el 70-90% de la materia orgánica. Para ello se usan:

Fangos activados (Consumo de la materia orgánica por microorganismos presentes en el fango); decantación, filtros biológicos (se pasa el agua por un filtro con microorganismos), decantación, filtración, y desinfección (Ballesteros V y Rueda 2015).

2.2.2.1 Proceso de potabilización del agua por la Empresa Pública Social de agua y Saneamiento (EPSAS) en La Paz.

Empresa Pública Social de agua y Saneamiento (EPSAS), es la empresa encargada de brindar el servicio agua potable respaldada por la Ley N° 2066 de 11-04-2000, Ley de Prestación y Utilización de Servicios de Agua Potable y Alcantarillado Sanitario. La cual está encargada de la captación, tratamiento, almacenamiento y distribución de agua potable en las ciudades de La Paz y El Alto, con el siguiente proceso (Empresa Pública Social de Agua y Saneamiento 2018):

Figura 1

Proceso de potabilización del agua: Captación del Agua



Nota. Fuente (Empresa Pública Social de Agua y Sanamiento 2018).

Figura 2

Proceso de potabilización del agua: Coagulación



Nota. Fuente (Empresa Pública Social de Agua y Sanamiento 2018).

Figura 3

Proceso de potabilización del agua: Sedimentación



Nota. Fuente (Empresa Pública Social de Agua y Sanamiento 2018).

Figura 4

Proceso de potabilización del agua: Filtración



Nota. Fuente (Empresa Pública Social de Agua y Sanamiento 2018).

Figura 3

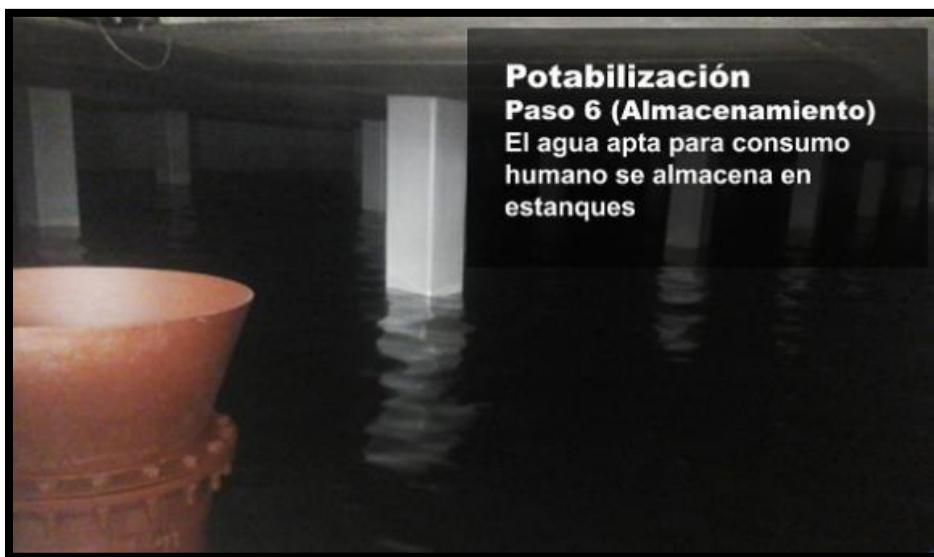
Proceso de potabilización del agua: Cloración



Nota. Fuente (Empresa Pública Social de Agua y Sanamiento 2018).

Figura 4

Proceso de potabilización del agua: Almacenamiento



Nota. Fuente (Empresa Pública Social de Agua y Sanamiento 2018).

- **Proceso de desinfección del agua**

La desinfección del agua se realiza por medios químicos y medios físicos.

Los compuestos químicos más utilizados para la desinfección del agua son: hipoclorito de sodio (NaClO), ácido hipocloroso (HClO), clorito de sodio (NaClO_2), dióxido de cloro (ClO_2), ozono (O_3), halógenos: Yodo, metales: plata (Ag^+), permanganato (KMnO_4), jabones y detergentes, sales de amonio, peróxido de hidrógeno. (Lenntech Water Treatment 2021)

Los procesos físicos más utilizados para la desinfección del agua son: generación de ácido hipocloroso mediante proceso de hidrólisis (sin aditivos), luz ultravioleta, fotocátalisis, radiación electrónica, rayos gamma, sonido y calor (Lenntech Water Treatment 2021).

El cloro es uno de los elementos más comunes para la desinfección del agua. El cloro se puede aplicar para la desactivación de la actividad de la gran mayoría de los microorganismos, y es relativamente barato.

2.2.2.2 Cloración.

La cloración es un medio sencillo y eficaz para desinfectar el agua y hacerla potable, debido a su capacidad de desinfección residual, la facilidad para comprobar su efectividad; es seguro y práctico para destruir eficientemente la mayoría de los organismos patógenos (Ente Nacional de Obras Hídricas de Saneamiento 2018).

La desinfección con cloro ha jugado un papel importante protegiéndonos de los agentes patógenos del agua, y ha sido reconocido como uno de los adelantos significativos en protección de la salud pública.

La desinfección con cloro han logrado combatir eficientemente enfermedades de transmisión hídrica tales como el cólera, la fiebre tifoidea, la disentería y la hepatitis A (Solsona y Méndez 2002).

El cloro y sus derivados tienen las siguientes características que los hacen sumamente valiosos:

-Tienen una acción germicida de amplio espectro.

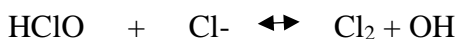
-Muestran una buena persistencia en los sistemas de distribución de agua, pues presentan propiedades residuales.

-Estas propiedades residuales (cloro residual), pueden medirse fácilmente luego de ser tratada el agua, y en las redes de distribución.

-Es económico y eficaz en relación con sus costos (Solsona y Méndez 2002).

2.2.2.3 Hidrólisis del cloro gaseoso.

Cuando se adiciona cloro al agua, este se hidroliza rápidamente, formándose ácido hipocloroso (HClO):



El ácido hipocloroso formado por la hidrólisis del cloro mantiene la propiedad oxidante, es también el principal responsable del efecto germicida de la solución acuosa de cloro (Ente Nacional de Obras Hídricas de Saneamiento 2018).

Este ácido débil se ioniza o disocia en iones hidrógeno e hipoclorito.



El ácido hipocloroso (HClO) y el ion hipoclorito (ClO)-, conforman lo que se denomina cloro residual libre, para aguas con pH entre 6,5 y 8,5 la reacción es incompleta y ambas especies están presentes en diferente porcentaje, dependiendo del pH.

La distribución de ambas especies es tal que a valores bajos de pH predomina el ácido hipocloroso sobre el ion hipoclorito, lo cual puede observarse en la siguiente tabla:

Tabla 1*Distribución de (ClO)- y HClO en Función del pH del Agua*

pH	(ClO)- (%)	HClO (%)
5,5	0,23	99,77
6	0,23	99,54
6,5	1,45	98,55
7	4,46	95,54
7,5	12,86	87,14
8	31,82	68,18
8,5	59,61	40,39

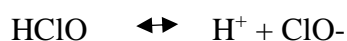
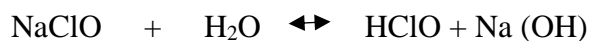
Nota. Fuente (Rios 2006)

Consecuentemente, en la cloración a cloro libre es recomendable que el pH se encuentre por debajo de 7,5 a los efectos de que predomine fuertemente el ácido hipocloroso, de mayor poder germicida, sobre el ion hipoclorito.

La eficiencia del HClO en la inactivación de microorganismos es por lo menos 80 veces mayor que la del ClO- (Solsona y Méndez 2002).

2.2.2.4 Hidrólisis de hipocloritos.

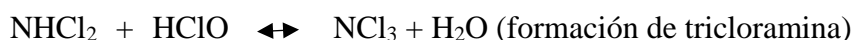
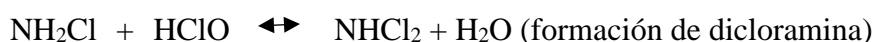
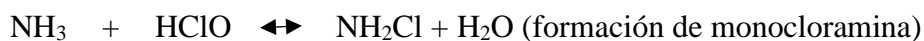
Cuando se dosifica en el agua alguna de las sales de cloro (hipoclorito de calcio o hipoclorito de sodio), que son sumamente solubles, se ionizan dando ácido hipocloroso e ion hipoclorito, de acuerdo a las siguientes reacciones (Ente Nacional de Obras Hídricas de Saneamiento 2018).



De igual forma que en la hidrólisis del cloro gaseoso, el pH de la solución acuosa determina la distribución relativa de las especies HClO y ClO⁻. Si bien el equilibrio que se establece en el agua clorada es el mismo para el cloro gaseoso que para las sales de hipoclorito, mientras que el cloro gaseoso tiende a reducir el pH, los hipocloritos tienden a aumentarlo, ya que estos compuestos contienen álcali en exceso por razones de estabilidad (Ente Nacional de Obras Hídricas de Saneamiento 2018).

2.2.2.5 Reacción del cloro con el amoníaco.

El cloro dosificado al agua reacciona con los compuestos nitrogenados inorgánicos, como el amoníaco (nitrógeno amoniacal), y orgánicos, como las proteínas y aminoácidos, al reaccionar con el nitrógeno amoniacal que puede existir naturalmente en el agua o que se ha agregado intencionalmente, se forman compuestos llamados cloraminas, dichos compuestos participan de una serie de reacciones complejas en las cuales cada átomo de hidrógeno del amoníaco es sustituido por cloro, según las siguientes reacciones:



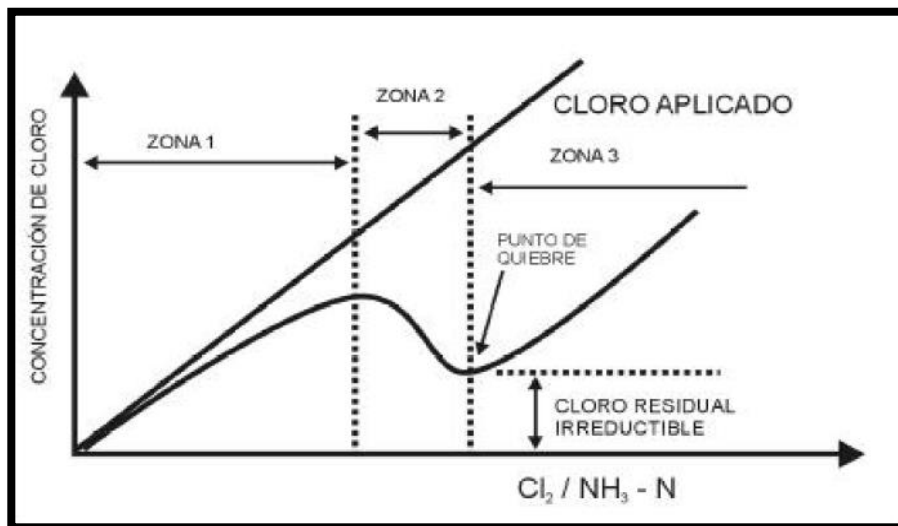
Estas reacciones generalmente se desarrollan en etapas de modo que todas compiten entre sí, la prevalencia de uno u otro producto está determinada por las velocidades de reacción, las cuales son función del pH, la temperatura, el tiempo de contacto, la relación cloro a amoníaco (Cl₂:NH₃) inicial, y en especial de las concentraciones iniciales de cloro y amoníaco (Ente Nacional de Obras Hídricas de Saneamiento 2018).

Las reacciones de formación de las cloraminas son parte importante del fenómeno conocido como «punto de quiebre» o «breakpoint». La curva de punto de quiebre presenta tres

zonas con características distintivas, en donde predominan unas u otras especies de cloraminas, según se puede observar en la figura siguiente:

Figura 5

Curva de punto de quiebre teórica



Nota. Fuente (Ente Nacional de Obras Hídricas de Saneamiento 2018).

En la zona 1 (figura 7), se produce la reacción de formación de monocloramina a partir del cloro agregado y del nitrógeno amoniacal presente en el agua, de modo que todo el cloro residual que se forma en esta zona es monocloramina, hasta llegar a la cresta de la curva, la concentración máxima de monocloramina, se alcanza, teóricamente, cuando la relación cloro nitrógeno amoniacal es equimolar (el número de moles de cloro es igual al número de moles de nitrógeno amoniacal), equivalente a una relación 5:1 en peso (Ente Nacional de Obras Hídricas de Saneamiento 2018).

A medida que se aumenta la dosis de cloro y la relación cloro a nitrógeno amoniacal, comienza la zona 2 de la curva, donde la monocloramina da lugar a la formación de dicloramina, a su vez, se produce un proceso de oxidación que, simultáneamente, destruye el cloro residual combinado (dicloramina) y prácticamente todo el nitrógeno amoniacal, estas reacciones se

producen hasta que la concentración de cloro residual alcanza su valor mínimo en el llamado «punto de quiebre» (Ente Nacional de Obras Hídricas de Saneamiento 2018).

El cloro residual mínimo remanente está conformado fundamentalmente por dicloramina y trazas de monocloramina y cloro libre, y se conoce también como «cloro residual indeseable o molesto». En el «punto de quiebre», la relación teórica ($\text{Cl}_2:\text{NH}_3$) en peso es 7,6:1. En la práctica, se han observado valores de esta relación mayores que el teórico, debido a que, en el punto de quiebre, se producen reacciones que requieren cloro para formar otros compuestos, entre los cuales se destacan el nitrógeno gas, nitrato y tricloramina (Ente Nacional de Obras Hídricas de Saneamiento 2018).

A partir del punto de quiebre, en la zona 3 de la curva, prácticamente todo el nitrógeno amoniacal ha sido oxidado, y cualquier aumento en la dosis de cloro resulta en un incremento igual del contenido de cloro residual libre, por lo tanto, a partir del punto de quiebre, la curva teórica tiene una pendiente de 45° .

En esta zona el cloro residual está constituido por el cloro residual irreductible y el cloro residual libre que se va generando, con posterioridad, se observó que en la zona 3 de la curva vuelve a aparecer nitrógeno amoniacal.

Es importante señalar que la forma de la curva de punto de quiebre depende de las concentraciones de cloro y amoníaco, de la temperatura, del pH y del tiempo de contacto. A igual concentración de nitrógeno amoniacal, pH y temperatura, hay una curva distinta para distintos tiempos de contacto (Ente Nacional de Obras Hídricas de Saneamiento 2018).

2.2.3 Eficacia del cloro como desinfectante en la inactivación de bacterias

La desinfección con cloro es un método muy eficiente para destruir o inactivar bacterias, el ácido hipocloroso penetra la pared celular de los microorganismos alterando la integridad y

permeabilidad de la misma, posteriormente reacciona con las enzimas esenciales para el proceso metabólico de la célula, destruyendo al microorganismo.

El ácido hipocloroso, al ser una molécula neutra de reducido tamaño, puede traspasar la pared celular con más facilidad que la molécula cargada de ion hipoclorito.

La bacteria *Escherichia coli* es más resistente al cloro que otras bacterias tales como *Shigella*, *Salmonella*, *Vibrio Cholerae*, y la mayoría de las bacterias intestinales, por lo tanto, es un buen indicador de la calidad del agua desde el punto de vista bacteriológico (Ente Nacional de Obras Hídricas de Saneamiento 2018).

Diversas recomendaciones coinciden que manteniendo un nivel de cloro residual libre entre 0,2 y 0,5 mg/l durante media hora de contacto, con pH menor que 7,5 y turbiedad inferior a 1,0 NTU, se logra la destrucción casi total de las bacterias patógenas presentes en el agua (OMS 2004).

2.2.4 Riesgos químicos asociados a la desinfección en el agua potable

Los productos contenidos en el agua que potencialmente pueden dar lugar a la formación de subproductos de desinfección (DBPs) se llaman precursores, siendo el principal precursor la materia orgánica natural.

Los subproductos que se generan durante la desinfección están fuertemente ligados al tipo de agente desinfectante y a las características del agua, la ecuación general de formación de subproductos es la siguiente (Chu et al. 2016):



2.2.5 Subproductos de la desinfección

Los subproductos de desinfección, son sustancias orgánicas e inorgánicas que se forman durante la reacción de un agente desinfectante con la materia orgánica presente de manera natural en el agua.

2.2.5.1 Formación de subproductos de la desinfección.

El cloro al ser una sustancia tan activa, en exceso puede reaccionar con distintos compuestos orgánicos, por lo que aumenta el riesgo de que se produzcan subproductos de desinfección en el agua potable como resultado de la interacción del cloro con materia orgánica natural que se encuentra en el agua (Ochoa Barajas 2004).

Estos subproductos de desinfección estarán presentes cuando el agua contenga cloro o hipoclorito, además de los precursores orgánicos como los ácidos húmicos y fúlvicos, que son producto de la degradación de materia vegetal, la cual, en la mayoría de los casos, le confiere color al agua (Berdonces 2008).

2.2.5.2 La materia orgánica natural.

La materia orgánica natural del agua es característica de cada ecosistema acuático y, su estructura, concentración, composición, y reactividad varía de acuerdo con la naturaleza del agua (lagos, ríos, arroyos, etc.), pero sobre todo con los aportes de materia vegetal y animal en descomposición y con la propia biota que en él habita. Consiste en una mezcla de sustancias orgánicas originadas a partir de la descomposición y metabolismo de células (restos de tejidos animales y vegetales) y se puede separar en distintas fracciones sustancias: húmicas o fracción hidrofóbica (ácidos húmicos, ácidos fúlvicos y humina) y no húmicas o fracción hidrofílica (carbohidratos, proteínas, péptidos, aminoácidos, ácidos carboxílicos, compuestos fenólicos y lípidos e hidrocarburos en bajísima concentración) (Matilainen et al. 2011).

2.2.5.2.1 Sustancias húmicas.

Se conoce que las sustancias húmicas representan la fracción más abundante de la materia orgánica natural del agua, correspondiendo aproximadamente un 90%, y son formadas por una mezcla de distintos compuestos todos ellos de naturaleza macromolecular y carácter ácido.

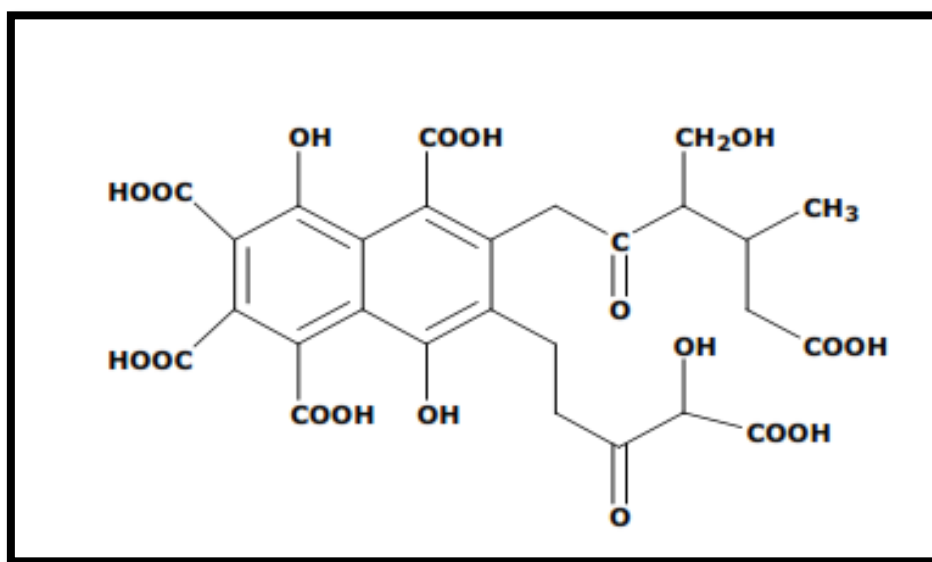
Son biológicamente muy refractarios, es decir, presentan una muy lenta biodegradación y poseen una gran proporción de anillos aromáticos interconectados con cadenas alifáticas (Li et al. 2017).

2.2.5.2.1.1 Los ácidos fúlvicos

Suelen representar un 60% de las sustancias húmicas, de manera que es el mayor constituyente (Li et al. 2017).

Figura 6

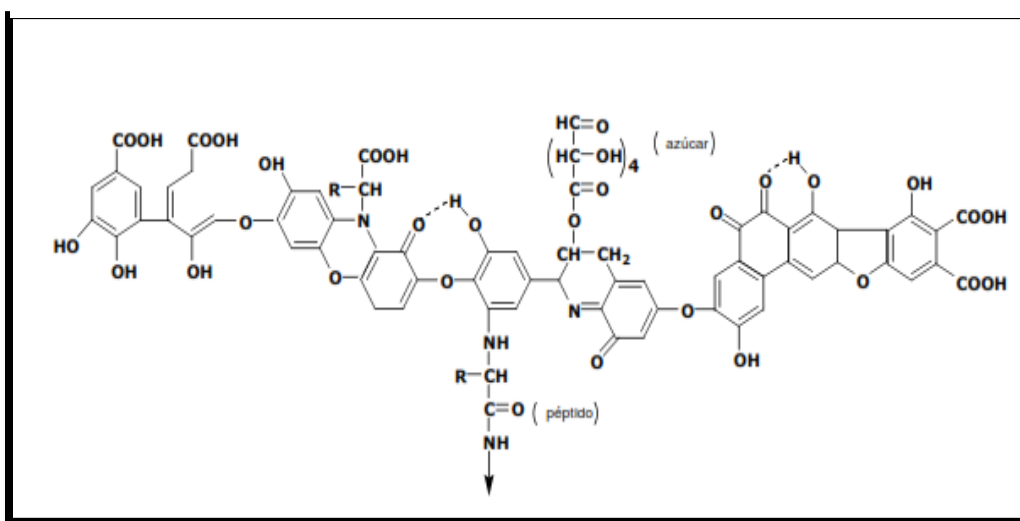
Estructura de Ácido Fúlvicos



Nota. Fuente (Rios, 2005)

2.2.5.2.1.2 Los ácidos húmicos

Son biopolímeros formados de una estructura aromática unida a grupos alifáticos, representan el mayor peso molecular, entre 2000 y 5000 Da, debido principalmente a la alta concentración de carbono aromático con relación a la concentración de los grupos carboxilo y carbonilo (Li et al. 2017), Son insolubles en medio ácido y soluble en medio básico y están mayormente condensados y polimerizados.

Figura 7*Estructura del Ácido Húmico*

Nota. Fuente (Rios, 2005)

Aunque los ácidos húmicos sean una fracción minoritaria entre las sustancias húmicas acuáticas, poseen mayor potencial de formación de trihalometanos (THM) por su mayor concentración en carbono aromático. Sin embargo, los ácidos fúlvicos suelen ser los mayores contribuyentes a la formación de los subproductos de la desinfección, debido a que están presentes en mayor cantidad. Los ácidos húmicos, pues, presentan mayor THM que los ácidos fúlvicos y estos a su vez presentan mayor THM que el resto de la materia orgánica (ácidos hidrofílicos, moléculas peptídicas, carbohidratos etc.) (Li et al. 2017).

2.2.5.3 Tipos de subproductos de la desinfección.

Los subproductos generados durante la desinfección por cloración son los halogenados, volátiles y no volátiles.

Los principales halogenados son los trihalometanos (THMs), los ácidos acéticos halogenados (HAAs) y los haloacetnitrilos (HANs). Los subproductos de oxidación incluyen a los aldehídos, ácidos carboxílicos y bromato (BrO_3^-) (Li et al. 2017).

2.2.5.3.1 Trihalometanos.

Los trihalometanos son compuestos constituidos por un átomo de carbono unido a elementos halógenos, presentando la fórmula CHX_3 , donde X puede ser cloro, bromo, flúor, o yodo. De los cuatro trihalometanos comúnmente detectados (cloroformo, bromodiclorometano, bromoformo y dibromoclorometano), el más corriente en agua potable suele ser el cloroformo (CHCl_3), seguido por el CHBr_2Cl y el CHBrCl_2 . El bromoformo CHBr_3 suele encontrarse en aguas ricas en bromuro de origen natural, por vertidos industriales, o que utilicen el bromo como oxidante (Xie 2004).

Cloro + NOM + Bromo = THMs

La concentración de THM es variable y fluctúa entre un grado no detectable a 1 mg/L o más, los niveles de THM son mayores en el agua superficial clorada que en las aguas subterráneas cloradas, la concentración de THM tiende a aumentar con la temperatura, el tiempo de contacto, el pH y especialmente la dosificación de cloro.

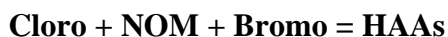
El tiempo de contacto influye más que la temperatura en el aumento de la concentración de THM. Por lo tanto, aumenta la concentración de THM con el almacenamiento del agua incluso después del agotamiento del cloro residual, lo cual indica la formación de productos intermedios que conducen a la lenta producción de THM.

El cloroformo es generalmente el principal componente de los THM y a menudo representa más del 90 % de la concentración total de THM (trihalometanos totales TTHM) (Charisiadis et al. 2015).

2.2.5.3.2 Ácidos acéticos halogenados.

Los ácidos acéticos halogenados (HAAs) son el segundo grupo en importancia, luego de los trihalometanos, en los subproductos de desinfección (Xie 2004).

Se forman a partir de la sustitución de átomos de hidrógeno de los ácidos acéticos (CH_3COOH), por átomos de halógenos (cloro o bromo), al reaccionar la materia orgánica natural con el cloro y el bromo:



Existen tres categorías, el ácido monohaloacético, tiene un átomo de halógeno, mientras que los ácidos dihaloacético y trihaloacético cuentan con dos y tres halógenos respectivamente (Xie 2004).

Los valores típicos de los ácidos acéticos halogenados en el agua de suministro clorada varían entre 0,03 y 0,15 mg/L. Sobre la base de datos limitados, el ácido monocloroacético generalmente está presente en concentraciones menores que 0,001 mg/L, el ácido dicloroacético entre 0,01 y 0,1 mg/L y el ácido tricloroacético entre 0,02 y 0,15 mg/L. La concentración de ácidos acéticos halogenados tiende a disminuir al aumentar el pH (Xie 2004).

Tabla 2

Subproductos de la desinfección del agua potable

Grupo	Subproducto	Formula
Trihalometanos (THM)	Cloroformo	CHCl_3
	Bromodiclorometano	CHCl_2Br
	Dibromoclorometano	CHClBr_2
	Bromoformo	CHBr_3
Ácido Haloacéticos (HAAs)	Monocloroacético	CH_2ClCOOH
	Dicloroacético	CHCl_2COOH
	Tricloroacético	CCl_3COOH
	Bromocloroacético	CHBrClCOOH
	Bromodicloroacético	$\text{CBrCl}_2\text{COOH}$
	Dibromocloroacético	$\text{CBr}_2\text{ClCOOH}$
	Monobromoacético	CH_2BrCOOH

	Dibromoacético	CHBr_2COOH
	Tribromoacético	CBr_3COOH
	Formaldehído	HCHO
Aldehídos (subproductos no halogenados)	Acetaldehído	CH_3CHO
	Glyoxal	OHCCHO
	Metil glyoxal	CH_3COCHO
	Tricloroacetoniitrilo	$\text{CCl}_3\text{C}^\circ\text{N}$
Aloacetoniitrilos (HANs)	Dicloroacetoniitrilo	$\text{CHCl}_2\text{C}^\circ\text{N}$
	Bromocloroacetoniitrilo	$\text{CHBrClC}^\circ\text{N}$
	Dibromoacetoniitrilo	$\text{CHBr}_2\text{C}^\circ\text{N}$
Ácido Carboxílicos (subproductos no halogenados)	Formiato	HCOO
	Acetato	CH_3COO
	Oxalato	$\text{OOC}\text{COO}^{-2}$
Subproductos de la cloramina	Cloruro de cianógeno	ClC°N
	Bromuro de cianógeno	BrC°N
Subproductos inorgánicos del ClO_2	Clorito	ClO_2^-
	Clorato	ClO_3^-

Nota. Fuente (Krasner 2009).

2.2.6 Efecto del carbón orgánico total en la formación de subproductos de desinfección del agua potable

La materia orgánica natural, se evalúa mediante el carbono orgánico total (TOC), o el carbono orgánico disuelto (DOC).

En los ecosistemas acuáticos contribuyen al TOC y al DOC, el arrastre por las escorrentías, de material orgánico, y las fuentes autóctonas, que derivan de la biota (algas, bacterias y macrofitas). Ese material orgánico es degradado biológicamente por la actividad heterotrófica bacteriana (López 2016).

En general, aguas cloradas con mayor nivel de materia orgánica natural tienen mayor tendencia a la formación de subproductos, según puede observarse en la siguiente tabla 3.

Tabla 3

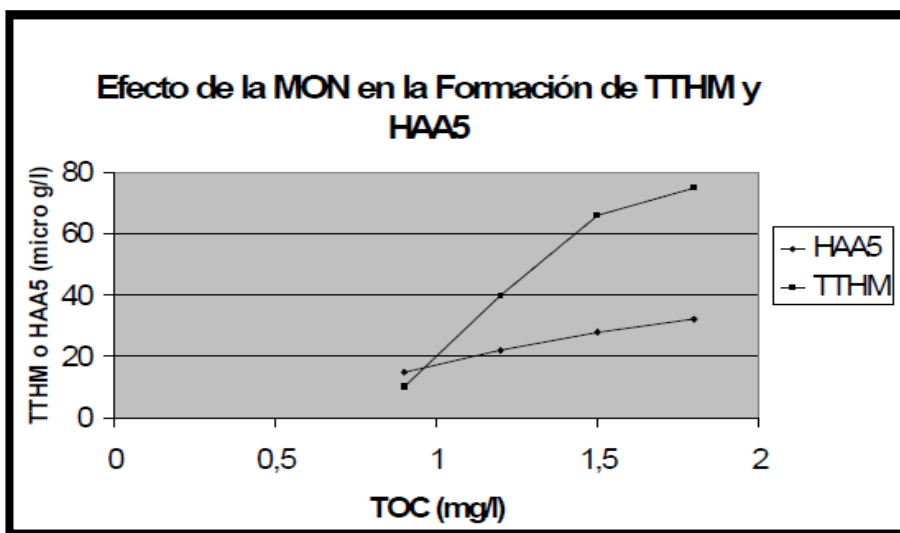
Efecto del TOC en la formación de THM

TOC (mg/L)	TTHM (mg/L) (fuente con 0,01 mg/L de bromuros)	TTHM (mg/L) (fuente con 0,8 mg/L de bromuros)
1,10	25	88
1,38	32	135
2,00	40	180
3,25	62	240
4,15	75	242

Nota. Se observa la influencia del TOC en la formación de trihalometanos totales (TTHM), Fuente (Xie 2004).

Figura 8

Efecto de la Materia Orgánica Natural en la formación de HAA5 y TTHM

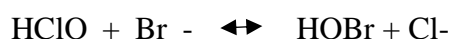


Nota. En la figura 10, se observa la influencia del TOC en la formación de trihalometanos totales (TTHM) y ácidos acéticos halogenados (HAA5), para agua dosificada con 4,3 mg/l de cloro (EPA 2008).

2.2.7 Efecto del ion bromuro en la formación de subproductos de desinfección del agua potable

La formación de trihalometanos bromados durante la cloración depende de la presencia de bromuros en el agua sin tratar, cuyas fuentes pueden ser la intrusión salina, descargas industriales o derivados de la agricultura.

La química de la formación de subproductos bromados incluye primeramente la oxidación del bromuro a ácido hipobromoso (HOBr), por la acción del ácido hipocloroso (HOCl):



El aumento de la concentración de bromuros en el agua conlleva a un aumento de los subproductos bromados y a la disminución de los subproductos clorados (Xie 2004).

2.2.8 Efecto del pH y el tiempo de reacción en la formación de subproductos de desinfección del agua potable

(Krasner 2009), en su trabajo “Diversos compuestos orgánicos”, determinó que la formación de cloroformo es mayor con valores elevados de pH, observó que la tasa de formación de cloroformo aumenta con el pH.

En cambio, algunos haloacetnitrilos y ácidos acéticos halogenados (en particular el dicloroacetnitrilo y el ácido tricloroacético), reducen su concentración al aumentar el pH (Krasner 2009).

En la siguiente tabla se observa la influencia del pH en la formación de algunos subproductos:

Tabla 4

Efecto del pH en la formación de subproductos de desinfección del agua potable

Subproducto	pH = 5	pH = 7	pH = 9,4
THMs	Menor formación	-	Mayor formación
DCAA	Similar formación, aunque levemente mayor para pH = 7		
TCAA	Similar formación		Menor formación
DCAN	Mayor formación	Formación dentro de 4 horas, luego decae.	Menor formación

Nota. Fuente (Krasner 2009)

La formación de trihalometanos se ve favorecida con el tiempo de contacto, por lo que en general se detectan mayores concentraciones en los sistemas de distribución que en los efluentes de las plantas de tratamiento.

Tabla 5

Efecto del pH y el tiempo de reacción en la formación de subproductos de desinfección del agua potable en dos sistemas que utilizan cloraminas

Parámetro	Planta 1 (*)		Planta 2 (†)		
	Efluente Planta	Sistema de Distribución	Ingreso a los Filtros	Efluente Planta	Sistema de Distribución
pH	8,0	7,9	7,3	9,0	9,0
THMs (mg/L)	44	50	38	39	44
HAAs (mg/L)	40	46	34	39	44
HANs (mg/L)	6,3	7,7	5,0	1,5	0,5

Nota: (*) *Planta 1: Sistema de tratamiento convencional con precloración y post cloraminación, con concentraciones de TOC en el agua bruta y tratada de 4,2 y 2,8 mg/L respectivamente.*

(†) *Planta 2: Sistema de tratamiento convencional con precloraminación, con concentraciones de TOC en el agua bruta y tratada de 7,7 y 4,8 mg/L respectivamente. Fuente (Krasner 2009).*

2.2.9 Efecto de la temperatura en la formación de subproductos de desinfección del agua potable

La formación de subproductos de la desinfección se ve favorecida con el aumento de la temperatura del agua.

(Stevens et al. n.d.), estudiaron “Los efectos de la temperatura sobre la tasa de reacción de precursores presentes en el río Ohio”. Las producciones de cloroformo, luego de 96 horas de reacción a pH neutro, fueron de <50, =100 y > 200 ug/L, para 3, 25 y 40°C respectivamente.

Sin embargo, en otro estudio realizado sobre 31 sistemas de agua potable, se observó que la concentración de trihalometanos fue mayor en los sistemas con temperaturas de 24 a 31°C, respecto a los sistemas con 1,1 a 8,5°C, y 16 a 23°C (Krasner 2009).

Los cambios estacionales no solamente traen cambios en la temperatura sino muchas veces en la composición del agua. La disminución de la temperatura durante el invierno se presenta en paralelo con el aumento de las lluvias, las consiguientes escorrentías y el aumento de las concentraciones de materia orgánica natural, que pueden favorecer la generación de subproductos.

Durante el verano, al aumentar la temperatura, disminuye la concentración de HOCl, bajando la efectividad de la cloración. Para mantener una concentración de cloro residual apropiado se debe aumentar la dosis de cloro, lo que favorece la generación de subproductos.

2.2.10 Efectos tóxicos de los subproductos de desinfección del agua potable

Los efectos tóxicos a la exposición de subproductos de desinfección han generado afecciones en la salud, los que se refleja en diversos estudios.

En su estudio (Villanueva, Kogevinas, y Grimalt 2001) “Cloración del Agua Potable y Efectos sobre la salud: revisión de estudios epidemiológicos”, indican que el cáncer de vejiga es uno de los tumores más uniformemente asociados a la exposición de subproductos de cloración. En su estudio de casos/controles donde se evaluaron cuantitativamente la exposición individual durante toda la vida a distintos niveles de trihalometanos, describen una respuesta directamente dependiente entre el tiempo de exposición y concentración de subproductos de cloración con el aumento en la incidencia de cáncer de vejiga al aumentar la concentración de exposición a trihalometanos, indicando una clara relación dosis-respuesta.

En Estados Unidos se estima que un 25% de los cánceres de vejiga se pueden atribuir a la exposición a trihalometanos (Reif et al. 1996).

En España (Sánchez Zafra y Joaquín Capulino Jauregui 2008), evaluó los niveles de trihalometanos en 4 áreas (Asturia, Alicante, Barcelona y Tenerife) para calcular el riesgo de cáncer de vejiga atribuible a los mismos. La exposición se estimó a partir de los niveles de trihalometanos obtenidos por cromatografía de gases y la proporción de personas que consumen habitualmente agua del grifo en esas áreas. Los resultados indicaron un riesgo entre 0 - 28.9% dependiendo de la concentración de trihalometanos presentes en el agua de abastecimiento público.

En otros estudios epidemiológicos disponibles han demostrado que los cánceres de colon y recto son los segundos más asociados a la exposición a subproductos de cloración, aunque los resultados no alcanzan a ser estadísticamente concluyentes (Alexandrou, Meehan, and Jones 2018). La dificultad en establecerse con claridad esta relación de causa/efecto se explica por la complejidad de la mezcla de agua, puesto que además de los subproductos de desinfección, el agua puede contener otros carcinógenos potenciales (Du et al. 2017).

La investigación epidemiológica (Villanueva et al. 2018), sobre efectos reproductivos adversos de madres expuestas a los subproductos de la cloración es más reciente y se inició en la década de los 90. Entre los efectos, los más estudiados son aborto espontáneo, bajo peso al nacer, retardo en el crecimiento intrauterino, talla pequeña al nacer y daños en el tubo neural, siendo también estos los más asociados a dichas exposiciones.

Wendel et al. 2016 , investigaron la exposición de subproductos de desinfección con muerte intrauterina, la exposición al riesgo se examinó considerando el nivel de trihalometanos del agua de grifo, calculando una exposición total, que incluye la ingestión y otras actividades que entrañe exposición, como bañarse, regar etc. Los resultados concluyeron que niveles de 80 µg/L de trihalometanos en el agua, incrementa en dos veces el riesgo de partos prematuros. Observaron una asociación positiva entre parto prematuro y exposición a altas concentraciones de trihalometanos.

Un aspecto que merece la pena resaltar, es que la mayoría de los estudios de carcinogenicidad de los subproductos de la cloración en humanos, especialmente los THMs, han involucrado principalmente la vía de exposición oral (Jeong et al. 2015). Sin embargo, últimamente se insiste en prestar mayor interés a la exposición dérmica y por inhalación en la evaluación del riesgo para estos compuestos. Hay que distinguirse que estas vías de exposición humana, se reivindican como de gran interés principalmente para los subproductos volátiles (Wagner y Plewa 2017), (Manasfi, Coulomb y Boudenne 2017).

Tabla 6*Información toxicológica de los subproductos de la desinfección*

Clase de subproducto de la desinfección	Compuesto	Clasificación EPA	Efectos nocivos
Trihalometanos (THM)	Cloroformo	B2	Cáncer, hígado, riñón y efectos sobre la reproducción
	Dibromoclorometano	C	Sistema nervioso, hígado, riñón y efectos sobre la reproducción
	Bromodichlorometano	B2	Cáncer, hígado, riñón y efectos sobre la reproducción
	Bromoformo	B2	Cáncer, hígado, riñón y efectos sobre la reproducción
Haloacetnitrilo (HAN)	Tricloroacetnitrilo	C	Cáncer, efectos mutagénicos y clastogénicos
Aldehído halogenado y cetonas	Formaldehído	B1	Mutagénicos
Halofenol	2 – Clorofenol	D	Cáncer y agentes de tumores
Ácido haloacéticos (AHA)	Ácido dicloroacético	B2	Cáncer, efectos sobre la reproducción y desarrollo
	Ácido tricloroacético	C	hígado, riñón y efectos sobre la reproducción
Compuestos inorgánicos		D	efectos sobre la reproducción y desarrollo

Nota. A: cancerígenos humanos, b1: cancerígenos humanos probable, b2: cancerígeno humano probable (evidencia de laboratorio), C: cancerígeno humano posible, D: no clasificable. Fuente (Rodríguez et al. 2007)

2.2.11 Tratamientos alternativos propuestos para disminuir la actividad mutagénica presente en el agua potable

2.2.11.1 Radiación Solar.

La radiación solar es uno de los métodos de desinfección más simples y menos costosos para suministrar agua de calidad aceptable para el consumo humano, que se ha denominado SODIS (del inglés “solar disinfection”). El proceso de desinfección solar es un proceso térmico que consiste en elevar la temperatura del agua un tiempo determinados en contenedores acondicionados para lograr la absorción del calor y de los rayos solares proveniente de la radiación, estos contenedores pueden ser de diversos materiales conductores del calor (Rios 2006).

2.2.11.2 Radiación Ultravioleta.

La radiación con luz ultravioleta (UV) es una alternativa ampliamente utilizada para la desinfección del agua, es un proceso que no añade nada al agua excepto luz UV y por lo tanto no tiene impacto sobre la composición química o en el contenido de oxígeno disuelto en el agua, no genera subproductos de la desinfección problemáticos; el mecanismo de acción de la luz ultravioleta (UV) en la desinfección se basa en la transferencia de energía electromagnética desde una lámpara de vapor de mercurio (Toledo 2020).

2.2.11.3 Dióxido de Titanio.

La fotocatalisis es una de las variantes de los procesos de oxidación avanzada, que son particularmente interesantes para el tratamiento del agua y el aire debido a su eficiencia al neutralizar una gran variedad de contaminantes gracias a la generación de radicales hidroxílicos altamente reactivos.

Los métodos fotolíticos para la degradación de contaminantes disueltos en el agua se basan en proporcionar energía a los compuestos químicos en forma de radiación, que es absorbida por las distintas moléculas para alcanzar estados excitados en el tiempo necesario para experimentar reacciones. En presencia de radiación ultravioleta se produce la fotólisis de un gran número de compuestos orgánicos. El proceso tiene lugar en el dominio del UV-C (210– 230nm) y se basa en la formación de radicales C-centrados; es decir, radicales libres. La eficiencia del proceso depende principalmente de la capacidad de absorción de radiación y de la presencia de otros compuestos que absorben la misma longitud de onda. En los procesos de oxidación fotolíticos normalmente se utilizan lámparas de mercurio de baja presión (254nm, 471 KJ/mol) empleadas tanto en la desinfección como en la depuración de las aguas. Sin embargo, es necesario llevarlas a longitudes de onda más bajas (170-200nm), ya que llevan asociada una mayor energía (704-598 KJ/mol) y

son más eficientes en la ruptura de los enlaces de los compuestos orgánicos (Garcés, Franco, and Arango 2004).

El TiO_2 es considerado normalmente el mejor fotocatalizador disponible hoy en día, por tener: gran potencial de oxidación a temperatura y presión ambiente; gran actividad fotocatalítica para degradar una amplia gama de contaminantes medioambientales y ser químicamente inerte y físicamente estable (Berberidou et al. 2019). El más ampliamente usado en aplicaciones fotocatalíticas es el dióxido de titanio Degussa p25 en forma de anatasa 99% y en forma de rutilo 1%, ya que presenta una mayor actividad fotocatalítica, no es tóxico, es estable en soluciones acuosa y no es costoso. Cuando un semiconductor está en contacto con un electrolito conteniendo un par redox, la transferencia de cargas ocurre a través de la interfase sólido/liquido (heterogénea), como consecuencia de la diferencia de potencial entre las dos fases. Se forma un campo eléctrico en la superficie del semiconductor y las bandas se curvan con la forma del campo eléctrico desde el interior del semiconductor hasta la superficie. Durante la fotoexcitación cuando un fotón de energía suficiente es absorbido, las bandas curvadas adquieren las condiciones necesarias para la separación de cargas (par e^-/h^+) (Garcés et al. 2004).

Como se ha mencionado anteriormente, cuando se han tratado los procesos de oxidación avanzada se cree que el radical OH^\bullet es la principal especie oxidante, responsable de la fotodegradación de la mayoría de los compuestos orgánicos estudiados, aunque en el caso del empleo del TiO_2 el proceso de degradación mediante transferencia electromagnética ha sido de mucho interés por los huecos (h^+) producidos en la banda de valencia del semiconductor (Garcés et al. 2004).

2.2.11.4 Filtración por Carbón Activado.

El carbón activado granular o el carbón activado en polvo, son habitualmente empleados en las plantas de potabilización para el proceso de desinfección.

El carbón activado puede ser útil para controlar los subproductos de desinfección a través de la remoción de los precursores (especialmente la materia orgánica natural), o a través de la remoción de los subproductos ya formados, aunque la efectividad en este último caso es menor, particularmente para los trihalometanos (Xie 2004).

Acerca de la capacidad de remover precursores mediante adsorción en carbón activado se han efectuado numerosas investigaciones con el objetivo de evaluar la capacidad de remover los trihalometanos, y pocos trabajos se han publicado en cuanto a la tratabilidad de los HAAs con este proceso (Xie 2004).

2.2.11.5 Ebullición.

El agua se evapora tanto a temperatura ambiente como cuando se pone a calentar en el fuego; en este último el agua empieza a hervir alcanzado la temperatura de 86 °C en la ciudad de La Paz (Instituto Boliviano de Metrología 2012), donde la evaporación juega un papel importante en la eliminación de subproductos de desinfección.

La desinfección por ebullición consiste en elevar la temperatura del agua hasta que empiece a hervir y se mantenga en esa condición por un tiempo de 5 – 10 minutos (Terrones Terán and Morales Goicochea 2018), el resultado será la eliminación de todos, los microorganismos presentes (Solsona y Méndez 2002).

En la investigación de (Carrasco, Villanueva, & Goñi, 2013) concluyen que la mayor reducción de cloroformo (trihalometanos) se produce al hervir en una caldera.

2.2.12 Métodos de detección de mutagenicidad.

Las sustancias genotóxicas son sustancias capaces de incrementar la tasa de mutación algunas otras son carcinógenas, capaces de incrementar la tasa de aparición de un tumor; muchas de estas sustancias pueden alcanzar el medio ambiente, fundamentalmente el acuático, y producir efectos directos o indirectos sobre el hombre y los animales, incluso a bajas concentraciones. Esto obliga a la adopción de estrictas medidas de control, siendo imprescindible la realización de pruebas de determinación de genotoxicidad, mutagenicidad y/o carcinogenicidad.

Existe una gran variedad de ensayos que determinan la genotoxicidad, entre los que se destacan:

2.2.12.1 Ensayos de mutagenicidad directa.

Tales ensayos están basados en la selección de mutaciones directas en varios loci génicos. Estos ensayos conllevan la pérdida de una función o estructura de la cepa salvaje, tal como el ensayo ara de *Salmonella typhimurium*. La cepa empleada en el ensayo, *S. typhimurium* SV3 presenta una mutación en el gen araD que la hace incapaz de convertir a la L-ribulosa-5-fosfato a D-xilulosa-5-fosfato, en la ruta metabólica de la arabinosa. La acumulación de L-ribulosa-5-fosfato, un intermediario tóxico, ocasiona la muerte celular. Por consiguiente, la cepa SV3 es sensible a la L-arabinosa. Las células se convierten en resistentes debido a la producción de mutaciones directas en al menos uno de los tres loci genéticos situados antes del gen araD en el operón de la arabinosa (Codina 2020).

2.2.12.2 Ensayos de genotoxicidad.

Basados en el sistema SOS de reparación de daños genéticos. La expresión de un gen del sistema SOS puede ser medida directamente por medio de su fusión con el gen *lacZ*, el gen estructural de la β -galactosidasa en *Escherichia coli*. En el ensayo SOS Chromotest, las cepas de *E.*

coli se mezclan con las sustancias a ensayar, determinándose tras un periodo de incubación de 2 horas los niveles de β -galactosidasa. Cuando tales sustancias son genotóxicas ocasionan un aumento en los niveles de β -galactosidasa respecto a los controles, pues se inducen los genes de mecanismo SOS (Codina 2020).

2.2.12.3 Ensayos de reversión o retromutación.

En ellos se evalúa la producción de mutaciones inversas que suprimen el efecto de una mutación original sobre un rasgo fenotípico claramente observable. Sin duda alguna, el ensayo más conocido y empleado de este tipo es el de reversión de la auxotrofia para histidina de cepas de *S. typhimurium*, mejor conocido por el nombre de test de Ames. Si las cepas de *S. typhimurium* auxotrofas para histidina son expuestas a sustancias mutagénicas, se producirá una reversión a la prototrofia de las mismas, que puede ser evaluada mediante recuento en un medio mínimo carente de histidina. Con objeto de simular la posible incidencia de estas sustancias en mamíferos y, por consiguiente, en seres humanos, suele incluirse en el ensayo el empleo de la fracción microsomal (S9) de hígado de rata o humano (Codina 2020).

2.2.12.3.1 Test Ames.

Es un ensayo biológico para evaluar el potencial mutagénico de compuestos químicos. Puesto que el cáncer está vinculado a menudo con el daño del ADN, la prueba también sirve como un ensayo rápido para estimar el potencial cancerígeno de un compuesto, ya que las pruebas estándar para la carcinogenicidad hechas sobre roedores toman años para completarse y tienen un costo elevado realizarlos (Sandoval 2002).

La prueba utiliza varias cepas de la bacteria *Salmonella typhimurium* alteradas genéticamente para presentar mutaciones en los genes implicados en la síntesis de histidina. A

causa de dichas mutaciones, estas bacterias requieren de un suministro externo de histidina para su crecimiento (Sandoval 2002) (Maron y Ames 1983).

El ensayo pone a prueba la capacidad del mutágeno para provocar una alteración genética en las bacterias que permita el retorno al crecimiento en un soporte libre de histidina. Las cepas del probador están especialmente construidas para tener una mutación con cambio puntual en los genes necesarios para sintetizar histidina, que permite la detección de mutágenos que actúan a través de diferentes mecanismos. Algunos compuestos son muy específicos, causando reversiones en sólo una o dos cepas (Sandoval 2002).

Las cepas también llevan mutaciones en los genes responsables de la síntesis del lipopolisacárido, haciendo que la pared celular de las bacterias sea más permeable, y en la supresión reparan el sistema para hacer la prueba más sensible.

En el ensayo también se añaden enzimas del hígado (provenientes de extracto de hígado de rata) para simular el efecto del metabolismo, ya que algunos compuestos como el benzopireno no son mutagénicos, pero sí lo son sus productos metabólicos.

Las bacterias se extienden sobre una placa de agar con una pequeña cantidad de histidina y el compuesto químico cuyo efecto mutagénico se quiere comprobar. Esta pequeña cantidad de histidina en el medio de cultivo permite a las bacterias crecer por un tiempo inicial y tener la oportunidad de mutar. Cuando la histidina se agota, sólo las bacterias que hayan mutado para obtener la capacidad de producir su propia histidina van a sobrevivir y multiplicarse. En el experimento la placa se incuba durante 48 horas, y la mutagenicidad de la sustancia será proporcional al número de colonias observadas en la placa (Maron y Ames 1983).

Tabla 7

Mutaciones y características genéticas de las cepas de S. typhimurium utilizadas en el Test de Ames

Cepa	Reversión Espontánea	Tipo de Mutación Presentada	Mutación en Pared Celular	Mutación en Operón de la Histidina	Plásmido	Mutación en Sistema de Reparación	Requerimientos Nutricionales
TA97	90-180	Corrimiento del Marco de Lectura	Rfa	HIS-D6610	pKM101	uvrB	Histidina, Histidina + Biotina
TA98	30-50	Corrimiento del Marco de Lectura	Rfa	HIS-D3052	pKM101	uvrB	Histidina, Histidina + Biotina
TA100	120-200	Sustitución de Bases (GC)	Rfa	HIS-G46	pKM101	uvrB	Histidina, Histidina + Biotina
TA102	240-320	Sustitución de Bases: Transición y Transversión	Rfa	HIS-G428	pKM101 y pAQ1	No Presenta	Histidina, Histidina + Biotina

Nota. Fuente (Cifuentes 2020).

2.3 Marco Conceptual

Cloración:

Es el procedimiento de desinfección de aguas mediante el empleo de cloro o compuestos clorados. Se puede emplear gas cloro, pero normalmente se emplea hipoclorito de sodio (lejía) por su mayor facilidad de almacenamiento y dosificación. En algunos casos se emplean otros compuestos clorados, como dióxido de cloro (ClO₂), hipoclorito de calcio o ácido cloroisocianúrico (Ente Nacional de Obras Hídricas de Saneamiento 2018).

Cloro Residual:

Es la cantidad de cloro, en cualquier forma, que permanece en el agua después del tratamiento, a fin de asegurar la desinfección durante un tiempo determinado. Cuando al beber u oler un vaso de agua, percibimos o sentimos presencia de cloro, estamos ante cloro residual, ya que ha persistido luego de haber tratado las aguas (Ente Nacional de Obras Hídricas de Saneamiento 2018).

Subproducto de la desinfección con cloro:

Son compuestos químicos volátiles que se generan durante el proceso de potabilización del agua por la reacción de la materia orgánica, aún no tratada, con el cloro utilizado para desinfectar.

Riesgos Mutagénicos de los Subproductos de Desinfección:

Capacidad de ocasionar alteraciones del material genético celular (genes, cromosomas) o producir mutaciones sobre el ADN, clonado o no. De realizarse in vitro, dicha alteración (mutagénesis) puede realizarse al azar, sobre cualquier secuencia, o bien de forma dirigida (Sandoval 2002).

Técnica de medida de Riesgo Mutagénicos:

Es un ensayo biológico que usa bacterias para analizar si una sustancia química puede producir mutaciones de ADN. Un test positivo indica que la sustancia química es mutagénica y, por tanto, puede ser un agente cancerígeno (Sandoval 2002).

3 FORMULACIÓN DE LA HIPÓTESIS DE INVESTIGACIÓN (NULA Y ALTERNA)

Hipótesis nula:

Mediante el empleo de tratamientos físicos (ebullición, filtración con carbón activado) y fisicoquímicos (radiación UV con/sin dióxido de titanio y radiación solar con/sin dióxido de titanio) no disminuirá la actividad mutagénica en muestra de agua potable.

Hipótesis alternativa:

Mediante el empleo de tratamientos físicos (ebullición, filtración con carbón activado) y fisicoquímicos (radiación UV con/sin dióxido de titanio y radiación solar con/sin dióxido de titanio) disminuirá la actividad mutagénica en muestra de agua potable.

4 OPERACIONALIZACIÓN DE LAS VARIABLES EN ESTUDIO

Tabla 8

Operacionalización de las variables de estudio

Objetivos Específicos	Variables	Dimensión	Indicador	Índice
Objetivo General: Evaluar el cambio de la actividad mutagénica del agua potable a consecuencia de tratamientos físicos y fisicoquímicos.				
Emplear protocolos de tratamientos físicos (ebullición, filtración por carbón activado, radiación solar y radiación UV) y fisicoquímicos (radiación solar con TiO ₂ y radiación UV con TiO ₂) para la prevención de la presencia de agentes mutagénicos en el agua potable.	Tratamientos físicos y fisicoquímicos.	y	Ebullición Carbón activado Radiación solar Radiación UV Radiación solar con TiO ₂ Radiación UV con TiO ₂	Extractos orgánicos
Evaluar la actividad mutagénica del agua potable antes y después de cada tratamiento, mediante Test de Ames.	Actividad mutagénica.	Análisis mutagénico	Test de Ames	Índice de mutagenicidad
Determinar el tratamiento más eficaz para disminuir el índice de mutagenicidad en el agua potable.	Tratamientos físicos y fisicoquímicos.	Análisis estadístico	Anova Tukey	Comparaciones de medias.

<p>Correlacionar parámetros de pH, temperatura, potencial redox, conductividad, salinidad, solidos disueltos y concentración de cloro total, cloro libre con la actividad mutagénica presente en el agua potable antes y después de realizar los tratamientos.</p>	<p>Parámetros de calidad del agua potable.</p>	<p>Análisis físico y químicos</p>	<p>pH</p> <p>Temperatura Escala de 0 a 14</p> <p>Potencial redox °C</p> <p>Conductividad mV</p> <p>Salinidad us/cm</p> <p>Solidos disueltos %</p> <p>Cloro total y mg/L</p> <p>Cloro libre mg/L</p>
--	--	-----------------------------------	---

Nota. *Elaboración propia.*

5 DISEÑO METODOLÓGICO

5.1 Universo, Población y Muestra

Agua potable distribuida por la Empresa Pública Social de Agua y Saneamiento (EPSAS) en la ciudad de La Paz, fue recolectada en la Facultad de Ciencias Farmacéuticas y Bioquímicas, a las cuales se realizaron los tratamientos: ebullición, filtración por carbón activado, radiación solar con y sin TiO_2 y radiación ultravioleta con y sin TiO_2 ; posteriormente después de obtener el tratamiento más eficaz en la disminución del índice de mutagenicidad, se recolectó muestras de dos puntos de muestreo independientes que en el proyecto “Detección de la actividad mutagénica y microbiológica del agua potable domiciliaria, en la ciudad de La Paz” 2018, presentaron actividad mutagénica.

5.2 Unidad de Muestreo

Se colectó agua potable, 90 litros por muestreo, se realizó un total de 5 muestreos los cuales se sometieron a los tratamientos físicos, fisicoquímicos y análisis respectivos.

Se realizó el muestreo siguiendo el protocolo establecido por la Norma Boliviana 496 de toma de muestra para parámetros de compuestos orgánicos (NB 496 2005).

Tabla 9

Procedimiento de muestreo de agua potable para análisis de parámetros de compuestos orgánicos

N°	Material/Actividad	Descripción
1	Consideración de las condiciones de muestreo.	Evitar la toma de muestras en fábricas o inmuebles donde se realizan el uso o producción de compuestos orgánicos en general.
2	Frascos	Utilizar frascos de vidrio ámbar, con capacidad de 1 000 ml.
3	Verificación de las condiciones del grifo	Verificar que el grifo seleccionado sea de uso constante y no presente deterioros.
4	Purga del agua de la red	Dejar correr el agua por las tuberías a objeto de asegurar que la muestra es representativa del agua de la red de suministro y no agua estancada.
5	Enjuague del frasco	Enjuagar el frasco dos (2) a tres (3) veces con la misma muestra.
6	Extracción de la muestra	Llenar el frasco hasta que rebalse, evitando el contacto del grifo con la boca del frasco.
7	Cierre del frasco	Tapar el frasco con sumo cuidado para que no queden burbujas en su interior.
8	Registro de datos	Registrar en las planillas de muestreo, la fecha, hora, temperatura y otros datos que puedan influir en las determinaciones analíticas.
9	Transporte de la muestra	Transportar el/los frascos(s) en conservadores con hielo. Conservar las muestras refrigeradas a una temperatura de 4 °C.

Nota. Fuente (NB 496 2005)

5.3 Ámbito de Estudio

El estudio fue realizado en el laboratorio de la cátedra de Biología Molecular de la Facultad de Ciencias Farmacéuticas y Bioquímicas.

5.4 Periodo de Investigación

Un año.

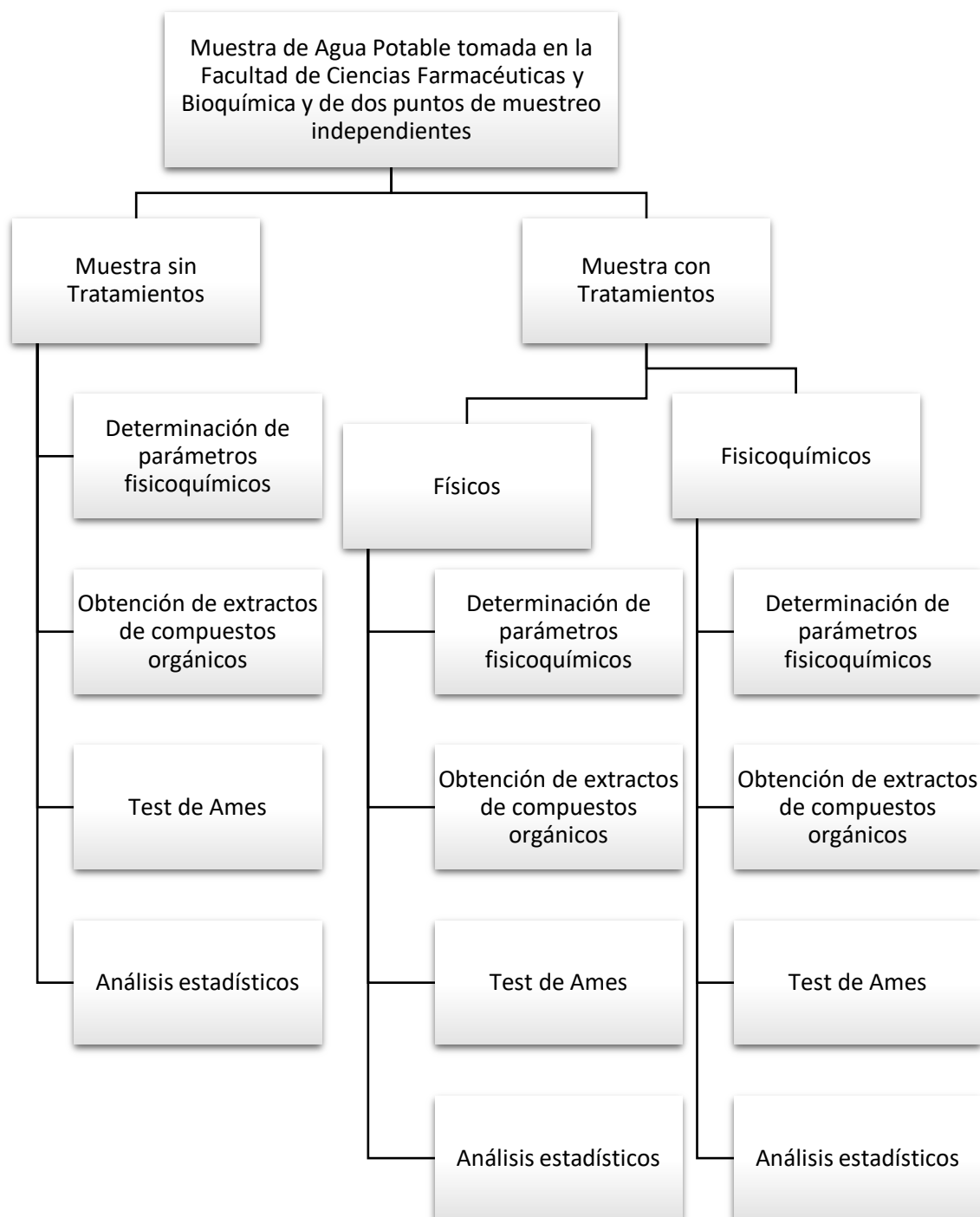
5.5 Tipo de Investigación

El presente trabajo de investigación es de tipo experimental.

5.6 Materiales, Métodos, Técnicas y Procedimientos a ser Empleados

Figura 9

Diseño Metodológico



Nota. *Elaboración propia.*

5.6.1 *Recolección de Muestra*

Se colectó muestra de agua potable de la Facultad de Ciencias Farmacéuticas y Bioquímica y de dos puntos de muestreo independientes, pertenecientes a las plantas de tratamiento de Achachicala y de Pampahasi se utilizó 90 litros por muestra la cuales se dividió en 12 litros para cada tratamiento y muestra sin tratamiento.

Para el control de los tratamientos se utilizó agua purificada (**Purificador de Agua Aquelix 5**) como control negativo, tomada del laboratorio de Biología Molecular de la Facultad de Ciencias Farmacéuticas y Bioquímicas.

Figura 10

Purificador de Agua Aquelix 5



Nota. El sistema de purificación de aguas **Aquelix** consta de dos tecnologías innovadoras: osmosis inversa que elimina hasta el 99% de los contaminantes presentes en agua potable y la electrodesionización-Elix, tecnología avanzada de desionización. Fotografía tomada en el laboratorio de la cátedra de Biología Molecular de la Facultad de Ciencias Farmacéuticas y Bioquímicas, UMSA.

5.6.2 *Tratamientos Físicos*

5.6.2.1 **Ebullición.**

El tratamiento de ebullición consistió en elevar la temperatura del agua hasta que empezó a hervir y se mantuvo en esa condición por un tiempo de 10 minutos, se utilizó una caldera de uso doméstico que tenía una capacidad de 4 litros.

Al finalizar el tiempo de ebullición se enfrió el agua para realizar el análisis de parámetros fisicoquímicos.

Figura 11

Tratamiento por Ebullición



Nota. Fotografía tomada en el laboratorio de la cátedra de Biología Molecular de la Facultad de Ciencias Farmacéuticas y Bioquímicas, UMSA.

5.6.2.2 Filtración por Carbón Activado.

Para el tratamiento de filtración con carbón activo, se empleó una columna que contenía un filtro de carbón activado adquirida de una casa comercial, la columna tuvo sistema de drenaje, por donde se introdujo y recolectó el agua.

Figura 12

Tratamiento por Filtración con Carbón Activado



Nota. Fotografía tomada en de la Facultad de Ciencias Farmacéuticas y Bioquímicas, UMSA.

5.6.3 Tratamientos Fisicoquímicos

5.6.3.1 Radiación UV con y sin TiO₂.

En un recipiente de vidrio se colocó un volumen 6 L de agua potable, el cual fue expuesto a luz UV (Ulix BALLAST, 220/240 V) por un tiempo de 1 hora con agitación constante.

En el caso del uso de TiO₂ se siguió similar protocolo anteriormente mencionado al cual se adicionó una concentración 0.2 g/L de TiO₂, impregnado en varillas de vidrio (Anexo B).

Figura 13

Tratamiento por Radiación Ultravioleta con y sin Dióxido de Titanio



Nota. Fotografía tomada en el laboratorio de la cátedra de Biología Molecular de la Facultad de Ciencias Farmacéuticas y Bioquímicas, UMSA.

5.6.3.2 Radiación solar con y sin TiO₂.

En este tratamiento se colocó la muestra en un recipiente de vidrio con capacidad de 6 litros de agua, el cual se expuso a la radiación solar durante 6 horas (Singh Grover et al. 2017).

En el caso del uso de TiO₂ se siguió similar protocolo anteriormente mencionado al cual se adicionó al agua una concentración 0.2 g/L de TiO₂, impregnado en varillas de vidrio (Anexo B).

Figura 14

Dióxido de titanio impregnado en varillas de vidrio



Nota. Varillas de vidrios impregnadas manualmente con TiO_2 al 2%, Fotografía tomada en el laboratorio de la cátedra de Biología Molecular de la Facultad de Ciencias Farmacéuticas y Bioquímicas, UMSA.

Figura 15

Tratamiento por Radiación Solar con y sin Dióxido de Titanio



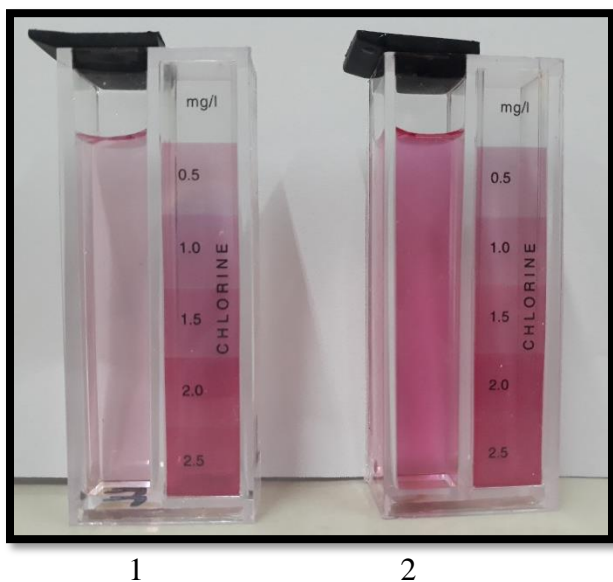
Nota. Fotografía tomada en el laboratorio de la cátedra de Biología Molecular de la Facultad de Ciencias Farmacéuticas y Bioquímicas, UMSA.

5.6.4 *Determinación de Cloro Total y Cloro Libre*

Se utilizó el kit comercial HANNA instruments, con el cual se midió la concentración del cloro total y cloro libre en todas las muestras analizadas.

Figura 16

Medición de cloro total y cloro libre



Nota. 1.- Cloro libre; 2.- cloro total, muestra sin tratamiento. Fotografía tomada en el laboratorio de la cátedra de Biología Molecular de la Facultad de Ciencias Farmacéuticas y Bioquímicas, UMSA.

5.6.5 *Medición de Potencial Redox, Temperatura, Conductividad, Resistencia, Salinidad y*

Sólidos Disueltos

Se midió por triplicado todos los parámetros fisicoquímicos con el Medidor multiparamétrico portátil, modelo: HQ40d de Ph, conductividad, oxígeno disuelto (DO), ORP (Marca: Hach), antes y después de cada tratamiento al que se expuso las muestras.

5.6.6 *Determinación de DQO/DBO*

La determinación de estos dos parámetros se realizó en el proyecto “Detección de la actividad mutagénica y microbiológica del agua potable domiciliaria, en la ciudad de La Paz”; donde se observó que los valores de DBO-5 y DQO, están dentro de lo aceptable; las muestras de agua que

fueron recolectadas en los mismos puntos de muestreo donde se realizó en el presente trabajo, siendo esta la razón por la cual no se determinó estos parámetros en este trabajo. Actualmente no se dispone de información acerca de los límites permisibles de ambos parámetros, pero según normas de otros países (España) para el agua potable los valores deben estar entre 0,75 – 1,5 mg/L, valores mayores significaría contaminación en el agua.

Tabla 10

Determinación de DQO y DBO en el proyecto “Detección de la actividad mutagénica y microbiológica del agua potable domiciliaria, en la ciudad de La Paz”

Código Muestra	DBO-5 (mg/L)	DQO (mg/L)
FB1	<0,20	<5,0
B1	<0,20	5,4
S1	9,3	35

Figura 17

Medidor multiparamétrico portátil



Nota. Fotografía tomada en el laboratorio de la cátedra de Biología Molecular de la Facultad de Ciencias Farmacéuticas y Bioquímicas, UMSA.

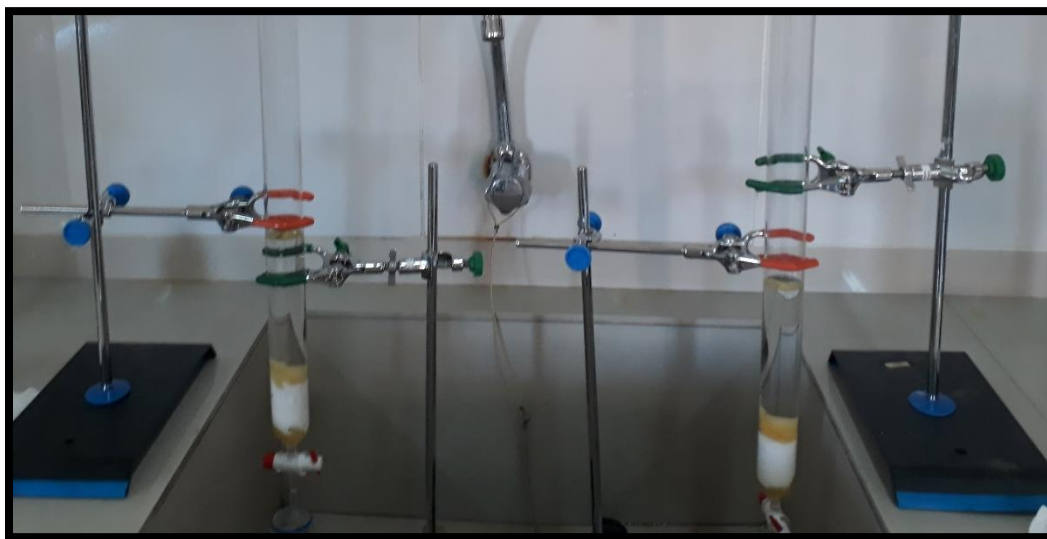
5.6.7 Extracción de los Compuestos Orgánicos

Las muestras de agua se acidificaron con ácido sulfúrico (0,5 ml de ácido sulfúrico en 2 L de agua), posteriormente se procedió a concentrar el material orgánico de cada muestra; para esto, el agua (12 L) se pasó por una columna de vidrio que contenía resina XAD-7 y resina XAD-2, previamente activadas (Anexo D).

El agua pasó a una velocidad lenta. El material orgánico de la columna fue consecutivamente eluído con acetona. Los solventes se retiraron por rotaevaporación a baja presión y 50°C hasta alcanzar la sequedad, finalmente, el extracto fue re suspendido con DMSO.

Figura 18

Columnas de filtración



Nota. Columnas de filtración de las muestras de agua potable empaquetadas con resinas XAD-7 y XAD-2, Fotografía tomada en el laboratorio de la cátedra de Biología Molecular de la Facultad de Ciencias Farmacéuticas y Bioquímicas, UMSA.

Figura 19

Extractos orgánicos de las muestras analizadas



Nota. Fotografía tomada en el laboratorio de la cátedra de Biología Molecular de la Facultad de Ciencias Farmacéuticas y Bioquímicas, UMSA.

5.6.8 Test de Ames

Se llevó a cabo el ensayo de retromutación en *Salmonella typhimurium* con la cepa TA 100 sin S9, capaz de detectar compuestos que provocan cambios de pares de bases. Las dosis que se analizaron fueron: 1 y 0.5 eq-L/placa.

Se realizó las pruebas fenotípicas correspondientes para cada una de las cepas (Anexo A). Después de verificar las características fenotípicas se llevó a cabo el ensayo de acuerdo al protocolo propuesto por Maron *et al.*, (1983). En un vial estéril se añadió 0.5 ml de Tampón fosfato 0.2 M, volumen variable de acuerdo al extracto, 0.1 ml del cultivo saturado y 2 ml de agar blando, previamente suplementado con la solución de trazas biotina/histidina y atemperado aproximadamente a 48 °C, se mezcló bien y se vertió el contenido sobre una superficie de Medio Mínimo Vogel Bonner con glucosa. Se incubó por 72 horas a 37 °C. Posteriormente se procedió al recuento de las colonias revertientes inducidas y espontáneas. el control positivo fue Azida sódica (2 ug/placa) y el control negativo fue el DMSO.

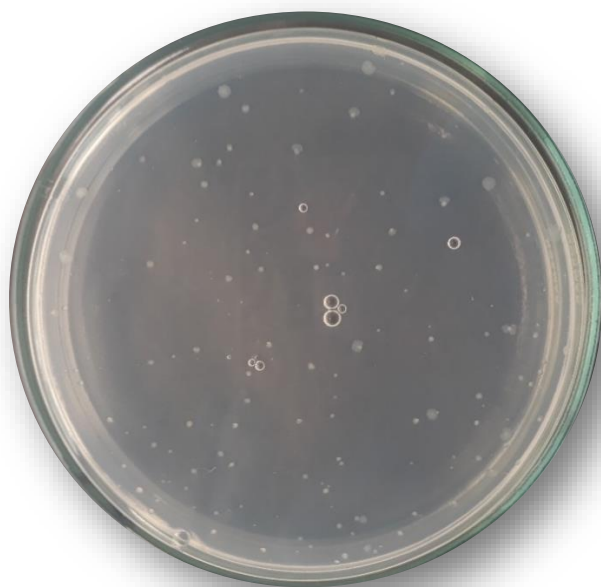
Los resultados se expresaron en términos del índice de mutagenicidad (IM) usando la siguiente fórmula:

$$IM = \frac{n^{\circ} \text{ de colonias revertientes inducidos}}{n^{\circ} \text{ de colonias revertientes espontaneos}}$$

Si el IM es ≥ 2 el tratamiento es considerado positivo, es decir, el compuesto es mutagénico, Si el IM es < 2 es negativo el compuesto es considerado no mutagénico (Maron *et al.*, 1983).

Figura 20

Test de Ames, cepa TA 100 placa de control negativo



Nota. Fotografía tomada en el laboratorio de la cátedra de Biología Molecular de la Facultad de Ciencias Farmacéuticas y Bioquímicas, UMSA. oración propia.

5.7 Análisis Estadístico

Para el análisis estadístico de la evaluación de la actividad mutagénica en el agua potable con y sin tratamiento se aplicó el análisis de varianza de dos vías (ANOVA) más una prueba post hoc (TUKEY), realizados con el programa estadístico R Studio.

Para analizar el comportamiento entre las variables de la calidad del agua y la actividad mutagénica, se aplicó prueba de correlación, para las variables de la calidad del agua, se utilizaron

los valores medios de los resultados de los análisis de parámetros fisicoquímicos y para variable de la actividad mutagénica se usaron los números de colonias revertantes. El análisis se hizo mediante el cálculo del coeficiente de correlación de Pearson para datos paramétricos con el programa R Studio.

6 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Protocolos de tratamientos

El manejo doméstico del agua potable es importante para la preservación de la calidad del mismo, en este trabajo se empleó protocolos para el tratamiento del agua recolectada en los domicilios, consistiendo en procesos físicos y fisicoquímicos, constituyendo así, una alternativa para el control de agentes mutagénicos.

Ebullición

Se trata de un método sencillo, dado que solo es necesario el control visual para comprobar que el agua ha alcanzado la temperatura deseada, esto ocurre con la aparición de grandes burbujas.

El tratamiento se realizó en una caldera de uso doméstico con capacidad de 4 L, alcanzado una temperatura de ebullición de 86°C, y se mantuvo en esta condición por el lapso de 10 minutos utilizando un calentador eléctrico, obteniendo resultados óptimos en la disminución de la actividad mutagénica, comprobables con los resultados de (Pérez 2020), donde eliminaron de manera efectiva la mayoría de los subproductos de la desinfección por ebullición; siendo un método eficaz a nivel del hogar, ya que no sola elimina subproductos de la desinfección si no también microorganismos y es fácil de emplear.

Filtración por Carbón Activado

El uso del carbón activado en el tratamiento del agua, presenta los mejores resultados en la disminución de la actividad mutagénica gracias a que es un buen adsorbente en la captura iones metálicos inorgánicos, orgánicos y tóxicos que contaminan los recursos hídricos (El Gamal et al. 2018). El protocolo de filtración por carbón activado se llevó a cabo con una presión equivalente a 2.5 m de altura, a temperatura ambiente, las ventajas del carbón activado radican en su facilidad de uso después de instalado, ya que no se requiere equipo de almacenamiento y dosificación, pero

principalmente por que trata el agua de manera continua -independientemente de las fluctuaciones de los niveles de los contaminantes- y a que es posible su reactivación, situaciones por las que el costo por volumen de agua tratada resulta relativamente bajo. (Carbotecnia 2007).

Radiación Solar

El tratamiento por radiación solar es una solución simple, de bajo costo y ambientalmente sostenible para el tratamiento de agua para consumo humano a nivel doméstico.

El procedimiento empleado consistió en utilizar un recipiente de vidrio con una dimensión de 40 x 40 cm y una altura de 15 cm donde se trató el agua con irradiación de 500 W/m² durante 6 horas con agitación constante; la utilización de la radiación solar combina dos efectos: la radiación ultravioleta en el espectro de luz UV-A (longitud de onda 315-400 nm) y el calor (aumento de la temperatura del agua). Se produce una sinergia entre estos dos efectos, ya que el efecto combinado de ambos es mucho mayor que la suma de cada uno de ellos independientemente (Meierhofer y Wegelin 2002). obteniendo efecto buenos sobre la disminución de la actividad mutagénica; resultados comparables con los obtenidos en el estudio de (Teksoy y Çalışkan Eleren 2017), en el que observaron disminución de los subproductos de la desinfección en muestras de aguas que fueron tratadas con la radiación solar.

Radiación Ultravioleta

De igual manera que el tratamiento por radiación solar se utilizó el mismo recipiente variando el tiempo de contacto a 1 hora, la muestra de agua potable se irradia con luz UV (Ulix BALLAST, 220/240 V).

Una de las mayores ventajas de este método es que luego de terminado el proceso no deja residuales en el agua que combinados con otros compuestos lleguen a ser perjudiciales para la salud de quienes la consuman.

La utilización de la tecnología de luz UV requiere del conocimiento de factores técnicos de aplicación como el grado de desinfección que se requiere, la intensidad de radiación, el intervalo de tiempo y la dosis que se debe aplicar (Holguín Valdés 2018).

Dióxido de Titanio

El empleo del TiO_2 en los tratamientos de radiación fue factible gracias a la impregnación del dióxido de titanio en varilla de borosilicato; fueron expuestas directamente en el agua a tratar. Se obtuvo resultados óptimos, ya que el TiO_2 se recuperó fácilmente y no hubo desprendimientos de este, en el agua; este proceso se pudo aprovechar tanto en el tratamiento de radiación solar con luz UV como fuente natural y con en el tratamiento por radiación ultravioleta con fuente artificiales como lámparas comerciales, mercurio, que emiten radiación UV (Guo et al. 2016).

La oxidación avanzada usa la energía de la luz UV sola o en combinación con oxidantes que se agregan para promover la destrucción de químicos orgánicos peligrosos. Sin embargo, la oxidación avanzada usa una dosis mayor que la utilizada para desinfección UV para obtener resultados prácticos de oxidación con una amplia variedad de compuestos orgánicos.

Con el empleo de estos tratamientos y el análisis de test de Ames de los extractos orgánicos obtenidos a partir de las muestras de agua potable, se determinó el índice de mutagenicidad, en base al número de colonias revertantes inducidas y el número de colonias revertantes espontáneas. La presencia de compuestos mutagénicos produce un IM mayor o igual a 2, como se observa en las muestras de agua potable inicial de los muestreos realizados en concentración de 1 L, tabla 10 (IM= 2.48), tabla 12 (IM= 2.98), tabla 13 (IM= 3.32), tabla 14 (IM= 2.20), y en la concentración de 0.5 L podemos observar que solo en dos muestreos existe actividad mutagénica, tabla 12 (IM= 2.80) y tabla 13 (IM= 2.49), en los demás extractos de todos los muestreos, se observó un efecto positivo entre el tratamiento y la concentración con respecto a la actividad mutagénica, donde el

IM directamente proporcional a la concentración, mostrando así, mayor IM en la concentración en 1 L y menor IM en 0.5 L.

En el proyecto “Detección de la Actividad Mutagénica y Microbiológica del Agua Potable Domiciliaria, en la Ciudad de La Paz”(Sánchez and Aliaga 2018), evidenciaron que las muestras B1 (2,71), FB1 (2,12) y S1 (2,15) presentaban actividad mutagénica, muestras pertenecientes a las plantas de tratamiento de Achachicala y Pampahasi. En el presente trabajo las muestras de agua potable fueron tomadas en los mismos puntos de muestreo, ratificando que la actividad mutagénica persiste y e inclusive aumenta en comparación a los resultados presentado en el proyecto (Sánchez and Aliaga 2018).

Se evidencio que los resultados fueron satisfactorios en el cambio de la actividad mutagénica de las muestras tratadas en comparación con las muestras sin tratar, en los diferentes muestreos, obteniendo disminución de los índices de mutagenicidad en el test de Ames, (tablas 10, 11, 12, 13 y 14).

En las figuras 23, 25, 27, 29 y 31 se observa la efectividad de cada de tratamiento en la disminución de la actividad mutagénica y con el análisis de variancia comprobamos que los resultados son estadísticamente significativos ($p < 0,05$) (tablas 15, 16, 17, 18 y 19).

La prueba de Tukey confirma si las diferencias de los resultados de los tratamientos aplicados, tienen valores promedio significativos y honestamente distintos (figuras 24, 26, 28, 30 y 32). Los niveles de confianza individuales de cada comparación entre tratamientos producen de nivel de confianza simultáneo de 95%.

Siguiendo un orden descendiente:

Muestreo 1: AsT-ApC > AsT-ApU > AsT-ApE > AsT-ApS > AsT-ApStio > AsT-ApUtio.

Muestreo 2: AsT-ApUtio > AsT-ApC > AsT-ApE > AsT-ApU > AsT-ApStio > AsT-ApS

Se observa que, en los dos primeros muestreos (tablas 10 y 11) (figuras 23 y 25), todos los tratamientos empleados presentan resultados favorables en la disminución del índice de mutagenicidad, sin embargo, el tratamiento de filtración por carbón activado y por ebullición, tienen mejores resultados, en comparación con los tratamientos de radiación solar y radiación ultravioleta con y sin TiO_2 .

Estos resultados son comparables con los que obtuvieron Chowdhury y colaboradores en el año 2019, donde aplicaron tratamientos al agua para evaluar sus efectos sobre los niveles de trihalometanos (DBP). Entre estos tratamientos se incluyeron la ebullición del agua y filtrado mediante carbón activo, presentando unos valores de reducción elevada en los niveles de trihalometanos (77-93 % respecto al valor inicial), resultando ser bastante eficientes (Chowdhury et al. 2019), al igual en el estudio de (Hernández Sánchez et al. 2011) el tratamiento por ebullición tiene alta eficacia en la reducción trihalometanos, con una reducción del 83%.

Los tratamientos por ebullición y filtración por carbón activado, además de presentar los mejores resultados en la disminución de la actividad mutagénica, son accesibles y fáciles de ser empleados a nivel domiciliario, por lo consiguiente se decidió aplicar estos tratamientos en los últimos 3 muestreos (tablas 12, 13 y 14).

Muestreo 3: AsT-ApC > AsT-ApE

Muestreo 4: AsT-ApC > AsT-ApE

Muestreo 5: AsT-ApC > AsT-ApE

En las muestras filtradas por carbón activado se puede observar que el tratamiento es eficaz en la disminución del índice de mutagenicidad obteniendo óptimos resultados en los muestreos

realizados. El tratamiento por ebullición, de igual manera, es eficaz en la disminución del índice de mutagenicidad, aunque en menor grado que filtración por carbón activado.

La eficiencia del tratamiento por carbón activado se atribuye a la capacidad que posee de adherir o retener en su superficie uno o más componentes (átomos, moléculas, iones) del líquido que está en contacto con él. El carbón activado se caracteriza por poseer una superficie específica (alrededor de 500 a 1500m² por gramo) con una infinita cantidad de poros muy finos que son los que retienen (adsorben) compuestos orgánicos del agua (Chiclote Gonzales 2018).

Sin embargo, las propiedades adsorbentes de un carbón activado no sólo están definidas por su estructura porosa, sino también por su naturaleza química. El carbón activado presenta en su estructura átomos de carbono con valencia insaturada y, además, grupos funcionales (principalmente de oxígeno) y componentes inorgánicos responsables de las cenizas, todos ellos con un efecto importante en los procesos de adsorción. Los grupos funcionales de oxígeno hacen que la superficie del carbón se haga químicamente reactiva y esa es la razón por la que afectan las propiedades adsorbentes, especialmente para moléculas de cierto carácter polar. Así, el carbón activado puede ser considerado en principio como hidrófobo por su poca afinidad por el agua, lo que es muy importante en aplicaciones como la adsorción de gases en presencia de humedad, o de especies en disolución acuosa; pero la presencia de grupos funcionales en la superficie del carbón activado hace que puedan interaccionar con el agua, haciendo que la superficie sea más hidrófila (Rodríguez Reinoso 2006).

El tratamiento de filtración por carbón activado es las técnicas de elección debido a su mejor rendimiento en la reducción de THM y HAA, y aplicaciones prácticas en el entorno interior, la técnica de filtración redujeron los THM y HAA en los rangos de 77 a 82,5% y de 64,7 a 69,1% respectivamente según (Gängler et al. 2017).

En el trabajo de Hard Gordon, “Re-evaluation of the 2-Year Chloroform Drinking Water Carcinogenicity Bioassay in Osborne-Mendel Rats Supports Chronic Renal Tubule Injury as the Mode of Action Underlying the Renal Tumor Response” se reportó reducción de los niveles de subproductos de desinfección en aguas, mediante el empleo filtros de carbón activado de 93 a 99% (Hard and Boorman 2000).

En cuanto al tratamiento por ebullición por la volatilización representa una manera efectiva para reducir la concentración de subproductos de la desinfección en agua potable, por lo que representa una solución inmediata para tratar el agua en los hogares en donde se presenten altas tasas de generación.

(Rahman et al. 2011) informaron de un 68 a 98% de eliminación de THM después de uno a cinco minutos de ebullición, mientras que (Carrasco-turigas et al. 2013) informaron una reducción del 83% de la medicina tradicional china después de cinco minutos de ebullición. (Gao, Proulx, and Rodriguez 2020) informaron de la reducción de los THM en un 82-82,8% después de hervir el agua del grifo durante 30 s, que se redujeron aún más durante el almacenamiento en una jarra abierta.

Las pérdidas de THM serán significativas si el agua se hierve o se almacena en un recipiente abierto y agitado durante un período de horas, correspondiente a la preparación de bebidas calientes y algunas actividades de cocción. Los resultados tanto teóricos como experimentales indican que las tasas de volatilización (Alegre et al. 2021).

Tabla 11

Índice de mutagenicidad y Número de colonias revertantes inducidos por los extractos orgánicos del muestreo 1 (Promedio \pm DS)

Extractos	[(Eq- L/Placa)	Rev 1	Rev 2	Rev 3	Promedio+DS	IM
Control (Agua Purificada)	1 L	112	129	130	123.67 \pm 8.26	1.04
	0,5 L	109	105	114	109.33 \pm 3.68	0.92
Agua Potable sin Tratamientos	1 L	486	392	380	419.33 \pm 47.39	2.48
	0,5 L	210	216	234	220.00 \pm 10.20	1.30
Ebullición	1 L	205	292	230	242.33 \pm 36.57	1.43
	0,5 L	110	216	191	172.33 \pm 45.24	1.02
Carbón Activado	1 L	113	123	101	112.33 \pm 8.99	1.29
	0,5 L	107	79	91	92.33 \pm 11.47	1.06
Radiación UV sin TiO₂	1 L	103	130	120	117.67 \pm 11.15	1.35
	0,5 L	124	114	100	112.67 \pm 9.84	1.30
Radiación UV con TiO₂	1 L	115	142	126	127.67 \pm 11.09	1.47
	0,5 L	154	99	117	123.33 \pm 22.90	1.42
Radiación Solar sin TiO₂	1 L	243	240	264	249.00 \pm 10.68	1.47
	0,5 L	232	184	176	197.33 \pm 24.73	1.17
Radiación Solar con TiO₂	1 L	198	211	203	204.00 \pm 5.35	1.21
	0,5 L	316	275	NA	295.40 \pm 20.50	1.75

Nota. En los resultados del muestreo 1, la muestra sin tratamiento tiene un IM de 2.48 en concentración de 1 L y 1.30 en concentración de 0.5 L; se observa que en las muestras tratadas existe disminución del IM.

Tabla 12

Índice de mutagenicidad y Número de colonias revertantes inducidos por los extractos orgánicos del muestreo 2 (Promedio \pm DS)

Extractos	[(Eq- L/Placa)	Rev 1	Rev 2	Rev 3	Promedio+ DS	IM
Control (Agua Purificada)	1 L	112	129	130	123.67 \pm 8.26	1.04
	0,5 L	109	105	114	109.33 \pm 3.68	0.92
Agua Potable sin Tratamientos	1 L	188	194	224	202.00 \pm 15.75	1.51
	0,5 L	168	171	159	166.00 \pm 5.10	1.24
Ebullición	1 L	168	180	136	161.33 \pm 18.57	1.20
	0,5 L	148	140	216	168.00 \pm 34.10	1.25
Carbón Activado	1 L	156	180	140	158.67 \pm 16.44	1.18
	0,5 L	140	176	90	135.33 \pm 35.26	1.01
Radiación UV sin TiO₂	1 L	137	155	116	136.00 \pm 15.94	1.14
	0,5 L	196	158	142	165.33 \pm 22.65	1.39
Radiación UV con TiO₂	1 L	157	110	25	97.33 \pm 54.63	0.82
	0,5 L	98	97	130	108.33 \pm 15.33	0.91
Radiación solar sin TiO₂	1 L	149	145	100	131.33 \pm 22.22	1.73
	0,5 L	148	104	128	126.67 \pm 17.99	1.67
Radiación solar con TiO₂	1 L	99	49	110	86.00 \pm 26.55	1.13
	0,5 L	78	132	130	113.33 \pm 25.00	1.49

Nota. En los resultados del muestreo 2, la muestra sin tratamiento tiene un IM de 1.51 en concentración de 1 L y 1.24 en concentración de 0.5 L; se observa que en las muestras tratadas existe disminución del IM.

Tabla 13

Índice de mutagenicidad y Número de colonias revertantes inducidos por los extractos orgánicos del muestreo 3 (Promedio \pm DS)

Extractos	[(Eq-L/Placa)	Rev 1	Rev 2	Rev 3	Promedio+DS	IM
Control (Agua Purificada)	1 L	112	129	130	123.67 \pm 8.26	1.04
	0,5 L	109	105	114	109.33 \pm 3.68	0.92
Agua Potable sin Tratamientos	1 L	293	273	300	288.67 \pm 11.44	2.98
	0,5 L	269	302	244	271.67 \pm 23.75	2.80
Ebullición	1 L	152	152	144	149.33 \pm 3.77	1.54
	0,5 L	164	80	120	121.33 \pm 34.31	1.25
Carbón Activado	1 L	113	143	111	122.33 \pm 14.64	1.26
	0,5 L	101	56	81	79.33 \pm 18.41	0.82

Nota. En los resultados del muestreo 3, la muestra sin tratamiento tiene un IM de 2.98 en concentración de 1 L y 2.80 en concentración de 0.5 L; se observa que en las muestras tratadas existe disminución del IM.

Tabla 14

Índice de mutagenicidad y Número de colonias revertantes inducidos por los extractos orgánicos del muestreo 4 (Promedio \pm DS)

Extractos	[(Eq-L/Placa)	Rev 1	Rev 2	Rev 3	Promedio+DS	IM
Control (Agua Purificada)	1 L	112	129	130	123.67 \pm 8.26	1.04
	0,5 L	109	105	114	109.33 \pm 3.68	0.92
Agua Potable sin Tratamientos	1 L	343	301	323	322.33 \pm 17.15	3.32
	0,5 L	269	222	234	241.67 \pm 19.94	2.49
Ebullición	1 L	182	163	200	181.67 \pm 15.11	1.87
	0,5 L	158	145	56	119.67 \pm 45.33	1.23
Carbón Activado	1 L	151	180	140	157.00 \pm 16.87	1.62
	0,5 L	110	116	131	119.00 \pm 8.83	1.23

Nota. En los resultados del muestreo 4, la muestra sin tratamiento tiene un IM de 3.32 en concentración de 1 L y 2.49 en concentración de 0.5 L; se observa que en las muestras tratadas existe disminución del IM.

Tabla 15

Índice de mutagenicidad y Número de colonias revertantes inducidos por los extractos orgánicos del muestreo 5 (Promedio \pm DS)

Extractos	[(Eq-L/Placa)	Rev 1	Rev 2	Rev 3	Promedio+Ds	IM
Control	(Agua 1 L	112	129	130	123.67 \pm 8.26	1.04
Purificada)	0,5 L	109	105	114	109.33 \pm 3.68	0.92
Agua Potable sin	1 L	156	284	199	213.00 \pm 53.19	2.20
Tratamientos	0,5 L	168	196	158	174.00 \pm 16.08	1.79
Ebullición	1 L	148	176	214	179.33 \pm 27.05	1.85
	0,5 L	204	134	152	163.33 \pm 29.68	1.68
Carbón Activado	1 L	99	148	181	142.67 \pm 33.69	1.47
	0,5 L	119	103	79	100.33 \pm 16.44	1.03

Nota. En los resultados del muestreo 5, la muestra sin tratamiento tiene un IM de 2.20 en concentración de 1 L y 1.79 en concentración de 0.5 L; se observa que en las muestras tratadas existe disminución del IM.

Tabla 16

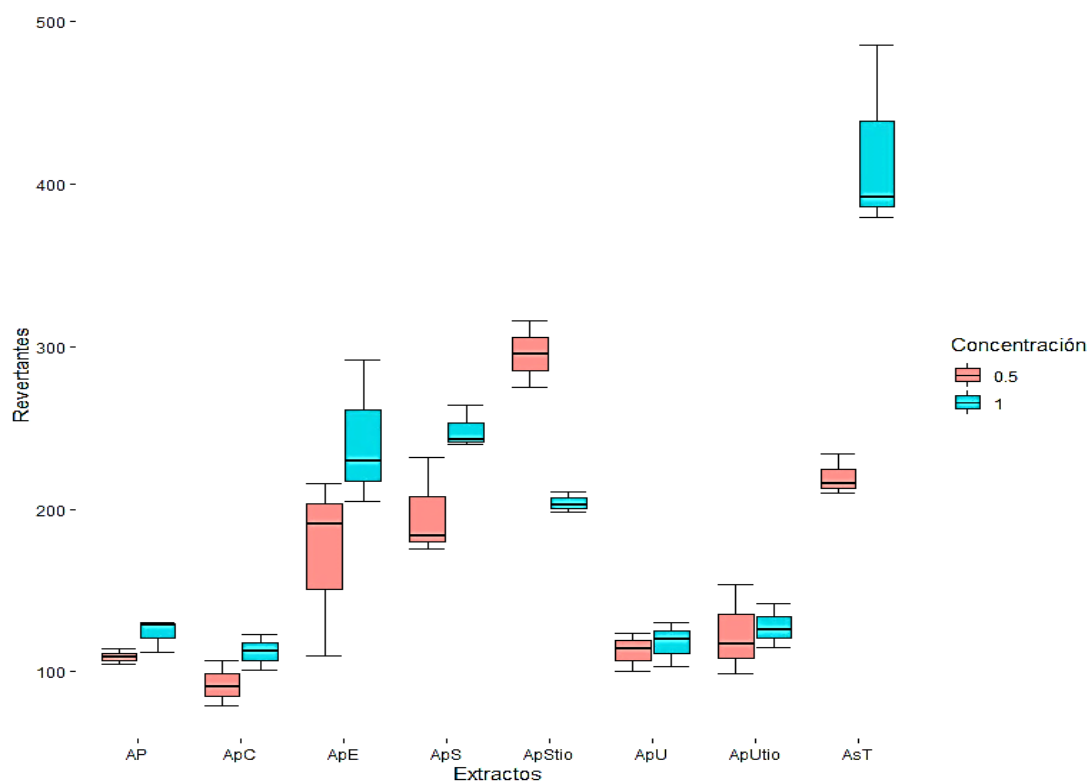
Análisis de Varianza (ANOVA), muestreo 1

	Df	Sum	Sq Mean	F value	Pr(>F)
Extractos	7	254493	36356	47.366	8.403e-15 ***
Concentración	1	16337	16337	21.284	6.483e-05 ***
Extractos:Concentración	7	65638	9377	12.216	2.212e-07 ***
Residual	31	23794	768		

Nota. El análisis realizado sobre el número de revertantes, muestra que, entre los tratamientos (extractos) y las concentraciones, las diferencias son significativas ($p < 0,05$), Signif. codes: 0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1.

Figura 21

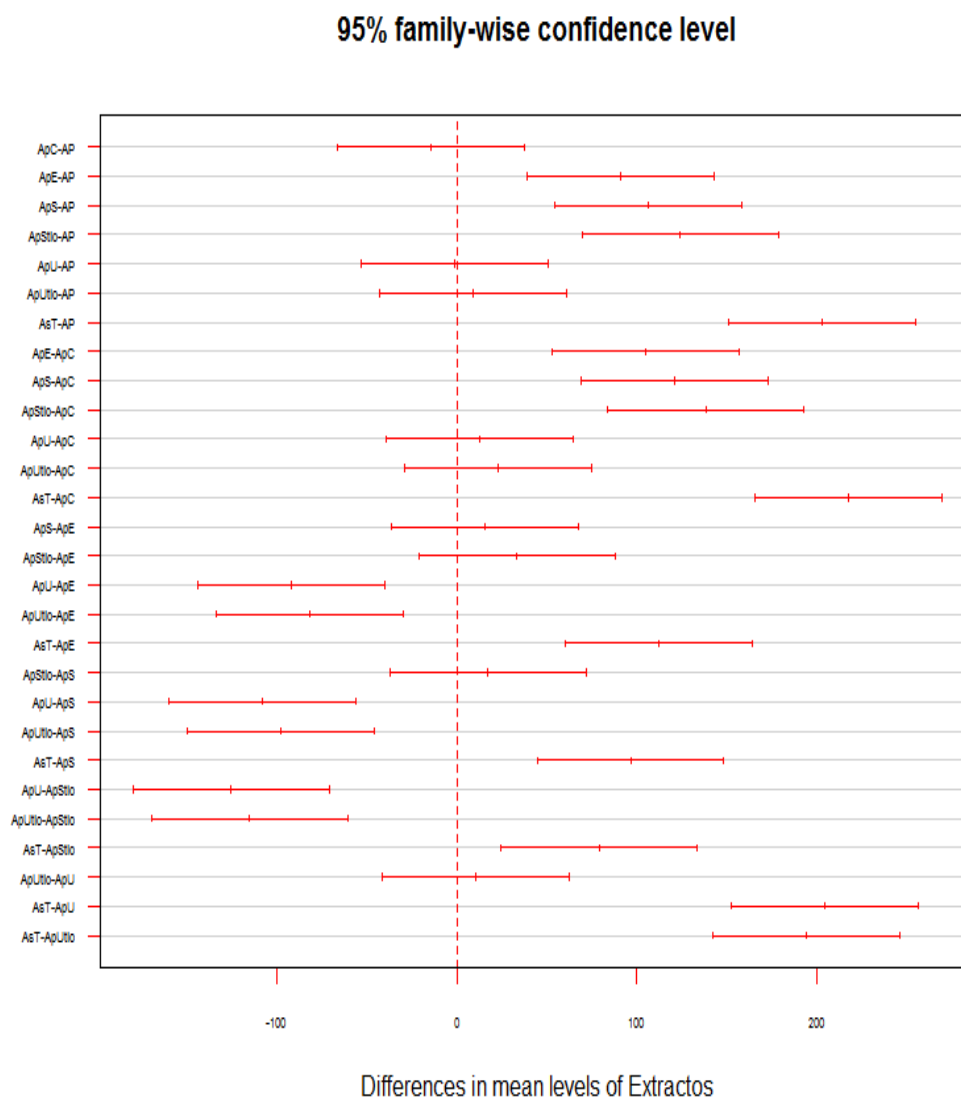
Comparación de número de revertantes del extracto de agua potable inicial con los extractos de agua potable sometidos a tratamientos, muestreo 1



Nota. En los resultados del muestreo 1, se observa que el tratamiento filtración por carbón activado y radiación ultravioleta presenta mejores resultados en la disminución del número de revertantes.

Figura 22

Diferencias de medias entre tratamientos (extractos) y el agua potable inicial, muestreo 1



Nota. Prueba TUKEY (Anexo F)

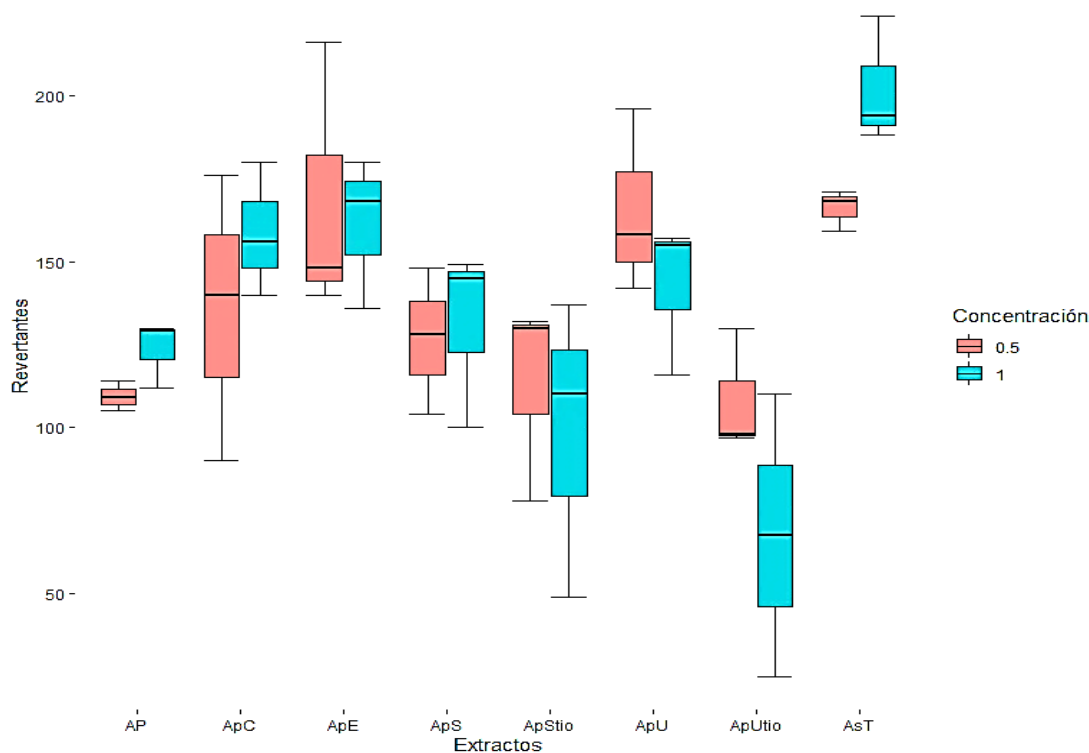
Tabla 17*Análisis de Varianza (ANOVA), muestreo 2*

	Df	Sum	Sq Mean	F value	Pr(>F)
Extractos	7	38960	5565.8	6.7805	6.543e-05 ***
Concentración	1	1	0.5	0.0007	0.9798
Extractos:Concentración	7	6262	894.5	1.0898	0.3936
Residual	31	25446	820.9		

Nota. El análisis realizado sobre el número de revertantes, muestra que los tratamientos (extractos) las diferencias son significativas ($p < 0,05$), Signif. codes: 0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

Figura 23

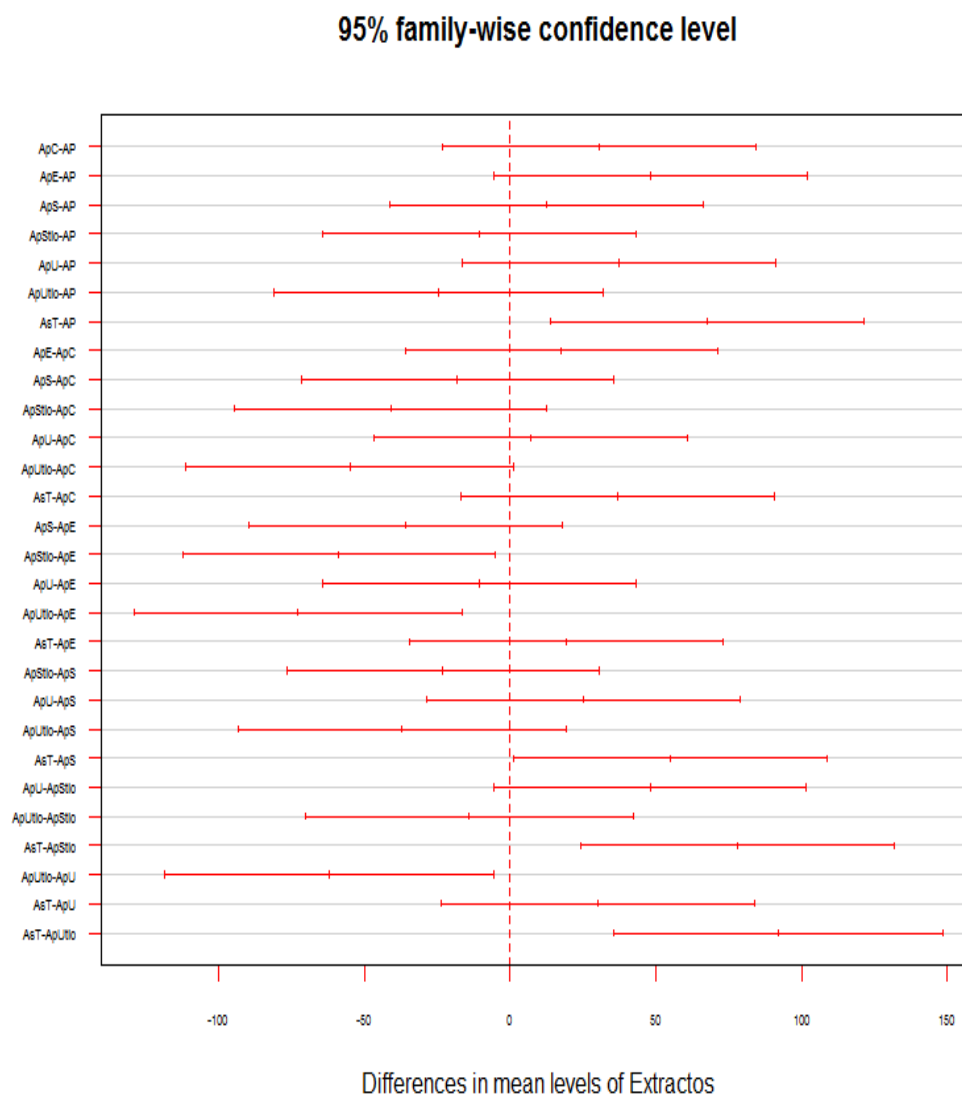
Comparación de número de revertantes del extracto de agua potable inicial con los extractos de agua potable sometidos a tratamientos, muestreo 2



Nota. En los resultados del muestreo 2, se observa que el tratamiento filtración por carbón activado y radiación solar presentan mejores resultados en la disminución del número de revertantes.

Figura 24

Diferencias de medias entre tratamientos (extractos) y el agua potable inicial, muestreo 2



Nota. Prueba TUKEY (Anexo F)

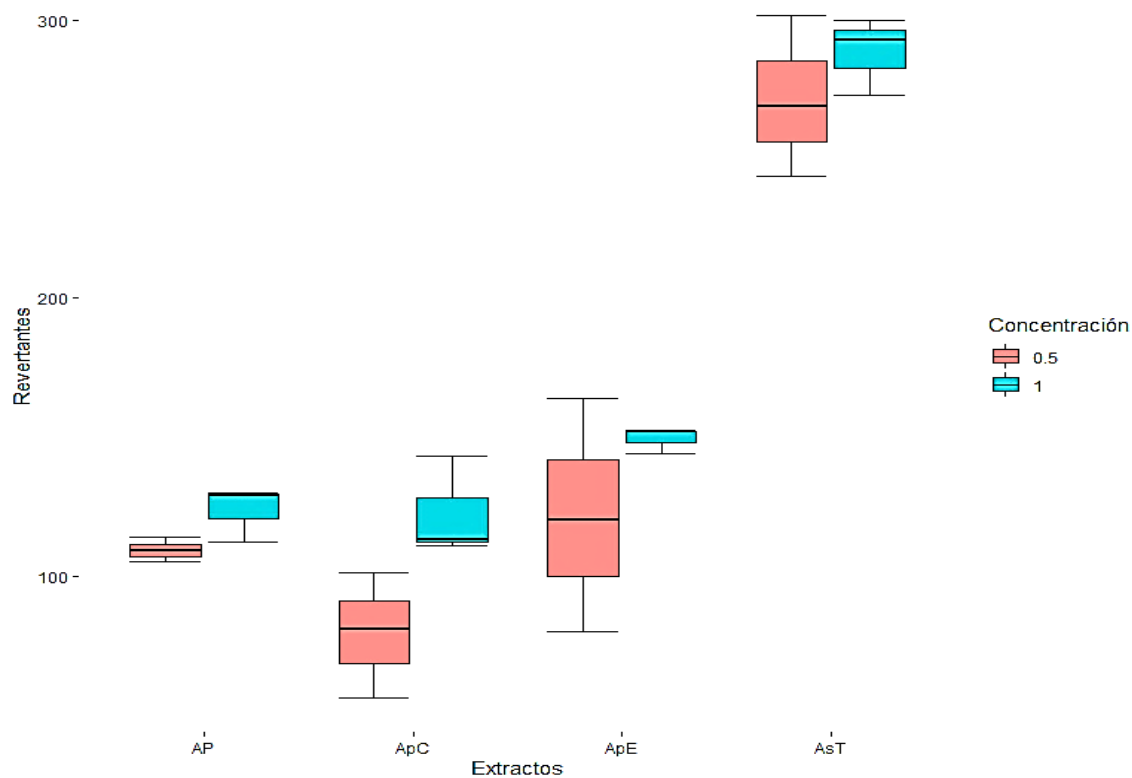
Tabla 18*Análisis de Varianza (ANOVA), muestreo 3*

	6.1	Df Sum	Sq Mean	F value	Pr(>F)
Extractos	3	122571	40857	86.4321	4.232e-10 ***
Concentración	1	3927	3927	8.3075	0.01083 *
Extractos:Concentración	3	764	255	0.5388	0.66246
Residual	16	7563	473		

Nota. El análisis realizado sobre el número de revertantes, muestra que los tratamientos (extractos) las diferencias son significativas ($p < 0,05$), Signif. codes: 0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

Figura 25

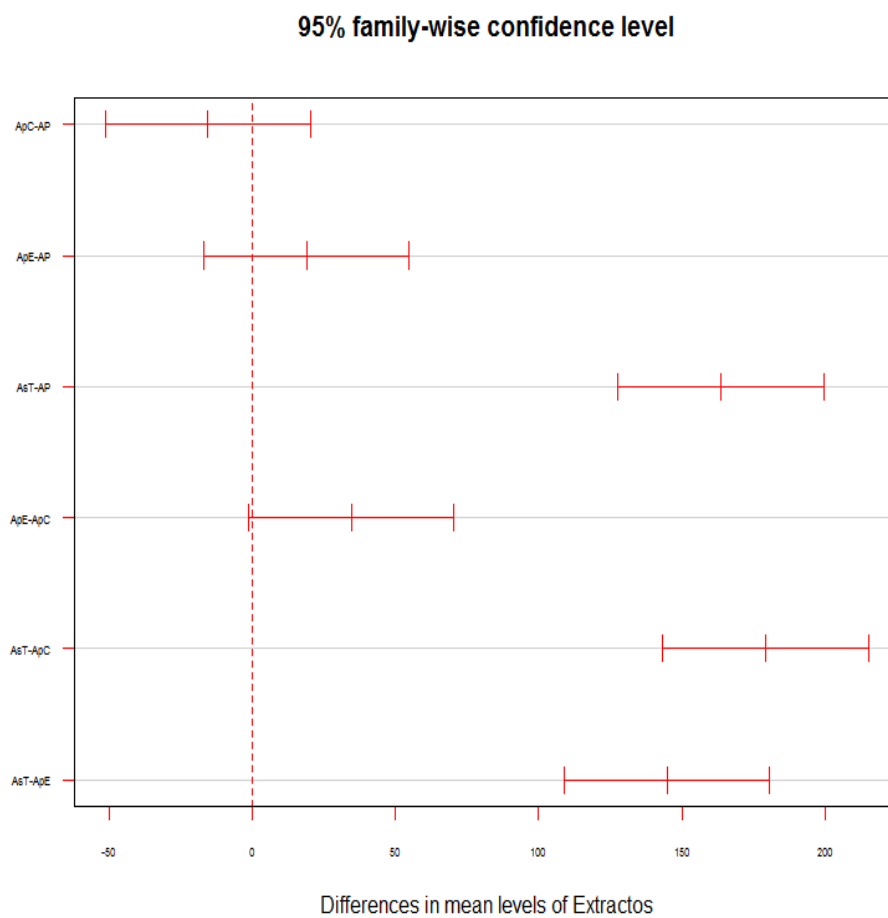
Comparación de número de revertantes del extracto de agua potable inicial con los extractos de agua potable sometidos a tratamientos, muestreo 3



Nota. En los resultados del muestreo 3, se observa que el tratamiento filtración por carbón activado presenta mejores resultados en la disminución del número de revertantes.

Figura 26

Diferencias de medias entre tratamientos (extractos) y el agua potable inicial, muestreo 3



Nota. Prueba TUKEY (Anexo F)

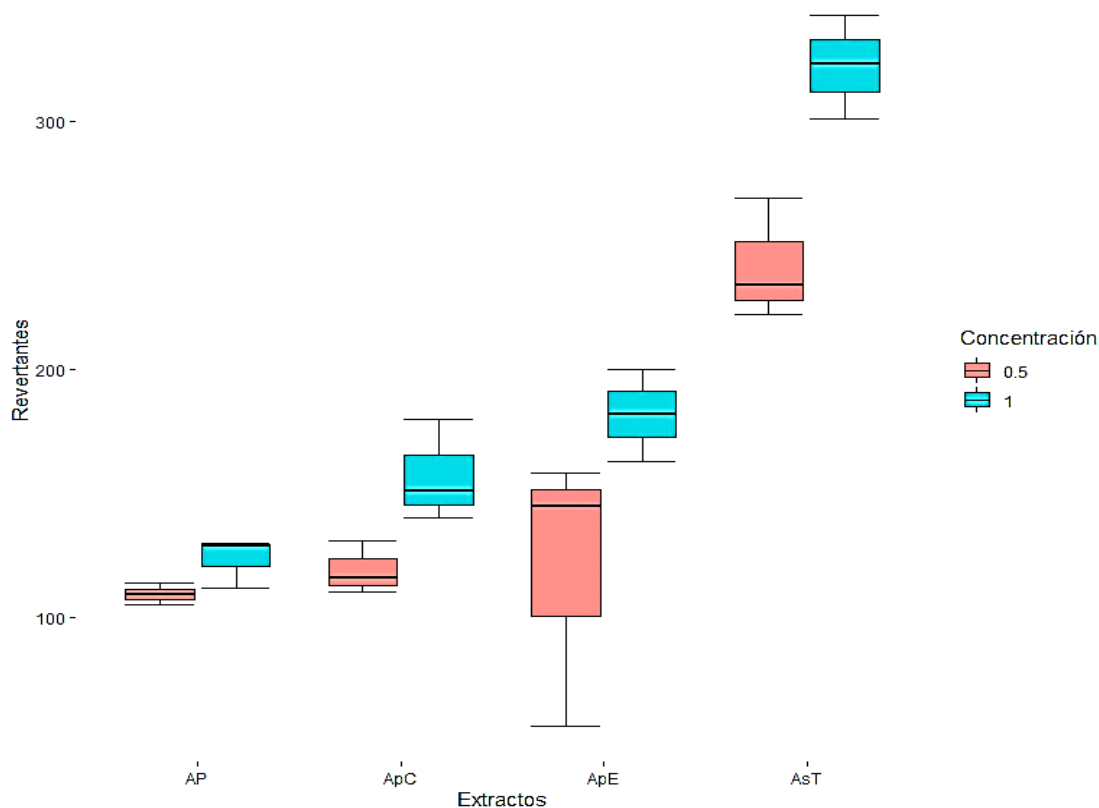
Tabla 19*Análisis de Varianza (ANOVA), muestreo 4*

	Df	Sum	Sq Mean	F value	Pr(>F)
Extractos	3	100747	33582	52.3804	1.701e-08 ***
Concentración	1	14259	14259	22.2412	0.0002331 ***
Extractos:Concentración	3	3741	1247	1.9453	0.1630150
Residuals	16	10258	641		

Nota. El análisis realizado sobre el número de revertantes, muestra que los tratamientos (extractos) las diferencias son significativas ($p < 0,05$), Signif. codes: 0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

Figura 27

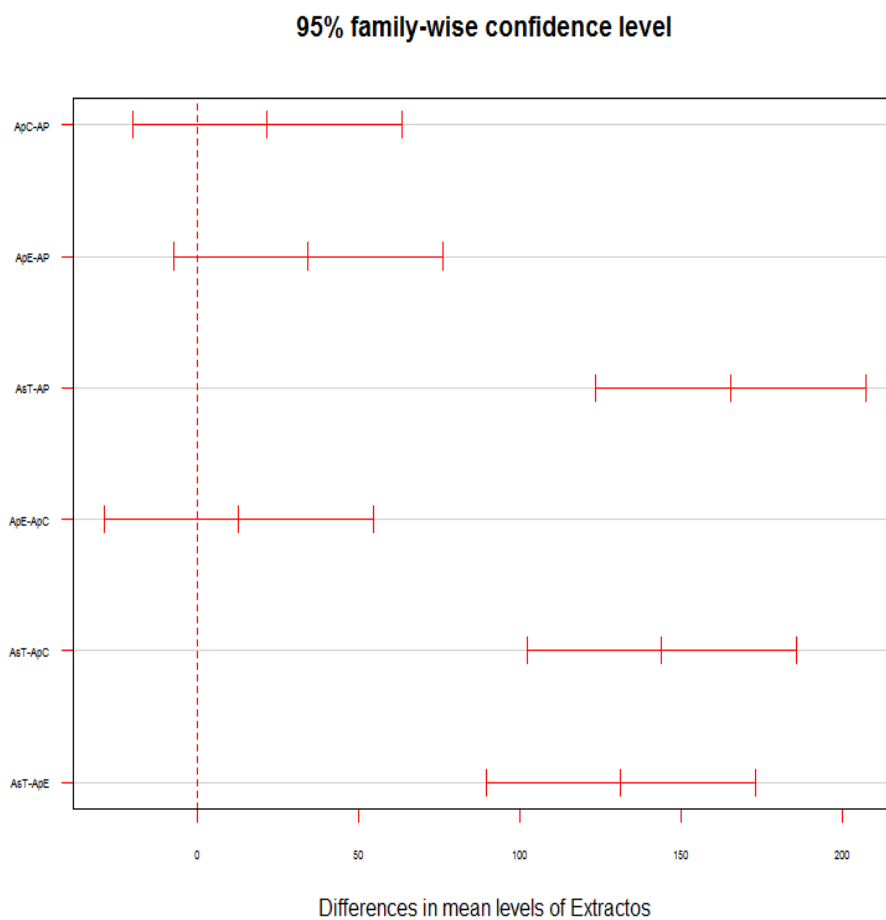
Comparación de número de revertantes del extracto de agua potable inicial con los extractos de agua potable sometidos a tratamientos, Muestreo 4



Nota. En los resultados del muestreo 4, se observa que el tratamiento filtración por carbón activado presenta mejores resultados en la disminución del número de revertantes.

Figura 28

Diferencias de medias entre tratamientos (extractos) y el agua potable inicial, muestreo 4



Nota. Prueba TUKEY (Anexo F)

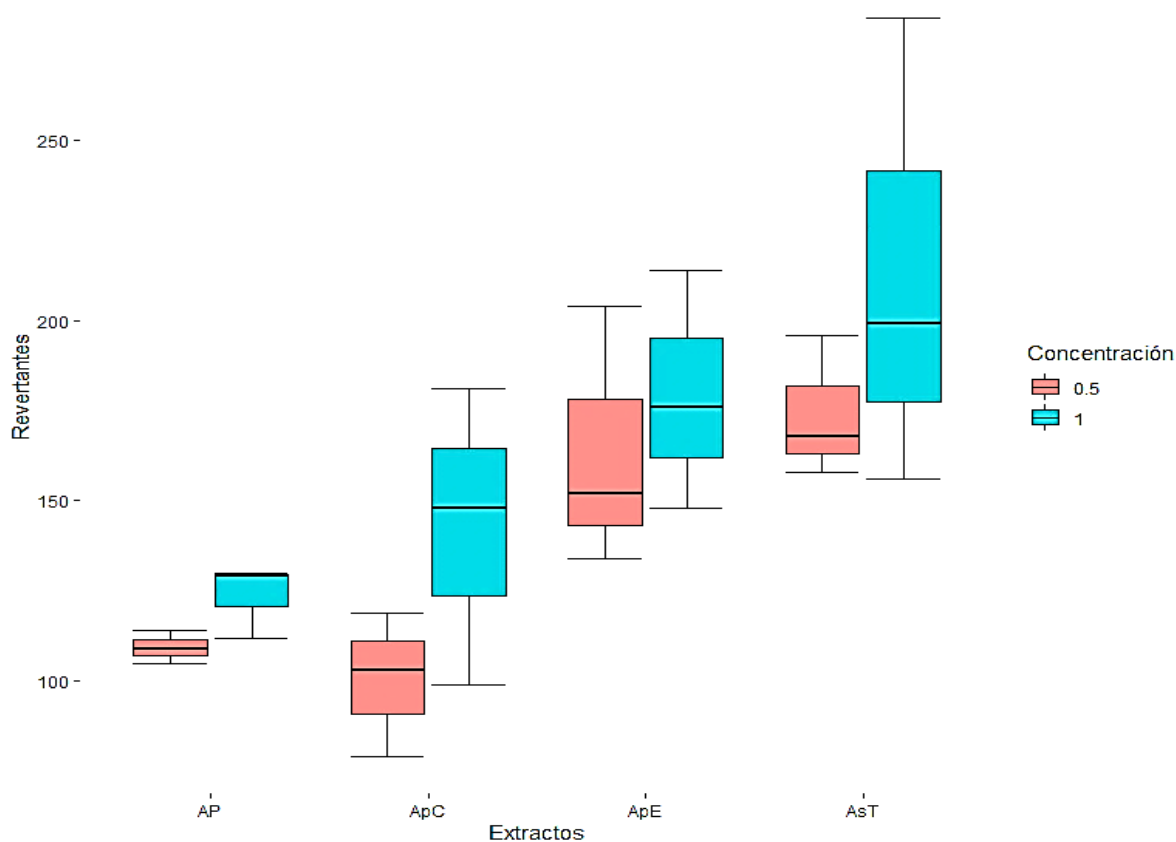
Tabla 20*Análisis de Varianza (ANOVA), muestreo 5*

	Df	Sum	Sq Mean	F value	Pr(>F)
Extractos	3	25679.1	8559.7	7.3791	0.002536 **
Concentración	1	4676.0	4676.0	4.0311	0.061864
Extractos:Concentración	3	985.8	328.6	4.0311	0.836721
Residuals	16	18560.0	1160.0		

Nota. El análisis realizado sobre el número de revertantes, muestra que los tratamientos (extractos) las diferencias son significativas ($p < 0,05$), Signif. codes: 0 '****' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

Figura 29

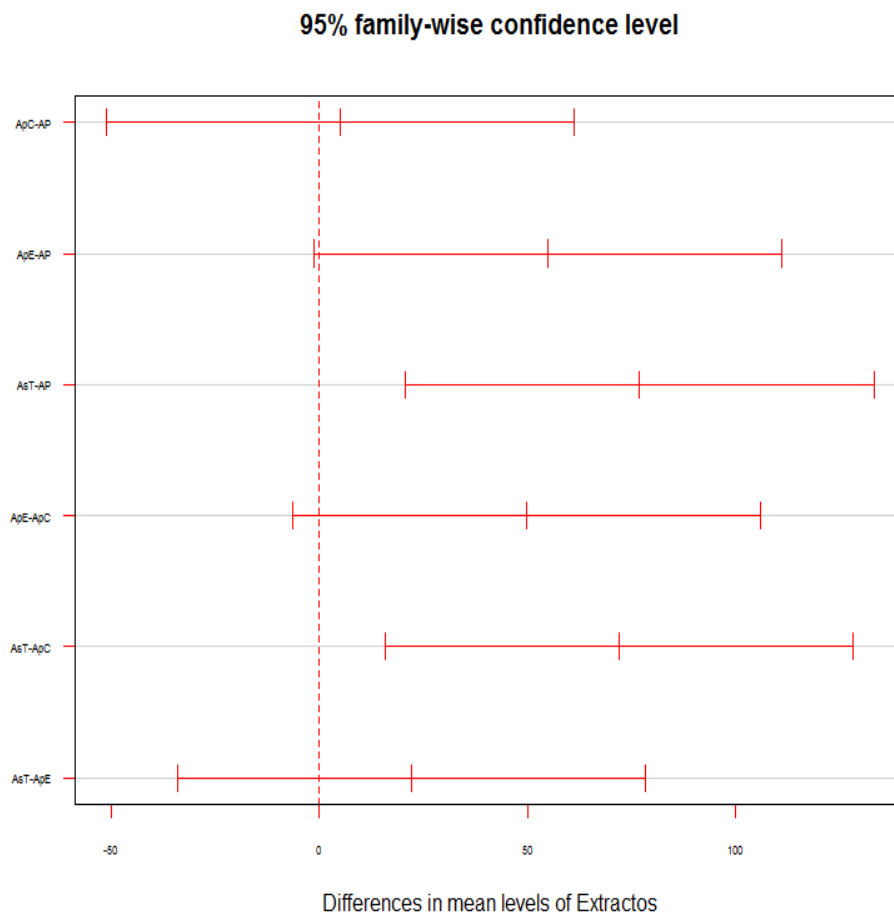
Comparación de número de revertantes del extracto de agua potable inicial con los extractos de agua potable sometidos a tratamientos, muestreo 5



Nota. En los resultados del muestreo 5, se observa que el tratamiento filtración por carbón activado presenta mejores resultados en la disminución del número de revertantes

Figura 30

Diferencias de medias entre tratamientos (extractos) y el agua potable inicial, muestreo 5



Nota Prueba TUKEY (Anexo F)

En este estudio se determinó los parámetros fisicoquímicos del agua potable de los muestreos realizados (tablas 22, 23, 24, 25 y 26), donde se observó que los parámetros registrados tienen algunas diferencias con respecto a la norma boliviana NB 512 (tabla 21).

Tabla 21

Parámetros de control de calidad del agua potable según la Norma Boliviana 512

Parámetro	Valor Máximo Aceptable
Ph	6.5 a 9.0
Conductividad	1,500 $\mu\text{S}/\text{cm}^*$
Cloro total	0,2 – 1,6 mg/lit
Cloro libre	0,2 – 1,0 mg/lit
Sólidos disueltos	1000 mg/lit
ORP	650 mV
Salinidad	-0.5 %
Resistencia	50 – 500 K. Ω .xcm

Nota. El valor máximo aceptable de la conductividad, se puede expresar también como 1.000 mg STD/l. El parámetro temperatura, se debe medir en el punto de muestreo y en laboratorio a tiempo de realizar los análisis. Fuente (NB 512 2010)

Los resultados de los análisis de coeficientes de correlación entre el índice de mutagenicidad y los parámetros fisicoquímicos del agua potable, se presentan en las figuras 33, 34, 35, 36 y 37, el análisis de correlación tienen como objetivo indicar cuán asociadas se encuentran las variables entre sí, siendo sus valores entre -1 y +1, el signo indica el tipo de correlación que presentan, un signo positivo indica que existe una relación positiva, es decir, cuando la magnitud de una incrementa, la otra también, un signo negativo indica que existe una relación negativa entre las variables, mientras los valores de una incrementan, los de la segunda disminuyen. Si dos variables son independientes el coeficiente de correlación es de magnitud cero.

En los resultados, se observa una correlación fuertemente positiva entre el cloro total y cloro libre con respecto a los índices de mutagenicidad en los 5 muestreos realizados, con lo que

podemos afirmar que, a mayor concentración de cloro, hay mayor actividad mutagénica. Estos resultados tienen relación con lo que afirma el autor Nuñez, en su trabajo de investigación “Determinación de la presencia de Trihalometanos totales (TTHMs) en el agua para consumo humano proveniente de aguas subterráneas de la ciudad de Guatemala” demostró que el aumento de Trihalometanos está relacionado con las variables como el cloro residual, pH, tiempo de contacto, etc.; y que a mayores concentraciones se incrementan los niveles de Trihalometanos (Nuñez 2020). En el estudio realizado “Trihalometanos y Haloacéticos en agua de la zona sur de la ciudad de México”, determinaron en un análisis estadístico de correlación, que el cloro libre influía sobre la producción de cloroformo y trihalometanos totales (Domínguez Tello 2017).

Según el estudio “Desarrollo de métodos de análisis y control de subproductos de desinfección en aguas de abastecimiento público”, en el efecto de dosis de cloro se obtuvo una fuerte correlación entre las dosis empleadas de cloro en la planta de tratamiento de agua potable y la formación de Trihalometanos en el sistema de distribución. Además, señalan que el incremento de la dosis de cloro se traduce en un incremento de la formación de Subproductos de Cloración, y teniendo como principal precursor a la materia orgánica presente en el agua, donde al hacer contacto con el cloro aumentaría rápidamente la formación de subproductos de la desinfección (Pérez Monteza y Romero Mejía 2017).

Legay et al. 2015, en su estudio informa que las concentraciones más altas de cloración y un tiempo de reacción más largo con el cloro conducen a una mayor formación de DBP, por ende, a mayor actividad mutagénica. Sin embargo, el cloro es necesario para la desinfección residual y es fundamental para evitar enfermedades transmitidas por el agua.

Loyola-Sepulveda et al. 2009, en los resultados de su investigación mostraron una correlación positiva significativa entre los niveles de THM del agua de los hogares y el tiempo de residencia y la distancia desde el punto de entrada.

La conductividad, sólidos disueltos y la salinidad, tienen una correlación moderadamente positiva con los índices de mutagenicidad (figuras 33, 34, 35, 36 y 37).

Las características de pH y ORP tuvieron una correlación negativa moderada, es decir que los valores bajos de pH y la disminución de ORP se relacionaron con el aumento de la actividad mutagénica.

En el caso de la temperatura presentó correlación fuertemente negativa, es decir que el valor bajo de temperatura se relacionó con el aumento de la actividad mutagénica en todos los muestreos excepto en el muestreo 2 (figura 34).

Entre todos los parámetros determinados, el cloro total, cloro libre, la conductividad, sólidos disueltos, la salinidad y el pH, fueron los factores más influyentes en la actividad mutagénica.

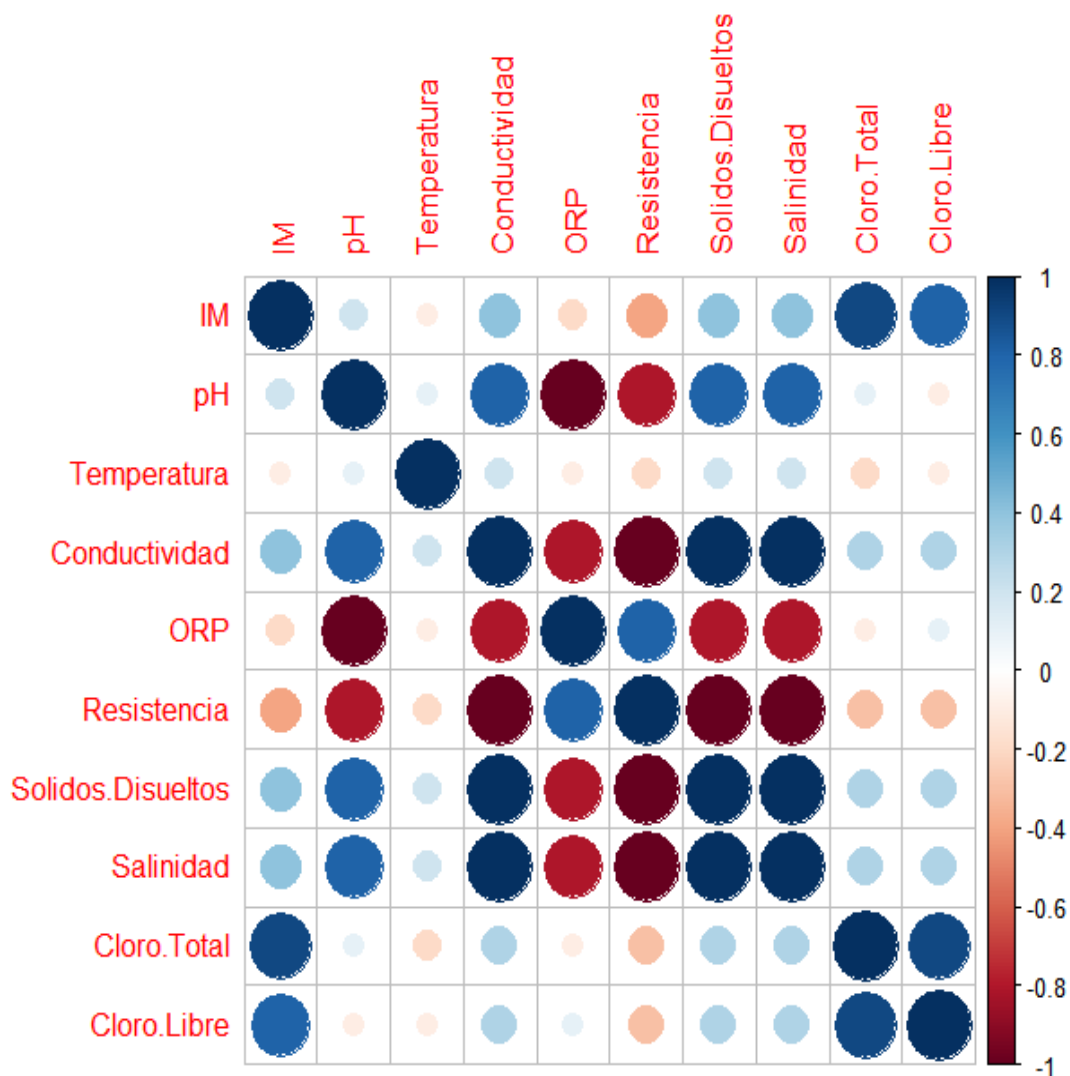
Tabla 22*Parámetros Físicoquímicos del muestreo 1*

Extractos	pH	Temperatura (°C)	Conductividad (us/cm)	ORP (mV)	Resistencia (K.Ω.xcm)	Sólidos Disueltos	Salinidad (%)	Cloro Total (mg/L)	Cloro Libre (mg/L)
Agua Purificada	6.12	20.17	1.80	48.33	537.33	0.80		0	0
Agua Potable Sin Tratamientos	7.39	19.50	364.00	-27.43	2.75	176.60	0.17	2	1
Ebullición	8.26	22.03	380.67	-74.30	2.63	183.33	0.18	<0.5	0
Filtración por Carbón Activado	8.34	19.07	369.67	-77.93	2.72	177.57	0.18	0.5	0
Radiación Solar Sin Tio2	7.56	26.57	378.00	-34.57	2.65	181.80	0.18	0.5	<0.5
Radiación Solar Con Tio2	7.25	20.43	377.33	-15.87	2.66	181.43	0.18	<0.5	<0.5
Radiación Uv Sin Tio2	7.56	20.30	366.00	-33.63	2.73	175.97	0.17	<0.5	<0.5
Radiación Uv Con Tio2	7.55	21.47	365.00	-33.40	2.74	175.60	0.17	0	0

Nota. Resultados promedio de los parámetros físicoquímicos de la muestra sin tratar y de las muestras tratadas del muestreo 1.

Figura 31

Matriz del coeficiente de correlación de Pearson entre parámetros fisicoquímicos e índices de mutagenicidad, muestreo 1



Nota. La matriz el coeficiente de correlación de Pearson; se encuentra entre -1 (inversamente proporcional) y 1 (directamente proporcional); nos muestra la magnitud del grado de correlación lineal entre las variables, mientras más intensidad del color mayor relación entre las variables, en este caso se observa que existe una relación fuertemente positiva entre cloro total y índice de mutagenicidad; moderadamente positivo entre el cloro libre y el índice de mutagenicidad.

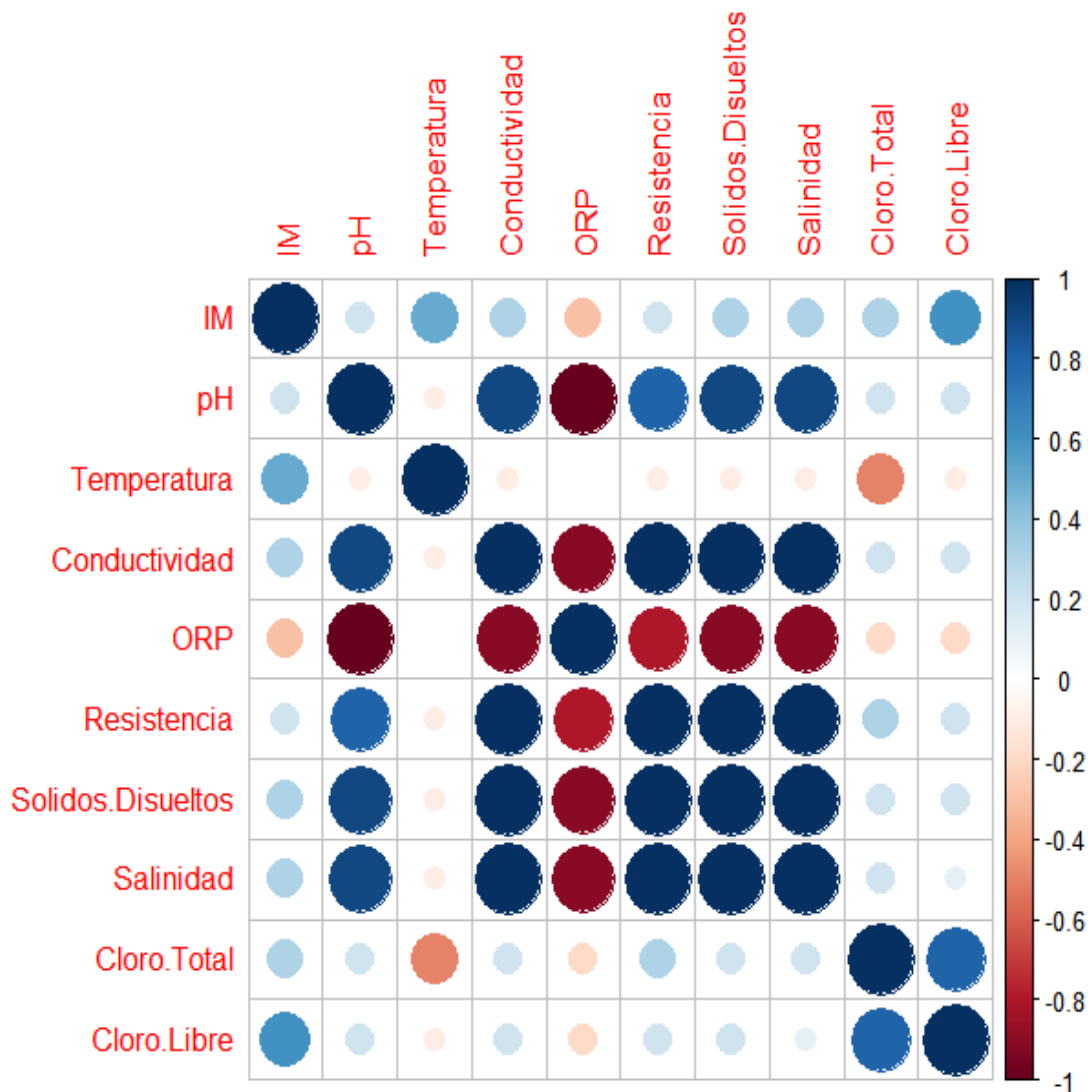
Tabla 23*Parámetros Fisicoquímicos del muestreo 2*

Extractos	pH	Temperatura (°C)	Conductividad (us/cm)	ORP (mV)	Resistencia (K.Ω.xcm)	Solidos Disueltos	Salinidad (%)	Cloro Total (mg/L)	Cloro Libre (mg/L)
Agua Purificada	6.12	20.17	1.80	48.33	537.33	0.80		0	0
Agua Potable Sin Tratamientos	7.26	17.90	666.33	-18.23	1499.67	325.00	0.32	2	1.5
Ebullición	7.65	19.30	707.33	-38.67	1413.67	345.00	0.34	0.5	0
Filtración por Carbón Activado	7.24	18.10	670.00	-15.50	1492.33	326.67	0.33	0	0
Radiación Solar Sin Tio2	7.15	24.60	681.00	-17.33	1458.33	330.00	0.33	0	<0.5
Radiación Solar Con Tio2	6.97	19.13	677.00	-0.25	1480.67	329.67	0.33	0	0
Radiación Uv Sin Tio2	6.89	18.37	668.67	4.50	1496.67	325.33	0.32	1	0
Radiación Uv Con Tio2	7.23	19.70	667.00	-14.77	1498.67	325.00	0.32	0	0

Nota. Resultados promedio de los parámetros fisicoquímicos de la muestra sin tratar y de las muestras tratadas del muestreo 2.

Figura 32

Matriz del coeficiente de correlación de Pearson entre parámetros fisicoquímicos e índices de mutagenicidad, muestreo 2



Nota. La matriz el coeficiente de correlación de Pearson; se encuentra entre -1 (inversamente proporcional) y 1 (directamente proporcional); nos muestra la magnitud del grado de correlación lineal entre las variables, mientras más intensidad del color mayor relación entre las variables, en este caso se observa que existe una relación levemente positiva entre cloro total y índice de mutagenicidad; moderadamente positivo entre el cloro libre y el índice de mutagenicidad.; y una correlación levemente negativa entre el potencial redox y el índice de mutagenicidad.

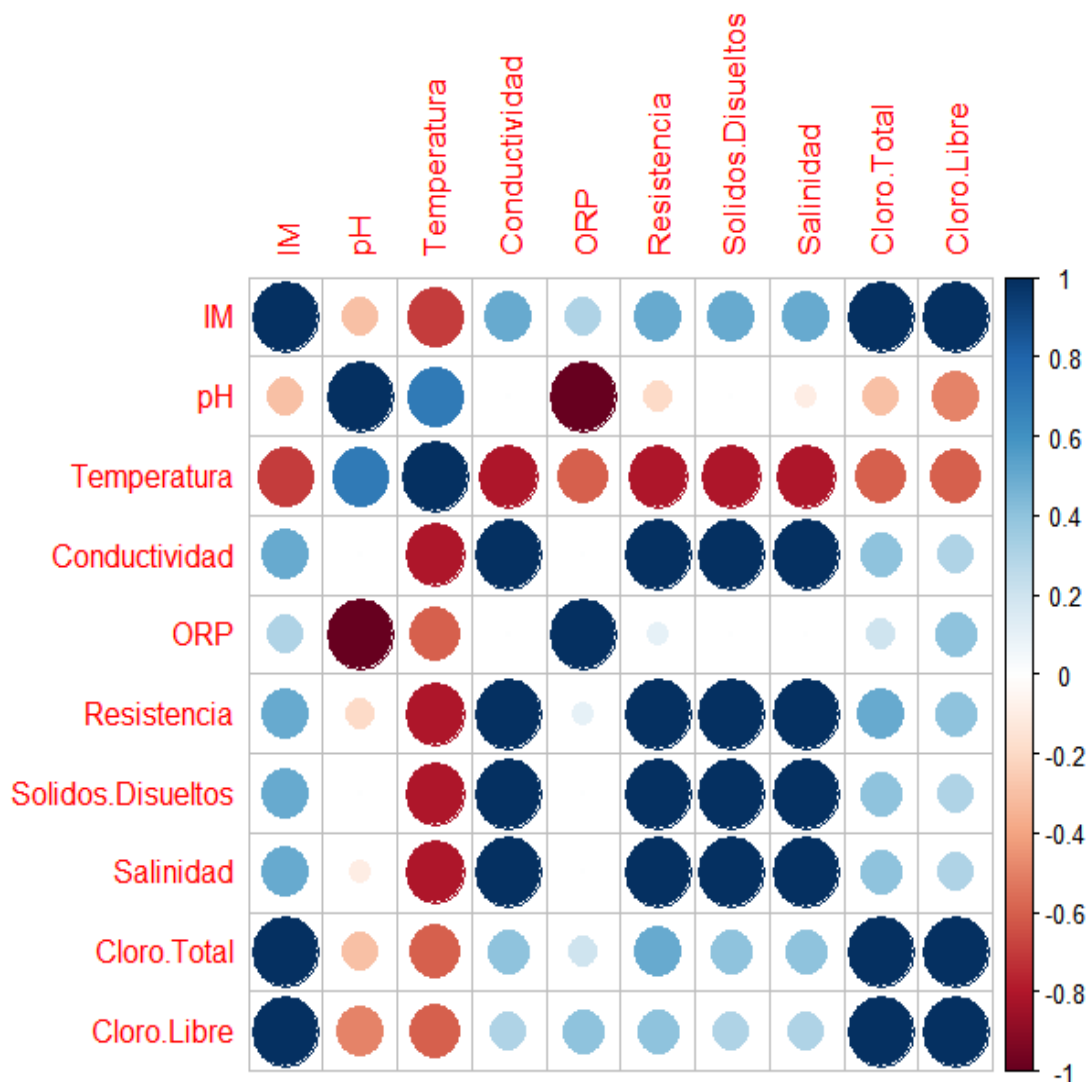
Tabla 24*Parámetros Fisicoquímicos del muestreo 3*

Extractos	pH	Temperatura (°C)	Conductividad (us/cm)	ORP (mV)	Resistencia (K.Ω.xcm)	Solidos Disueltos	Salinidad (%)	Cloro Total (mg/L)	Cloro Libre (mg/L)
Agua Purificada	7.42	20.03	6.40	-25.57	290.93	2.46	0.00	0	0
Agua Potable	7.26	17.90	666.33	-18.23	1499.67	325.00	0.32	2	1.5
Ebullición	7.65	19.30	707.33	-38.67	1413.67	345.00	0.34	0.5	0
Filtración Por Carbón Activado	7.24	18.10	670.00	-15.50	1492.33	326.67	0.33	0	0

Nota. Resultados promedio de los parámetros fisicoquímicos de la muestra sin tratar y de las muestras tratadas del muestreo 3.

Figura 33

Matriz del coeficiente de correlación de Pearson entre parámetros fisicoquímicos e índices de mutagenicidad, muestreo 3



Nota. La matriz el coeficiente de correlación de Pearson; se encuentra entre -1 (inversamente proporcional) y 1 (directamente proporcional); nos muestra la magnitud del grado de correlación lineal entre las variables, mientras más intensidad del color mayor relación entre las variables, en este caso se observa que existe una relación fuertemente positiva entre cloro total y cloro libre con respecto al índice de mutagenicidad; y una correlación fuertemente negativa entre la temperatura y el índice de mutagenicidad.

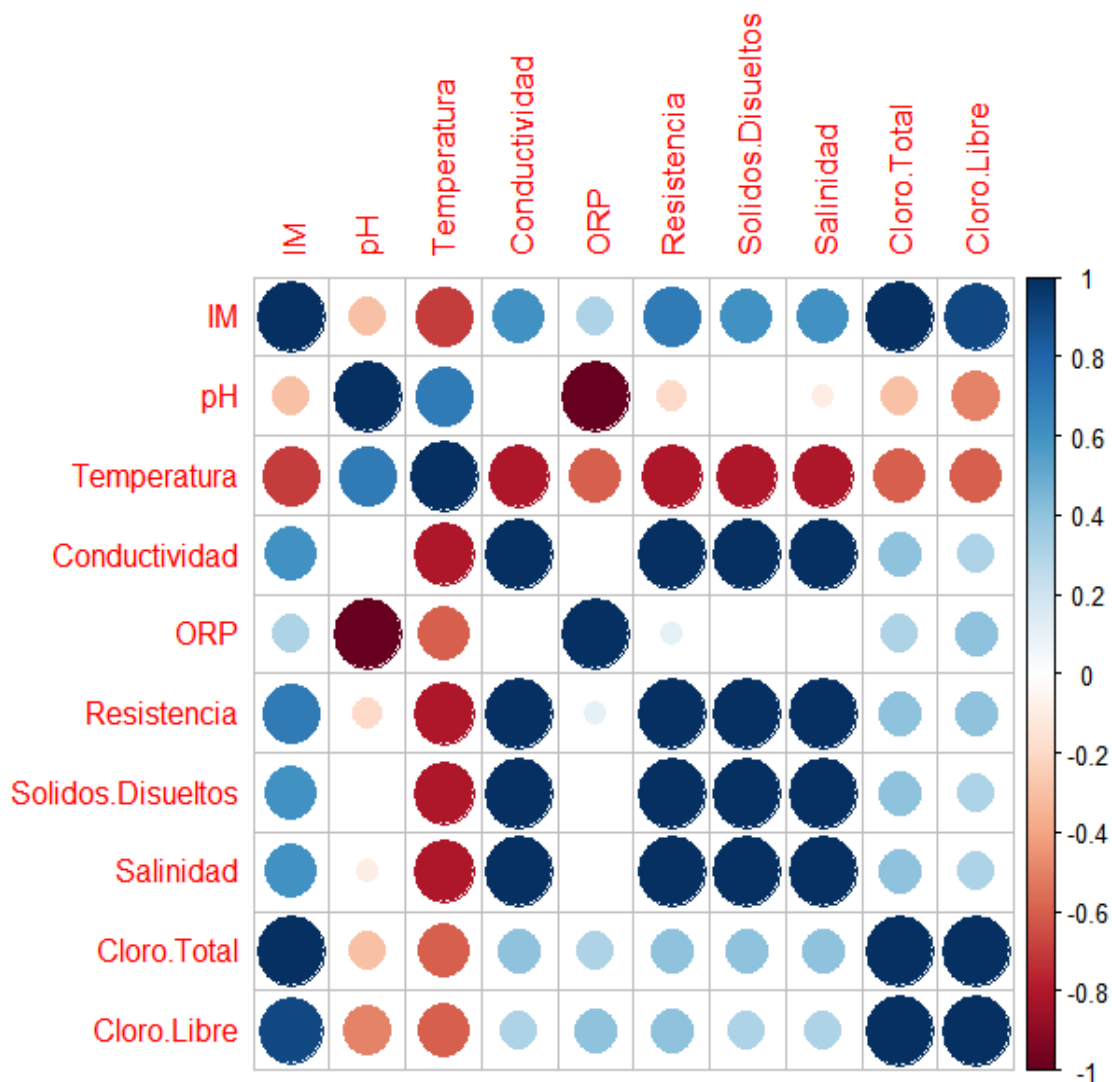
Tabla 25*Parámetros Fisicoquímicos del muestreo 4*

Extractos	pH	Temperatura (°C)	Conductividad (us/cm)	ORP (mV)	Resistencia (K.Ω.xcm)	Solidos Disueltos	Salinidad (%)	Cloro Total (mg/L)	Cloro Libre (mg/L)
Agua Purificada	7	19	116.40	55.00	288.93	3.46	0.00	0	0
Agua Potable Sin Tratamientos	7.35	18.90	666.33	-19.03	1500.67	365.00	0.32	2.5	1.5
Ebullición	7.15	19.30	700.33	-35.77	1413.67	345.00	0.34	<0.5	0
Filtración Por Carbón Activado	7.34	18.10	675.00	-18.50	1492.33	326.67	0.33	0	0

Nota. Resultados promedio de los parámetros fisicoquímicos de la muestra sin tratar y de las muestras tratadas del muestreo 4.

Figura 34

Matriz del coeficiente de correlación de Pearson entre parámetros fisicoquímicos e índices de mutagenicidad, muestreo 4



Nota. La matriz el coeficiente de correlación de Pearson; se encuentra entre -1 (inversamente proporcional) y 1 (directamente proporcional); nos muestra la magnitud del grado de correlación lineal entre las variables, mientras más intensidad del color mayor relación entre las variables, en este caso se observa que existe una relación fuertemente positiva entre cloro total y cloro libre con respecto al índice de mutagenicidad; una correlación fuertemente negativa entre la temperatura y el índice de mutagenicidad.

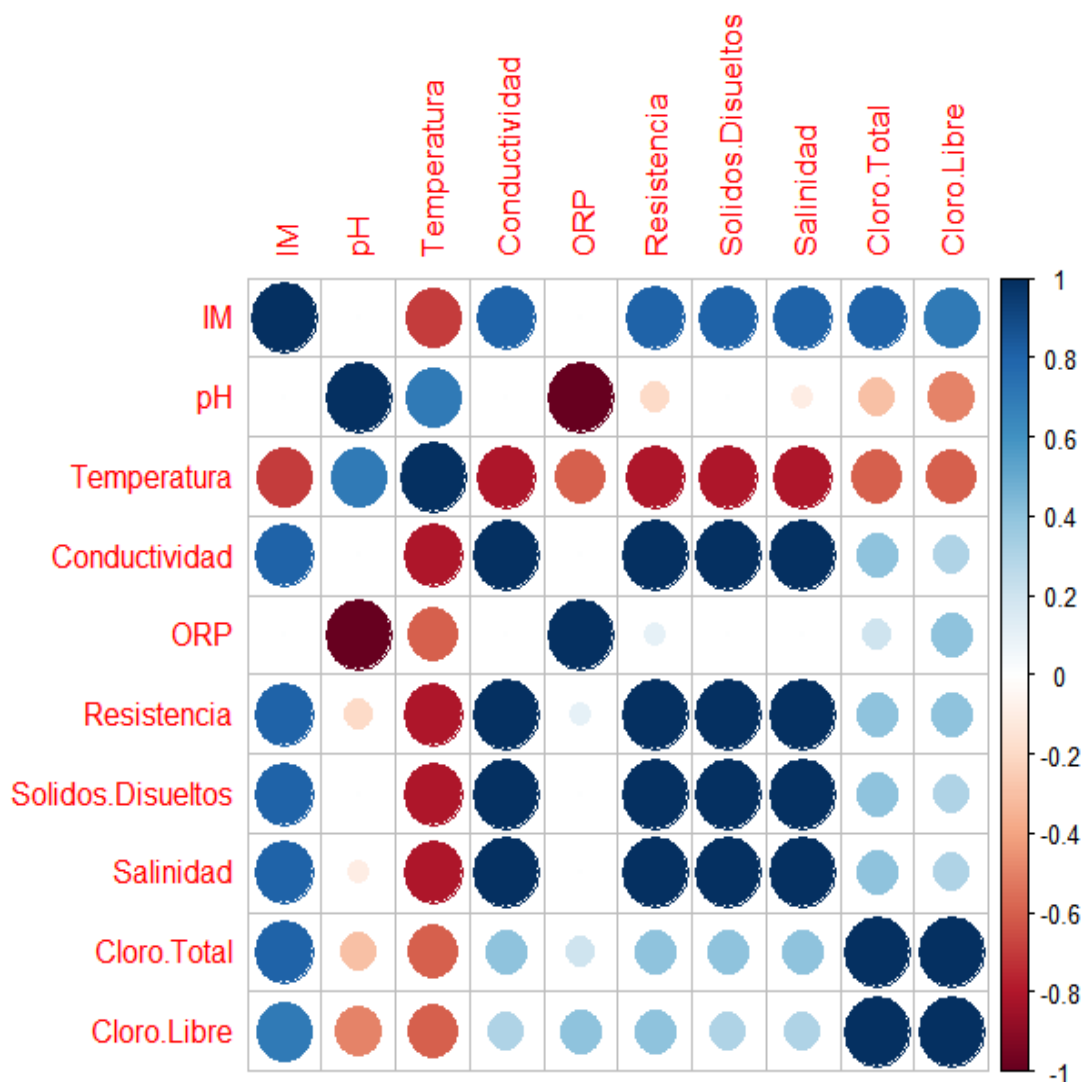
Tabla 26*Parámetros Fisicoquímicos del muestreo 5*

Extractos	pH	Temperatura (°C)	Conductividad (us/cm)	ORP (mV)	Resistencia (K.Ω.xcm)	Solidos Disueltos	Salinidad (%)	Cloro Total (mg/L)	Cloro Libre (mg/L)
Agua Purificada	6.64	19.83	6.40	-25.57	290.93	2.46	0.00	0	0
Agua Potable sin Tratamientos	7.16	17.90	686.33	-17.23	1489.67	335.00	0.32	1.5	1
Ebullición	7.46	18.30	701.33	-36.70	1453.67	355.00	0.33	<0.5	0
Filtración Por Carbón Activado	7.14	18.10	699.00	-16.90	1472.33	326.67	0.33	0	0

Nota. Resultados promedio de los parámetros fisicoquímicos de la muestra sin tratar y de las muestras tratadas del muestreo 5.

Figura 35

Matriz del coeficiente de correlación de Pearson entre parámetros fisicoquímicos e índices de mutagenicidad, muestreo 5



Nota. La matriz el coeficiente de correlación de Pearson; se encuentra entre -1 (inversamente proporcional) y 1 (directamente proporcional); nos muestra la magnitud del grado de correlación lineal entre las variables, mientras más intensidad del color mayor relación entre las variables, en este caso se observa que existe una relación moderadamente positiva entre cloro total, cloro libre, salinidad, resistencia y ORP con respecto al índice de mutagenicidad; y una correlación fuertemente negativa entre la temperatura y el índice de mutagenicidad.

7 CONCLUSIONES

De acuerdo con los resultados obtenidos se concluye:

Las muestras de agua potable analizadas de los domicilios pertenecientes a las plantas de tratamientos de Achachicala y Pampahasi presentan actividad mutagénica.

Existe cambio en la actividad mutagénica presente en el agua potable a consecuencia de los tratamientos físicos y fisicoquímicos empleados.

Los tratamientos (filtración por carbón activado, ebullición, radiación solar, radiación solar con TiO_2 , radiación ultravioleta, radiación ultravioleta con TiO_2), aplicados en esta tesis, permitieron disminuir la actividad mutagénica presente en el agua potable. Así mismo, el tratamiento con mayor eficiencia en la disminución de la actividad mutagénica es filtración por carbón activado y, en segundo lugar, es el tratamiento por ebullición, siendo estos accesibles y fáciles de emplear a nivel domiciliario por la población.

La actividad mutagénica se ve fuertemente relacionada con la concentración de cloro total y cloro libre, a medida que la concentración de cloro aumenta, hay mayor índice de mutagenicidad (IM), de igual manera si disminuye la concentración de cloro disminuye la actividad mutagénica, mientras que la temperatura muestra una correlación inversamente proporcional, a medida que aumenta la temperatura disminuye la actividad mutagénica, como se observa en el tratamiento de ebullición, siendo factores que influyen en la actividad mutagénica presente en el agua potable.

Con los resultados obtenidos en este trabajo se puede ayudar a evaluar y controlar la exposición a los subproductos de la desinfección.

8 BIBLIOGRAFÍA

Alegre, Esther, Calvo Tutora, María Luisa, and Gras Romero. 2021. “Trihalometanos En Aguas de Consumo Humano y Efectos En La Salud, Problemática En Las Iiaa y Tratamientos Alternativos de Desinfección.”

Alexandrou, Lydon, Barry J. Meehan, and Oliver A. H. Jones. 2018. “Regulated and Emerging Disinfection By-Products in Recycled Waters.” *Science of The Total Environment* 637–638:1607–16.

Ballesteros Arjona V, Rueda de la Puerta P, Daponte Codina A. 2015. “Desinfectantes y Efectos Sobre La Salud.” Retrieved July 4, 2020 (http://www.conama11.vsf.es/conama10/download/files/foro2013/CT2013/Paneles/1896709818_panel.pdf).

Berberidou, Chrysanthi, George Z. Kyzas, Ioannis Paspaltsis, Theodoros Sklaviadis, and Ioannis Poullos. 2019. “Photocatalytic Disinfection and Purification of Water Employing Reduced Graphene Oxide/TiO₂ Composites.” *Journal of Chemical Technology & Biotechnology* 94(12):3905–14.

Berdonces, Josep Lluís. 2008. “La Problemática Del Tratamiento Del Agua Potable.” *Medicina Naturista* 2(2):69–75.

Carbotecnia. 2007. *EL CARBON ACTIVADO EN PLANTAS POTABILIZADORAS MUNICIPALES.*

Carrasco-turigas, Glòria, Cristina M. Villanueva, Fernando Goñi, Panu Rantakokko, and Mark J.

- Nieuwenhuijsen. 2013. “The Effect of Different Boiling and Filtering Devices on the Concentration of Disinfection Byproducts in Tap Water.” 2013.
- Charisiadis, Pantelis, Syam S. Andra, Konstantinos C. Makris, Costas A. Christophi, Dimitrios Skarlatos, Vasilis Vamvakousis, Sophia Kargaki, and Euripides G. Stephanou. 2015. “Spatial and Seasonal Variability of Tap Water Disinfection By-Products within Distribution Pipe Networks.” *Science of the Total Environment* 506–507:26–35.
- Chiclote Gonzales, Yuliana. 2018. “Mejora de La Calidad Del Agua Del Río Cumbe Empleando Filtro de Carbón Activado.” Universidad Privada del Norte, Cajamarca, Perú.
- Chowdhury, Shakhawat, Mohammad Abu Jafar Mazumder, Khalid Alhooshani, and Mohammad S. Al-Suwaiyan. 2019. “Reduction of DBPs in Synthetic Water by Indoor Techniques and Its Implications on Exposure and Health Risk.” *Science of The Total Environment* 691:621–30.
- Chu, Wenhai, Xin Li, Tom Bond, Naiyun Gao, and Daqiang Yin. 2016. “The Formation of Haloacetamides and Other Disinfection By-Products from Non-Nitrogenous Low-Molecular Weight Organic Acids during Chloramination.” *Chemical Engineering Journal* 285:164–71.
- Codina, Juan Carlos. 2020. “Ensayos Microbianos Para La Detección de Sustancias Genotóxicas.” Retrieved July 8, 2020 (<http://www.encuentros.uma.es/encuentros39/micro.html>).
- Domínguez Tello, Antonio. 2017. “Desarrollo de Métodos de Análisis y Control de Subproductos de Desinfección En Aguas de Abastecimiento Público.”
- Du, Ye, Xiao Tong Lv, Qian Yuan Wu, Da Yin Zhang, Yu Ting Zhou, Lu Peng, and Hong Ying Hu. 2017. “Formation and Control of Disinfection Byproducts and Toxicity during

- Reclaimed Water Chlorination.” *Journal of Environmental Sciences* 58:51–63.
- Empresa Pública Social de Agua y Sanamiento. 2018. “Proceso de Potabilización.”
- Ente Nacional de Obras Hídricas de Saneamiento. 2018. “Guías Para La Presentacion de Proyectos de Agua Potable.” Retrieved July 3, 2020 (<https://www.argentina.gob.ar/enohsa>).
- El Gamal, Maisa, Hussein A. Mousa, Muftah H. El-Naas, Renju Zacharia, and Simon Judd. 2018. “Bio-Regeneration of Activated Carbon: A Comprehensive Review.” *Separation and Purification Technology* 197:345–59.
- Gängler, Stephanie, Konstantinos C. Makris, Walid Bouhamra, and Douglas W. Dockery. 2017. “Coupling External with Internal Exposure Metrics of Trihalomethanes in Young Females from Kuwait and Cyprus.” *Journal of Exposure Science & Environmental Epidemiology* 2018 28:2 28(2):140–46.
- Gao, Jianan, Francois Proulx, and Manuel J. Rodriguez. 2020. “Effects of Domestic Handling of Drinking Water on Halogenated Acetaldehydes.” *Chemosphere* 261:127531.
- Garcés, Fernando, Alejandro Franco, and Julián Arango. 2004. “La Fotocatálisis Como Alternativa Para El Tratamiento de Aguas Residuales.” *Lasallista de Investigación* 83–92.
- Guo, Q., C. Zhou, Z. Ma, Z. Ren, and X. Fan. 2016. “Heterogeneous Photocatalysis. Green Chemistry and Sustainable Technology.”
- Hard, Gordon, and Gary Boorman. 2000. “Re-Evaluation of the 2-Year Chloroform Drinking Water Carcinogenicity Bioassay in Osborne-Mendel Rats Supports Chronic Renal Tubule Injury as the Mode of Action Underlying the Renal Tumor Response.” *TOXICOLOGICAL*

SCIENCES 237–44.

Hernández Sánchez, C., G. Luis González, C. Rubio Armendáriz, J. Caballero Mesa, N. Ben-Charki El-Mousati, and A. Hardisson de la Torre. 2011. “Trihalometanos En Aguas de Consumo Humano.” *Revista de Toxicología* 28(2):109–14.

Holguín Valdés, Johana. 2018. “Revisión Del Uso de La Luz Ultravioleta Como Alternativa Agroindustrial y Ambiental Al Uso de Agua Clorada.” Universidad Nacional de Colombia, Colombia.

Instituto Boliviano de Metrología. 2012. “El Agua.” Retrieved August 14, 2021 ([https://www.ibmetro.gob.bo/web/sites/default/files/2018-05/De acuerdo-El agua-Version-IBMETRO-BOLIVIA-72 dpi.pdf](https://www.ibmetro.gob.bo/web/sites/default/files/2018-05/De%20acuerdo-El%20agua-Version-IBMETRO-BOLIVIA-72%20dpi.pdf)).

Jeong, Clara H., Cristina Postigo, Susan D. Richardson, Jane Ellen Simmons, Susana Y. Kimura, Benito J. Mariñas, Damia Barcelo, Pei Liang, Elizabeth D. Wagner, and Michael J. Plewa. 2015. “Occurrence and Comparative Toxicity of Haloacetaldehyde Disinfection Byproducts in Drinking Water.” *Environmental Science and Technology* 49(23):13749–59.

Krasner, Stuart W. 2009. “The Formation and Control of Emerging Disinfection By-Products of Health Concern.” *Philosophical Transactions of the Royal Society A: Mathematical, Physical and Engineering Sciences* 367(1904):4077–95.

Lenntech Water Treatment. 2021. “Water Disinfection Agents.” Retrieved November 2, 2021 (<https://www.lenntech.es/procesos/desinfeccion/quimica/desinfectantes.htm>).

Li, Chunmei, Donghong Wang, Xiong Xu, and Zijian Wang. 2017. “Formation of Known and

- Unknown Disinfection By-Products from Natural Organic Matter Fractions during Chlorination, Chloramination, and Ozonation.” *Science of the Total Environment* 587–588:177–84.
- López, Eduardo. 2016. “Subproductos de La Cloracion Del Agua, Su Formación, Reglamentación y Riesgo Para La Salud.” Quito: UCE.
- Manasfi, Tarek, Bruno Coulomb, and Jean Luc Boudenne. 2017. “Occurrence, Origin, and Toxicity of Disinfection Byproducts in Chlorinated Swimming Pools: An Overview.” *International Journal of Hygiene and Environmental Health* 220(3):591–603.
- Maron, Dorothy M., and Bruce N. Ames. 1983. “Revised Methods for the Salmonella Mutagenicity Test.” *Mutation Research/Environmental Mutagenesis and Related Subjects* 113(3–4):173–215.
- Matilainen, Anu, Egil T. Gjessing, Tanja Lahtinen, Leif Hed, Amit Bhatnagar, and Mika Sillanpää. 2011. “Chemosphere An Overview of the Methods Used in the Characterisation of Natural Organic Matter (NOM) in Relation to Drinking Water Treatment.” *Chemosphere* 83(11):1431–42.
- Meierhofer, Regula, and Martin Wegelin. 2002. *Guía de Aplicación Desinfección Solar Del Agua*.
- Montesinos, Maria Isabel. 2015. “Innovaciones En El Control de Subproductos de Desinfección Volátiles.”
- NB 496. 2005. *Agua Potable-Toma de Muestras*. La Paz.
- NB 512. 2010. *Reglamento Nacional Para El Control de La Calidad Del Agua Para Consumo*

Humano. La Paz.

Núñez, Erikson Alexander. 2020. “DETERMINACIÓN DE LA PRESENCIA DE TRIHALOMETANOS TOTALES (TTHM’s) EN AGUA PARA CONSUMO HUMANO PROVENIENTE DE AGUAS SUBTERRÁNEAS DE LA CIUDAD DE GUATEMALA.”

Ochoa Barajas. 2004. “Desinfectantes y Nuevas Tecnologías Utilizadas En El Tratamiento Del Agua Potable.” UNIVERSIDAD INDUSTRIAL DE SANTANDER.

OMS. 2004. “Medición Del Cloro Residual.” *Guidelines for Drinking Water Quality*. Retrieved July 8, 2020 (www.lboro.ac.uk/wedc).

OMS. 2017. “Salubridad y Calidad Del Agua.” *WHO*.

Pérez, L. 2020. “Sustainable Sanitation and Water Management Toolbox.” Retrieved July 19, 2021 (<https://ceowatermandate.org/resources/sustainable-sanitation-and-water-management-toolbox-2018/>).

Pérez Monteza, Jenry, and Miller Romero Mejía. 2017. “Determinación de La Concentración de Cloro Residual y Trihalometanos (Thm’s) y Su Impacto En La Salud Según Sectores de Abastecimiento de Agua Potable En La Ciudad de Moyobamba – 2015.” Universidad Nacional de San Martín - Tarapoto.

Rahman, Md Bayzidur, Tim Driscoll, Mark Clements, Armstrong Bruce K, and Christine T. Cowie. 2011. “Effects of Tap Water Processing on the Concentration of Disinfection By-Products.” *Journal of Water and Health* 9(3):507–14.

Reif, John S., Maureen C. Hatch, Michael Bracken, Lewis B. Holmes, Bernard A. Schwetz, and

- Philip C. Singer'. 1996. "Reproductive and Developmental Effects of Disinfection By-Products in Drinking Water." *Environmental Health Perspectives*.
- Rios, D. 2006. "Riesgos Biológicos y Subproductos de La Desinfección En El Agua de Bebida." *Montevideo: OSE*.
- Rodríguez, Manuel J., Germán Rodríguez, Jean Serodes, and Rehan Sadiq. 2007. "Subproductos de La Desinfección Del Agua Potable: Formación, Aspectos Sanitarios y Reglamentación." *Interciencia* 32(11):749–56.
- Rodríguez Reinoso, Francisco. 2006. "NUEVOS RETOS EN LA SÍNTESIS Y APLICACIÓN DE CARBÓN ACTIVADO." Retrieved November 10, 2021 (<http://saasa.unsl.edu.ar/SAASA2013/SAASA2009/plenaria3.html>).
- Sánchez, Rolando, and Teresa Aliaga. 2018. "Detección de La Actividad Mutagénica y Microbiológica Del Agua Potable Domiciliaria, En La Ciudad de La Paz."
- Sánchez Zafra, Alicia, and Pintor Joaquín Capulino Jauregui. 2008. "Efectos de Los Trihalometanos Sobre La Salud." *Higiene y Sanidad Ambiental* 8:280–90.
- Sandoval, Ana María. 2002. *Ensayo de Mutagenicidad Con La Bacteria Salmonella Typhimurim, Prueba de Ames*.
- Singh Grover, Inderpreet, Roop Chand Prajapat, Satnam Singh, and Bonamali Pal. 2017. "Highly Photoactive Au-TiO₂ Nanowires for Improved Photo-Degradation of Propiconazole Fungicide under UV/Sunlight Irradiation."
- Solsona, Felipe, and Juan Pablo Méndez. 2002. *Desinfección Del Agua*.

- Stevens, Alan A., Clois J. Slocum, Dennis R. Seeger, and Gordon G. Robeck. n.d. "Chlorination of Organics in Drinking Water." *Journal (American Water Works Association)* 68:615–20.
- Teksoy, Arzu, and Sevil Çalışkan Eleren. 2017. "Drinking Water Disinfection by Solar Radiation." *Environment and Ecology Research* 5(5):400–408.
- Terrones Terán, Elizabeth Rocío, and Walter Morales Goicochea. 2018. "Influencia Del Tiempo de Ebullición En Los Parámetros Físicosquímicos En Las Aguas Subterráneas de Consumo Humano En El Distrito de Cajamarca - 2018." Facultad de Ingeniería , Cajamarca.
- Toledo, Carlos. 2020. "Desinfección Mediante Luz Ultravioleta, Cloro y Ozono." *ISA Ingeniería y Servicios Ambientales*. Retrieved July 3, 2020 (<https://isa.ec/desinfeccion-mediante-luz-ultravioleta-cloro-y-ozono/>).
- Villanueva, Cristina M., Esther Gracia-Lavedan, Jordi Julvez, Loreto Santa-Marina, Nerea Lertxundi, Jesús Ibarluzea, Sabrina Llop, Ferran Ballester, Ana Fernández-Somoano, Adonina Tardón, Martine Vrijheid, Mònica Guxens, and Jordi Sunyer. 2018. "Drinking Water Disinfection By-Products during Pregnancy and Child Neuropsychological Development in the INMA Spanish Cohort Study." *Environment International* 110(June 2017):113–22.
- Villanueva, Cristina M., Manolis Kogevinas, and Joan O. Grimalt. 2001. "Cloración Del Agua Potable y Efectos Sobre La Salud : Revisión de Estudios Epidemiológicos." *Medicina Clínica* 117(1):27–35.
- Wagner, Elizabeth D., and Michael J. Plewa. 2017. "CHO Cell Cytotoxicity and Genotoxicity Analyses of Disinfection By-Products: An Updated Review." *Journal of Environmental*

Sciences (China) 58:64–76.

Wendel, Friedrich M., Thomas A. Ternes, Susan D. Richardson, Stephen E. Duirk, Justin A. Pals, Elizabeth D. Wagner, and Michael J. Plewa. 2016. “Comparative Toxicity of High-Molecular Weight Iopamidol Disinfection Byproducts.” *Environmental Science and Technology Letters* 3(3):81–84.

Xie, Yuefeng. 2004. “Disinfection Byproducts in Drinking Water: Formation, Analysis, and Control.” *Lewis Publishers*.

9 ANEXOS

Anexo A. Protocolo Test de Ames

Análisis de las características fenotípicas:

Antes de realizar el Test de Ames, es necesario comprobar las características fenotípicas de las cepas. Para cada prueba se utilizará un cultivo congelado almacenado en tubos criogénicos con DMSO a -80 ° C a partir del cual se obtiene un cultivo fresco de la cepa TA en medio de cultivo NB oxoid 2. Posteriormente se verificarán las siguientes características fenotípicas.

Requerimientos de histidina y biotina:

La característica his- y bio- se verificarán incubando las cepas en placas con medio mínimo Vogel-Bonner con glucosa, suplementadas de la siguiente manera:

Suplemento	Placa 1	Placa 2	Placa 3	Placa 4
Solución de Histidina 0.1 M	100 ul	-	100 ul	-
Solución de Biotina 0.5 Mm	-	100 ul	100ul	-

Para cada cepa se realizará una prueba, en el cultivo la sepa se sembrará por estrías y se incubará a 37°C durante 24 h. Se observará el crecimiento de la sepa en cada placa y de esta manera se confirmará el requerimiento de his-bio de las cepas TA.

Detección de la mutación RFA:

Las cepas bacterianas que se utilizan en el Test de Ames presentan una mayor permeabilidad celular, debido a una mutación (rfa-) que posibilita la pérdida parcial de lipopolisacáridos de la membrana celular, elevando así la sensibilidad del ensayo (Maron y Ames, 1983). Esta característica fenotípica se confirma a través de la sensibilidad al cristal violeta. Para esta prueba se mezclará 0.1 ml de cultivo con 2 ml de agar blando atemperado aproximadamente a 47 °C esta mezcla será vertida sobre una placa de NB oxoid 2, posteriormente se colocará un disco de papel filtro estéril (Whatman N°1) de 5 mm de diámetro, al que se añadirá 5 ul de una solución de cristal violeta al 0.1 %, se incubará la placa a 37 °C por 24 h. Las cepas

portadoras de este carácter rfa presentarán un halo de inhibición de aproximadamente 14 mm de diámetro, confirmando la presencia de la mutación rfa.

Presencia del plásmido PKM101:

Las cepas que son portadoras del plásmido pKM101 (ejemplo la cepa TA98), se caracterizan por contener el operón mucAB y el gen Bla que confiere resistencia a la ampicilina. Para determinar su presencia se sembrará la cepa por agotamiento en una placa NB oxoid 2 suplementada con ampicilina (25 ug/ml), Se incubará por 24 h a 37 °C. Posteriormente se verificará el crecimiento de las cepas que son portadoras del plásmido pKM101.

Sensibilidad a la radiación UV:

Las cepas TA presentan una alteración en el sistema de reparación por escisión, producto de la delección del gen uvrB. (Maron y Ames, 1983). Para la confirmación de esta característica se realizará una evaluación de la sensibilidad de las cepas a la radiación ultravioleta de 254 nm de longitud de onda. Se utilizará placas con medio de cultivo NB oxoid 2 las cuales son divididas en 4 sectores, Se procederá al sembrado de un cultivo de la cepa a analizar con un asa de Drigalski y se irradiará la placa con luz UV por sectores a diferentes tiempos (0, 5, 10 y 30 segundos), tomando como control al sector no irradiado, se incubará la placa a 37°C por 24 h.

Test de Ames:

En un vial con 2 ml de agar blando estéril y atemperado aproximadamente a 48 °C se incorporará 0.5 ml de Tampón fosfato sódico (0.1 M) o S9 (5%), 0.1 ml de las trazas biotina/histidina, 0.1 ml del cultivo saturado de la cepa TA y 0.1 ml de la muestra, mezclar bien y se vertera el contenido sobre una superficie de Medio Mínimo Vogel Bonner con glucosa. Se incubará por 72 horas a 37 °C. Posteriormente se procede al recuento de las colonias revertientes inducidas y espontaneas. El control negativo debe ser el solvente que se utiliza para diluir la muestra.

Preparación de medios usados en el Test Ames:

Medio salino de Vogel-Bonner E (x50)

Reactivos		Preparación
MgSO ₄ X7H ₂ O	8 g	Agregar la primera sal (MgSO ₄ X7H ₂ O) a 520 ml de H ₂ O destilada, se diluyo calentando a 60 °C como máximo. Se procede de la misma manera las sales restantes. Autoclavar por 20 min a 121°C. Se guarda a 4°C.
Ácido cítrico monohidratado	80 g	
K ₂ HPO ₄	400 g	
NaNH ₄ HPO x 4 H ₂ O	140 g	
H ₂ O destilada	520 g	

Medio mínimo de Vogel-Bonner E con glucosa

Reactivos		Preparación
Agar-agar	17 g	Disolver el agar-agar con el H ₂ O destilada y autoclavar por 20 min a 121°C. Dejar enfriar hasta unos 50 °C. Posteriormente agregar los componentes restantes previamente atemperados a 45 °C aprox. Almacenar a 4°C.
Medio salino Vogel-Bonner (x50)	20 ml	
Glucosa esteril (40 %)	50 ml	
H ₂ O destilada	930 ml	

Solución de Glucosa al 40%

Reactivos		Preparación
Glucosa monohidrato	440 g	Disolver la glucosa en el H ₂ O destilada calentado a una temperatura máxima de 40 °C
H ₂ O destilada	1000 ml	

Agar Blando

Reactivos		Preparación
Agar	6 g	Disolver el agar y el NaCl en el H ₂ O destilada. Autoclavar a 121°C por 20 min y guardar a 4°C.
NaCl	5g	
H ₂ O destilada	1000 ml	

Trazas de Biotina/Histidina 0.5 mM (para 250 ml)

Reactivos		Preparación
D-biotina	30.5 mg	Disolver la D-biotina en 100 ml de H ₂ O destilada calentando hasta su ebullición. Disolver L-histidina en 100 ml a temperatura ambiente. Mezclar las dos soluciones y ajustar a 250 ml. Autoclavar a 121°C por 20 min y almacenar 4°C.
L-histidina	19.4 mg	
H ₂ O destilada	250 ml	

Tampón fosfato Sódico 0.2 M

Reactivos		Preparación
Solución 0.2 M de NaH ₂ PO ₄	8.3 g	Añadir 250 ml de la primera solución a 500 ml de la segunda solución hasta obtener pH =
NaH ₂ PO ₄ x H ₂ O	300 ml	
H ₂ O		7.4.
Solución 0.2 M de Na ₂ HPO ₄	14.2g	Autoclavar y guardar a 4°C.
Na ₂ HPO ₄	500ml	
H ₂ O		

Soluciones utilizadas para las pruebas fenotípicas

Solución de Cristal violeta al 0.1 %

Reactivos		Preparación
Cristal violeta	g	Disolver el Cristal violeta y almacenar a 4 °C protegiéndolo de la luz.
H ₂ O destilada	100 ml	

Antibióticos

Reactivos	Concentración stock (mg/ml)	Concentración de trabajo (mg/ml)	de Concentración final (ug/ml)	Solvente
Ampicilina	50	5	25	H ₂ O d
Tetraciclina	2	0.2	2	H ₂ O d

Solución de histidina 0.1 M

Reactivos		Preparación
L- histidina	15.5 mg	Disolver la histidina en H ₂ O destilada y esterilizar por filtración (filtro de membrana de 0.22 μ m.). Almacenar a 4°C.
H ₂ O destilada	1 ml	

Solución de biotina 0.5 Mm

Reactivos		Preparación
D-biotina	2.4 mg	Disolver D-biotina en H ₂ O destilada calentando hasta su ebullición y esterilizar por filtración (filtro de membrana de 0.22 μ m.). Almacenar a 4°C.
H ₂ O destilada	20 ml	

Anexo B. Protocolo de Impregnación de Dióxido de Titanio

Método Agente Ligante

Características de los soportes: Anillos de Borosilicato

Reactivos, Materiales y Equipos

		Uso	Características
Reactivos	Dióxido de titanio	Polvo fotoactivo	Anatasa – rutilo (80:20)
	HF	Pre-tratamiento material de vidrio	Concentración 40% p/p
	H ₂ SO ₄	Pre-tratamiento material de vidrio	Concentración 20% p/p
	Tolueno Diclorometano	Solventes	Grado analítico
	Silicona		Silicona líquida comercial
Equipos	Agitador	Mezcla de reactivos	
	Horno	Tratamiento térmico	
	Balanza		

Pre-tratamiento de los soportes (Para crear imperfecciones)

Anillos

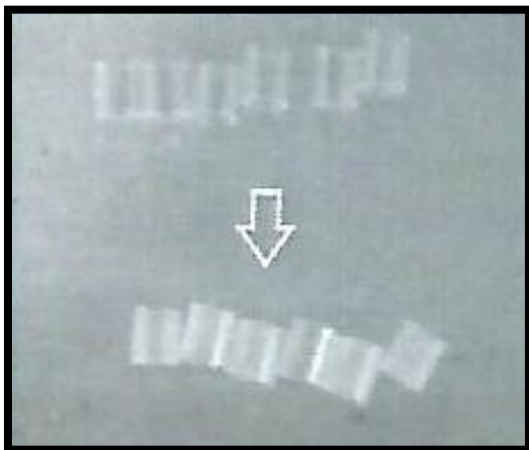
1. Colocar en un vaso de precipitado H₂SO₄ 20% p/p.
2. Añadir los anillos.
3. Mezclar todo durante 1 día.
4. Lavar y secar.

Impregnación del material

➤ Anillos de Borosilicato

1. Colocar en un vaso diclorometano.
2. Añadir silicona.
3. Agregar el dióxido de titanio junto al soporte.
4. Mezclar todo junto durante 6 horas.
5. En un agitador a 300 rpm.
6. Secar el soporte en un horno a 100°C por 6 horas.

Anillos de Borosilicato



Anexo C. Determinación de Cloro Total y Cloro Libre

el kit comercial HANNA instruments

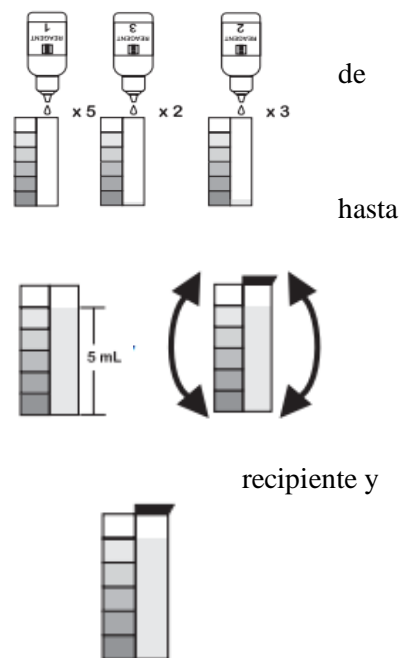
Determinación de Cloro total:

Añada 5 gotas de Reactivo 1, 2 gotas de Reactivo 3 y 3 gotas de Reactivo 2 al recipiente para comparar el color.

Llene el recipiente para comparar el color con la muestra hasta la marca de los 5 ml.

Cierre la tapa y mézclelo cuidadosamente, moviendo el recipiente en pequeños círculos, e inviértalo varias veces.

Determine a qué color de la banda se ajusta la solución del recipiente y registre el resultado en mg/l (ppm) de cloro total.



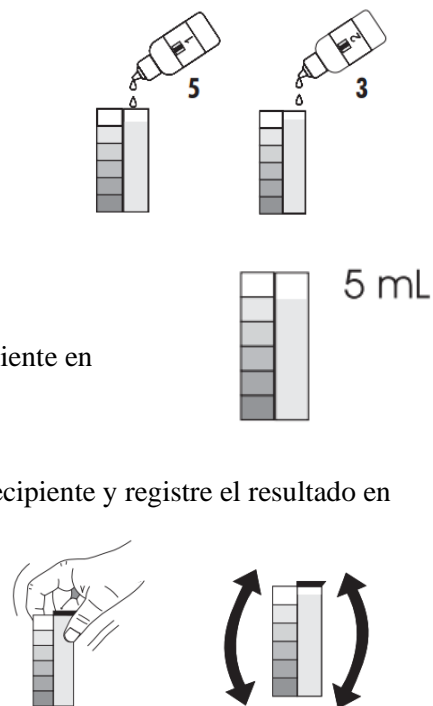
Determinación de Cloro libre:

Añada 5 gotas de reactivo 1 y 3 gotas del reactivo 2 al recipiente para comparar el color.

Llene el recipiente para comparar el color con la muestra de agua hasta la marca de los 5 ml.

Cierre la tapa y mézclelo cuidadosamente, moviendo el recipiente en pequeños círculos, e inviértalo de vez en cuando.

Determine a qué color de la banda se ajusta la solución del recipiente y registre el resultado en mg/l (ppm) de cloro libre.



Anexo D. Protocolo de extracción de compuestos orgánicos con resinas XAD 2 y XAD 7

Este es un protocolo para la extracción de subproductos de desinfección, traducido del protocolo proporcionado por la EPA.

Lavado de resinas XAD:

Primeramente, se debe pesar 100 g de resinas, colocarlo en un vaso de precipitado de 500 ml, Lavar 150 ml NaOH 0,1 N por 30 minutos pasado el tiempo desechar y agregar 200 ml de agua destilada por 30 minutos desechar y por último adicionar 300 ml de metanol por 30 minutos, retirar la resina del vaso y colocarlo en un SOXLET.

Empaquetamiento del SOXLET:

Acomodar algodón de forma de colchón antes de poner la resina, poner la resina, volver a colocar algodón encima de la resina.

Añadir 300 ml de metanol al balón y realizar la extracción por 24 horas, cumplido el tiempo retirar el metanol y colocar 300 ml de acetona, volver a realizar la extracción por 24 horas, cumplido el tiempo retirar la acetona y colocar 300 ml de metanol por otras 24 horas, guardar la resina en un frasco ámbar con metanol y que el metanol cubra totalmente la resina.

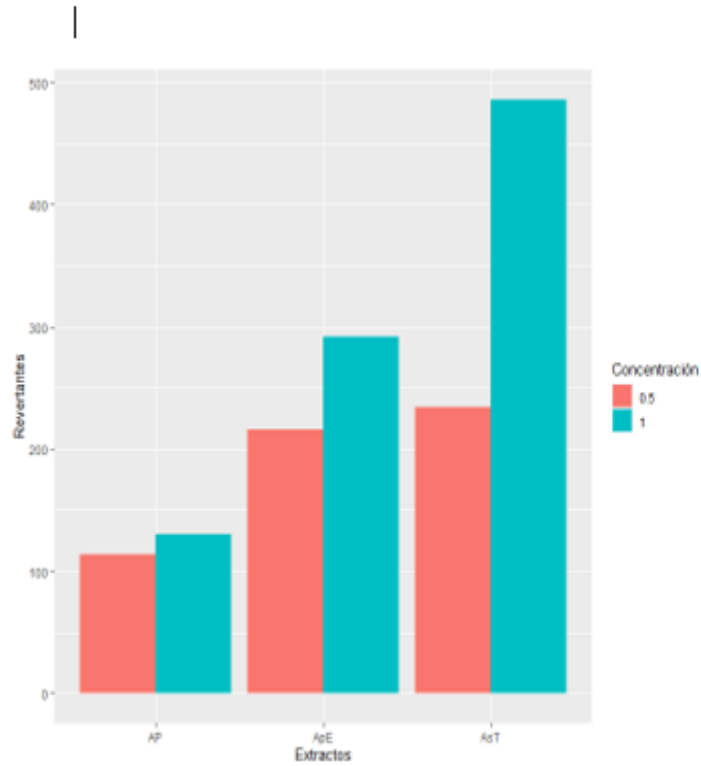
Empaquetamiento de las columnas de vidrio:

Colocar una capa de fibra de vidrio en la columna de vidrio, medir en una probeta la cantidad necesaria de resinas, colocar metanol a la columna antes de ingresar la resina, colocar la columna en un soporte universal y asegurar bien, con ayuda de metanol y con mucho cuidado ingresar la resina XAD 2, seguidamente de la resina XAD 7 teniendo el cuidado de que no se lleguen a mezclar las resinas, lavar con metanol las paredes de la columna para evitar que las resinas se queden pegadas, colocar encima de las resinas otra capa de fibra de vidrio, eliminar el metanol que quedo en la columna, añadir a la columna 3 volúmenes de agua destilada (es decir si se colocó 100 ml de resina se pondrán 300 ml de agua), añadir 2 volúmenes de 0,1 N HCl, seguidamente de 2 volúmenes de 0,1 N NaOH, luego 1 volúmenes de 0,1 N HCl, y por ultimo 2 volúmenes de agua destilada, eliminar el agua.

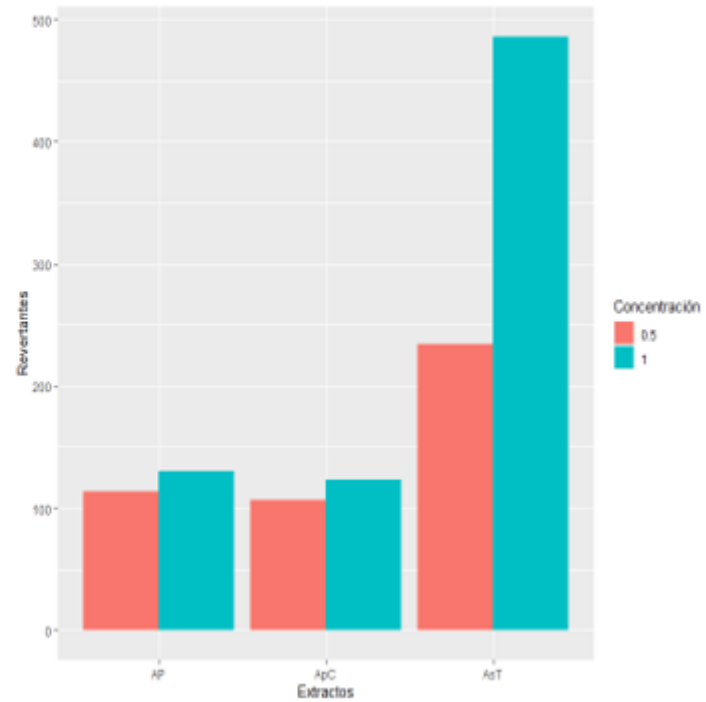


Anexo E. Resultados de comparaciones de cada tratamiento con los respectivos

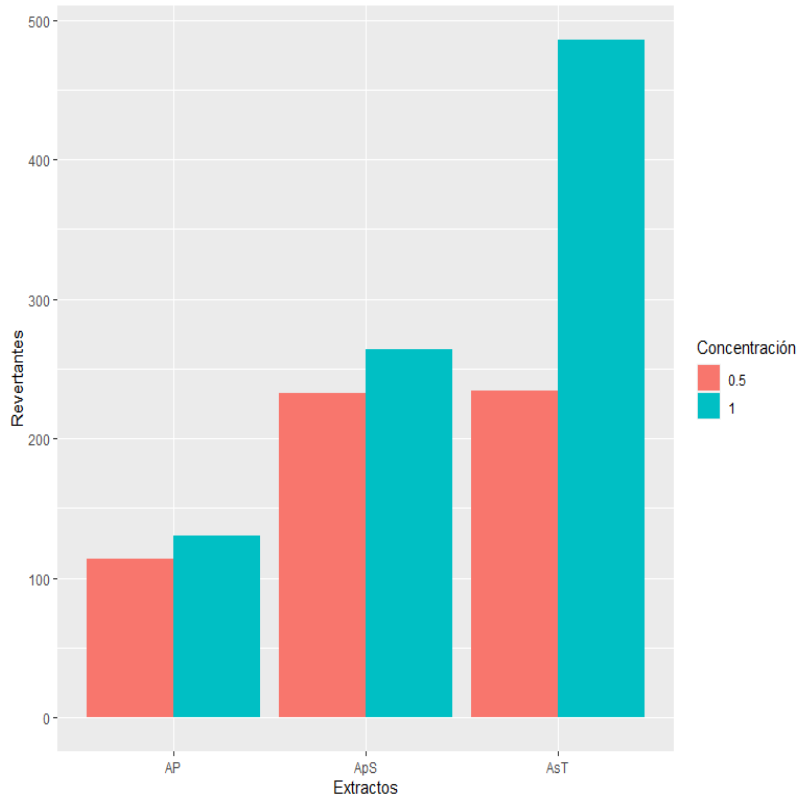
Comparación de número de revertante del extracto de agua potable inicial con el extracto de agua potable sometida a ebullición, MUESTREO 1.



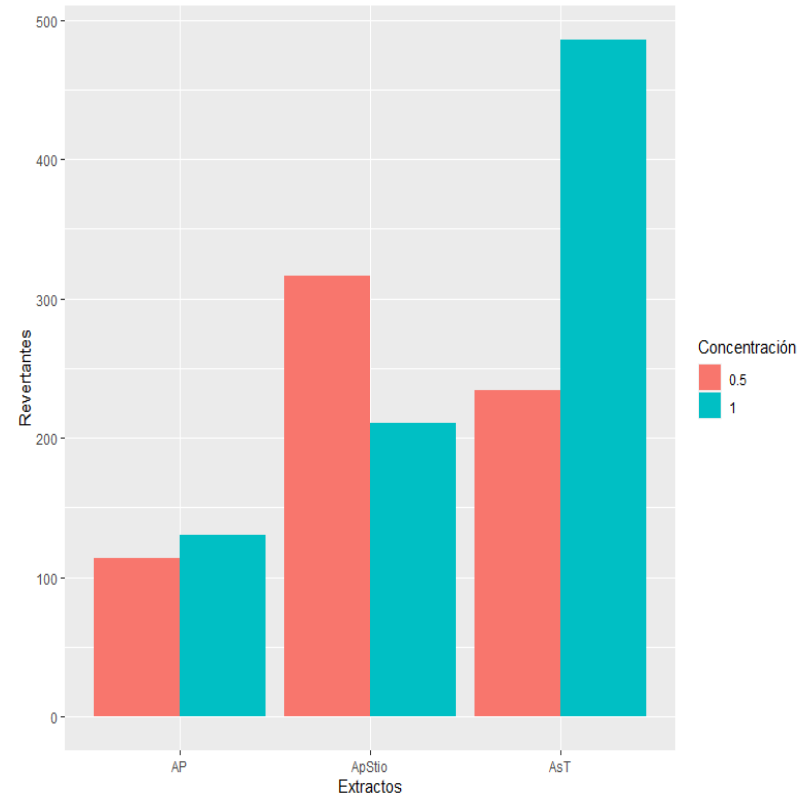
Comparación de número de revertante del extracto de agua potable inicial con el extracto de agua potable filtrada por carbón activado, MUESTREO 1



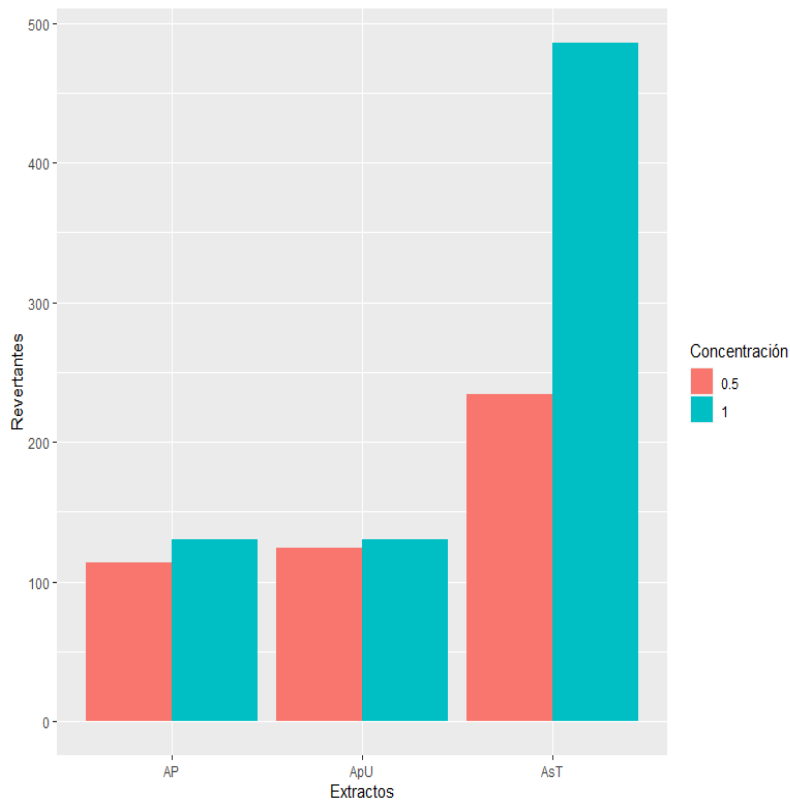
Comparación de número de revertante del extracto de agua potable inicial con el extracto de agua potable sometida a radiación solar, MUESTREO 1.



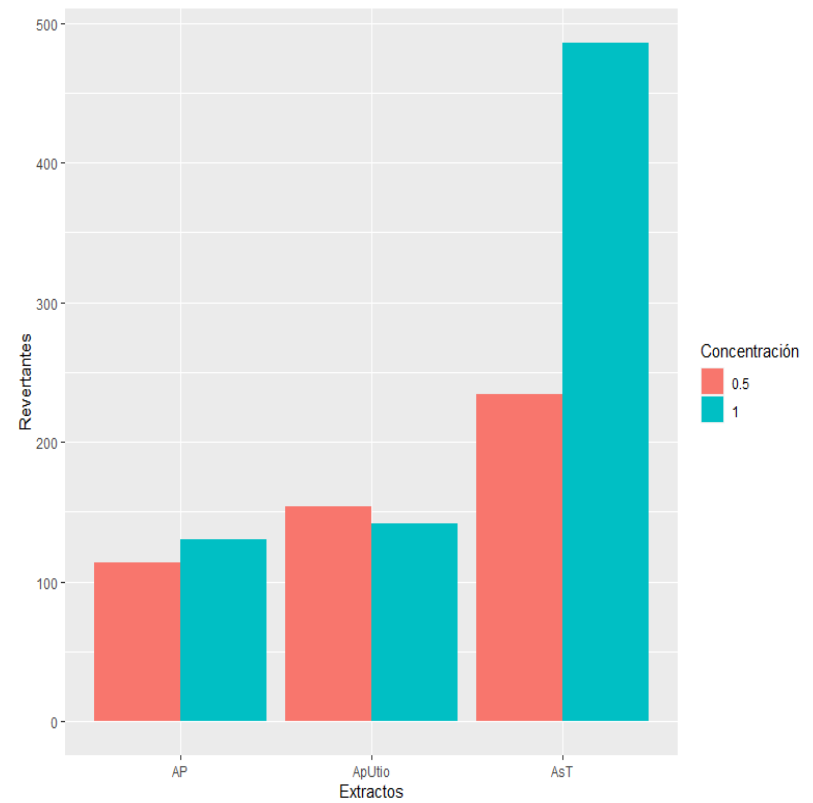
Comparación de número de revertante del extracto de agua potable inicial con el extracto de agua potable sometida a radiación solar con TiO2, MUESTREO 1



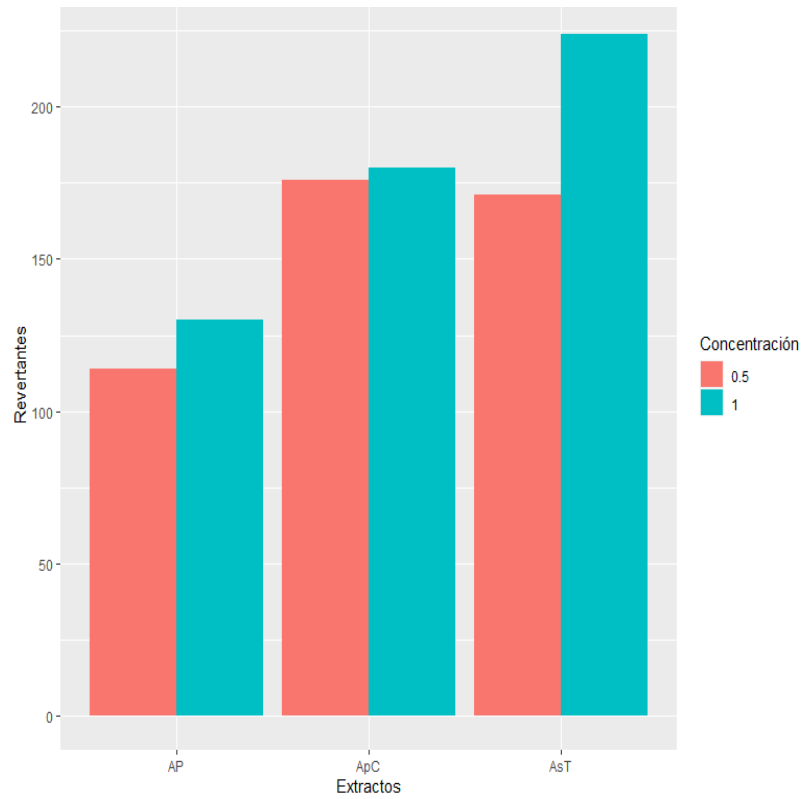
Comparación de número de revertante del extracto de agua potable inicial con el extracto de agua potable sometida a radiación ultravioleta, MUESTREO 1



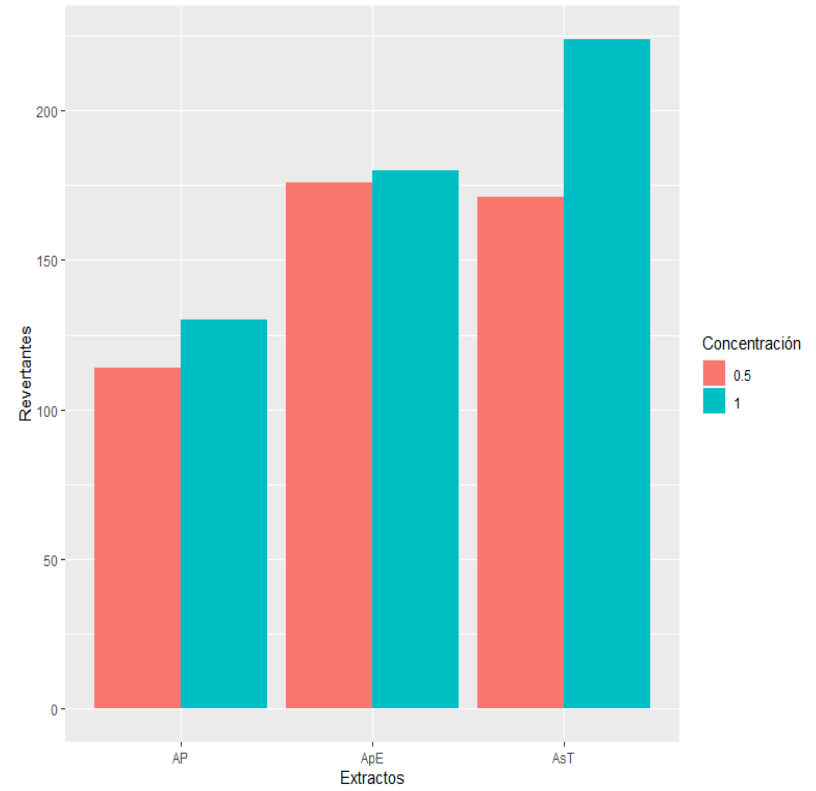
Comparación de número de revertante del extracto de agua potable inicial con el extracto de agua potable sometida a radiación ultravioleta con TiO2, MUESTREO 1.



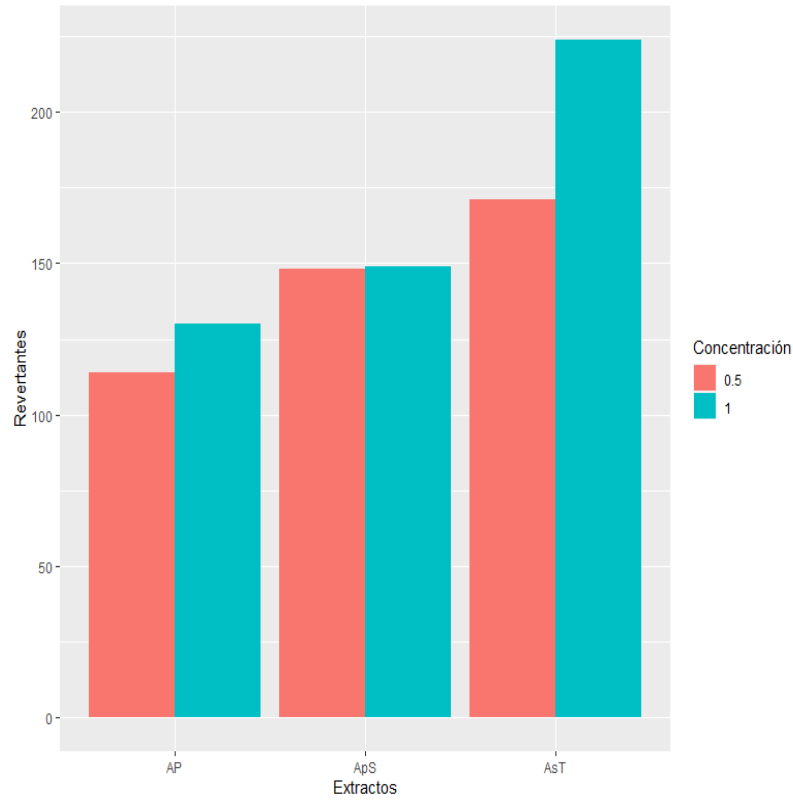
Comparación de número de revertante de los extractos de agua potable inicial con el extracto de agua potable filtrada por carbón activado del MUESTREO 2



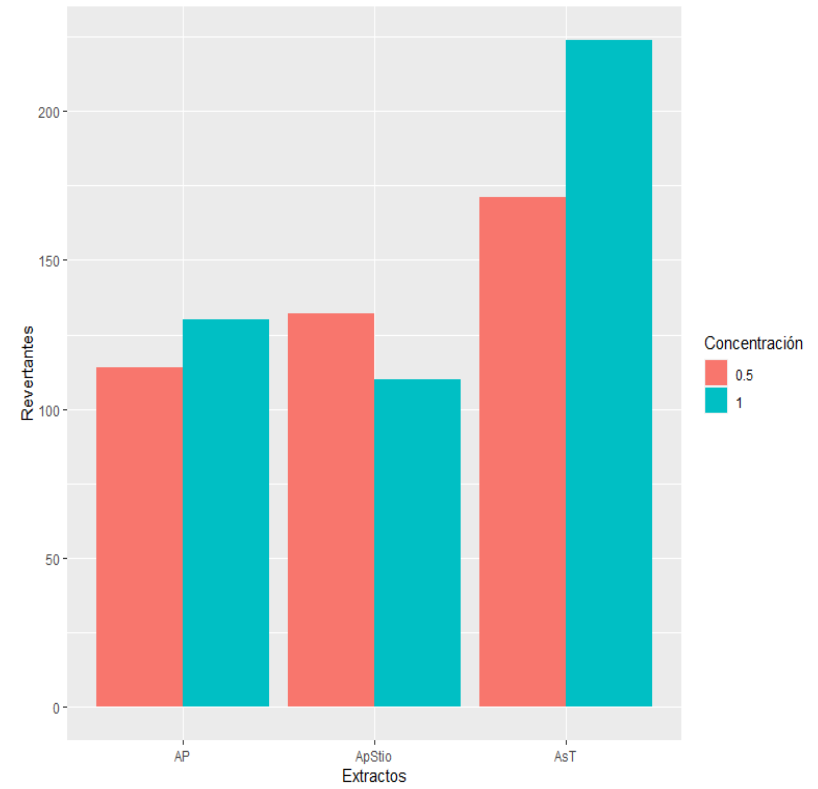
Comparación de número de revertante de los extractos de agua potable inicial con el extracto de agua potable sometida a ebullición, MUESTREO 2



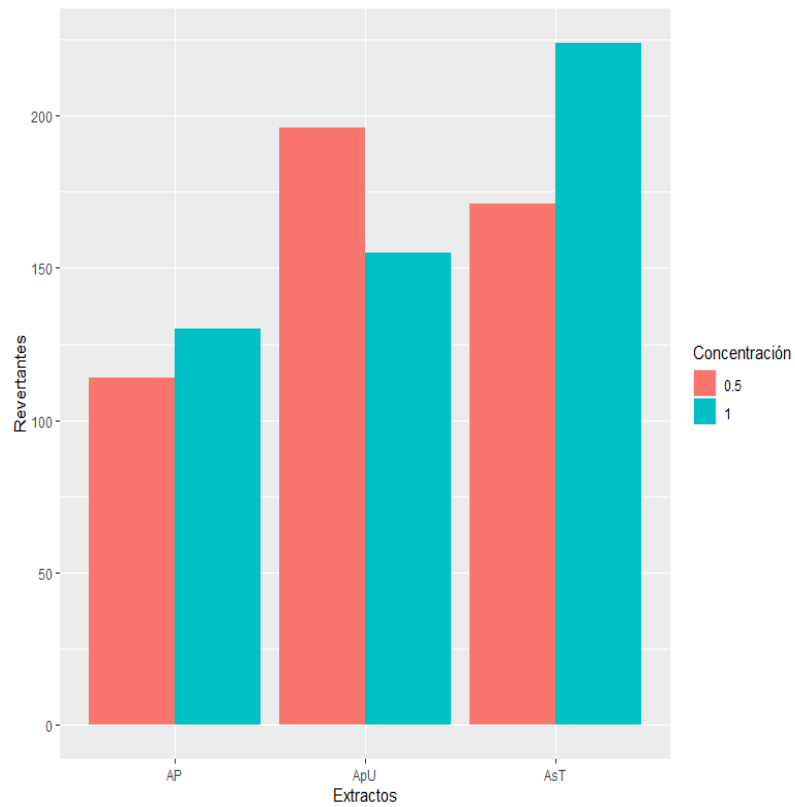
Comparación de número de revertante del extracto de agua potable inicial con el extracto de agua potable sometida a radiación solar, MUESTREO 2



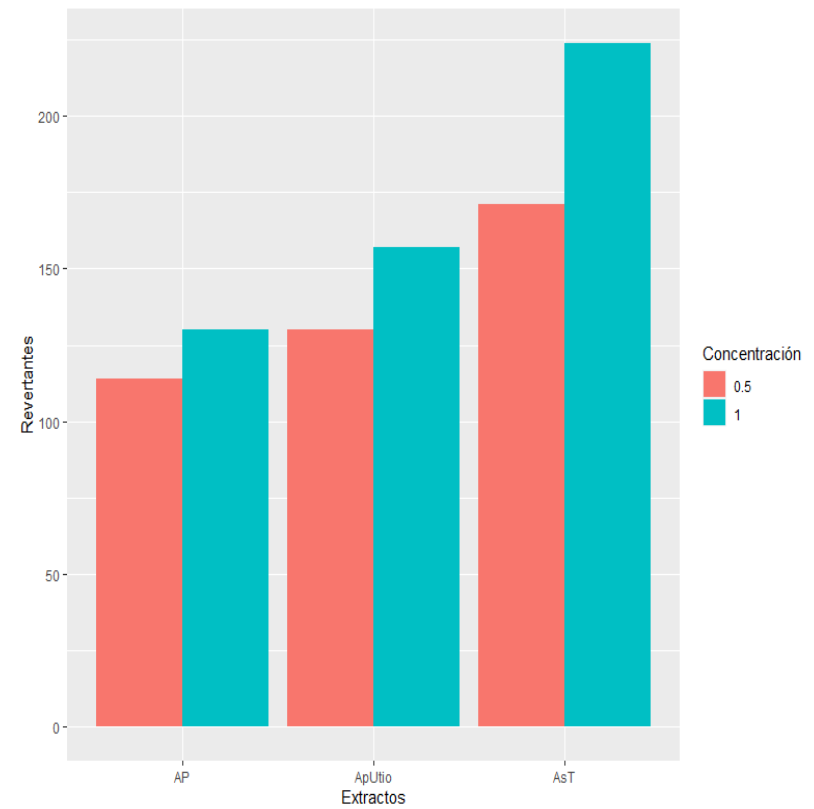
Comparación de número de revertante del extracto de agua potable inicial con el extracto de agua potable sometida a radiación solar con TiO2, MUESTREO 2



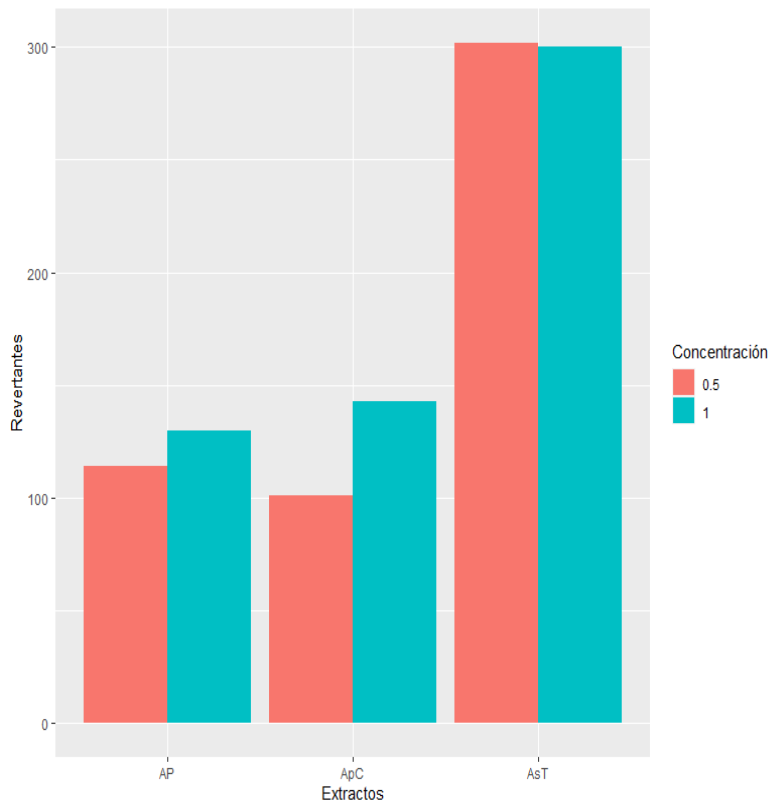
Comparación de número de revertante del extracto de agua potable inicial con el extracto de agua potable sometida a radiación ultravioleta, MUESTREO 2



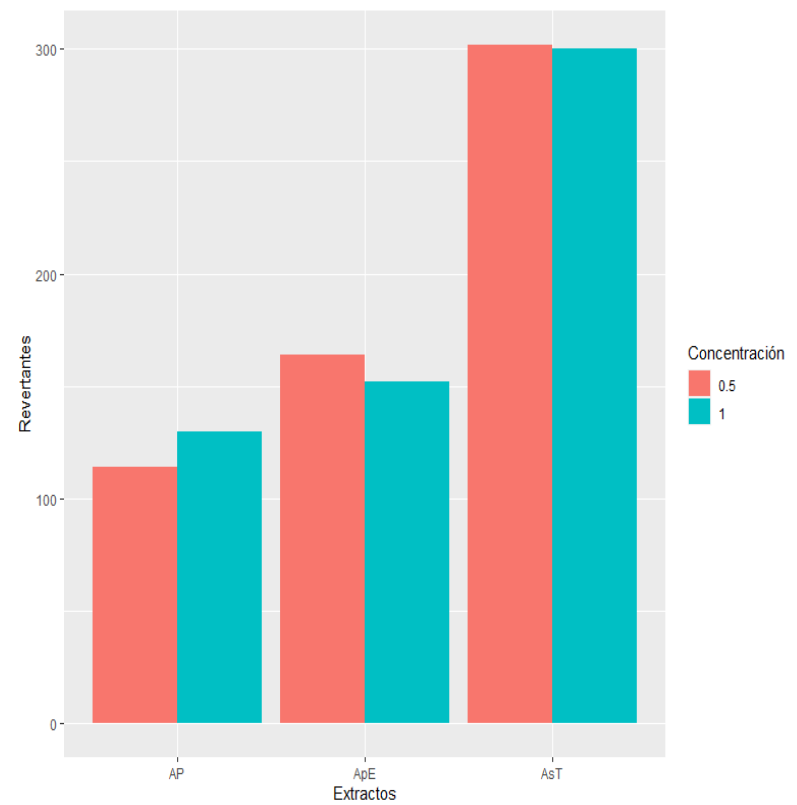
Comparación de número de revertante del extracto de agua potable inicial con el extracto de agua potable sometida a radiación ultravioleta con TiO₂, MUESTREO 2



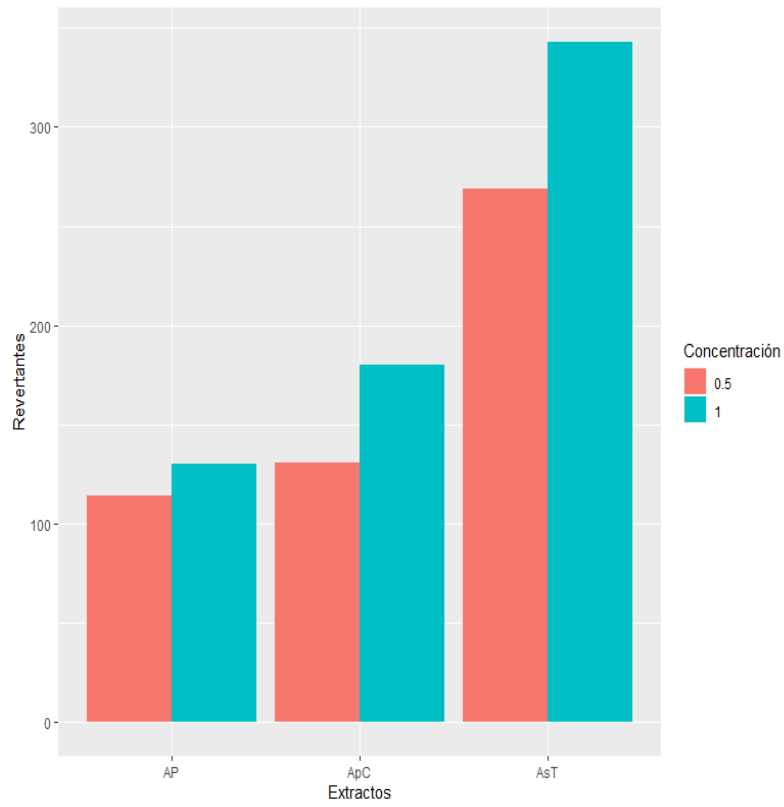
Comparación de número de revertante de los extractos de agua potable inicial con el extracto de agua potable filtrada por carbón activado del MUESTREO 3



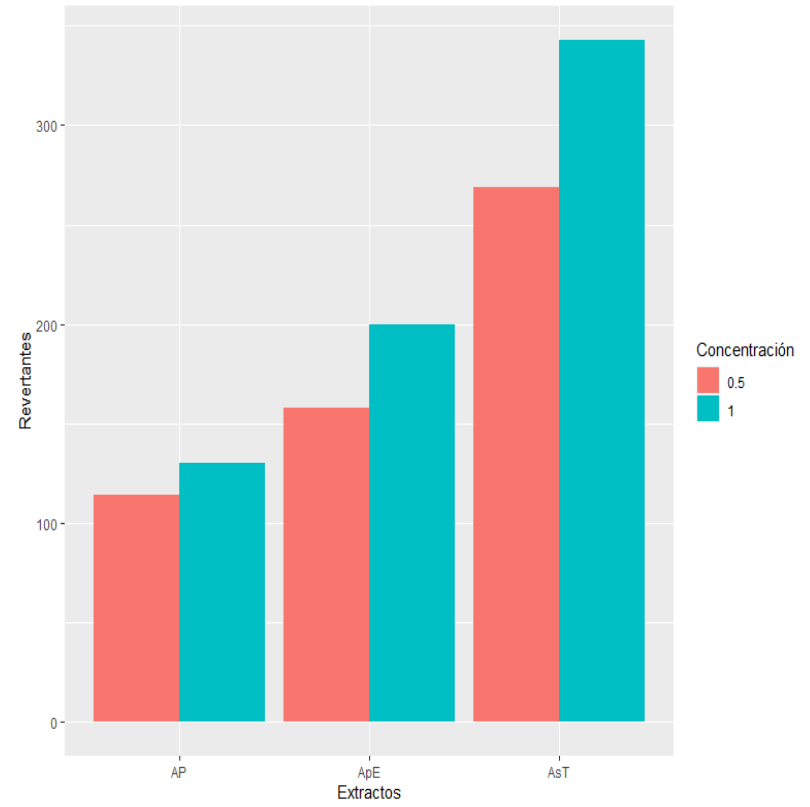
Comparación de número de revertante de los extractos de agua potable inicial con el extracto de agua potable sometida a ebullición, MUESTREO 3



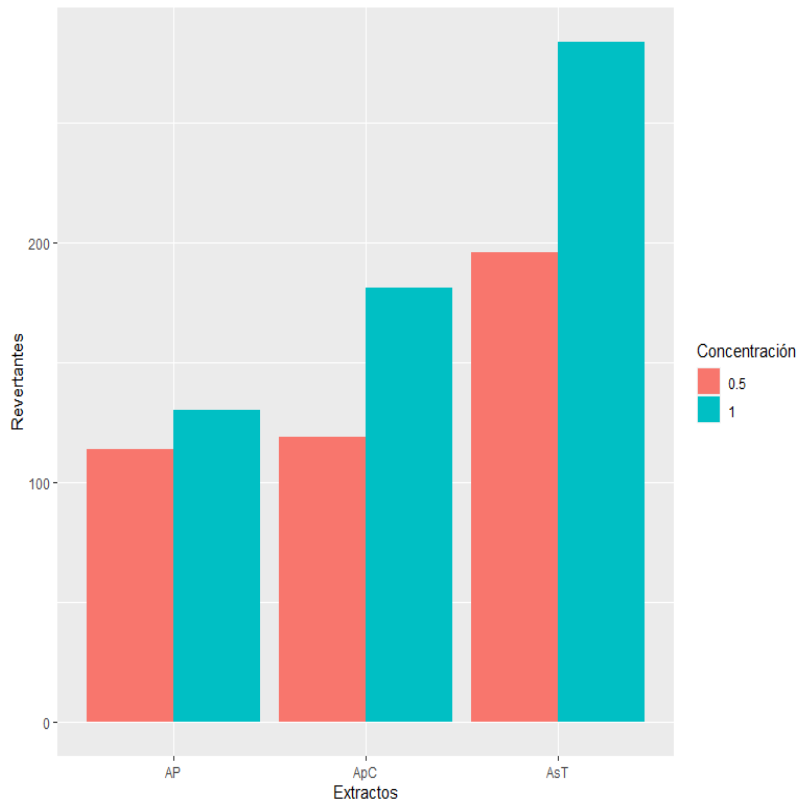
Comparación de número de revertante de los extractos de agua potable inicial con el extracto de agua potable filtrada por carbón activado del MUESTREO 4



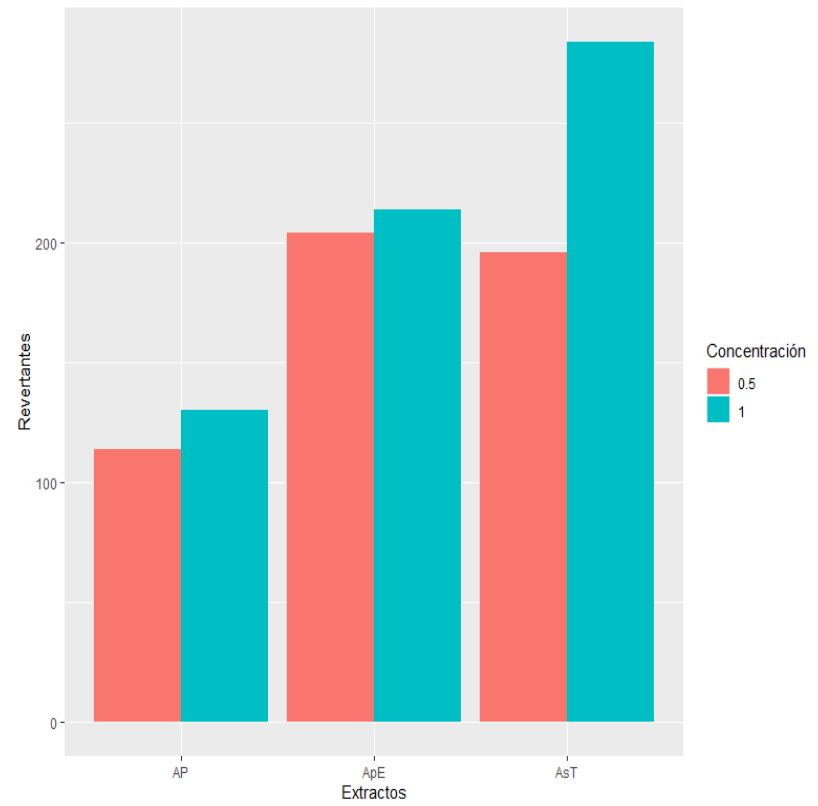
Comparación de número de revertante de los extractos de agua potable inicial con el extracto de agua potable sometida a ebullición, MUESTREO 4



Comparación de número de revertante de los extractos de agua potable inicial con el extracto de agua potable filtrada por carbón activado del MUESTREO 5



Comparación de número de revertante de los extractos de agua potable inicial con el extracto de agua potable sometida a ebullición, MUESTREO 5



Anexo F. Tablas de comparaciones de Tukey

Muestreo 1:

Extractos	diff	lwr	upr	p adj
ApC-AP	-14.166667	-66.09202	37.75868	0.9852715
ApE-AP	90.833333	38.90798	142.75868	0.0000763
ApS-AP	106.666667	54.74132	158.59202	0.0000048
ApStio-AP	124.100000	69.64023	178.55977	0.0000007
ApU-AP	-1.333333	-53.25868	50.59202	1.0000000
ApUtio-AP	9.000000	-42.92535	60.92535	0.9990918
AsT-AP	203.166667	151.24132	255.09202	0.0000000
ApE-ApC	105.000000	53.07465	156.92535	0.0000064
ApS-ApC	120.833333	68.90798	172.75868	0.0000004
ApStio-ApC	138.266667	83.80690	192.72643	0.0000001
ApU-ApC	12.833333	-39.09202	64.75868	0.9917298
ApUtio-ApC	23.166667	-28.75868	75.09202	0.8276381
AsT-ApC	217.333333	165.40798	269.25868	0.0000000
ApS-ApE	15.833333	-36.09202	67.75868	0.9725548
ApStio-ApE	33.266667	-21.19310	87.72643	0.5085920
ApU-ApE	-92.166667	-144.09202	-40.24132	0.0000603
ApUtio-ApE	-81.833333	-133.75868	-29.90798	0.0003698
AsT-ApE	112.333333	60.40798	164.25868	0.0000018
ApStio-ApS	17.433333	-37.02643	71.89310	0.9643430
ApU-ApS	-108.000000	-159.92535	-56.07465	0.0000038
ApUtio-ApS	-97.666667	-149.59202	-45.74132	0.0000230
AsT-ApS	96.500000	44.57465	148.42535	0.0000282
ApU-ApStio	-125.433333	-179.89310	-70.97357	0.0000005
ApUtio-ApStio	-115.100000	-169.55977	-60.64023	0.0000028
AsT-ApStio	79.066667	24.60690	133.52643	0.0011330
ApUtio-ApU	10.333333	-41.59202	62.25868	0.9978077
AsT-ApU	204.500000	152.57465	256.42535	0.0000000
AsT-ApUtio	194.166667	142.24132	246.09202	0.0000000

Muestreo 2:

Extractos	diff	lwr	upr	p adj
ApC-AP	30.50000	-23.197636	84.197636	0.5968328
ApE-AP	48.16667	-5.530969	101.864303	0.1045756
ApS-AP	12.50000	-41.197636	66.197636	0.9942248
ApStio-AP	-10.50000	-64.197636	43.197636	0.9980375
ApU-AP	37.50000	-16.197636	91.197636	0.3425522
ApUtio-AP	-24.50000	-80.818556	31.818556	0.8447857
AsT-AP	67.50000	13.802364	121.197636	0.0062613
ApE-ApC	17.66667	-36.030969	71.364303	0.9588014
ApS-ApC	-18.00000	-71.697636	35.697636	0.9545921
ApStio-ApC	-41.00000	-94.697636	12.697636	0.2416314
ApU-ApC	7.00000	-46.697636	60.697636	0.9998607
ApUtio-ApC	-55.00000	-111.318556	1.318556	0.0594821
AsT-ApC	37.00000	-16.697636	90.697636	0.3587522
ApS-ApE	-35.66667	-89.364303	18.030969	0.4038895
ApStio-ApE	-58.66667	-112.364303	-4.969031	0.0244480
ApU-ApE	-10.66667	-64.364303	43.030969	0.9978326
ApUtio-ApE	-72.66667	-128.985222	-16.348111	0.0047046
AsT-ApE	19.33333	-34.364303	73.030969	0.9348141
ApStio-ApS	-23.00000	-76.697636	30.697636	0.8546668
ApU-ApS	25.00000	-28.697636	78.697636	0.7956401
ApUtio-ApS	-37.00000	-93.318556	19.318556	0.4175315
AsT-ApS	55.00000	1.302364	108.697636	0.0416297
ApU-ApStio	48.00000	-5.697636	101.697636	0.1068073
ApUtio-ApStio	-14.00000	-70.318556	42.318556	0.9914404
AsT-ApStio	78.00000	24.302364	131.697636	0.0011255
ApUtio-ApU	-62.00000	-118.318556	-5.681444	0.0228737
AsT-ApU	30.00000	-23.697636	83.697636	0.6160585
AsT-ApUtio	92.00000	35.681444	148.318556	0.0002191

Muestreo 3:

Extractos	diff	lwr	upr	p adj
ApC-AP	-15.66667	-51.580095	20.24676	0.6069248
ApE-AP	18.83333	-17.080095	54.74676	0.4600867
AsT-AP	163.66667	127.753238	199.58010	0.0000000
ApE-ApC	34.50000	-1.413429	70.41343	0.0619452
AsT-ApC	179.33333	143.419905	215.24676	0.0000000
AsT-ApE	144.83333	108.919905	180.74676	0.0000000

Muestreo 4:

Extractos	diff	lwr	upr	p adj
ApC-AP	21.50000	-20.324581	63.32458	0.4766868
ApE-AP	34.16667	-7.657914	75.99125	0.1308770
AsT-AP	165.50000	123.675419	207.32458	0.0000000
ApE-ApC	12.66667	-29.157914	54.49125	0.8218455
AsT-ApC	144.00000	102.175419	185.82458	0.0000002
AsT-ApE	131.33333	89.508753	173.15791	0.0000007

Muestreo 5:

Extractos	diff	lwr	upr	p adj
ApC-AP	5.00000	-51.258641	61.25864	0.9939977
ApE-AP	54.83333	-1.425307	111.09197	0.0574155
AsT-AP	77.00000	20.741359	133.25864	0.0060811
ApE-ApC	49.83333	-6.425307	106.09197	0.0921448
AsT-ApC	72.00000	15.741359	128.25864	0.0101984
AsT-ApE	22.16667	-34.091974	78.42531	0.6786377