Universidad Nacional Mayor de San Marcos
Universidad del Perú. Decana de América
Facultad de Farmacia y Bioquímica
Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica

Evaluación del potencial mutagénico de aguas contaminadas con metales pesados provenientes de la quebrada Sipchoc (cuenca del río Santa, Ancash) empleando el test de Ames

TESIS

Para optar el Título Profesional de Químico Farmacéutico

AUTORES

Cristhian Alexander PINEDA HUAMAN

Roberto VALDIVIA JUSTO

ASESORAS

Dra. Yadira FERNANDEZ JERI

Dra. María Elena SALAZAR SALVATIERRA (Co-asesora)

Lima, Perú

2026



Reconocimiento - No Comercial - Compartir Igual - Sin restricciones adicionales

https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/

Usted puede distribuir, remezclar, retocar, y crear a partir del documento original de modo no comercial, siempre y cuando se dé crédito al autor del documento y se licencien las nuevas creaciones bajo las mismas condiciones. No se permite aplicar términos legales o medidas tecnológicas que restrinjan legalmente a otros a hacer cualquier cosa que permita esta licencia.

Referencia bibliográfica

Pineda C, Valdivia R. Evaluación del potencial mutagénico de aguas contaminadas con metales pesados provenientes de la quebrada Sipchoc (cuenca del río Santa, Ancash) empleando el test de Ames [Tesis de pregrado]. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica; 2026.

Metadatos complementarios

Datos de autor 1	
Nombres y apellidos	Cristhian Alexander Pineda Huaman
Tipo de documento de identidad	DNI
Número de documento de identidad	70176956
URL de ORCID	https://orcid.org/0000-0002-7560-6715
Datos de autor 2	
Nombres y apellidos	Roberto Valdivia Justo
Tipo de documento de identidad	DNI
Número de documento de identidad	77294799
URL de ORCID	https://orcid.org/0000-0002-5893-5648
Datos de asesor	
Nombres y apellidos	Dra. Yadira Fernandez Jeri
Tipo de documento de identidad	DNI
Número de documento de identidad	28307333
URL de ORCID	https://orcid.org/0000-0002-5775-065X
Datos de coasesor	
Nombres y apellidos	Dra. María Elena Salazar Salvatierra
Tipo de documento de identidad	DNI
Número de documento de identidad	08675623
URL de ORCID	https://orcid.org/0000-0002-5661-4752
Datos del jurado	
Presidente del jurado	
Nombres y apellidos	Dra. Elena Rafaela Benavides Rivera
Tipo de documento	DNI
Número de documento de identidad	08561544

Miembro del jurado 1	
Nombres y apellidos	Mg. Gloria Marina Marín Vallejos
Tipo de documento	DNI
Número de documento de identidad	09690135
Miembro del jurado 2	
Nombres y apellidos	Mg. Robert Dante Almonacid Román
Tipo de documento	DNI
Número de documento de identidad	40493000
Datos de investigación	
Línea de investigación	B.2.5.2. Cambios metabólicos por factores ambientales y genéticos
Grupo de investigación	Bioquímica Toxicológica (BIOTOX)
Agencia de financiamiento	Universidad Nacional Mayor de San Marcos – R.R. N° 006081-2023-R/UNMSM con código de Proyecto A23040211 - PCONFIGI 2023
Ubicación geográfica de la investigación	País: Perú Departamento: Ancash Provincia: Recuay Distrito: Recuay Centro poblado: Recuay Latitud: -9.742964 Longitud: -77.460814
Año o rango de años en que se realizó la investigación	Marzo 2023 – Enero 2026
URL de disciplinas OCDE	Salud pública, Salud ambiental https://purl.org/pe-repo/ocde/ford#3.03.05 Ciencias del medio ambiente https://purl.org/pe-repo/ocde/ford#1.05.08

Universidad Nacional Mayor de San Marcos
Universidad del Perú. Decana de América
Facultad de Farmacia y Bioquímica
Decanato

ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS

Los miembros del Jurado Examinador y Calificador de la Tesis titulada:

Evaluación del potencial mutagénico de aguas contaminadas con metales pesados provenientes de la quebrada Sipchoc (cuenca del río Santa, Ancash) empleando el test de Ames

Que presentan los Bachilleres en Farmacia y Bioquímica:

CRISTHIAN ALEXANDER PINEDA HUAMAN Y
ROBERTO VALDIVIA JUSTO

Que reunidos en la fecha se llevó a cabo la **SUSTENTACIÓN** de la **TESIS**, y después de las respuestas satisfactorias a las preguntas y objeciones formuladas por el Jurado, ha obtenido la siguiente calificación final:

Dieciocho (18) Aprobado con mención honrosa.

de conformidad con el Art. 14.° del Reglamento General de Grados y Títulos de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos para la obtención del Título Profesional de Químico Farmacéutico (a) de la Facultad de Farmacia y Bioquímica.

Lima, 14 de mayo de 2026.

Dra. Elena Rafaela Benavides Rivera
Presidente

Mg. Gloria Marina Marín Vallejos
Miembro

Mg. Robert Danilo Almonacid Román
Miembro

UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE
SAN MARCOS
Universidad del Perú, Decana de América

Anexo 1

CERTIFICADO DE SIMILITUD

Yo, Yadira Fernandez Jeri, en mi condición de asesor acreditado con el Dictamen de la EP N° 012-FFB-EPFB-2025 de la tesis, cuyo título es **Evaluación del potencial mutagénico de aguas contaminadas con metales pesados provenientes de la quebrada Sipchoc (cuenca del río Santa, Ancash) empleando el test de Ames**, presentado por los Bachilleres **Pineda Huaman Cristian Alexander y Valdivia Justo Roberto** para optar por el Título Profesional de Químico Farmacéutico, CERTIFICO que se ha cumplido con lo establecido en la Directiva de Originalidad y de Similitud de Trabajos Académicos, de Investigación y Producción Intelectual. Según la revisión, análisis y evaluación mediante la plataforma PIDS, el documento evaluado cuenta con el 07% de similitud, nivel **PERMITIDO** para continuar con los trámites correspondientes y para su **publicación en el repositorio institucional.**

Se emite el presente certificado en cumplimiento de lo establecido en las normas vigentes, como uno de los requisitos para la obtención del Título Profesional de Químico Farmacéutico.

Lima, 12 de Mayo del 2026

Firma del Asesor:

Nombres y Apellidos del asesor: Fernandez Jeri, Yadira

DNI: 28307333

La vigencia del presente certificado corresponde a un período de noventa (90) días desde la fecha de su emisión; siempre que no haya observaciones en el texto durante el proceso de revisión por el jurado informante o surja alguna contingencia.

DEDICATORIA

A quienes llenaron mis días de fuerza y compañía, gracias por permanecer a mi lado en los momentos más duros.
Este logro también les pertenece.

Bach. Cristhian A. Pineda H.

A las personas que más amo y estimo; estuvieron conmigo en cada momento difícil de mi vida, sin ellos este logro no sería posible.

Bach. Roberto Valdivia J.

AGRADECIMIENTOS

En primer lugar, agradecemos la guía firme y constante de nuestras asesoras: Dra. FERNANDEZ JERI Yadira y Dra. SALAZAR SALVATIERRA María Elena, cuya orientación estratégica, criterio científico y seguimiento detallado marcaron el rumbo de esta investigación desde sus etapas iniciales hasta su consolidación final.

Reconocemos de manera especial la colaboración de nuestro equipo de trabajo: Jia Zhang, Eduardo Estrada, Yocelyn Apolo, Antoané Camacho. Su compromiso, responsabilidad y dedicación en el apoyo constante del trabajo experimental, fue fundamental para la obtención de los resultados que sustentan el presente estudio.

Asimismo, expresamos nuestro agradecimiento a los Grupos de Investigación “Bioquímica Toxicológica – BIOTOX” y “Biofilms Bacterianos en el Perú – BIOBACT”, por proporcionarnos el entorno académico, los recursos y el soporte científico necesarios para desarrollar este proyecto en condiciones óptimas. Su dedicación a la investigación constituye un referente permanente de excelencia.

Finalmente, agradecemos profundamente a nuestros padres por su apoyo incondicional a lo largo de nuestra formación universitaria. Por inculcarnos valores, esfuerzo y perseverancia, y por motivarnos a seguir adelante incluso en los momentos más desafiantes. Este trabajo no solo representa un logro académico, sino también el reflejo del sacrificio, la confianza y el amor constante que nos brindaron durante toda esta etapa.

Bach. Cristhian A. Pineda H.

Bach. Roberto Valdivia J.

La presente investigación ha sido financiada por la Universidad Nacional Mayor de San Marcos – R.R. N° 006081-2023-R/UNMSM con código de Proyecto A23040211 - PCONFIGI 2023

ÍNDICE

RESUMEN XVII
1. INTRODUCCIÓN 1
1.1. Planteamiento del problema 1
1.2. Objetivos 3
1.2.1. Objetivo general 3
1.2.2. Objetivos específicos 4
1.3. Importancia y alcance de la investigación 4
2. REVISIÓN DE LA LITERATURA 5
2.1. Marco teórico 5
2.1.1. Aguas superficiales 5
2.1.1.2. Clasificación de calidad de aguas 6
2.1.1.3. Estándares de calidad de agua 8
2.1.2. Metales pesados 9
2.1.2.1. Toxicidad de mezcla de metales 9
2.1.2.2. Fuentes de contaminación de metales pesados 10
2.1.2.3. Efecto de los metales pesados en la salud 11
2.1.2.4. Determinación de metales pesados en aguas 14
2.1.3. Mutagenicidad 15
2.1.3.1. Clasificación de sustancias mutágenas 16
2.1.3.2. Tipos de mutación 17
2.1.3.2.1. Mutaciones moleculares 18
2.1.3.3. Pruebas para detectar mutagenicidad 19
2.1.4. Test de Ames 20
2.2. Antecedentes del estudio 22
2.3. Glosario de términos 28
3. HIPÓTESIS Y VARIABLES 29
3.1. Hipótesis 29
3.2. Variables 29
4. MATERIALES Y MÉTODOS 30
4.1. Área de estudio 30
4.2. Diseño de investigación 31
4.3. Población y muestra 32

4.4. Procedimientos, técnicas e instrumentos de recolección de información 33
4.4.1. Muestreo de agua superficial 33
4.4.2. Recolección de muestras de agua y caracterización fisicoquímica 33
4.4.2.1. Procedimiento de recolección de muestras 33
4.4.2.2. Medición de los parámetros in situ 34
4.4.3. Cuantificación de metales pesados 34
4.4.4. Ensayo de mutagenicidad (test de Ames) 35
4.4.4.1. Reconstitución de cepas 36
4.4.4.2. Identificación de las características genotípicas de las cepas 36
4.4.4.2.1. Dependencia a Histidina 36
4.4.4.2.3. Sensibilidad a la radiación UV (mutación uvrB) 38
4.4.4.2.4. Resistencia a la ampicilina (plásmido pKM101) 39
4.4.4.2.5. Revertantes espontáneas 39
4.4.4.3. Preparación de Controles Positivos y Mix S9 40
4.4.4.4. Tratamiento de muestras problema y ensayo de mutagenicidad (test de Ames) 41
4.5. Análisis estadístico 43
5. RESULTADOS 44
5.1. Parámetros fisico químicos 44
5.1.1. Parámetros fisicoquímicos evaluados con el ECA-Categ.3.D1 .. 45
5.1.1.1. Potencial de hidrógeno 45
5.1.1.2. Oxígeno disuelto 45
5.1.1.3. Conductividad eléctrica 46
5.2. Cuantificación de metales pesados 47
5.3. Parámetros de los metales pesados evaluados con el ECA-Categ.3.D1 49
5.3.1. Arsénico 49
5.3.2. Berilio 50
5.3.3. Cadmio 50
5.3.4. Cobalto 51
5.3.5. Cobre 51
5.3.6. Cromo 52
5.3.7. Hierro 53
5.3.8. Manganeso 53

5.3.9. Mercurio 54
5.3.10. Níquel 54
5.3.11. Plomo 55
5.3.12. Zinc 55
5.4. Test de Ames 56
5.4.1. Identificación de las características genotípicas de las cepas 56
5.4.2. Número de colonias revertantes 57
5.4.3. Índice de mutagenicidad 60
5.5. Comparación del índice mutagénico entre cada dilución de los puntos de muestreo analizados con y sin Mix S9 62
6. DISCUSIÓN 75
7. CONCLUSIONES 83
8. RECOMENDACIONES 84
9. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS 85
10. ANEXOS 95

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Mapa de los puntos de muestreo de la quebrada Sipchoc. 31
Figura 2. Prueba de identificación de la dependencia Histidina. 37
Figura 3. Prueba de sensibilidad al cristal violeta. 38
Figura 4. Prueba de sensibilidad a la radiación UV. 38
Figura 5. Prueba de resistencia a la ampicilina. 39
Figura 6. Mutación espontánea y Reversión espontánea. 40
Figura 7. Controles positivos y negativos 41
Figura 8. Flujo del proceso del test de Ames. 42
Figura 9. Comparación del pH de puntos de muestreo con el ECACateg3.D1. 45
Figura 10. Comparación del oxígeno disuelto (mg/LDO) en los puntos muestreados con el ECACateg3.D1. 46
Figura 11. Comparación de conductividad eléctrica (µS/cm) en los puntos muestreados con el ECACateg3.D1 46
Figura 12. Comparación de As en los puntos muestreados con el ECA-Categ3.D1 49
Figura 13. Comparación de Be en los puntos muestreados con el ECA-Categ3.D1. 50
Figura 14. Comparación de Cd en los puntos muestreados con el ECA-Categ3.D1. 51
Figura 15. Comparación de Co en los puntos de muestreo con el ECA-Categ3.D1. 51
Figura 16. Comparación de Cu en los puntos muestreados con el ECA-Categ3.D1. 52
Figura 17. Comparación de Cr en los puntos de muestreo con el ECA-Categ3.D1. 52
Figura 18. Comparación de Fe en los puntos de muestreo con el ECA-Categ3.D1. 53
Figura 19. Comparación de Mn en los puntos muestreados con el ECA-Categ3.D1. 54
Figura 20. Comparación de Hg en los puntos de muestreo con el ECA-Categ3.D1. 54
Figura 21. Comparación de Ni en los puntos muestreados con el ECA-Categ3.D1 55
Figura 22. Comparación de Pb en los puntos de muestreo con el ECA-Categ3.D1 55
Figura 23. Comparación de Zn en los puntos de muestreo con el ECA-Categ3.D1 56
Figura 24. (A-C) Muestreo de los puntos en quebrada Sipchoc. (D) Parámetros obtenidos por multitester. (E) Punto de muestreo QSipc1. 95

Figura 25. Pruebas de identificación para las cepas TA98 y TA100 (A) Dependencia a Biotina: TA98/TA100 (—), Salvaje (+). (B) Sensibilidad a Ampicilina: TA98/TA100 (—), Salvaje (+). (C) Dependencia a Histidina-Biotina: TA98/TA100/Salvaje (+). (D) Sensibilidad a UV-Vis: TA98/TA100 (—), Salvaje (+). (E) Sensibilidad a Cristal Violeta: TA98/TA100 (—), Salvaje (+)..... 99

Figura 26. Controles positivos para la prueba del test de Ames (A) Reactivo de Azida de sodio. (B) Reactivo de 2-aminofluoreno. (C) Reactivo de 2-nitrofluoreno. (E-G) Colonias revertantes obtenidas para cada control positivo..... 100

Figura 27. Revertantes espontáneos (Control Negativo). (A, B) Revertantes espontáneos para la cepa TA100. (C, D) Revertantes espontáneos para la cepa TA98..... 101

Figura 28. Reactivos utilizados para el test de Ames. (A, B) Biotina y Histidina, aminoácidos claves para el Agar Superior y crecimiento de las colonias revertantes. (C) Mix S9 Mutazyme ™ Liofilizado para reconstituir. (D) Discos liofilizados de cepas TA100/TA98. 102

Figura 29. Equipos e instrumentos utilizados para la prueba del test de Ames. (A) Densitómetro. (B) Pipetas volumétricas. (C) Vortex Mixer. (D) Cámara UV-Vis. (E) Incubadora. (F) Shaker (agitador orbital). 103

Figura 30. (A, B) Tesistas realizando el test de Ames. (C) Placas de agar mínimo listas para ser utilizadas. 104

Figura 31. Colonias revertantes de TA98 expuestas a las aguas de la quebrada Sipchoc. (A) Placa correspondiente a QSipc1 al 15% sin Mix S9. (B) Placa correspondiente a QSipc2 al 75% sin Mix S9. (C) Placa correspondiente a QSipc3 al 75% con Mix S9. (D) Placa correspondiente a QSipc2 al 75% con Mix S9. 105

Figura 32. Colonias revertantes de TA100 expuestas a las aguas de la quebrada Sipchoc. (A) Placa correspondiente a QSipc4 al 15% sin Mix S9. (B) Placa correspondiente a QSipc4 al 100% sin Mix S9. (C) Placa correspondiente a QSipc2 al 15% con Mix S9. (D) Placa correspondiente a QSipc2 al 50% con Mix S9. 106

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Efectos clínicos de los metales pesados (34). 13

Tabla 2. Clasificación de sustancias mutágenas. 17

Tabla 3. Pruebas de detección mutagénica (38). 19

Tabla 4. Latitud y longitud de los puntos de monitoreo. 30

Tabla 5. Descripción de los puntos de recolección. 32

Tabla 6. Parámetros fisicoquímicos medidos en las aguas de la quebrada Sipchoc. 34

Tabla 7. Oligoelementos a analizar por espectrometría de masas con plasma acoplado inductivamente. 35

Tabla 8. Número de colonias revertantes por cepa. 40

Tabla 9. Concentraciones empleadas en el análisis del test de Ames. 41

Tabla 10. Valores de IM para determinar potencial mutagénico. 43

Tabla 11. Parámetros fisicoquímicos *in situ* en los puntos de muestreo. 44

Tabla 12. Concentraciones obtenidas de metales pesados(mg/L) en los puntos de muestreo de la Quebrada Sipchoc. 47

Tabla 13. Pruebas de identificación para las cepas TA98 y TA100 de *Salmonella* Typhimurium. 56

Tabla 14. Número de colonias revertantes obtenidas en las cepas TA98 y TA100 de Salmonella Typhimurium por exposición a muestras de agua de la quebrada Sipchoc según tratamiento y dilución. 58

Tabla 15. Índices de mutagenicidad obtenidos en las cepas TA98 y TA100 de *Salmonella* Typhimurium por exposición a muestras de agua de la quebrada Sipchoc según punto de muestreo y dilución. 60

Tabla 16. Comparación del índice de mutagenicidad en la cepa TA98 de *Salmonella* Typhimurium expuestas a muestras de agua de la quebrada Sipchoc, en ausencia y presencia de Mix S9. 62

Tabla 17. Comparación del índice de mutagenicidad en la cepa TA100 de *Salmonella* Typhimurium expuestas a muestras de agua de la quebrada Sipchoc, en ausencia y presencia de Mix S9. 64

Tabla 18. Comparación del índice de mutagenicidad entre diluciones en cada punto de muestreo de la cepa TA98 de *Salmonella* Typhimurium sin Mix S9.. 65

Tabla 19. Comparación del índice de mutagenicidad entre diluciones en cada punto de muestreo de la cepa TA98 de *Salmonella* Typhimurium con Mix S9. 67

Tabla 20. Comparación del índice de mutagenicidad entre diluciones en cada punto de recolección de la cepa TA100 de *Salmonella* Typhimurium sin Mix S9. 69

Tabla 21. Comparación del índice de mutagenicidad entre diluciones en cada punto de muestreo de la cepa TA100 de *Salmonella* Typhimurium con Mix S9. 70

Tabla 22. Comparación del índice de mutagenicidad en la cepa TA98 sin Mix S9 de *Salmonella* Typhimurium entre los puntos de muestreo y en cada dilución. 72

Tabla 23. Comparación del índice de mutagenicidad en la cepa TA98 con Mix S9 de *Salmonella* Typhimurium entre los puntos de muestreo y en cada dilución. 73

Tabla 24. Comparación del índice de mutagenicidad en la cepa TA100 sin Mix S9 de *Salmonella* Typhimurium entre los puntos de muestreo y en cada dilución. 74

Tabla 25. Comparación del índice de mutagenicidad en la cepa TA100 con Mix S9 de *Salmonella* Typhimurium entre los puntos de muestreo y en cada dilución. 75

Tabla 26. Concentraciones obtenidas de metales totales (mg/L) en los puntos de muestreo de la Quebrada Sipchoc. 98

Tabla 27. Operacionalización de variables. 126

ABREVIATURAS

ADN: Ácido desoxirribonucleico

Al: Aluminio

ANA: Autoridad Nacional del Agua

As: Arsénico

Cd: Cadmio

CNO: Cianuro

Co: Cobalto

Cr: Cromo

Cu: Cobre

ECA: Estándar de calidad ambiental

Fe: Hierro

HCB: Hidrocarburos

Hg: Mercurio

ICP-MS: Espectrometría de Masa con Plasma Acoplado Inductivamente

IM: Índice mutagénico

MINAN: Ministerio del Ambiente

Mn: Manganeso

Ni: Níquel

OCDE: Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económicos

OMS: Organización Mundial de la Salud

Pb: Plomo

ROS: Especies reactivas del oxígeno

Se: Selenio

SGS: Société Générale de Surveillance

Zn: Zinc

RESUMEN

La contaminación de aguas superficiales por metales pesados representa un problema ambiental y sanitario de alta relevancia en la cuenca del río Santa. En este contexto, la quebrada Sipchoc, influenciada a causa de pasivos y actividades mineras, constituye una fuente potencial de exposición a mezclas de metales con capacidad de afectar la calidad del agua y generar riesgos biológicos. El estudio tiene como objetivo principal determinar la actividad mutagénica de las aguas pertenecientes a la quebrada Sipchoc, contaminadas por metales pesados. Se recolectaron muestras en cuatro puntos de la quebrada Sipchoc, determinándose in situ pH, temperatura, oxígeno disuelto y conductividad eléctrica. La cuantificación de metales pesados se efectuó mediante ICP-MS, mientras que la evaluación de la mutagenicidad se evaluó mediante el test de Ames en cepas *Salmonella* Typhimurium TA98 y TA100, en presencia y ausencia de Mix S9. Los resultados evidenciaron pH ácido, bajos niveles de oxígeno disuelto y presencia de metales pesados, con predominio de carga metálica en QSipc2. El cadmio superó los Estándares de Calidad Ambiental en todos los puntos (0.04226 mg/L, 0.07487 mg/L, 0.02763, 0.02614 mg/L), y se observaron mayores valores de ligera mutagenicidad (menor a 2.00) en los puntos QSipc2 y QSipc3 para TA100 con Mix S9 y no se evidenció diferencia significativa en el índice mutagénico entre las condiciones con y sin Mix S9 en las diluciones evaluadas. Se concluye que, aunque no se demostró mutagenicidad por encima de 2.00, las aguas presentan moderado riesgo mutagénico, por lo que requieren vigilancia ambiental continua.

Palabras claves: Metales pesados, índice mutagénico, río Santa, test de Ames, calidad del agua.

ABSTRACT

Surface water contamination by heavy metals represents a significant environmental and health problem in the Santa River basin. In this context, the Sipchoc stream, affected by mining liabilities and activities, constitutes a potential source of exposure to mixtures of metals capable of impacting water quality and generating biological risks. The main objective of this study is to determine the mutagenic activity of water from the Sipchoc stream, contaminated by heavy metals. Samples were collected at four points along the Sipchoc stream, and pH, temperature, dissolved oxygen, and electrical conductivity were determined in situ. Heavy metal quantification was performed using ICP-MS, while mutagenicity was assessed using the Ames test on Salmonella Typhimurium TA98 and TA100 strains, in the presence and absence of Mix S9. The results showed acidic pH, low levels of dissolved oxygen, and the presence of heavy metals, with a predominance of metal content in sample QSipc2. Cadmium exceeded Environmental Quality Standards at all sampling points (0.04226 mg/L, 0.07487 mg/L, 0.02763 mg/L, 0.02614 mg/L). Higher values indicating slight mutagenicity (less than 2.00) were observed at sampling points QSipc2 and QSipc3 for TA100 with Mix S9. No significant difference in the mutagenic index was found between the conditions with and without Mix S9 at the evaluated dilutions. It is concluded that, although mutagenicity above 2.00 was not demonstrated, the waters present a moderate mutagenic risk and therefore require continuous environmental monitoring.

Keywords: Heavy metals, mutagenicity index, Santa river, Ames test, water quality.

1. INTRODUCCIÓN

1.1. Planteamiento del problema

Los desafíos medioambientales más urgentes giran en torno a la contaminación hídrica, provocada por la ingesta de sustancias químicas, agentes físicoquímicos y microorganismos en los sistemas de drenaje (1). A nivel global, los metales pesados destacan como contaminantes primarios, originados mayoritariamente por actividades antropogénicas vinculadas a la industria y la minería. Su toxicidad para la salud humana los convierte en un problema de salud pública crítico, especialmente porque las fuentes hídricas contaminadas abastecen a poblaciones cercanas a los ríos, generando efectos perjudiciales tanto para el ambiente como para los ecosistemas (2).

En este contexto, los metales pesados representan un factor determinante en el deterioro de la calidad del agua, particularmente en zonas influenciadas por relaves mineros donde se identifican concentraciones de arsénico (As), cadmio (Cd), mercurio (Hg) y cianuro (CNO). La persistencia de estos elementos incrementa su potencial tóxico, provocando afecciones crónicas respiratorias, cardíacas, dérmicas y gastrointestinales en las poblaciones expuestas (3). Entre ellos, el plomo (Pb) resalta por su elevada peligrosidad, siendo responsable de una proporción significativa de la morbilidad y mortalidad asociada a la contaminación hídrica a nivel mundial, razón por la cual la Organización Mundial de la Salud (OMS) lo clasifica como uno de los diez contaminantes más preocupantes (4), con un impacto directo en la seguridad del recurso (3, 5).

En el ámbito nacional, el MINSA reportó que en 2020 más del 31% de la población peruana estuvo expuesta a metales pesados y compuestos químicos, siendo un 20% expuesto a metaloides como el As y un 6% a hidrocarburos (HCB). Estas comunidades han sufrido durante años los efectos de estos metales sobre su salud, situación agravada por la ausencia de un monitoreo apropiado de sus recursos hídricos aledaños (6). Esta realidad local se enmarca en la problemática de la actividad mutagénica, definida como la capacidad de

ciertos agentes para inducir cambios permanentes en el ADN, lo que representa un riesgo crítico para la estabilidad genómica y se vincula a enfermedades como cáncer, diabetes y trastornos cardiovasculares (7). En la cuenca del río Santa, la urbanización y la industrialización sin control ambiental han introducido metales pesados (As, Pb, Cd, Hg) y residuos diversos (8, 9), afectando no solo la salud humana directa, sino también la agricultura mediante la acumulación de toxinas en suelos y cultivos, comprometiendo la seguridad alimentaria.

El río Santa no es ajeno a esta problemática; la Autoridad Nacional del Agua (ANA) ha identificado 152 orígenes de contaminación en la cuenca, donde el 10% se relaciona con descargas mineras, el 8% con pasivos ambientales y el 7% con residuos sólidos. El reporte de la ANA indica que existen puntos donde las concentraciones de zinc (Zn), As, Cd, Pb y manganeso (Mn) alcanzan niveles de 1.117, 0.17999, 0.08312, 0.1426 y 4.347 mg/L respectivamente, superando significativamente los Estándares de Calidad Ambiental (ECA). Específicamente, la quebrada Sipchoc, que desemboca en el río Santa, ha sido escenario de actividad minera polimetálica desde los años 60, época sin normativas ambientales vigentes, lo que ha dejado una estela de pasivos ambientales como bocaminas y relaves ubicados junto al cauce (10).

Ante la presencia confirmada de metales pesados en la quebrada Sipchoc, recurso utilizado para el regadío y el consumo humano, surge una incertidumbre crítica: aún no se ha determinado si estas aguas son seguras para la salud humana y el medio ambiente. Por ello, es fundamental evaluar su seguridad y los posibles efectos toxicológicos que podrían generar en el ecosistema circundante (11). Esta necesidad de evaluación profunda plantea un desafío técnico, ya que la gestión del riesgo requiere ir más allá de las mediciones superficiales para entender la verdadera carga biológica del agua.

Tradicionalmente, la evaluación de la calidad de las aguas superficiales se ha realizado mediante parámetros fisicoquímicos y microbiológicos, los cuales permiten estimar el grado de contaminación y el riesgo sanitario inmediato (12).

Sin embargo, estos enfoques convencionales presentan una limitación importante: no siempre reflejan la presencia de contaminantes emergentes ni el potencial efecto mutagénico de mezclas complejas de xenobióticos, como metales pesados y plaguicidas, que pueden causar daños al material genético incluso a concentraciones bajas no detectables por métodos estándar (13). En este escenario, las metodologías de evaluación mutagénica han cobrado relevancia como herramientas complementarias indispensables para una valoración integral de la seguridad del agua, al permitir detectar efectos biológicos adversos que los parámetros convencionales pasan por alto (14).

Dentro de estas técnicas avanzadas, el test de Ames destaca como un ensayo bacteriano ampliamente validado para la detección de sustancias con capacidad mutagénica, empleando cepas de Salmonella diseñadas específicamente para responder ante distintos tipos de mutágenos. Este método ha sido aplicado con éxito para identificar actividad mutagénica en diversas fuentes de agua superficial y potable (15). En consecuencia, el presente estudio plantea investigar el potencial mutagénico de las aguas superficiales de la quebrada Sipchoc utilizando este bioensayo como un complemento a los análisis convencionales. El objetivo es realizar una evaluación más integral de la seguridad ambiental y sanitaria del recurso hídrico, cerrando así la brecha de información sobre los riesgos genotóxicos reales que enfrenta la población.

Formulación del problema de investigación:

¿Las aguas contaminadas con metales pesados de la quebrada Sipchoc, en la cuenca del río Santa, presentan potencial mutagénico detectado mediante el test de Ames?

1.2. Objetivos

1.2.1. Objetivo general

- Evaluar el potencial mutagénico en aguas contaminadas con metales pesados provenientes de la quebrada Sipchoc (cuenca del río Santa, Ancash).

1.2.2. Objetivos específicos

- Caracterizar los parámetros fisicoquímicos de las aguas superficiales de la quebrada Sipchoc (cuenca del río Santa, Ancash).
- Comparar las concentraciones de los metales pesados presentes en las aguas superficiales de la quebrada Sipchoc (cuenca del río Santa, Ancash) con los Estándares de Calidad de Agua.
- Calcular el índice mutagénico de las aguas de la quebrada Sipchoc (cuenca del río Santa, Ancash).
- Comparar el índice mutagénico entre cada dilución de los puntos de muestreo analizados con y sin Mix S9.

1.3. Importancia y alcance de la investigación

La cantidad de investigaciones basadas en la aplicación del test de Ames como método para determinar el potencial mutagénico en muestras de agua de efluentes superficiales en el país son escasas, por lo que el presente estudio busca contribuir a llenar ese vacío de conocimiento. Por lo que este estudio pretende que los resultados obtenidos sirvan como línea de base teórica para futuras investigaciones sobre mutagenicidad que empleen esta prueba.

Como consecuencia de las actividades realizadas en la quebrada Sipchoc (cuenca del río Santa), se ve afectada la calidad del agua, por lo que se propone que este estudio sirva para promover un mayor control y tratamiento de los efluentes que provienen de estas zonas, donde se han reportado la presencia de metales como aluminio (Al), hierro (Fe), Mn y níquel (Ni), que lograron superar los ECA – Categoría 1.A2 (16). Puesto que varios de los puntos del río Santa cuentan con una clasificación de Categoría 3 - Riego de vegetales y bebida de animales, así mismo la parte norte del mismo está clasificada con la Categoría 1-A2 - Poblacional y recreacional, aguas que podrían ser potabilizadas con tratamiento convencional (16), se proyecta conocer si estas aguas son seguras para su uso humano y ganadero. Ya que podrían acarrear en daños perjudiciales para los consumidores directos e indirectos de estas aguas.

Además, este estudio puede ser muy útil para la toma de decisiones y políticas de la gestión de recursos hídricos y estrategias de conservación, puesto que no existen al momento estudios de seguridad de estas aguas. Los hallazgos del estudio podrían servir de base para que el gobierno regional de la localidad adopte acciones destinadas a disminuir la contaminación de los recursos hídricos por metales pesados.

2. REVISIÓN DE LA LITERATURA

2.1. Marco teórico

2.1.1. Aguas superficiales

Las aguas superficiales generalmente se describen como aquellas aguas expuestas a la atmósfera y susceptibles a correr en la superficie. Tras su formación, sigue la ruta que presenta menos obstáculos, siendo conducida por una red de arroyos, riachuelos y ríos desde zonas elevadas hacia un cuerpo de agua principal (17).

Las aguas superficiales representan un recurso esencial para el desarrollo humano, al proporcionar el abastecimiento necesario para diversas actividades socioeconómicas en las comunidades. Sin embargo, gran parte de estas actividades también generan efectos adversos sobre su calidad y conservación. De manera general, las aguas superficiales están expuestas a procesos de contaminación de origen natural, como el transporte de materiales disueltos, partículas y materia orgánica, así como a fuentes de origen antrópico, entre las que destacan las descargas de aguas servidas de origen doméstico, la escorrentía proveniente de la actividad agrícola y los efluentes industriales, entre otros (18).

2.1.1.1. Calidad del agua

El nivel de calidad del agua engloba una serie de características fisicoquímicas, su composición y el estado de los organismos que habitan en ella (19), así como las condiciones necesarias para mantener un ecosistema

equilibrado y cumplir con determinados estándares de calidad (20). Esta puede modificarse tanto por causas naturales como por factores externos. Cuando dichos factores externos alteran las condiciones naturales del agua y no forman parte del ciclo hidrológico, este proceso se denomina contaminación (20).

Por ende, se considera que el agua alcanza una calidad adecuada cuando carece de elementos nocivos para la salud de quienes la consumen, así como de sustancias que generen sensaciones sensoriales desfavorables como olor, color, sabor o turbidez (20).

La mayoría de los contaminantes que llegan al medio marino tienen su origen en actividades desarrolladas en tierra firme, particularmente en aquellas que se realizan en zonas próximas al litoral. Entre estas fuentes se encuentran las descargas de residuos líquidos y sólidos generados por los asentamientos humanos, los desechos procedentes de las industrias pesquera y forestal, los vertimientos de residuos oleosos asociados a las actividades marítimas y portuarias, así como las labores de dragado efectuadas en los puertos (21). A estos factores se añaden los aportes movilizados por los ríos y la escorrentía generada por actividades antrópicas desarrolladas en zonas montañosas, como la minería y la agricultura, cuyos residuos contienen microorganismos, grasas, aceites, materia orgánica y nutrientes. La presencia de estos componentes altera las características fisicoquímicas del agua, modificando parámetros como la conductividad, el pH, la demanda de oxígeno y la dureza, además de favorecer el incremento de sulfuros, amoníaco, nitratos y compuestos ácidos derivados de vertimientos de origen agrícola, industrial y doméstico, lo que contribuye al deterioro del ambiente (21).

2.1.1.2. Clasificación de calidad de aguas

La evaluación de la calidad del agua se basa en la comparación entre las concentraciones de sustancias contaminantes identificadas en campo y los límites máximos permitidos por la normativa vigente. Asimismo, los criterios de

calidad aplicables a los ríos y a otros cuerpos de agua se establecen de acuerdo con los distintos usos que se les asigna (22).

En el Perú, la Ley de Recursos Hídricos Nº 29338 señala en su artículo 73° que el ANA tiene la responsabilidad de establecer la clasificación de los cuerpos de agua. Para ello, se toman en cuenta factores como el volumen y la pureza del agua, las condiciones hidrográficas, los requerimientos de las comunidades cercanas y diversos criterios técnicos adicionales. Estas incluyen la protección de la calidad del agua para usos primarios, poblacionales, actividades productivas, áreas naturales protegidas, territorios de comunidades indígenas, además de la preservación de lagos y lagunas. EL ANA es la entidad encargada de clasificar cada cuerpo de agua natural, asignándole la categoría correspondiente de acuerdo con sus características intrínsecas o niveles de referencia, en concordancia a la normativa actual (23).

Considerando que el agua es un componente esencial que atiende múltiples propósitos, según lo indicado en el artículo 35 de la Ley de Recursos Hídricos, Número 29338, se definen las categorías de uso del agua, estableciendo su asignación y aplicación en el siguiente orden de prioridad (23):

- Uso Primario: implica el empleo directo y efectivo del agua en fuentes naturales y corrientes públicas para satisfacer las necesidades humanas fundamentales.
- Uso Poblacional: se refiere a la captación de agua de fuentes públicas debidamente tratadas para cubrir las necesidades básicas humanas. La licencia para el uso de agua con propósitos poblacionales se otorga a las entidades responsables del suministro de agua a la población.
- Uso Productivo: involucra la utilización del agua en procesos de producción o como preparación para estos. En caso de competencia por el suministro de agua para usos productivos, se establece un orden de preferencia: primero, para usos agrícolas, acuícolas y pesqueros; seguido

por usos energéticos, industriales, medicinales y mineros, recreativos, turísticos y de transporte.

La categorización de cuerpos de agua en la superficie continental se formuló considerando criterios técnicos que incluyen el uso en curso (puntos donde se toma el agua), zonas protegidas, territorios de comunidades indígenas, así como lagos y lagunas. De acuerdo con el nivel de la información y análisis se considera la aplicación de tres categorías principales las cuales son (23):

Categoría 1, Subcategoría A2: Aguas destinadas a la potabilización mediante tratamiento convencional.

Categoría 3: Aguas destinadas a la irrigación de vegetales y al consumo de bebidas por animales.

Categoría 4: Aguas destinadas a la conservación del ambiente acuático.

2.1.1.3. Estándares de calidad de agua

En Perú, la calidad de aguas está determinada principalmente por el Reglamento en relación a ECA para aguas, establecido mediante el D.S. N° 004-2017-MINAM (24). Este reglamento establece directrices detalladas que abarcan aspectos físicos, químicos, biológicos y microbiológicos para controlar la calidad del agua. Los estándares consideran una variedad de parámetros clave: desde propiedades físicas como temperatura, turbidez y color, hasta aspectos químicos como pH, oxígeno disuelto, presencia de metales pesados, nutrientes (como nitratos, fosfatos) y compuestos orgánicos. Asimismo, se considera la existencia de microorganismos que evidencian contaminación fecal, como los coliformes fecales, *Escherichia coli* y otros similares. Estos estándares son establecidos por el Ministerio del Ambiente (MINAM) y aplicables a distintos tipos de aguas, incluyendo las destinadas al consumo humano, aguas superficiales, marinas, continentales y residuales. Entidades gubernamentales y organismos de control ambiental se encargan de regular y vigilar el cumplimiento de estos estándares

a fin de garantizar la conservación de la calidad del recurso hídrico en el país (24).

2.1.2. Metales pesados

Los metales pesados son elementos metálicos que presentan una densidad notablemente superior a la del agua, existe una correlación entre su peso y su toxicidad, y esta categoría abarca también a los metaloides, como el As, capaces de generar toxicidad incluso a niveles de exposición bajos (25). La presencia de metales pesados constituye una problemática ambiental y de salud pública cada vez más relevante, debido a su persistencia en el ambiente, su alta toxicidad y los efectos perjudiciales que ocasiona tanto en los ecosistemas como en la salud humana (26). El contacto de las personas con estos metales ha aumentado de manera considerable, debido sobre todo al crecimiento acelerado de su utilización en distintos ámbitos industriales, agrícolas, domésticos y tecnológicos. Las principales fuentes identificadas en el medio ambiente comprenden emisiones geológicas, industriales, agrícolas, farmacéuticas, domésticas y atmosféricas. La contaminación del entorno es especialmente notoria en zonas de origen específico, como áreas mineras, fundiciones e industrias afines que trabajan con metales (25).

La toxicidad y el potencial carcinogénico asociado a los metales pesados involucra múltiples procesos mecánicos químicos y bioquímicos, algunos de los cuales permanecen sin una explicación clara o una comprensión completa. Sin embargo, se reconoce que cada metal posee características y propiedades fisicoquímicas propias, las cuales condicionan sus mecanismos particulares de toxicidad (27).

2.1.2.1. Toxicidad de mezcla de metales

En el medio ambiente, los organismos vivos están expuestos a múltiples xenobióticos, como metales y sustancias orgánicas, a través de diferentes rutas como resultado de la variabilidad ambiental y ocupacional. Aunque existen

diversos efectos para la salud asociados con la exposición a metales individuales. Considerando mezclas binarias de metales pesados de baja concentración, las toxicidades agudas y subcrónicas de Pb y Cd en ratas Sprague Dawley inducen cambios en los parámetros fisiológicos y bioquímicos tras la exposición, causando anemia hipocrómica microcítica y daños en el hígado y los riñones (28).

Los metales pesados presentan una alta persistencia ambiental, ya que no se degradan fácilmente, pueden bioacumularse en los organismos y biomagnificarse a través de la cadena trófica, ocasionando efectos adversos como carcinogénesis, mutagénesis y trastornos neurológicos. En la evaluación de la toxicidad de mezclas de metales, uno de los parámetros más relevantes es el modo de acción. Este comprende la secuencia de procesos biológicos que comienza con la interacción del tóxico con su receptor y continúa mediante alteraciones funcionales y anatómicas en el organismo, las cuales pueden culminar en efectos subletales o letales. Por tanto, el modo de acción puede entenderse como la respuesta generada en un organismo expuesto a un tóxico, así como las características críticas del mecanismo requeridas para producir una respuesta biológica determinada (29).

2.1.2.2. Fuentes de contaminación de metales pesados

La fuente principal de contaminación por metales pesados proviene principalmente de los vertidos de instalaciones industriales. La utilización de efluentes liberados por fábricas de papel y fertilizantes para el riego agregan al agua una diversidad de álcalis, amoníaco, CNO y metales pesados. Las aguas residuales de industrias como las de tintes, pigmentos, galvanoplastia, limpieza de metales, galvanización, cuero y minería contienen cantidades significativas de iones de metales pesados. A diferencia de los herbicidas, pesticidas y otros tóxicos que se descomponen con el tiempo, aunque lentamente, los metales pesados no pueden eliminarse del agua y, por ende, persisten en los sedimentos, donde se liberan gradualmente al medio acuático (30). Actividades como la

quema de combustibles fósiles, la minería, la metalurgia, la industria y el transporte redistribuyen estos metales tóxicos en el entorno.

En general, la entrada de metales en el medio acuático se da a través de la deposición atmosférica, la erosión del suelo, las descargas industriales, aguas residuales domésticas, y desechos mineros. Asimismo, se produce a través de tormentas urbanas, escorrentías, vertederos, minería de carbón y extracción de minerales (30).

2.1.2.3. Efecto de los metales pesados en la salud

Los efectos sobre la salud asociados a los metales tóxicos dependen de la concentración presente en los distintos medios y de la duración de la exposición. Aun en concentraciones reducidas, la exposición crónica y de larga duración a estos metales puede generar alteraciones en la salud (31).

Los metales pesados pueden alterar distintos componentes celulares en los seres vivos, tales como el retículo endoplásmico, las mitocondrias, la membrana celular, el núcleo y las enzimas que intervienen en el metabolismo, la desintoxicación y la reparación celular. Se ha reportado que los iones metálicos interactúan con el ADN y con proteínas nucleares, generando daño genético y modificaciones estructurales que pueden afectar la regulación del ciclo celular, favorecer la formación de tumores e inducir apoptosis (32). Del mismo modo, distintos estudios han señalado que la producción de especies reactivas de oxígeno (ROS) y el estrés oxidativo desempeñan un papel clave en los efectos tóxicos y en el potencial carcinogénico de metales como el As, Cd, Cr, Pb y Hg. Por su alta toxicidad, estos metales son considerados prioritarios debido a su importancia en salud pública, al actuar como tóxicos sistémicos capaces de producir daño multiorgánico incluso ante exposiciones bajas. En línea con ello, la Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos y la Agencia Internacional para la Investigación del Cáncer los han categorizado como carcinógenos comprobados o probables, con base en evidencia epidemiológica

y experimental que vincula su exposición con el desarrollo de cáncer en seres humanos y animales. No obstante, aunque aún persisten aspectos no completamente esclarecidos sobre los mecanismos involucrados en su toxicidad y carcinogenicidad, se reconoce que cada metal posee propiedades fisicoquímicas específicas que condicionan sus mecanismos de acción tóxica (32).

Los metales pesados pueden interferir con la función celular al desplazar metales esenciales de sus ubicaciones naturales. Se ha observado que el daño oxidativo a las grandes moléculas biológicas es principalmente consecuencia de la unión de metales al ADN y a las proteínas nucleares (33). Los síntomas son a menudo los primeros signos reveladores de la contaminación y, por ende, contribuyen a la identificación del agente contaminante. Los efectos que surgen a raíz de la exposición a estos metales incluyen deficiencias cognitivas en niños, deterioro cognitivo en adultos, trastornos en el sistema nervioso central, afecciones renales, hepáticas, insomnio, variaciones en el estado emocional, depresión y problemas visuales (33).

Los órganos diana de las toxicidades específicas por metales suelen ser aquellos órganos que acumulan las concentraciones más altas del metal in vivo. Esto suele depender de la ruta de exposición y del compuesto químico del metal, es decir, su estado de valencia, volatilidad, solubilidad en lípidos, etc (29). Los órganos diana y las manifestaciones clínicas de la exposición crónica al metal se dan en la Tabla 1, además de las toxicidades generales de los metales. Ciertos metales como el Cr y el Ni se han relacionado con cánceres en poblaciones humanas expuestas. Se ha demostrado que los metales causan intoxicaciones agudas y crónicas en el hombre y otros animales de experimentación. A continuación, se presentan brevemente los efectos nocivos de los metales individuales:

Tabla 1. Efectos clínicos de los metales pesados (34).

Metal	Órgano diana	Fuente primaria	Efectos clínicos
As	Sistema nervioso pulmonar, piel	Residuos industriales en forma de polvo y desechos médicos presentes en agua contaminada	Perforación del tabique nasal, neoplasias del tracto respiratorio, neuropatía periférica, alteraciones cutáneas y cáncer de piel.
Cd	Sistemas renal, esquelético, pulmonar	Material particulado y emisiones industriales, agua y alimentos alterados por contaminantes	Proteinuria, glucosuria, osteomalacia, aminoaciduria, enfisema
Cr	Aparato respiratorio (pulmones)		Úlcera, perforación del tabique nasal, cáncer pulmonar
Mn	Sistema nervioso	Material particulado y emisiones industriales	Neuropatías centrales y periféricas
Pb	Sistema Nervioso, Sistema Hematopoyético, Renal	Material particulado y emisiones industriales, agua y alimentos alterados por contaminantes	Encefalopatía, neuropatía periférica, trastornos nerviosos centrales, anemia

Ni	Aparato respiratorio (pulmones), piel	Material particulado industrial, aerosoles	Cáncer pulmonar
Hg	Sistema Nervioso, Renal	Material particulado y emisiones industriales, agua y alimentos alterados por contaminantes	Proteinuria

2.1.2.4. Determinación de metales pesados en aguas

Una de las técnicas más empleadas para la cuantificación y detección de oligoelementos en aguas es la espectrometría de emisión atómica con plasma inductivamente acoplado (ICP-MS). Este método opera mediante la generación de iones en un plasma inductivo y su subsiguiente separación y detección a través de un espectrómetro de masas. El proceso se inicia con una muestra líquida transportada por una bomba peristáltica hasta un nebulizador, donde se transforma en aerosol mediante gas argón. Dicho aerosol es dirigido hacia la zona de ionización, que implica la creación de un plasma a través de la aplicación de un campo magnético oscilante a un flujo de gas argón de alta frecuencia, alcanzando temperaturas elevadísimas de hasta 8000 K. Bajo estas condiciones, los átomos presentes en la muestra se convierten en iones. Estos iones son dirigidos a través de un filtro cuadrupolar, separados en función de su carga y masa, y cada masa específica es analizada en el detector para evaluar su presencia en la muestra (35).

La espectrometría de masas atómica se destaca como una herramienta versátil y ampliamente empleada en la identificación de elementos en muestras

orgánicas, así como en la determinación de sus concentraciones. Prácticamente todos los elementos del sistema periódico pueden ser analizados mediante esta técnica. Se destacan diversas ventajas de la espectrometría de masas en comparación con otros métodos espectrofotométricos atómicos previamente mencionados, entre las cuales se incluyen (36):

- Límites de detección significativamente más precisos que los logrados por métodos ópticos son alcanzados para una amplia gama de elementos.
- Los espectros obtenidos son notoriamente simples, usualmente únicos y con frecuencia de fácil interpretación.
- Esta técnica permite la medición de relaciones isotópicas entre átomos.
- Se emplea para análisis cualitativos, es accesible para más de 80 elementos.
- Los límites de detección suelen ser inferiores a 1 nanogramo por litro (partes por trillón, ppt).
- Ofrece menor interferencia y una intensidad máxima.

2.1.3. Mutagenicidad

La mutagenicidad corresponde a la capacidad de inducir modificaciones permanentes, hereditarias y transmisibles en el contenido o en la estructura del material genético presente en organismos y células. Estas modificaciones pueden manifestarse desde cambios en un solo gen o fragmento génico hasta alteraciones que involucren bloques de genes o cromosomas completos. La modificación genética resultante se conoce como mutación, y el agente capaz de provocarla se denomina mutágeno (37).

Estas mutaciones pueden tener lugar en células germinales o en células somáticas. Cuando la mutación se manifiesta en una célula germinal, su efecto es hereditario, no presentando un impacto directo en la persona expuesta, sino transmitiendo a las generaciones futuras. En el caso de que la mutación se desarrolle en una célula somática, puede provocar cambios en el crecimiento

celular, como el desarrollo de condiciones como el cáncer, o incluso la muerte celular, como se ve en la teratogénesis, en la persona expuesta (38).

Las sustancias que muestran capacidad mutagénica en las células somáticas podrían tener efectos hereditarios si ellas o sus metabolitos activos pueden influir en el material genético de las células germinales. Por otro lado, no se anticipa que aquellas sustancias que no causan mutaciones en las células somáticas en un entorno vivo tengan la capacidad de generar alteraciones genéticas en células germinales (38).

2.1.3.1. Clasificación de sustancias mutágenas

Según el Sistema Globalmente Armonizado de Clasificación y Etiquetado de Productos Químicos, las sustancias mutagénicas se agrupan en diferentes categorías según su capacidad para provocar mutaciones en el material genético (38):

Tabla 2. Clasificación de sustancias mutágenas.

Categoría	Criterios
1A	Sustancias químicas cuya capacidad para inducir mutaciones hereditarias en células germinales humanas ha sido comprobada, o sobre las que existe sospecha de que puedan producirlas.
1B	Sustancias químicas cuya capacidad para producir mutaciones hereditarias en células germinales humanas ha sido demostrada o respecto de las cuales existe evidencia que permite presumir dicho efecto.
2	Sustancias químicas con potencial para inducir mutaciones hereditarias en células germinales humanas.

2.1.3.2. Tipos de mutación

Pueden dividirse en tres categorías principales según su alcance. Las mutaciones moleculares, o puntuales, ocurren a nivel molecular, alterando la composición química de los genes al afectar las unidades fundamentales del ADN. Por otro lado, las mutaciones cromosómicas impactan segmentos más grandes de los cromosomas, provocando cambios en su estructura, como la pérdida o duplicación de fragmentos o su reubicación dentro del cromosoma. Finalmente, las mutaciones genómicas afectan al conjunto completo del genoma, pudiendo producir variaciones en el número de juegos cromosómicos, su reducción a una sola serie o cambios en la cantidad individual de cromosomas, como sucede en el síndrome de Down (39).

2.1.3.2.1. Mutaciones moleculares

Las variaciones en la secuencia de ADN de un gen pueden manifestarse de diversas maneras. Las consecuencias de estas mutaciones sobre la salud humana dependen del sitio en el que ocurren y de su capacidad para comprometer la función de proteínas esenciales o interferir en los mecanismos normales de lectura, transcripción y traducción proteica (39).

- Mutaciones silenciosas: En esta mutación, ocurre una alteración en una de las bases del ADN, modificando el trío de nucleótidos, aunque continúa codificando el mismo aminoácido. Esto se debe a la redundancia del código genético, donde varios tripletes pueden designar un mismo aminoácido (39).
- Missense mutation: Se produce una modificación en una de las bases del ADN, lo que hace que el conjunto de triplete codifique para un aminoácido distinto al esperado. En consecuencia, se generará un aminoácido incorrecto en esa parte de la proteína, pudiendo impactar en su función según dónde se encuentre en la estructura y su relevancia para el organismo (39).
- Nonsense mutation: Se produce una alteración en una de las bases del ADN, lo que ocasiona la creación de un nuevo conjunto de tres letras que indica el final de la secuencia de aminoácidos. En consecuencia, la síntesis de proteína se interrumpe, a partir de ese punto. Dependiendo de la ubicación exacta en la que se detiene la síntesis de proteína, esta podría conservar parcialmente su función o perderla por completo (39).
- Inserción: Esta variación mutacional implica la inserción de una o varias bases en el ADN original. Este cambio puede afectar el patrón de lectura, alterando la secuencia para formar la proteína o introduciendo aminoácidos adicionales que no son apropiados (39).
- Duplicación: Consiste en la replicación reiterada de un segmento de ADN, generando alteraciones en la secuencia de aminoácidos y, en consecuencia, en la función proteica (39).

- Cambio de marco de lectura: Esta alteración se produce cuando la inserción o deleción de pares de bases ocasiona un desplazamiento del marco de lectura. Durante el proceso de traducción, la información genética se interpreta en tripletes de nucleótidos, denominados codones, y cada uno de ellos codifica un aminoácido. Al alterarse el marco de lectura, la agrupación de estas tres bases se ve modificada, lo que conlleva la incorporación de aminoácidos incorrectos y la posibilidad de que aparezca un código de finalización prematuro (39).

2.1.3.3. Pruebas para detectar mutagenicidad

Para una evaluación adecuada del potencial mutagénico, normalmente es necesario evaluar tres criterios de valoración: mutación genética, aberraciones cromosómicas estructurales y aberraciones cromosómicas numéricas (38).

Tabla 3. Pruebas de detección mutagénica (38).

Tipo	Células germinales	Células somáticas
In vivo	Prueba de mutación inversa bacteriana (OCDE 471) - Prueba de Ames Prueba in vitro de aberración cromosómica en mamíferos (OCDE 473) Prueba de mutación genética de células de mamíferos in vitro (OCDE 476) Prueba de toxicología genética orientada a la evaluación del daño y la reparación del ADN mediante síntesis no programada de ADN en células de mamífero in vitro (OCDE 482).	

In vitro	Prueba de mutación letal dominante en roedores (OCDE 478) Ensayo para la evaluación de translocaciones hereditarias en ratón (OCDE 485) Prueba de locus específica del ratón Análisis del intercambio de cromátidas hermanas en células espermatogoniales, Evaluación de la síntesis no programada de ADN en células testiculares. Ensayo de mutación de genes de células germinales y somáticas de roedores transgénicos (OCDE 488)	Prueba de micronúcleos de eritrocitos en mamíferos (OCDE 474) Prueba de aberración cromosómica de la médula ósea de mamíferos (OCDE 475) Síntesis de ADN no programada del hígado in vivo (OCDE 486) Ensayo de mutación de genes de células germinales y somáticas de roedores transgénicos (OCDE 488) Prueba de manchas de ratón (OCDE 484) Intercambio de cromátidas hermanas de médula ósea de mamíferos

2.1.4. Test de Ames

El test de Ames es un ensayo de mutación bacteriana que emplea *Salmonella* Typhimurium como organismo indicador y ha sido ampliamente reconocido como un método de referencia para la detección de agentes mutagénicos. Asimismo, constituye una de las pruebas más utilizadas para evaluar, de manera sencilla, rápida y económica, el potencial mutagénico de diversas sustancias, debido a que constituye un ensayo in vitro orientado a la detección de un amplio conjunto de compuestos con capacidad para inducir daño genético relacionado con mutaciones a nivel génico (40).

En este procedimiento, se cultivan cepas de *Salmonella* Typhimurium que han sido genéticamente alteradas de manera que dependen de histidina para crecer. Se lleva a cabo este cultivo tanto en presencia como en ausencia de la sustancia bajo evaluación, utilizando un medio que carece de histidina. Si una sustancia es mutagénica, puede revertir esta deficiencia, permitiendo que las bacterias crezcan en el medio que carece de histidina, lo que resulta en la formación de colonias llamadas "revertantes" (40).

En 1973, Ames y su equipo de investigación idearon el procedimiento del ensayo de incorporación en placa, el cual resulta más sensible y proporciona una medición cuantitativa más precisa que la prueba puntual. Este procedimiento implica la adición de un buffer fosfato y/o la mezcla S9 para simular las condiciones de un organismo vivo, bacterias que requieren histidina y la sustancia en cuestión a 2 mililitros de agar superior. Este agar contiene biotina y una pequeña cantidad de histidina, después de mezclar suavemente la solución, se vierte sobre placas de agar con glucosa mínima (AGM). Una vez que el agar superior se ha solidificado, las placas se incuban en una incubadora a 37 °C en posición invertida durante 48 horas. Transcurrido este tiempo, se procede a contar las colonias que han recuperado la capacidad de crecer en ausencia de histidina (41).

En este ensayo se emplean controles positivos y negativos. Los controles positivos consisten en el uso de compuestos con alta capacidad mutagénica para la cepa evaluada, mientras que los controles negativos permiten establecer la respuesta basal del sistema. Ambos cumplen funciones fundamentales: confirmar una reversión marcada de la mutación, evidenciada por la formación de un número elevado de colonias, e identificar la aparición de colonias revertantes espontáneas. Este último aspecto es especialmente importante, debido a que la tasa natural de mutación del ADN origina de manera continua mutaciones espontáneas. En este contexto, los controles permiten diferenciar el efecto propio del sistema del efecto inducido por la exposición a una sustancia

específica. A partir del control negativo, es posible determinar si un compuesto presenta actividad mutagénica en una cepa determinada (42).

Las cepas más empleadas en el test de Ames son la TA98 y TA100. La cepa TA98 presenta una mutación que ocasiona un cambio en el marco de lectura del operón de la histidina HIS-D3052, y su frecuencia de reversión espontánea oscila aproximadamente entre 20 y 50 colonias por placa. En cambio, la cepa TA100 posee una mutación por sustitución de bases (G-C) en el operón de la histidina HIS-G46, lo que da lugar a una tasa de reversión espontánea mayor, situada entre 120 y 200 colonias por placa. Además, ambas cepas cuentan con mutaciones en la pared celular, denominadas rfa, que modifican la síntesis de polisacáridos esenciales para mantener su integridad estructural, incrementando así su permeabilidad. Gracias a esta característica, muestran sensibilidad ante moléculas de mayor tamaño, como el cristal violeta, y una mayor susceptibilidad frente a agentes mutagénicos. Del mismo modo, las dos cepas portan el plásmido pKM101, que les confiere resistencia a la ampicilina, el cual es un antibiótico considerado de amplio espectro (42).

2.2. Antecedentes del estudio

El ANA ha identificado en la cuenca del río Santa diversas necesidades de origen poblacionales, agrícolas e industriales-mineros, las cuales representan hasta 5.39 hm^3 del caudal total (8). En cuanto a la calidad del agua, la principal preocupación es la elevada turbidez, además de la presencia de contaminación por metales pesados a lo largo de su recorrido, especialmente en zonas de actividad industrial y minera, como ocurre con la quebrada Sipchoc, que desemboca en el río. Las aguas superficiales del río Santa superan ampliamente las 100 unidades nefelométricas de turbidez. Asimismo, las concentraciones de Al y Fe se encuentran elevadas con respecto a la normativa vigente. Del mismo modo, los metales Cd, Pb y Mn excedan los valores máximos admitidos en los estándares de calidad ambiental (ECA) para el agua definidos por el MINAM (9).

Existen métodos biológicos de evaluación que emplean sistemas procarióticos y eucarióticos para detectar daños en el ADN, desde mutaciones puntuales hasta alteraciones cromosómicas (43). En este contexto, Khan et al (44) aplicaron la prueba de Ames para evaluar la mutagenicidad de sustancias presentes en muestras de aguas residuales industriales y textiles. Los resultados evidenciaron que los contaminantes presentes en dichas aguas residuales tenían naturaleza mutagénica, lo cual se reflejó en el incremento del número de colonias revertientes de *Salmonella* en las cepas TA97a, TA98, TA100, TA102 y TA104. Asimismo, se observó que la mayoría de los mutágenos indujeron mutaciones por cambio de marco de lectura, hecho que se corroboró en la cepa TA98, la cual presentó la respuesta máxima en términos de índice mutagénico (IM), factor de inducción y potencial mutagénico.

En estudios enfocados en la contaminación por metales pesados en aguas fluviales, Vivas et al investigaron la presencia de dichos metales en el río Cauca, ubicado en Santiago de Cali, Colombia, con el propósito de determinar su posible efecto mutagénico. Para cuantificar las concentraciones de metales pesados, emplearon la técnica de espectrofotometría de absorción atómica, luego de realizar una extracción total utilizando una columna de adsorción fijada con resina Amberlite XAD-16. Asimismo, la actividad mutagénica fue evaluada mediante el test de Ames, donde fueron utilizadas tanto la cepa TA98 y la TA100 de *Salmonella* Typhimurium, tanto con presencia como sin presencia del sistema de activación metabólica S9. Los resultados mostraron que, de los cinco puntos de muestreo examinados, tres presentaron una respuesta positiva de actividad mutagénica con el uso de la cepa correspondiente a la TA98 sin activación metabólica S9. De igual forma, en esos mismos puntos se identificaron concentraciones elevadas de Hg, Cd, Cr y Pb en los extractos analizados.

De manera similar, Gameiro et al (46) en 2025, investigaron la presencia de compuestos mutagénicos en aguas crudas y tratadas procedentes de cuatro plantas de tratamiento de agua ubicadas en el sur de Brasil. Las muestras fueron concentradas mediante el uso de resina Amberlite XAD4, y las fracciones de pH ácido y neutro fueron analizadas mediante un ensayo de mutagénesis con

Salmonella/microsomas, empleando la cepa TA98 en presencia y ausencia de activación metabólica (S9 humano *in vitro*). Los resultados mostraron que, en la fracción ácida sin S9, se registraron 277 ± 89 revertantes/L; mientras que, con activación metabólica, se observaron 184 ± 37.7 revertantes/L en la fracción neutra y 166 ± 29 revertantes/L en la fracción ácida.

En 2025, Safana et al (47) evaluaron el potencial mutagénico y genotóxico de efluentes industriales descargados al río desde el Área Industrial de Challawa, considerados una fuente puntual de contaminación. Para evaluar el nivel de mutagenicidad de estos efluentes, se empleó la prueba de Ames sin activación metabólica, utilizando tanto la cepa TA98 y la TA100 de *Salmonella* Typhimurium. Los resultados revelaron una mutagenicidad específica según el sitio en las muestras de agua estudiadas. De forma análoga, Rybak et al (48) analizaron la mutagenicidad de la escorrentía superficial, el agua del río, el sobrenadante del sedimento de fondo y los sedimentos en suspensión de la cuenca del río Wełna, integrante de la cuenca del río Oder, en Polonia. Las muestras fueron examinadas mediante la prueba de Ames con las cepas TA98 y TA100, tanto con presencia como con ausencia de la fracción metabólica S9. Se comprobó que todas las muestras exhibieron una actividad mutagénica significativa, con IM por encima de 2.0. En la serie de muestreo realizada en otoño, las respuestas más altas se observaron en las diluciones mayores (200 µL), con valores de IM para TA98 cercanos a 9.3 – 18.0 en ausencia de S9 y de 10.3 – 18.3 en presencia de S9. Por su parte, en invierno, los valores de IM alcanzaron aproximadamente 10.5 para TA98 y 10.2 para TA100 bajo las mismas condiciones. Estos resultados señalaron la capacidad de microcontaminantes, como los benzotriazoles y los bisfenoles presentes en ambientes acuáticos, para actuar como posibles agentes mutagénicos.

Debido al crecimiento de la industrialización y la urbanización, así como a la falta de control sobre las masas de agua, se ha generado un problema de contaminación que pone en riesgo el equilibrio ecológico (6). En este contexto, Khatoon y Malik (49), en 2021, analizaron muestras de aguas residuales de una refinería de petróleo mezcladas con aguas residuales domésticas, las cuales

fueron extraídas mediante resinas XAD y procedimientos de extracción líquido-líquido con diferentes solventes orgánicos. El objetivo fue caracterizar fisicoquímicamente dichas aguas residuales y determinar su potencial citogenotóxico mediante el ensayo microsomal de Ames. Para ello, se emplearon las cepas TA97a, TA98 y TA100, observándose un incremento significativo en el número de colonias revertantes. Asimismo, se comprobó que las muestras concentradas mediante resina XAD exhibieron una mayor actividad mutagénica en comparación con los extractos obtenidos a través de extracción líquido-líquido. De igual manera, en 2019, Quispe et al (50) confirmaron metales pesados presentes en las aguas residuales del río Coata, los cuales ocasionaron alteraciones mutagénicas en los organismos vivos evaluados.

La minería aurífera emplea sustancias químicas que, en ausencia de buenas prácticas mineras, son vertidas a los ríos sin ningún tipo de control, lo que genera problemas ambientales y de salud pública. En este contexto, Martín et al (51) evaluaron la calidad del agua del río Boque, en Bolivia, mediante el análisis de algunos parámetros fisicoquímicos, como pH, metales pesados, Hg y CNO, además de bioensayos, pruebas de mutagenicidad mediante el test de Ames y ensayos microbiológicos. Sus resultados evidenciaron que algunos parámetros fisicoquímicos excedían las concentraciones permitidas, entre ellos Hg, Cd y CNO. Asimismo, se registraron valores mutagénicos ≥ 2.00, principalmente en muestras de consumo doméstico y en pozos subterráneos, con valores entre 2.0 y 2.5 para la cepa TA100 en concentraciones de 75% y 100%, así como valores elevados en determinadas mediciones de la cepa TA98. En consecuencia, el índice mutagénico del estudio indicaría la posibilidad de que se produzcan mutaciones en la población que consume estas aguas.

La detección de metales pesados en un ecosistema acuático puede estar directamente relacionada con la incidencia de mutagenicidad, por lo que Rajput et al (52) estudiaron la presencia de metales pesados en muestras de agua de estanques en Amritsar (India) y su potencial mutagénico, los metales evaluados fueron Pb, As, Ni, Zn, Cr, cobalto (Co), Cd, selenio (Se), cobre (Cu) y las cepas de *Salmonella* Typhimurium (TA98 y TA100) fueron utilizadas en el test de Ames. Se observó que las concentraciones promedio de metales siguieron el patrón

según su concentración alcanzada Se > Zn > Co > Cr > Cu > Ni > Pb > As > Cd, revelando que en 6 de los 11 puntos evaluados estos se encontraban por encima del índice crítico de calidad del agua, mientras que en los ensayos de mutagenicidad las muestras con una mayor concentración de metales pesados exhibieron un mayor potencial mutagénico. Lo que llevó a concluir que existiría una relación directa con la concentración de metales pesados y su potencial mutagénico.

En 2014, Vivas et al (45) analizaron, mediante el test de Ames, el posible efecto mutagénico relacionado con la presencia de metales pesados, en particular Cd, Pb, Hg y Cr en aguas superficiales del río Cauca, durante las temporadas de lluvia de mayo, agosto y septiembre, en los diferentes puntos de muestreo evaluados. Para ello, utilizaron tanto la cepa TA98 y la TA100 de *Salmonella* Typhimurium. Los IM registrados en las muestras de agua fueron de 3.6 en mayo, 0.9 en agosto y 1.3 en septiembre. En conjunto, estos hallazgos indican una posible actividad mutagénica vinculada a la presencia de metales pesados en las aguas del río Cauca, especialmente durante el mes de mayo.

En el Perú, la industria petrolera es una fuente importante de contaminación, así como las aguas residuales y los sedimentos que contienen petróleo incluyen sustancias nocivas que pueden tener efectos agudos y crónicos, debido a esto Reátegui-Zirena et al (53) con el objetivo de conocer las concentraciones de HCB aromáticos policíclicos (HAP) y su posible mutagenicidad utilizando cepas bacterianas TA98 y TA100 en aguas de sedimentos de las cercanías de San José de Saramuro en el río Marañón y Villa Trompeteros en el río Corrientes en Loreto. Las dos áreas muestreadas mostraron concentraciones muy altas de HAP que probablemente estaban asociadas con actividades petroleras y esto asociado a que todas las muestras de agua analizadas demostraron un alto IM, llevaron a que los autores concluyan que debido a que las muestras eran mutagénicas podría existir un potencial de efectos crónicos en la salud de las comunidades cercanas a estos ríos.

La presencia de numerosos microcontaminantes orgánicos en el agua potable constituye un riesgo significativo para la salud humana (54). En este marco, Xue et al (55) evaluaron en 2021 una planta de tratamiento de agua potable abastecida por el río Yangtze, con el fin de identificar los compuestos de microcontaminación orgánica presentes en estas aguas, así como de estudiar su mutagenicidad y el posible riesgo para la salud. Para ello, utilizaron tanto la cepa TA98 y la TA100 de *Salmonella* Typhimurium en la evaluación mutagénica. Si bien los microcontaminantes hallados en las aguas crudas y tratadas no mostraron efectos mutagénicos evidentes en dichas cepas, se logró identificar un total de 28 microcontaminantes orgánicos, con concentraciones globales de 967.28 ng/L en el agua cruda y 1073.45 ng/L en el agua tratada. No obstante, otros estudios han descrito una relación entre la mutagenicidad y los microcontaminantes orgánicos. En ese sentido, Kim et al (56) demostraron el potencial mutagénico de los ftalatos, compuestos que pueden encontrarse presentes en el agua.

Alvarez y Novoa (57) en el 2020 decidieron medir el IM aplicando el test Ames, en muestras de agua destilada que ha estado almacenada en recipientes plásticos, para determinar si los recipientes plásticos presentan en su composición sustancias con efectos mutagénicos nocivos a la salud. Los resultados arrojaron valores de IM entre 0.74 y 1.52, los que lleva a entender que las presenta una ligera mutagenicidad, por ende, el contacto con los recipientes de plástico con las aguas estériles son los que influyen en el aumento del IM analizado en las muestras.

La prueba de mutagenicidad, no solamente se emplea en las aguas superficiales, también tiene aplicación en la industria alimentaria ya sea en algunos aditivos, como el estudio de Do y Kwon (58) en el 2022, que investigaron la seguridad de los “aditivos colorantes naturales” empleando la prueba de mutación inversa bacteriana (test de Ames). Las muestras a analizar fueron 8 colorantes naturales donde la Gardenia roja y azul, extracto de cochinilla, laca color y remolacha roja no presentaron rasgos de mutagenicidad. Sin embargo, el amarillo de gardenia resulto mutagénico, juntamente, con el extracto de

cúrcuma y el rojo de Monascus indujeron mutagenicidad en la prueba de Ames empleando las cepas de *Salmonella* Typhimurium TA1537 y TA100. También el test de Ames, fue utilizado en productos como bebidas experimentales, en 2014, Huamán et al (59) evaluaron en su investigación la posible actividad genotóxica de una bebida formulada con kañiwa, kiwicha y quinua. Para ello, emplearon tanto la cepa TA98 y la TA100 de *Salmonella* Typhimurium en cuatro dosis de la bebida. Los resultados mostraron un IM superior a 2 en todas las fracciones analizadas; no obstante, la prueba de antimutagenicidad señaló que la bebida presenta un potencial genotóxico antes de su consumo.

2.3. Glosario de términos

Conductividad: La habilidad del agua para transportar corriente eléctrica se mide a través de su conductividad eléctrica. Esta propiedad está estrechamente relacionada a la proporción de compuestos salinos disueltos presentes, que al separarse en las aguas producen iones capaces de transmitir la corriente (60).

Control positivo y negativo: Con frecuencia, los controles positivos se emplean para verificar la eficacia de una prueba, ya que se anticipa la presencia del fenómeno objeto de estudio. Por otro lado, el control negativo cumple la función de ser el grupo de comparación que no experimenta la influencia de la variable en cuestión (61).

Metaloides: Son elementos químicos cuyas propiedades se sitúan entre las de los metales y las de los no metales. Se caracterizan por actuar como semiconductores de la electricidad y por su capacidad para formar óxidos anfóteros (62).

Oligoelementos: Elementos químicos presentes en mínimas proporciones en las células de los seres vivos, es decir, suelen encontrarse en trazas (63).

Potencial de hidrógeno (pH): La presencia de iones de hidrógeno se cuantifica a través del pH, el cual refleja la naturaleza ácida o básica de una solución (64).

Relaves mineros: Son residuos mineros, derivados de las actividades mineras, consisten comúnmente en una amalgama de tierra, minerales, agua y roca con elevadas proporciones de sustancias químicas como los metales pesados (65).

Sólidos disueltos totales: Se refiere a la suma completa de iones cargados, que abarca minerales, sales o metales disueltos en un volumen de agua, y que se encuentran en relación a los niveles de turbidez en agua (66).

Xenobióticos: Son sustancias químicas ajenas a la constitución natural de los organismos; derivan de la industria y suelen ser contaminantes dispersándose a través del aire, el agua o la tierra, con potenciales efectos adversos en los seres vivos (67).

3. HIPÓTESIS Y VARIABLES

3.1. Hipótesis

Las muestras de aguas contaminadas con metales pesados provenientes de la quebrada Sipchoc son mutagénicas.

3.2. Variables

Variable independiente

Concentración de metales pesados en las aguas provenientes de la quebrada Sipchoc.

Variable dependiente

Actividad mutagénica.

4. MATERIALES Y MÉTODOS

4.1. Área de estudio

El área de estudio fue la quebrada Sipchoc (cuenca del río Santa) que se encuentra en la localidad de Recuay-Ancash. En el cual se establecieron 4 puntos de recolección:

Tabla 4. Latitud y longitud de los puntos de monitoreo.

Punto de recolección	Localidad / Distrito / Provincia / Departamento	Coordenadas	
		Latitud	Longitud
QSipc1	Recuay / Recuay / Ancash	9°44'34.67"S	77°31'23.92"O
QSipc2		9°43'58.39"S	77°30'44.35"O
QSipc3		9°43'0.08"S	77°29'8.59"O
QSipc4		9°42'32.04"S	77°27'38.93"O

Los puntos de muestreo recolectados recorren las aguas de la quebrada Sipchoc que desembocan en el río Santa:



Figura 1. Mapa de los puntos de muestreo de la quebrada Sipchoc.

4.2. Diseño de investigación

La investigación corresponde a la siguiente taxonomía:

De acuerdo con el número de variables de interés, la presente investigación se clasifica como analítica, ya que incorpora más de una variable de estudio.

Según el número de mediciones de la variable, corresponde a un estudio transversal, debido a que los instrumentos serán aplicados en un solo momento y la variable será evaluada una única vez.

En relación con la planificación de la recolección de datos y la fuente de información, el estudio es prospectivo, puesto que la información será obtenida durante la ejecución de la investigación a partir de fuentes primarias y secundarias. Asimismo, según el grado de intervención del investigador, se considera un estudio observacional

4.3. Población y muestra

Unidad de análisis

Aguas provenientes de la quebrada Sipchoc:

Tabla 5. Descripción de los puntos de recolección.

Punto de recolección	Descripción	Categoría ECA - AGUA
QSipc1	Quebrada Sipchoc, aguas arriba de las operaciones mineras de la empresa Huancapeti	Categoría 3 D1 (11)
QSipc2	Quebrada Sipchoc, aguas abajo de las operaciones mineras de la empresa Huancapeti y aguas arriba de la planta de beneficio Venard SAC.	
QSipc3	Quebrada Sipchoc, aguas abajo de la planta de beneficio Venard SAC	
QSipc4	Quebrada Sipchoc, aguas abajo de la planta de beneficio Venard SAC	

Criterios de inclusión

- Muestras de agua únicamente recolectadas en los 4 puntos establecidos de la quebrada Sipchoc.
- En la zona situada aguas arriba de la unión con afluentes laterales o derivaciones.
- Ubicaciones de muestreo situadas tanto antes como después de las fuentes de contaminación, ya sean puntuales o difusas.
- Que se hayan seguido los protocolos respectivos para la recolección de la muestra.

4.4. Procedimientos, técnicas e instrumentos de recolección de información

4.4.1. Muestreo de agua superficial

La quebrada Sipchoc, integrante de la cuenca del río Santa, no se encuentra comprendida dentro de la clasificación establecida en la R.J. N° 056-2018-ANA (NN). Debido a ello, y conforme a la 3ra Disposición Complementaria Transitoria de los ECA para agua, aprobados mediante el D.S. N° 004-2017-MINAM, debe aplicarse la categoría del recurso hídrico al que descarga, previa evaluación del ANA, mientras no se le asigne una categoría propia. En ese marco, este cuerpo de agua superficial fue analizado de acuerdo con los ECA correspondientes a la Categoría 3, Subcategoría D1, destinada al riego de vegetales y bebida de animales, considerando en este caso el uso para riego de vegetales.

4.4.2. Recolección de muestras de agua y caracterización fisicoquímica

4.4.2.1. Procedimiento de recolección de muestras

La recolección de muestras se llevó a cabo de acuerdo con lo establecido en el protocolo del ANA (68), correspondiente al Protocolo nacional para el monitoreo de la calidad de los recursos hídricos superficiales. Las muestras de agua fueron recolectadas en los distintos puntos de la quebrada Sipchoc cuenca del río Santa-Ancash, siendo un total de 4 puntos de muestreo a analizar. Los puntos fueron seleccionados de manera estratégica para asegurar una recolección homogénea de la muestra considerando las condiciones de la quebrada en lo referente a su forma, turbulencias y obstáculos para el respectivo muestreo. Para la recolección de las muestras se utilizaron frascos de polietileno de alta densidad. Cada frasco fue sujetado por el cuello y sumergido completamente en sentido contrario al flujo del agua, con el fin de recolectar la muestra hasta su máxima capacidad. Posteriormente, las muestras de agua superficial fueron colocadas en coolers con gel packs para preservar la cadena de frío durante su transporte hasta el laboratorio del Grupo de Investigación BIOTOX de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional

Mayor de San Marcos, donde se almacenaron a una temperatura ≤ 6 °C hasta su envío para análisis a los laboratorios de Société Générale de Surveillance (SGS).

4.4.2.2. Medición de los parámetros in situ

Se midieron directamente en campo los parámetros de potencial de hidrógeno, temperatura del agua, oxígeno disuelto y la conductividad eléctrica. Se realizó una medición por triplicado según los 4 puntos de muestreos, empleando el equipo multiparámetro HANNA modelo HI98194, al cual se realizó su respectiva calibración y enjuagado antes y después de cada medición.

Tabla 6. Parámetros fisicoquímicos medidos en las aguas de la quebrada Sipchoc.

Parámetro fisicoquímico	Unidades
Potencial de hidrógeno	pH
Temperatura	°C
Oxígeno disuelto	mg/LDO
Conductividad	µS/cm

4.4.3. Cuantificación de metales pesados

Se utilizaron recipientes de polietileno de 100 mL (que contenían 1 mL de ácido nítrico como conservante) para las muestras de cuantificación de metales pesados como indican las condiciones para el monitoreo, en las que se rotuló utilizando rótulos autoadhesivos previo a la toma de muestra y se cubrieron con cinta transparente a fin de protegerlas de la humedad.

El análisis de las muestras estuvo a cargo del laboratorio SGS, institución acreditada que desarrolla sus actividades bajo los rigurosos criterios de la norma NTP-ISO/IEC 17025:2017. En dicho laboratorio se realizó el ensayo “Determinación de oligoelementos en aguas y residuos mediante espectrometría de masas con plasma acoplado inductivamente”, mediante el cual se analizaron los siguientes elementos:

Tabla 7. Oligoelementos a analizar por espectrometría de masas con plasma acoplado inductivamente.

Oligoelementos	
Aluminio Total	Litio Total
Arsénico Total	Magnesio Total
Boro Total	Manganeso Total
Bario Total	Cadmio Total
Berilio Total	Níquel Total
Cobalto Total	Plomo Total
Cromo Total	Selenio Total
Cobre Total	Hierro Total
Mercurio Total	Zinc Total

4.4.4. Ensayo de mutagenicidad (test de Ames)

La aplicación del test de Ames se realizó en el Laboratorio de Microbiología de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos. En base a la guía de método N° 471 "Prueba de

mutación inversa bacteriana" de la OECD (69) se realizó el ensayo de mutagenicidad:

4.4.4.1. Reconstitución de cepas

Las cepas que se utilizaron fueron la TA98 y TA100, que corresponden a *Salmonella* Typhimurium, ambas cepas fueron obtenidas del Laboratorios Moltox bajo la forma de discos liofilizados. Para su activación se utilizó Caldo Nutritivo, obtenido del mismo laboratorio. Se tomaron 20 mL de Caldo Nutritivo en dos matraces estériles, antes de reactivar las cepas, se retiraron de la congeladora y se dejaron atemperar.

Se retiró la tapa del vial de cada cepa con ayuda de una pinza estéril, todo se trabajó bajo cabina de extracción, utilizando un asa estéril se toma uno de los discos liofilizados y se coloca en cada matraz. Ambos matraces se incubaron durante toda la noche a 37 °C. Al día siguiente, se incubó con agitación a 120 RPM a 37 °C, hasta alcanzar una densidad óptica de 1-2 x 10^9 (650 nm), usualmente se llega a las 2 horas. Finalmente se retiraron los cultivos de incubación y se llevaron a congelación para su conservación a -20 °C. El mismo procedimiento se siguió para la cepa salvaje de *Salmonella* Typhimurium.

4.4.4.2. Identificación de las características genotípicas de las cepas

Ambas cepas han sido modificadas genéticamente mediante cambios en la estructura de la cepa silvestre. Estas modificaciones permiten identificarlas por medio de 4 pruebas.

Se utilizó un medio agar mínimo apropiado, que contiene medio mínimo que contenga sales de Vogel-Bonner y glucosa, así como agar de superficie que contiene histidina y biotina para permitir el crecimiento de las colonias de las cepas.

4.4.4.2.1. Dependencia a Histidina

Se preparó una solución de histidina y biotina al 0.5 mM, en condiciones estériles. Se agregó 0.1 mL de cada solución al AGM, antes de plaquear. Además, a solo una placa se le agregó 0.1 mL de histidina.

Se sembró 0.1 mL de cada cepa (TA98 y T100) con asa de drigalsky, se incubó a 37 °C por 12 horas. Se realizó la misma prueba con la cepa salvaje de *Salmonella* Typhimurium.

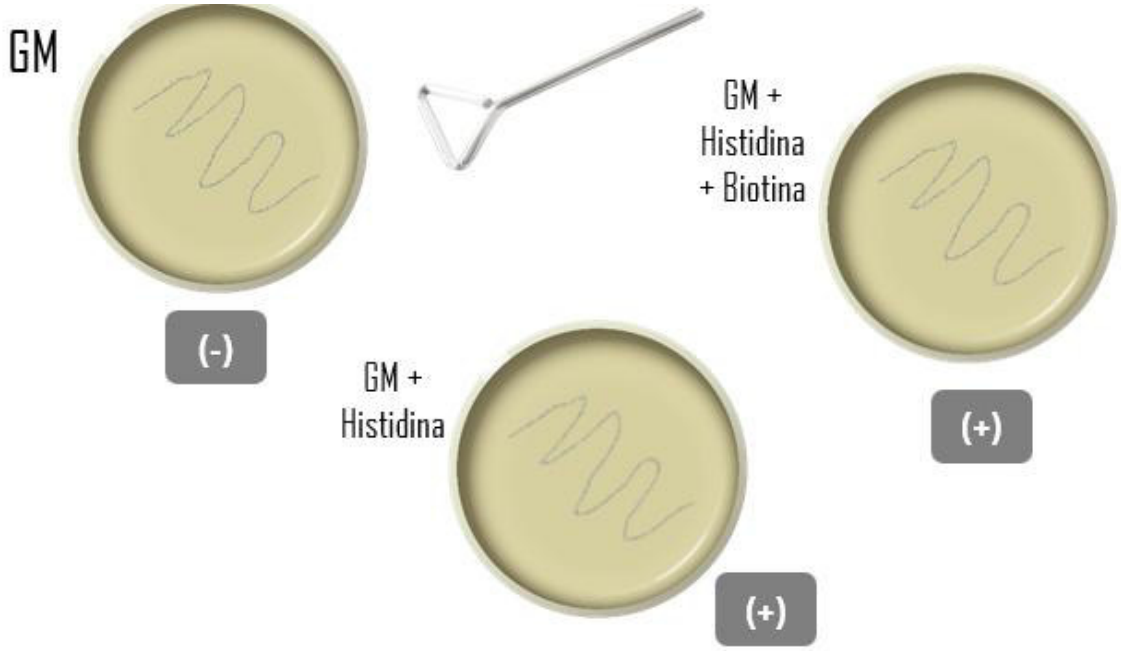

Figura 2. Prueba de identificación de la dependencia Histidina.

4.4.4.2.2. Sensibilidad al cristal violeta (mutación rfa)

Se preparó una solución de cristal violeta 0.1%, en condiciones estériles.

Se sembró en AGM, tanto el inóculo de las cepas TA98, TA100 y *Salmonella* Typhimurium salvaje, utilizando un hisopo y se incubó a 37 °C por 12 horas. Se colocaron los discos (6 mm), previamente remojados en solución de cristal violeta al 0.1%, sobre los inóculos sembrados y se llevó de nuevo a incubación a 37 °C por 12 horas y observar halo de inhibición.

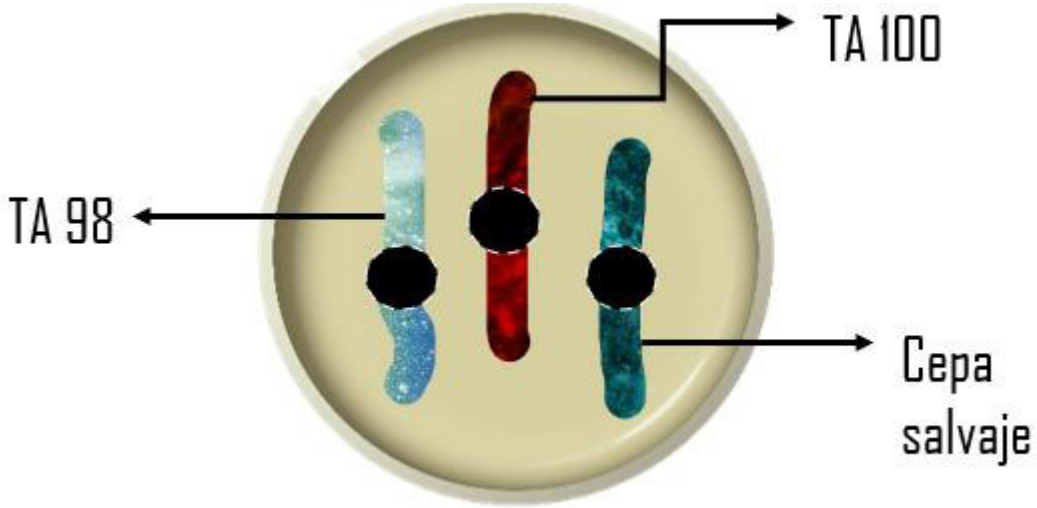

Figura 3. Prueba de sensibilidad al cristal violeta.

4.4.4.2.3. Sensibilidad a la radiación UV (mutación uvrB)

Se sembró en AGM, el inóculo de las cepas TA98, TA100 y *Salmonella* Typhimurium salvaje, utilizando un hisopo. Se cubrió la mitad de la placa con un trozo de cartulina envuelto en papel aluminio.

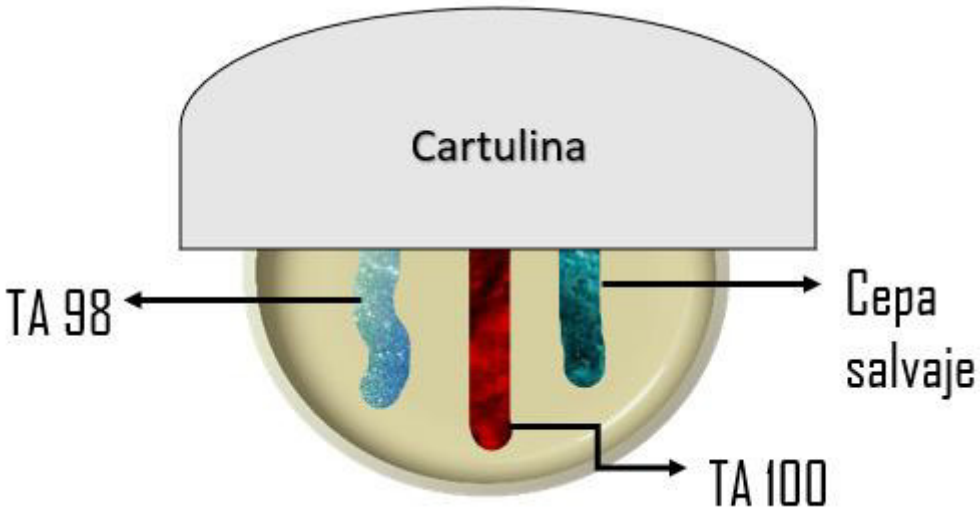

Figura 4. Prueba de sensibilidad a la radiación UV.

Luego se irradió la placa con lámpara UV con 15 W y 280 nm, a una distancia de 33 cm por 15 segundos. Finalmente, se incubó a 37 °C por 12 horas.

4.4.4.2.4. Resistencia a la ampicilina (plásmido pKM101)

Se preparó una solución de ampicilina a una concentración de 10 µg/mL, en condiciones estériles.

Se sembró en AGM, el inóculo de las cepas TA98, TA100 y *Salmonella* Typhimurium salvaje, utilizando un hisopo. Se colocaron los discos (6 mm), previamente remojados en solución de ampicilina, sobre los inóculos sembrados y se llevó de nuevo a incubación a 37 °C por 12 horas y observar halo de inhibición.

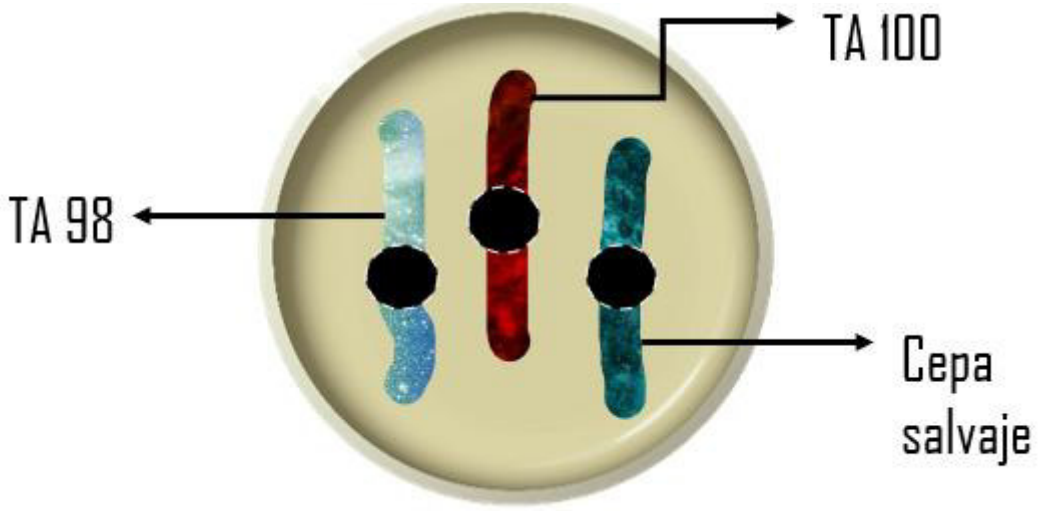

Figura 5. Prueba de resistencia a la ampicilina.

4.4.4.2.5. Revertantes espontáneas

Se preparó una solución de del mix S9 (este suplemento, denominado MUTAZYME™ S9-Mix, fue adquirido de Laboratorios Moltox) al 10%, usando agua desionizada estéril como solvente y una solución de buffer fosfato de sodio 0.1 mM pH 7.4. Se agrega 0.5 mL de mix S9 al 10% a 3 placas con AGM; y a su vez, a otras 3 placas AGM agregar 0.5 mL de solución buffer fosfato de sodio 0.1 mM pH 7.4. Se sembró con un hisopo estéril 0.1 mL de inóculo de cada cepa.

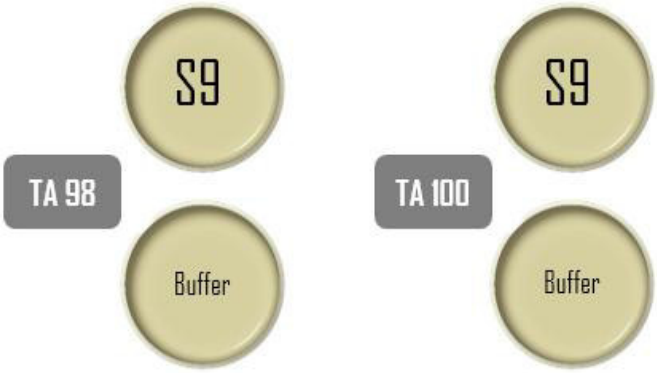

Figura 6. Mutación espontánea y Reversión espontánea.

Se incubó a 37 °C por 24 horas, para luego poder realizar el conteo de colonias, esperando los siguientes resultados:

Tabla 8. Número de colonias revertantes por cepa.

Cepa	Número de colonias revertantes	
	Buffer	Mix S9
TA98	20-50	20-50
TA100	75-200	75-200

4.4.4.3. Preparación de Controles Positivos y Mix S9

Se prepararon las soluciones de control positivo: Azida de sodio (AZS) disolviendo 50 µg en 1 mL de agua destilada, 2-aminofluoreno (2AF) disolviendo 400 µg en 2 mL de DMSO y 2-nitrofluoreno (2NF) disolviendo 20 µg en 1 mL de DMSO, así como la solución mix S9 (se reconstituyó el polvo liofilizado a 20 mL) y el buffer fosfato de sodio 0.1 mM pH 7.4 mezclando 3 mL de fosfato de sodio monobásico 0.1 M y 22 mL de fosfato de sodio dibásico 0.1 M y así obtener 25

mL en total. Para los controles se utilizó 0.5 mL de cada control, mix S9 y buffer. Se utiliza agua destilada como control negativo.



Figura 7. Controles positivos y negativos

4.4.4.4. Tratamiento de muestras problema y ensayo de mutagenicidad (test de Ames)

Se realizaron diluciones de los 4 puntos muestreados al 100%, 70%, 50% y 15%, utilizando como solvente agua desionizada estéril.

Tabla 9. Concentraciones empleadas en el análisis del test de Ames.

Dilución	Concentración
Dilución 1	100%
Dilución 2	75%
Dilución 3	50%
Dilución 4	15%

Se añadió 0.1 mL del cultivo, previamente ajustado a una densidad óptima de 1 – 2 × 10^9 cél/mL, a 2 mL de agar de superficie a una temperatura entre 43 y 45 °C en tubos de ensayo. Este medio estaba compuesto por 0.2 mL de L-

histidina/D-biotina 0.5 mM, 0.5 mL de la mezcla S9 y 0.1 mL de la dilución correspondiente. De manera paralela, se realizó el mismo procedimiento en ausencia de activación metabólica, reemplazando la mezcla S9 por 0.5 mL de tampón fosfato de sodio 0.1 mM a pH 7.4. Una vez incorporado el inóculo, la mezcla se homogenizó suavemente, se vertió de inmediato sobre placas AGM y se incubó a 37 °C durante 48 horas.

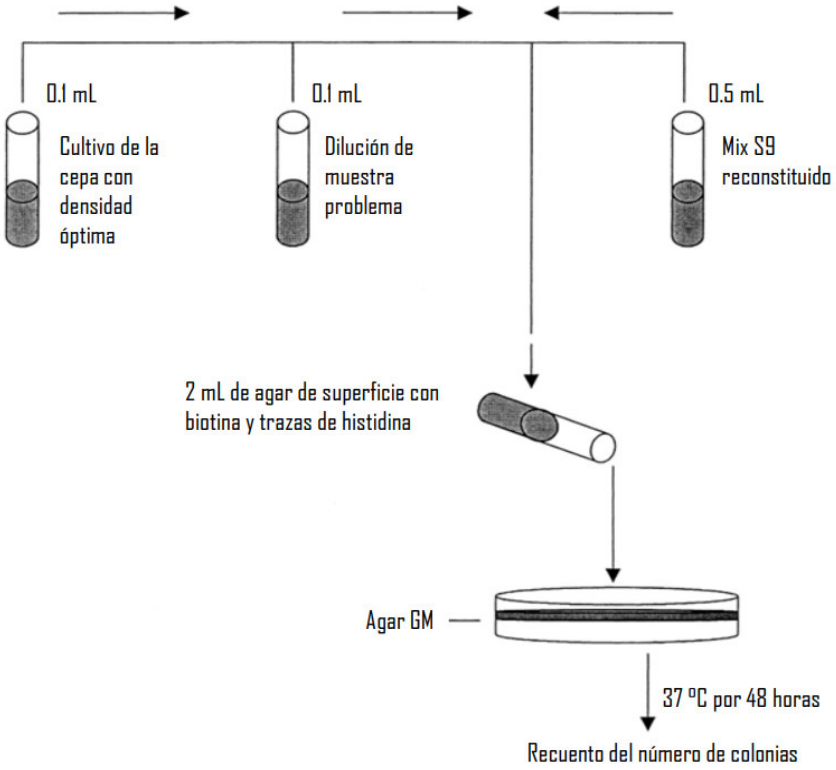

Figura 8. Flujo del proceso del test de Ames.

Los ensayos se realizaron por triplicado, empleando agua destilada como disolvente de control en los experimentos sin activación metabólica, y 2-aminofluoreno, azida de sodio y 2-nitrofluoreno como agentes mutagénicos de referencia en los controles positivos, tanto en presencia como en ausencia de la activación metabólica correspondiente.

Para interpretar los resultados en la prueba de Ames se calcula la tasa de mutagenicidad, primero contando el número de colonias revertidas por placa y luego calculando el IM como lo describen Vijay U et al (70). Una vez efectuado el conteo, se calculó la mediana del número de colonias revertantes por

triplicado, a fin de estimar el IM de cada punto de muestreo. Para el análisis del IM se emplea fórmula:

$$IM = \frac{RI}{RE}$$

donde RI es el número de colonias revertantes inducidas y RE es el número de colonias revertantes espontáneas.

Finalmente se realizará la interpretación de los resultados arrojados con el IM, donde:

Tabla 10. Valores de IM para determinar potencial mutagénico.

IM	**Interpretación**
IM ≥ 2	Mutagénicos
1 ≤ IM < 2	Ligeramente mutagénicos
IM < 1	No mutagénicos

4.5. Análisis estadístico

En el análisis bivariado se emplearon pruebas estadísticas no paramétricas debido al tamaño muestral reducido y a la limitada sensibilidad de las pruebas de normalidad para identificar desviaciones en muestras pequeñas. Las comparaciones del índice mutagénico entre las condiciones sin Mix S9 y con Mix S9 en cada punto de recolección y dilución se realizaron mediante la prueba U de Mann–Whitney para muestras independientes, mientras que las comparaciones entre múltiples concentraciones dentro de cada punto de recolección se evaluaron con la prueba de Kruskal–Wallis, aplicando análisis post hoc con corrección de Bonferroni cuando correspondió. Los resultados se

presentan como mediana y cuartiles [Q1–Q3], se consideró un nivel de significancia estadística de $p < 0,05$. Todos los análisis fueron realizados utilizando el paquete estadístico SPSS, versión 26.

5. RESULTADOS

5.1. Parámetros fisico químicos

Tabla 11. Parámetros fisicoquímicos *in situ* en los puntos de muestreo.

Punto de muestreo	Parámetros fisicoquímicos			
	pH (unidad pH)	Temperatura (°C)	Oxígeno disuelto (mg/LDO)	Conductividad (µS/cm)
QSipc1	3.66	12.74	2.72	471
QSipc2	3.69	16.95	2.52	893
QSipc3	4.17	14.56	2.81	628
QSipc4	3.97	16.18	2.84	781

Los 4 puntos de muestras de agua fueron evaluados por el ECA para el agua aprobado con D.S. N° 004-2017-MINAM.

5.1.1. Parámetros fisicoquímicos evaluados con el ECA-Categ.3.D1

5.1.1.1. Potencial de hidrógeno

Los resultados de pH para los 4 puntos de QSipc1, QSipc2, QSipc3 y QSipc4 estuvieron por debajo del límite mínimo autorizado por el ECA-Categ3.D1 (6.5 – 8.5); registrando pH ácido.

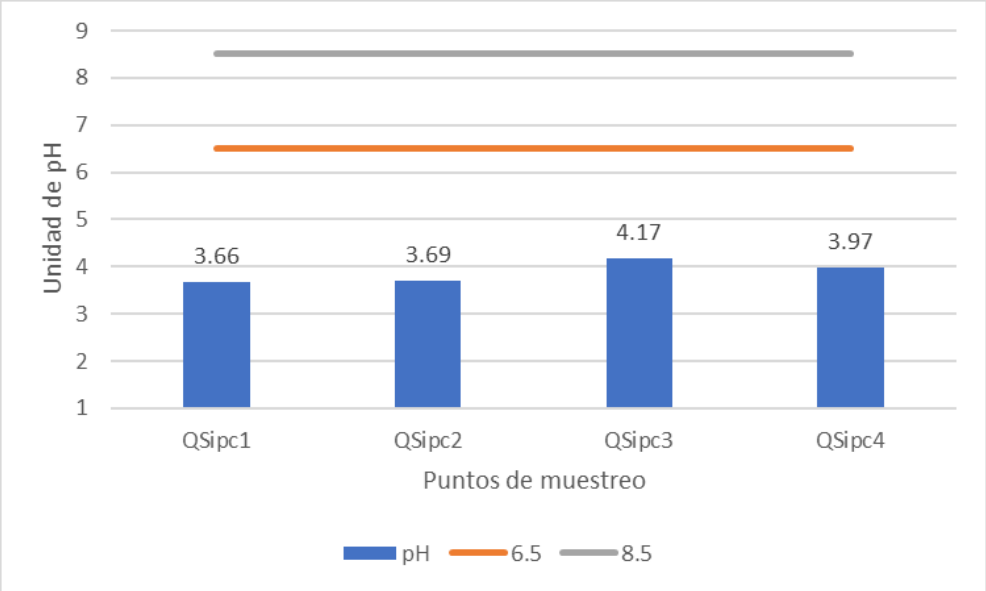

Figura 9. Comparación del pH de puntos de muestreo con el ECACateg3.D1.

5.1.1.2. Oxígeno disuelto

Los resultados obtenidos de oxígeno disuelto en los puntos QSipc1, QSipc2, QSipc3 y QSipc4 estuvieron por debajo del límite establecido por el ECA-Categ3.D1.

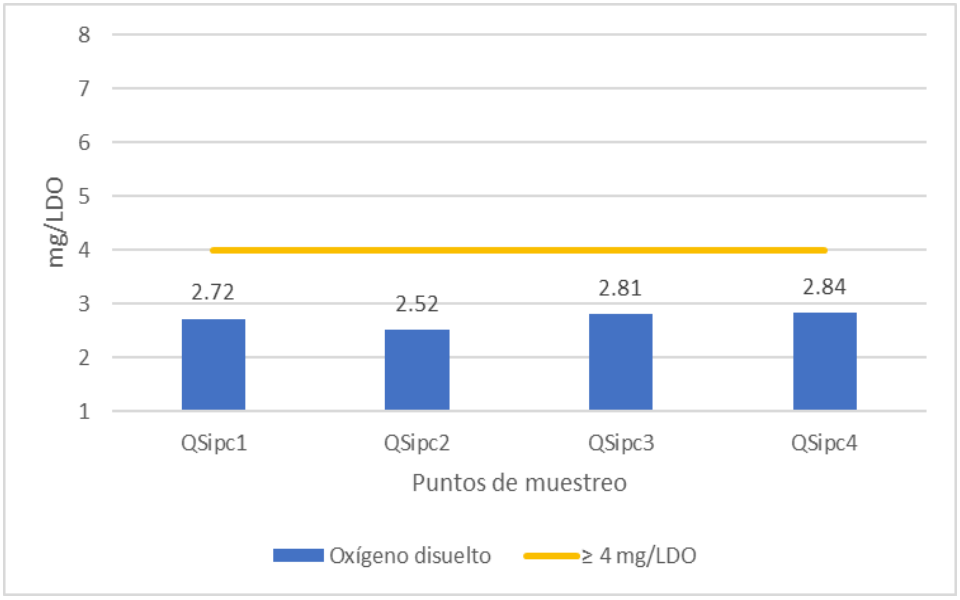

Figura 10. Comparación del oxígeno disuelto (mg/LDO) en los puntos muestreados con el ECACateg3.D1.

5.1.1.3. Conductividad eléctrica

Los resultados para la conductividad eléctrica de QSipc1, QSipc2, QSipc3 y QSipc4 registraron valores inferiores a 2500 µS/cm, lo que cumple el ECA-Categ3.D1.

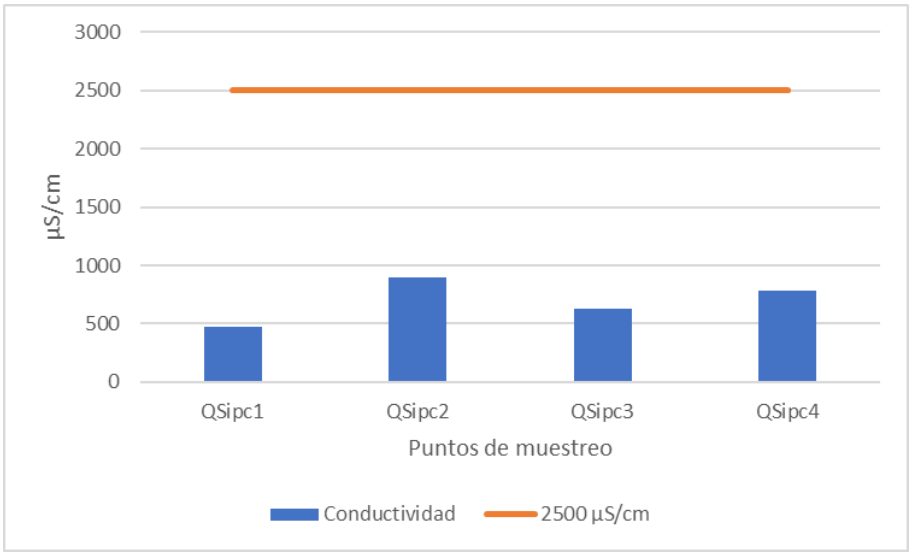

Figura 11. Comparación de conductividad eléctrica (µS/cm) en los puntos muestreados con el ECACateg3.D1

5.2. Cuantificación de metales pesados

Mediante el ensayo de espectrometría de masas con plasma acoplado inductivamente se encontraron las siguientes concentraciones de cada metal analizado en unidades mg/L:

Tabla 12. Concentraciones obtenidas de metales pesados(mg/L) en los puntos de muestreo de la Quebrada Sipchoc.

Metal	Unidades de medida	Punto de muestreo			
		QSipc1	QSipc2	QSipc3	QSipc4
Arsénico Total	mg/L	0.07319	0.11384*	0.10564*	0.04055
Berilio Total	mg/L	0.00065	0.00129	0.00164	0.00155
Cadmio Total	mg/L	0.04226*	0.07487*	0.02763*	0.02614*
Cobalto Total	mg/L	0.03341	0.06091*	0.05986*	0.06710*
Cobre Total	mg/L	0.15358	0.31068*	0.11696	0.09811
Cromo Total	mg/L	<0.0003	0.0008	0.0135	0.0026
Hierro Total	mg/L	4.9573	9.0923*	50.3518*	7.9894*
Manganeso Total	mg/L	5.05324*	18.67392*	7.12910*	7.03408*
Mercurio Total	mg/L	<0.00009	<0.00009	<0.00009	<0.00009
Níquel Total	mg/L	0.0067	0.0212	0.0211	0.0227
Plomo Total	mg/L	0.0961*	0.3542*	0.1351*	0.0495
Zinc Total	mg/L	4.6806*	12.8310*	5.0052*	4.5309*

*Valores por encima de los ECA del MINAM (24).

Las aguas superficiales de la quebrada Sipchoc presentan contaminación, con mayor carga total de metales pesados que sobrepasan los ECA del MINAM en el punto QSipc2, seguido por QSipc3, QSipc1 y ultimo QSipc4. El Cd y Mn supera este valor en los cuatro puntos de muestreo, lo que sugiere una contaminación persistente a lo largo del tramo evaluado. Asimismo, el As excede los valores permitidos en QSipc2 y QSipc3, mientras que el Pb alcanza sus mayores concentraciones en QSipc1 y QSipc2. De manera complementaria, Co excede en QSipc2, QSipc3 y QSipc4, El Fe muestra un valor elevado en QSipc3.

5.3. Parámetros de los metales pesados evaluados con el ECA-Categ.3.D1

5.3.1. Arsénico

Los resultados obtenidos de As en QSipc1 y QSipc4 se encontraron inferiores a 0.1 mg/L, cumpliendo con el rango establecido por el ECA-Categ3.D1; excepto en QSipc 2 y QSipc 3.

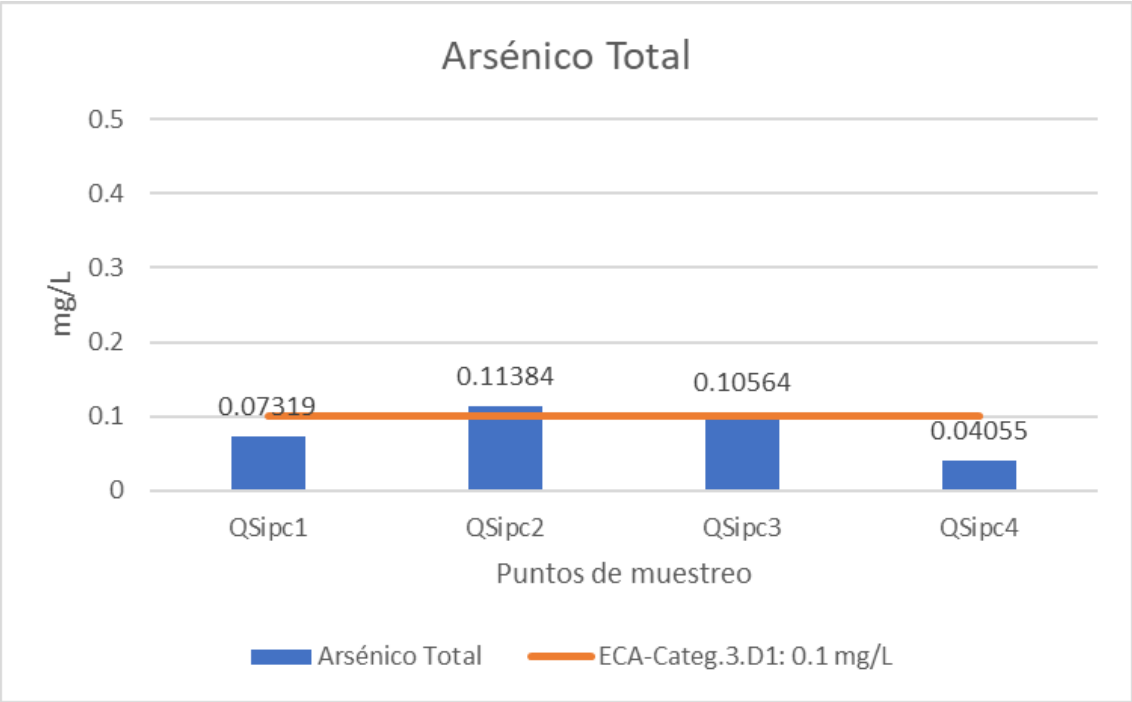

Figura 12. Comparación de As en los puntos muestreados con el ECA-Categ3.D1

5.3.2. Berilio

Los valores de Be en QSipc1, QSipc2, QSipc3 y QSipc4 estuvieron por debajo del 0.1 mg/L, cumplieron el rango establecido por el ECA-Categ3.D1.

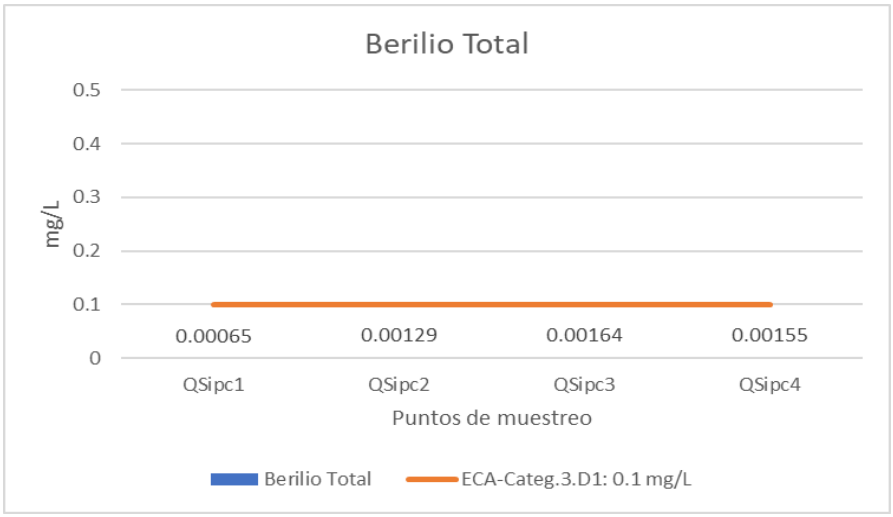

Figura 13. Comparación de Be en los puntos muestreados con el ECA-Categ3.D1.

5.3.3. Cadmio

Los resultados que se obtuvieron para Cd en QSipc1, QSipc2, QSipc3 y QSipc4 arrojaron valores por encima de 0.01 mg/L del rango establecido por el ECA-Categ3.D1.

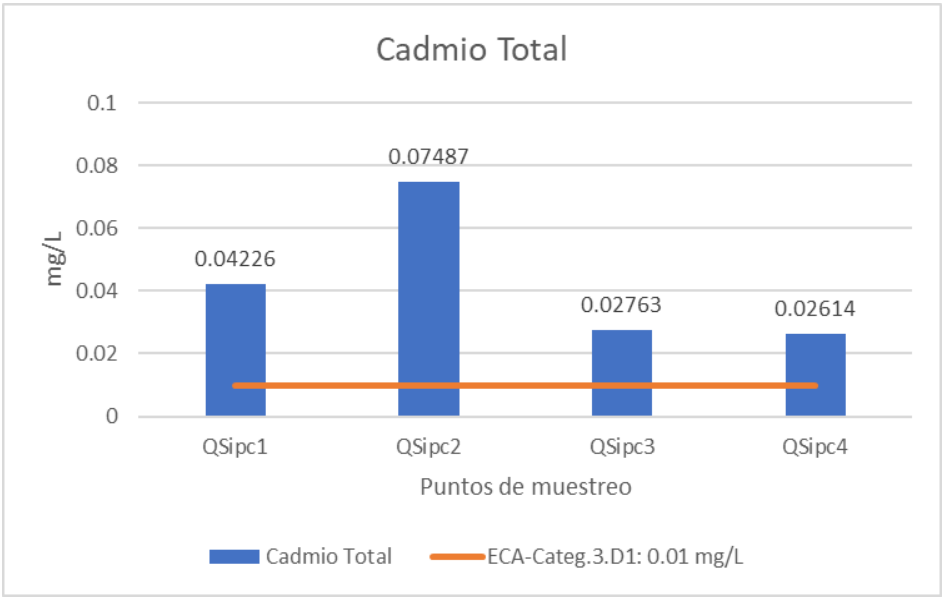

Figura 14. Comparación de Cd en los puntos muestreados con el ECA-Categ3.D1.

5.3.4. Cobalto

Los resultados para Co en QSipc1 fueron inferiores a 0.05 mg/L, cumpliendo el rango establecido por el ECA-Categ3.D1; excepto en QSipc 2, QSipc 3 y QSipc 4.

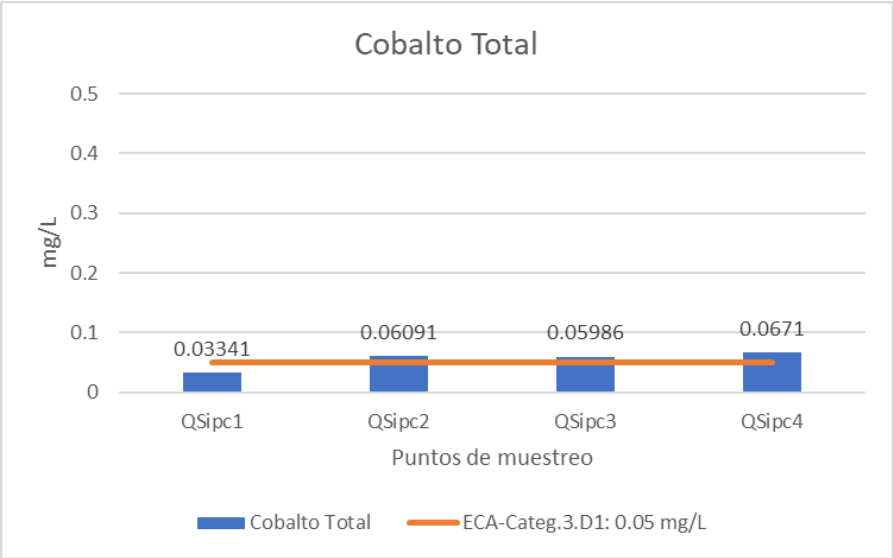

Figura 15. Comparación de Co en los puntos de muestreo con el ECA-Categ3.D1.

5.3.5. Cobre

Las concentraciones de Cu en QSipc1, QSipc 3 y QSipc4 fueron inferiores a 0.1 mg/L, cumpliendo con el rango establecido por el ECA-Categ3.D1; excepto en QSipc 2.

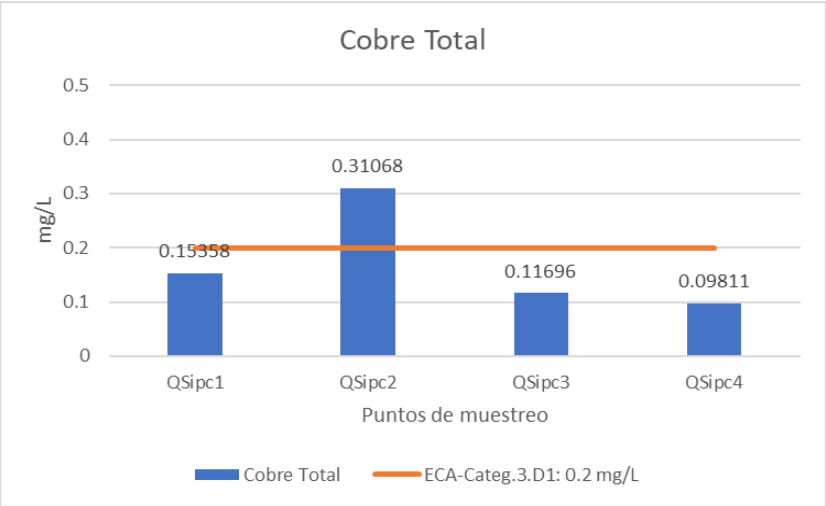

Figura 16. Comparación de Cu en los puntos muestreados con el ECA-Categ3.D1.

5.3.6. Cromo

Los valores obtenidos para Cr en QSipc1, QSipc2, QSipc3 y QSipc4 arrojaron concentraciones inferiores a 0.1 mg/L, cumpliendo con el rango establecido por el ECA-Categ3.D1.

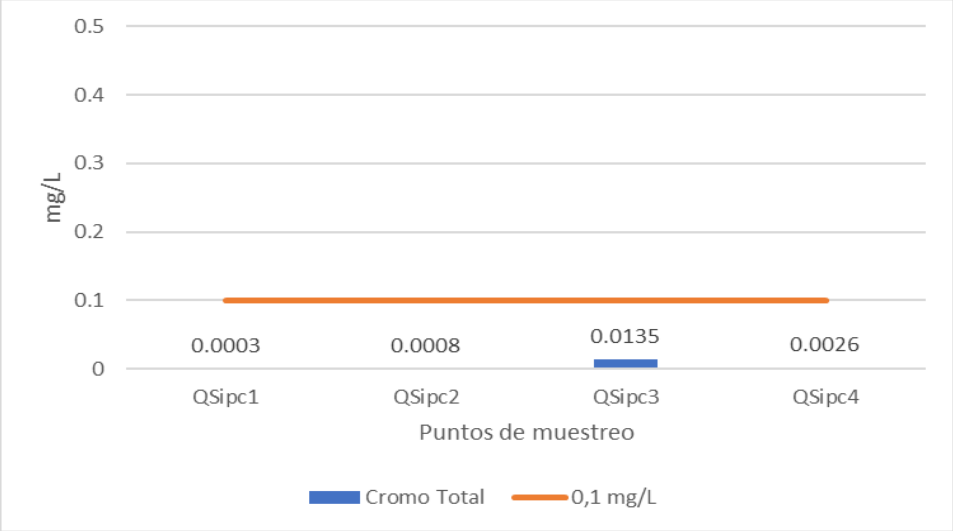

Figura 17. Comparación de Cr en los puntos de muestreo con el ECA-Categ3.D1.

5.3.7. Hierro

El resultado para Fe en QSipc 1 fue menor a 5 mg/L, cumpliendo el rango establecido por el ECA-Categ3.D1; mientras que en QSipc 2, QSipc 3 y QSipc 4, fue mayor.

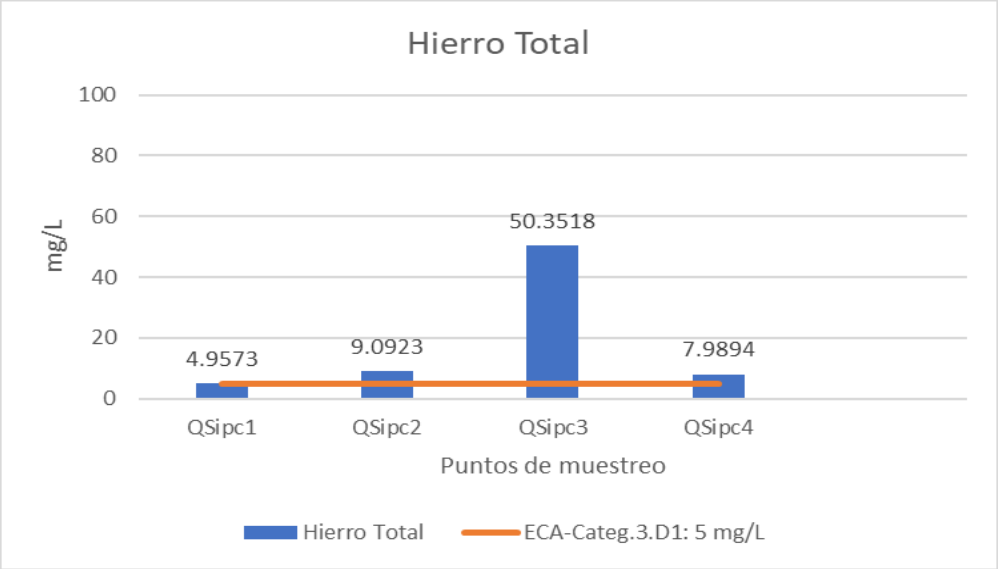

Figura 18. Comparación de Fe en los puntos de muestreo con el ECA-Categ3.D1.

5.3.8. Manganeso

Los resultados para Mn en QSipc1, QSipc2, QSipc3 y QSipc4 estuvieron por encima de 0.2 mg/L del rango determinado por el ECA-Categ3.D1.

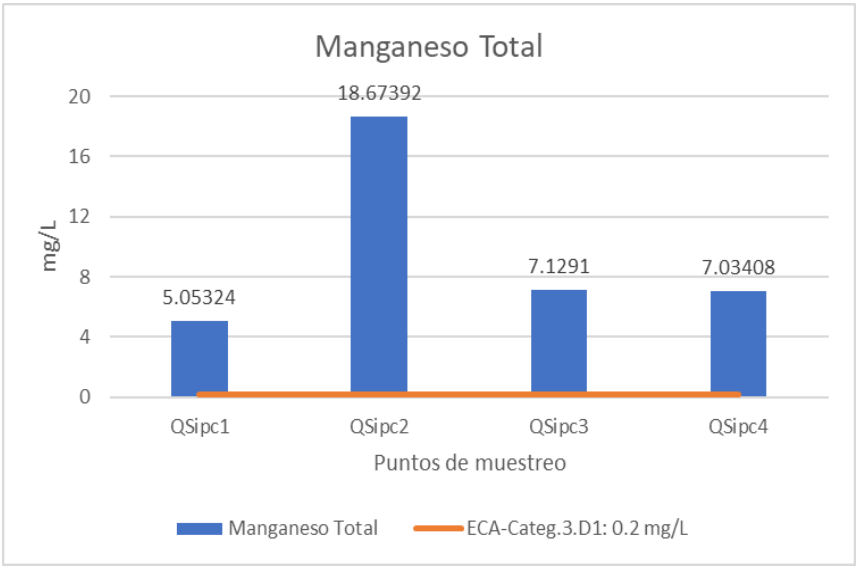

Figura 19. Comparación de Mn en los puntos muestreados con el ECA-Categ3.D1.

5.3.9. Mercurio

Las concentraciones para Hg en QSipc1, QSipc2, QSipc3 y QSipc4 fueron inferiores al 0.001 mg/L, cumpliendo el rango establecido por el ECA-Categ3.D1.

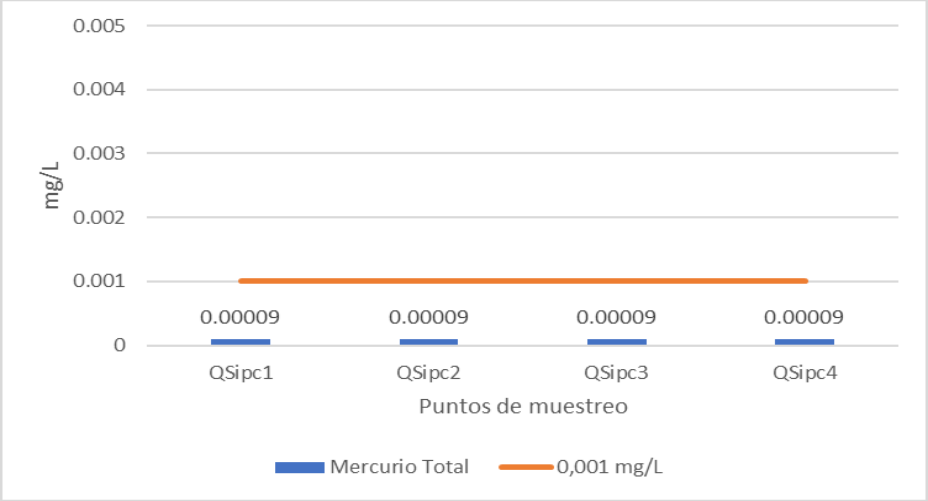

Figura 20. Comparación de Hg en los puntos de muestreo con el ECA-Categ3.D1.

5.3.10. Níquel

Los resultados de Ni en QSipc1, QSipc 3 y QSipc 4 se encontraron por debajo del rango establecido de 0.2 mg/L por el ECA-Categ3.D1, excepto en QSipc 2.

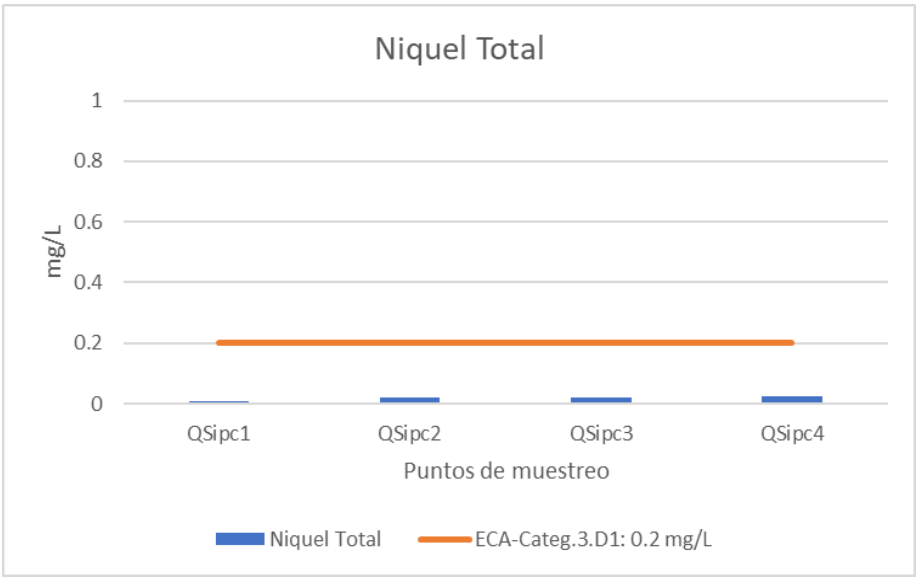

Figura 21. Comparación de Ni en los puntos muestreados con el ECA-Categ3.D1

5.3.11. Plomo

Las concentraciones de Pb en QSipc1, QSipc2, QSipc3 y QSipc4 estuvieron por encima de 0.05 mg/L del rango establecido por el ECA-Categ3.D1.

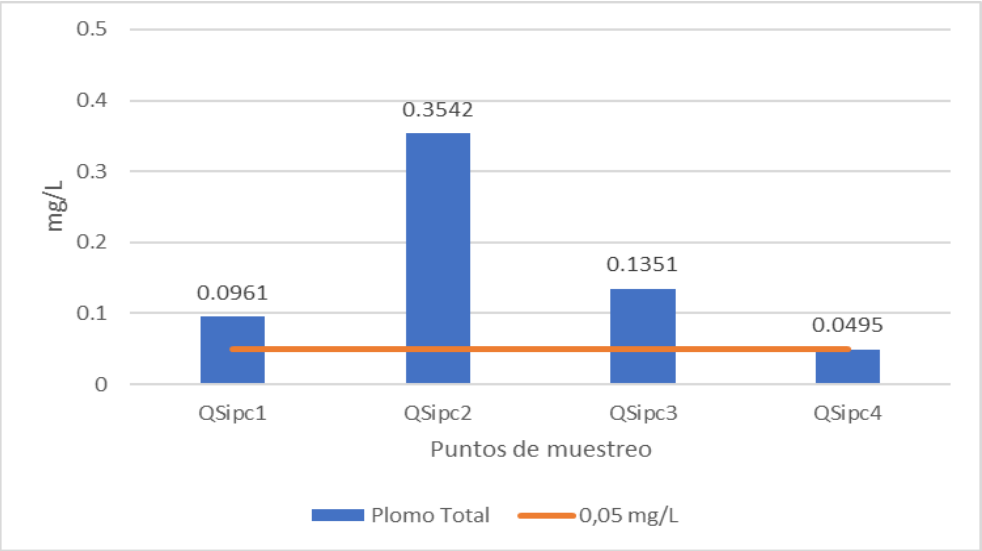

Figura 22. Comparación de Pb en los puntos de muestreo con el ECA-Categ3.D1

5.3.12. Zinc

Los valores para Zn en QSipc1, QSipc2, QSipc3 y QSipc4 fueron mayores a 2 mg/L del rango establecido por el ECA-Categ3.D1.

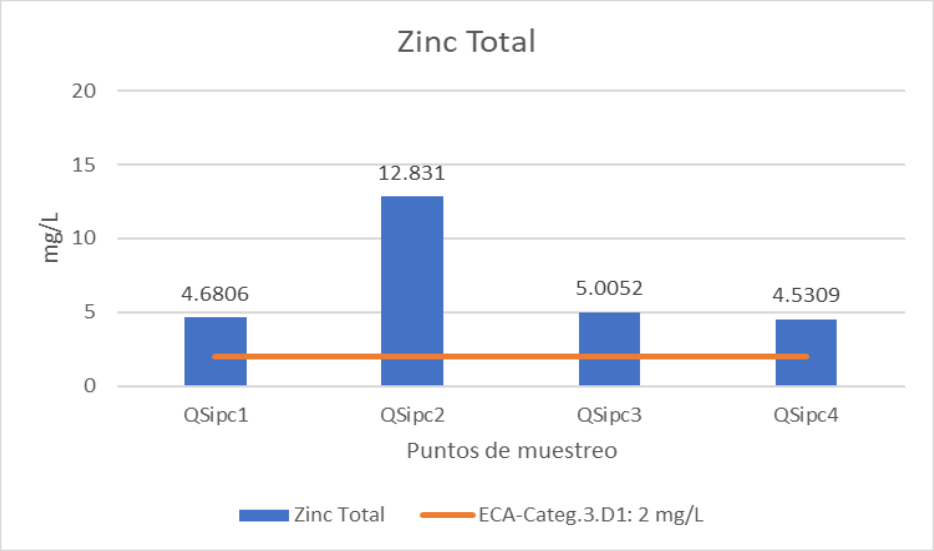

Figura 23. Comparación de Zn en los puntos de muestreo con el ECA-Categ3.D1

5.4. Test de Ames

5.4.1. Identificación de las características genotípicas de las cepas

Los resultados obtenidos para las pruebas de identificación de las cepas se presentan en la Tabla 13.

Tabla 13. Pruebas de identificación para las cepas TA98 y TA100 de *Salmonella* Typhimurium.

Prueba	Cepa		
	TA98	TA100	Salvaje
Histidina + Biotina	+	+	+
Biotina	—	—	+
Ampicilina	Resistente	Resistente	Sensible
Cristal Violeta	Sensible	Sensible	Resistente
Radiación ultravioleta	Sensible	Sensible	Resistente

+: Crecimiento positivo, —: Crecimiento negativo.

Las cepas TA98 y TA100 mostraron crecimiento en el medio enriquecido con histidina y biotina, mientras que en el medio con solo biotina no se observó crecimiento. Además, ambas fueron resistentes a ampicilina y sensibles al cristal violeta y radiación ultravioleta. En cambio, la cepa salvaje creció en ambos medios, fue sensible a ampicilina y resistente a cristal violeta y radiación ultravioleta.

5.4.2. Número de colonias revertantes

En cada punto de muestreo y para cada dilución evaluada, se realizó el recuento del número de colonias revertantes por placa, cuyos resultados se presentan a continuación:

Tabla 14. Número de colonias revertantes obtenidas en las cepas TA98 y TA100 de Salmonella Typhimurium por exposición a muestras de agua de la quebrada Sipchoc según tratamiento y dilución.

Tratamiento	Concentración	Número de colonias revertantes/Placa			
		TA98		TA100	
		Mix S9 (−)	Mix S9 (+)	Mix S9 (−)	Mix S9 (+)
		Med [Q1-Q3]	Med [Q1-Q3]	Med [Q1-Q3]	Med [Q1-Q3]
Azida de sodio*	0.005%	460.00 [392.00–544.00]	—	—	—
2-aminofluoreno*	0.02%	—	—	844.00 [788.00–1292.00]	—
2-nitrofluoreno*	0.002%	—	804.00 [732.00–828.00]	—	584.00 [576.00–636.00]
QSipc1	100%	23.00 [19.00–25.00]	25.00 [24.00–31.00]	152.00 [141.00–210.00]	106.00 [96.00–114.00]
	75%	31.00 [23.00–33.00]	24.00 [22.00–35.00]	134.00 [91.00–158.00]	80.00 [75.00–103.00]
	50%	15.00 [13.00–21.00]	26.00 [18.00–26.00]	137.00 [126.00–150.00]	140.00 [87.00–180.00]
	15%	22.00 [20.00–24.00]	21.00 [19.00–27.00]	142.00 [120.00–147.00]	185.00 [164.00–211.00]
QSipc2	100%	25.00 [21.00–29.00]	34.00 [30.00–39.00]	214.00 [198.00–225.00]	283.00 [184.00–315.00]
	75%	36.00 [32.00–41.00]	30.00 [21.00–33.00]	219.00 [103.00–304.00]	191.00 [157.00–214.00]
	50%	39.00 [28.00–41.00]	28.00 [22.00–31.00]	228.00 [179.00–266.00]	283.00 [268.00–350.00]

	15%	24.00 [20.00–25.00]	20.00 [13.00–25.00]	219.00 [196.00–243.00]	294.00 [215.00–312.00]
QSipc3	100%	26.00 [18.00–37.00]	29.00 [25.00–31.00]	230.00 [195.00–347.00]	197.00 [173.00–217.00]
	75%	23.00 [12.00–31.00]	21.00 [17.00–32.00]	187.00 [179.00–233.00]	239.00 [179.00–320.00]
	50%	23.00 [21.00–28.00]	19.00 [15.00–24.00]	201.00 [174.00–256.00]	255.00 [143.00–327.00]
	15%	16.00 [13.00–19.00]	12.00 [10.00–21.00]	243.00 [235.00–287.00]	257.00 [212.00–344.00]
Qsipc4	100%	40.00 [32.00–47.00]	24.00 [16.00–29.00]	108.00 [88.00–125.00]	140.00 [89.00–149.00]
	75%	29.00 [21.00–34.00]	21.00 [18.00–25.00]	145.00 [133.00–314.00]	153.00 [130.00–214.00]
	50%	31.00 [15.00–33.00]	22.00 [17.00–30.00]	144.00 [131.00–276.00]	111.00 [81.00–136.00]
	15%	20.00 [17.00–26.00]	19.00 [18.00–21.00]	129.00 [112.00–132.00]	102.00 [84.00–206.00]
Revertantes Espontáneas#	—	30.00 [21.00–34.00]	27.00 [22.00–27.00]	175.00 [145.00–191.00]	180.00 [156.00–197.00]

*Controles positivos, #: Control negativo, —: No aplica.

En la cepa TA98, las medianas de colonias revertantes sin Mix S9 variaron entre 15.00 y 40.00, mientras que con activación metabólica oscilaron entre 12.00 y 34.00, según el punto de muestreo y la dilución; mientras que en la cepa TA100, las medianas de colonias revertantes sin Mix S9 variaron entre 108.00 y 243.00, mientras que con activación metabólica oscilaron entre 80,00 y 294.00, según el punto de muestreo y la dilución.

5.4.3. Índice de mutagenicidad

Para cada punto y dilución se realizó el el cálculo del IM, encontrando los siguientes resultados:

Tabla 15. Índices de mutagenicidad obtenidos en las cepas TA98 y TA100 de *Salmonella* Typhimurium por exposición a muestras de agua de la quebrada Sipchoc según punto de muestreo y dilución.

Tratamiento	Concentración	Índice de mutagenicidad			
		TA98		TA100	
		Mix S9 (−)	Mix S9 (+)	Mix S9 (−)	Mix S9 (+)
		Med [Q1-Q3]	Med [Q1-Q3]	Med [Q1-Q3]	Med [Q1-Q3]
QSipc1	100%	0.81 [0.67-0.88]	0.94 [0.90-1.16]	0.89 [0.83-1.23]	0.60 [0.54-0.64]
	75%	**1.09** [0.81-1.16]	0.90 [0.83-1.31]	0.79 [0.53-0.93]	0.45 [0.42-0.58]
	50%	0.53 [0.46-0.74]	0.98 [0.68-0.98]	0.80 [0.74-0.88]	0.79 [0.49-1.01]
	15%	0.78 [0.71-0.85]	0.79 [0.71-1.01]	0.83 [0.70-0.86]	1.04 [0.92-1.19]
QSipc2	100%	0.88 [0.74-1.02]	**1.28** [1.13-1.46]	**1.26** [1.16-1.32]	**1.59** [1.04-1.77]
	75%	**1.27** [1.13-1.45]	**1.13** [0.79-1.24]	**1.29** [0.60-1.78]	**1.08** [0.88-1.20]
	50%	**1.38** [0.99-1.45]	**1.05** [0.83-1.16]	**1.34** [1.05-1.56]	**1.59** [1.51-1.97]

	15%	0.85 [0.71-0.88]	0.75 [0.49-0.94]	**1.29** [1.15-1.43]	**1.65** [1.21-1.76]
QSipc3	100%	0.92 [0.64-1.31]	**1.09** [0.94-1.16]	**1.35** [1.14-2.04]	**1.11** [0.97-1.22]
	75%	0.81 [0.42-1.09]	0.79 [0.64-1.20]	**1.10** [1.05-1.37]	**1.35** [1.01-1.80]
	50%	0.81 [0.74-0.99]	0.71 [0.56-0.90]	**1.18** [1.02-1.50]	**1.44** [0.80-1.84]
	15%	0.56 [0.46-0.67]	0.45 [0.38-0.79]	**1.43** [1.38-1.68]	**1.45** [1.19-1.94]
Qsipc4	100%	**1.41** [1.13-1.66]	0.90 [0.60-1.09]	0.63 [0.52-0.73]	0.79 [0.50-0.84]
	75%	**1.02** [0.74-1.20]	0.79 [0.68-0.94]	0.85 [0.78-1.84]	0.86 [0.73-1.20]
	50%	**1.09** [0.53-1.16]	0.83 [0.64-1.13]	0.85 [0.77-1.62]	0.62 [0.46-0.77]
	15%	0.71 [0.60-0.92]	0.71 [0.68-0.79]	0.76 [0.66-0.77]	0.57 [0.47-1.16]

***Medianas resaltadas en negrita:** Ligeramente mutagénicos.

En la cepa TA98, las medianas del valor del índice mutagénico sin Mix S9 variaron entre 1.66 y 0.42, mientras que con activación metabólica oscilaron entre 0.38 y 1.46, según el punto de muestreo y la dilución; mientras que en la cepa TA100, las medianas de colonias revertantes sin Mix S9 variaron entre 0.52 y 2.04, mientras que con activación metabólica oscilaron entre 1.97 y 0.42, según el punto de muestreo y la dilución.

5.5. Comparación del índice mutagénico entre cada dilución de los puntos de muestreo analizados con y sin Mix S9

En la cepa TA98 de *S.* Typhimurium, al comparar el índice de mutagenicidad entre las condiciones sin y con Mix S9 en cada punto de muestreo y para cada dilución evaluada, no se observaron diferencias estadísticamente significativas ($p > 0.05$) (Tabla 16).

Tabla 16. Comparación del índice de mutagenicidad en la cepa TA98 de *Salmonella* Typhimurium expuestas a muestras de agua de la quebrada Sipchoc, en ausencia y presencia de Mix S9.

Punto de muestreo	Dilución	IM Mix S9 (−)		IM Mix S9 (+)		Valor p*
		n	Med	n	Med	
QSipc1	100%	3	0.81	3	0.94	0.100
	75%	3	1.09	3	0.9	1,000
	50%	3	0.53	3	0.98	0.200
	15%	3	0.78	3	0.79	0.700
QSipc2	100%	3	0.88	3	1.28	0.100
	75%	3	1.27	3	1.13	0.200
	50%	3	1.38	3	1.05	0.400

	15%	3	0.85	3	0.75	1.000
QSipc3	100%	3	0.92	3	1.09	0.700
	75%	3	0.81	3	0.79	1.000
	50%	3	0.81	3	0.71	0.400
	15%	3	0.56	3	0.45	0.700
QSipc4	100%	3	1.41	3	0.90	0.100
	75%	3	1.02	3	0.79	0.400
	50%	3	1.09	3	0.83	1.000
	15%	3	0.71	3	0.71	1.000

*Se utilizó la prueba de U de Mann-Whitney para el cálculo del valor p

En la cepa TA100 de *S.* Typhimurium, al comparar el índice de mutagenicidad sin y con Mix S9 en cada punto de muestreo y para cada dilución evaluada, en ninguno de los casos se evidenciaron diferencias estadísticamente significativas ($p > 0.05$) (Tabla 17).

Tabla 17. Comparación del índice de mutagenicidad en la cepa TA100 de *Salmonella* Typhimurium expuestas a muestras de agua de la quebrada Sipchoc, en ausencia y presencia de Mix S9.

Punto de muestreo	Dilución	IM Mix S9 (−)		IM Mix S9 (+)		Valor p
		n	Med	n	Med	
QSipc1	100%	3	0.81	3	0.94	0.100
	75%	3	1.09	3	0.90	0.200
	50%	3	0.53	3	0.98	1.000
	15%	3	0.78	3	0.79	0.100
QSipc2	100%	3	0.88	3	1.28	0.700
	75%	3	1.27	3	1.13	0.700
	50%	3	1.38	3	1.05	0.200
	15%	3	0.85	3	0.75	0.400
QSipc3	100%	3	0.92	3	1.09	0.200
	75%	3	0.81	3	0.79	1.000
	50%	3	0.81	3	0.71	1.000
	15%	3	0.56	3	0.45	1.000

QSipc4	100%	3	1.41	3	0.90	0.700
	75%	3	1.02	3	0.79	1.000
	50%	3	1.09	3	0.83	0.100
	15%	3	0.71	3	0.71	0.700

*Se utilizó la prueba de U de Mann-Whitney para el cálculo del valor p

En la cepa TA98 de *S.* Typhimurium, al comparar el índice de mutagenicidad entre las concentraciones (100%, 75%, 50% y 15%) dentro de cada punto de muestreo sin Mix S9, no se observaron diferencias estadísticamente significativas ($p > 0.05$) (Tabla 18).

Tabla 18. Comparación del índice de mutagenicidad entre diluciones en cada punto de muestreo de la cepa TA98 de *Salmonella* Typhimurium sin Mix S9.

Punto de muestreo	Concentración	IM Mix S9 (−)		Valor p
		n	Med	
QSipc1	100%	3	0.81	0.088
	75%	3	1.09	
	50%	3	0.53	
	15%	3	0.78	

QSipc2	100%	3	0.88	0.050
	75%	3	1.27	
	50%	3	1.38	
	15%	3	0.85	
QSipc3	100%	3	0.92	0.319
	75%	3	0.81	
	50%	3	0.81	
	15%	3	0.56	
QSipc4	100%	3	1.41	0.118
	75%	3	1.02	
	50%	3	1.09	
	15%	3	0.71	

*Se utilizó la prueba Kruskal Wallis para el cálculo del valor p

En la cepa TA98 de *S.* Typhimurium, al comparar el índice de mutagenicidad entre las concentraciones (100%, 75%, 50% y 15%) dentro de cada punto de muestreo en presencia de Mix S9, no se observaron diferencias estadísticamente significativas ($p > 0.05$) (Tabla 19).

Tabla 19. Comparación del índice de mutagenicidad entre diluciones en cada punto de muestreo de la cepa TA98 de *Salmonella* Typhimurium con Mix S9.

Punto de muestreo	Concentración	Mix S9 (+)		Valor p*
		n	Med	
QSipc1	100%	3	0.94	0.778
	75%	3	0.90	
	50%	3	0.98	
	15%	3	0.79	
QSipc2	100%	3	1.28	0.088
	75%	3	1.13	
	50%	3	1.05	
	15%	3	0.75	
QSipc3	100%	3	1.09	0.114
	75%	3	0.79	
	50%	3	0.71	

	15%	3	0.45	
QSipc4	100%	3	0.9	0.862
	75%	3	0.79	
	50%	3	0.83	
	15%	3	0.71	

*Se utilizó la prueba Kruskal Wallis para el cálculo del valor p

En la cepa TA100 de *S.* Typhimurium, al comparar el índice de mutagenicidad entre las concentraciones (100%, 75%, 50% y 15%) dentro de cada punto de muestreo sin Mix S9, no se observaron diferencias estadísticamente significativas en QSipc1 (p= 0.425), QSipc2 (p= 0.956) ni QSipc3 (p= 0.287). En QSipc4 se identificó una diferencia global significativa entre concentraciones (p= 0.033); sin embargo, el análisis pos hoc no evidenció diferencias significativas en las comparaciones por pares (Tabla 20).

Tabla 20. Comparación del índice de mutagenicidad entre diluciones en cada punto de recolección de la cepa TA100 de *Salmonella* Typhimurium sin Mix S9.

Punto de muestreo	Concentración	IM Mix S9 (−)		Valor p*
		n	Med	
QSipc1	100%	3	0.89	0.425
	75%	3	0.79	
	50%	3	0.80	
	15%	3	0.83	
QSipc2	100%	3	1.26	0.956
	75%	3	1.29	
	50%	3	1.34	
	15%	3	1.29	
QSipc3	100%	3	1.35	0.287
	75%	3	1.10	
	50%	3	1.18	
	15%	3	1.43	

QSipc4	100%	3	0.63a	0.033
	75%	3	0.85a	
	50%	3	0.85a	
	15%	3	0.76a	

*Se utilizó la prueba Kruskal Wallis para el cálculo del valor p.

En la cepa TA100 de *S.* Typhimurium, al comparar el índice de mutagenicidad entre las concentraciones (100%, 75%, 50% y 15%) dentro de cada punto de muestreo en presencia de Mix S9, no se evidenciaron diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.05$) (Tabla 21).

Tabla 21. Comparación del índice de mutagenicidad entre diluciones en cada punto de muestreo de la cepa TA100 de *Salmonella* Typhimurium con Mix S9.

Punto de muestreo	Concentración	IM Mix S9 (+)		Valor p*
		n	Med	
QSipc1	100%	3	0,60	0.055
	75%	3	0,45	
	50%	3	0,79	
	15%	3	1,04	
QSipc2	100%	3	1,59	0.181

	75%	3	1,08	
	50%	3	1,59	
	15%	3	1,65	
QSipc3	100%	3	1,11	0.468
	75%	3	1,35	
	50%	3	1,44	
	15%	3	1,45	
QSipc4	100%	3	0,79	0.376
	75%	3	0,86	
	50%	3	0,62	
	15%	3	0,57	

*Se utilizó la prueba Kruskal Wallis para el cálculo del valor p.

En la cepa TA98 de *S*. Typhimurium, en ausencia de Mix S9, no se encontraron diferencias estadísticamente significativas en el índice de mutagenicidad entre los puntos de recolección en ninguna de las concentraciones evaluadas ($p > 0.05$) (Tabla 22).

Tabla 22. Comparación del índice de mutagenicidad en la cepa TA98 sin Mix S9 de *Salmonella* Typhimurium entre los puntos de muestreo y en cada dilución.

Dilución	Punto de recolección				Valor p*
	QSipc1 Med	QSipc2 Med	QSipc3 Med	QSipc4 Med	
100%	0.81	0.88	0.92	1.41	0.114
75%	1.09	1.27	0.81	1.02	0.142
50%	0.53	1.38	0.81	1.09	0.081
15%	0.78	0.85	0.56	0.71	0.120

*Se utilizó la prueba Kruskal Wallis para el cálculo del valor p

En la cepa TA98 de *S.* Typhimurium con Mix S9, al comparar el índice de mutagenicidad entre los puntos de recolección en cada dilución evaluada, no se evidenciaron diferencias estadísticamente significativas ($p > 0.05$) (Tabla 23).

Tabla 23. Comparación del índice de mutagenicidad en la cepa TA98 con Mix S9 de *Salmonella* Typhimurium entre los puntos de muestreo y en cada dilución.

Dilución	Punto de recolección				Valor p*
	QSipc1 Med	QSipc2 Med	QSipc3 Med	QSipc4 Med	
100%	0.94	1.28	1.09	0.9	0.109
75%	0.90	1.13	0.79	0.79	0.453
50%	0.98	1.05	0.71	0.83	0.371
15%	0.79	0.75	0.45	0.71	0.418

*Se utilizó la prueba Kruskal Wallis para el cálculo del valor p

En la cepa TA100 de *S.* Typhimurium sin Mix S9, al comparar el índice de mutagenicidad entre los puntos de recolección dentro de cada concentración, se observaron diferencias estadísticamente significativas en las diluciones de 100% (p= 0.041) y 15% (p= 0.028). En la dilución 100%, el análisis post hoc no mostró diferencias significativas entre pares de puntos de recolección. En la dilución 15%, el análisis post hoc con corrección de Bonferroni evidenció diferencias significativas entre QSipc3 y QSipc4. No se evidenciaron diferencias significativas en las diluciones de 75% (p= 0.424) y 50% (p= 0.183) (Tabla 24).

Tabla 24. Comparación del índice de mutagenicidad en la cepa TA100 sin Mix S9 de *Salmonella* Typhimurium entre los puntos de muestreo y en cada dilución.

Dilución	Punto de recolección				Valor p*
	QSipc1 Med	QSipc2 Med	QSipc3 Med	QSipc4 Med	
100%	0.89a	1.26a	1.35a	0.63a	0.041
75%	0.79	1.29	1.10	0.85	0.424
50%	0.80	1.34	1.18	0.85	0.183
15%	0.83ab	1.29ab	1.43b	0.76a	0.028

*Se utilizó la prueba Kruskal Wallis para el cálculo del valor p; las letras diferentes (a, b) indican diferencias estadísticamente significativas en las comparaciones post hoc con corrección de Bonferroni ($p < 0,05$).

En la cepa TA100 de S. Typhimurium con Mix S9, al comparar el índice de mutagenicidad entre los puntos de recolección dentro de cada concentración, se observaron diferencias estadísticamente significativas en todas las diluciones evaluadas: 100% (p= 0.033), 75% (p= 0.047), 50% (p= 0.040) y 15% (p= 0.040). En la dilución 75%, el análisis post hoc con corrección de Bonferroni evidenció diferencias significativas entre QSipc1 y QSipc2. En las diluciones de 100%, 50% y 15%, aunque la prueba global fue significativa, el análisis post hoc no evidenció diferencias significativas entre pares de puntos de recolección (Tabla 25).

Tabla 25. Comparación del índice de mutagenicidad en la cepa TA100 con Mix S9 de *Salmonella* Typhimurium entre los puntos de muestreo y en cada dilución.

Dilución	Punto de recolección				Valor p*
	QSipc1 Med	QSipc2 Med	QSipc3 Med	QSipc4 Med	
100%	0.60a	1.59a	1.11a	0.79a	0.033
75%	0.45a	1.08b	1.35ab	0.86ab	0.047
50%	0.79a	1.59a	1.44a	0.62a	0.040
15%	1.04a	1.65a	1.45a	0.57a	0.040

*Se utilizó la prueba Kruskal Wallis para el cálculo del valor p; las letras diferentes (a, b) indican diferencias estadísticamente significativas en las comparaciones post hoc con corrección de Bonferroni ($p < 0,05$).

6. DISCUSIÓN

De acuerdo con el Decreto Supremo N.° 004-2017-MINAM, las aguas de la quebrada Sipchoc se clasifican en la categoría 3, subcategoría D1, por lo que su contaminación representa un riesgo para cultivos destinados al consumo humano (24). Esta preocupación coincide con lo reportado por Galagarza et al (2021) quienes señalan que en el Perú la utilización de aguas de riego contaminadas contribuye a la presencia de metales pesados en productos agrícolas y compromete su inocuidad (71), así como con Aftab et al (2023) quienes observaron que el riego con aguas contaminadas incrementa la acumulación de metales en vegetales y su posible ingreso a la cadena alimentaria (72). En ese sentido, la condición de esta quebrada no solo tiene

implicancias ambientales, sino también sanitarias, debido a su posible impacto sobre la inocuidad de los productos agrícolas.

Un parámetro indispensable para la evaluación de la calidad del agua es el pH, ya que permite determinar su grado de acidez o alcalinidad. De acuerdo con la normativa, los valores de pH deben encontrarse en los límites de 6.5 a 8.5 (20) para proporcionar un entorno acuático saludable. Sin embargo, en los puntos de muestreo analizados se registraron valores por debajo de este rango, con un mínimo de 3.66 y un máximo de 4.17 en los puntos QSipc1 y QSipc3, respectivamente. Diversos estudios, como el de García et al (2019) (73), señalan que factores externos, como los desechos agrícolas y los drenajes ácidos provenientes de actividades mineras, pueden alterar el pH de los ríos. En este contexto, las operaciones de la Compañía Minera Huancapeti, cuyos relaves llegan por derrames a las aguas de la quebrada Sipchoc, explicarían en parte la disminución del pH observada en esta zona (74). De manera similar, Gómez et al, 2004 (75) reportaron valores de pH entre 2.44 y 2.75 en la Estación Terreros, punto de monitoreo del río San Pedro en México, donde también se detectó la mayor concentración de metales pesados (Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Mn, Ni y Zn).

El oxígeno disuelto es un parámetro clave en la determinación de la calidad del agua, y su valor inferior establecido es de 4 mg/L (20). Sin embargo, los cuatro puntos muestreados en la quebrada Sipchoc presentan valores entre 2.52 y 2.84, por lo que no cumplen con el parámetro fisicoquímico correspondiente. Este parámetro es esencial para los procesos de respiración aeróbica (76). Según Fernández et al 2020 (77), en ambientes acuáticos afectados por la descarga de efluentes no tratados, especialmente aquellos con alta presencia de materia orgánica, se produce una disminución considerable del oxígeno disuelto. Esto se atribuye a la descomposición de la materia orgánica, proceso que incrementa la demanda bioquímica de oxígeno y, en consecuencia, reduce los niveles de oxígeno disuelto en el agua (78), esta situación podría explicar la ausencia de fauna acuática en la quebrada, observada durante la recolección de las muestras, además del elevado contenido de metales como Mn, Al y Zn.

La conductividad es importante en aguas de ríos porque permite conocer la cantidad de iones disueltos y evaluar la calidad ambiental de las aguas, los valores de conductividad de las aguas muestreadas se encuentran dentro de lo establecido, ya que en aguas superficiales se considera negativo exceder los 2500 µS/cm (24). Los puntos muestreados presentaron valores entre 471 y 893 µS/cm, lo que confirma el cumplimiento de este criterio. Sin embargo, de manera individual, el punto QSipc2 registró el valor más alto, posiblemente debido a una mayor concentración de iones disueltos. Esto se debe a que la capacidad de conducción eléctrica aumenta de forma proporcional a la concentración total de iones (79), lo cual podría estar relacionado con que este punto presenta la mayor concentración de Calcio (92.517 mg/mL).

Al comparar las concentraciones de metales pesados registradas en las Tablas 6 y 12, se observa que Zn, Mn, Cd y Al presentan los niveles más elevados, con un incremento especialmente marcado en QSipc2, lo que probablemente se relaciona con la cercanía de este punto a los relaves mineros y a las zonas de disposición de residuos. En particular, Al (10.780-38.784 mg/L), Cd (0.02763-0.07487 mg/L), Mn (5.05324-18.67392 mg/L) y Zn (4.5309-12.8310 mg/L) superan los valores máximos permitidos por el MINAM y la ANA para aguas superficiales de categoría 3-D1 en los cuatro puntos de muestreo (24), lo que evidencia una presencia persistente de estos elementos a lo largo de la quebrada Sipchoc. Asimismo, As y Pb, aunque presentan concentraciones menores en términos absolutos, superan los ECA en puntos específicos, particularmente As en QSipc2 y QSipc3 y Pb en QSipc1 y QSipc2, mientras que Co, Fe y Zn también superan los ECA. En conjunto, este patrón espacial sugiere una influencia directa proveniente de actividades de acción minera sobre la calidad ambiental del agua, favoreciendo el arrastre, dispersión y acumulación de metales en el sistema hídrico.

Desde el punto de vista toxicológico, estos resultados adquieren especial relevancia al compararse con estudios previos realizados en contextos mineros o industrialmente impactados. Calao-Ramos et al (80) observaron actividad genotóxica y daño en el ADN en aguas de consumo de una zona minera en

Colombia, hallazgo que resulta consistente con la presencia elevada de As, Cd y Pb en Sipchoc. En este sentido, Ngoc et al (81) reportaron concentraciones de Pb entre 0.03 y 0.39 mg/L, Cd entre 0.00 y 0.03 mg/L y As entre 0.02 y 0.42 mg/L en aguas superficiales, con excedencias generalizadas de los límites permisibles; varios de los valores obtenidos en Sipchoc, especialmente para Pb y As, se ubican dentro o incluso por encima de esos rangos. De manera similar, da Silva et al (82) encontraron en agua de pozo cercana a actividad minera una concentración de Cd de 0.045 mg/L, asociada a disminución del índice mitótico y aumento de micronúcleos y aberraciones cromosómicas en cebolla (*Allium cepa*); de forma importante, el valor máximo de QSipc2 (0.07487 mg/L) supera ese nivel, mientras que QSipc1 (0.04226 mg/L) se encuentra en el mismo orden de magnitud. A ello se suma lo reportado por Francisco et al (83), quienes describieron citotoxicidad y genotoxicidad con concentraciones de Al de 0.2-2.0 mg/L y Mn de 0.1-3.0 mg/L, rangos muy inferiores a los registrados en Sipchoc, lo que refuerza la posibilidad de que las muestras de QSipc2 y QSipc3 presenten mayor probabilidad de inducir daño oxidativo y genético, aun cuando la mutagenicidad directa no necesariamente se exprese con la misma intensidad en todos los bioensayos.

La elevada carga metálica registrada en la quebrada Sipchoc puede interpretarse en el contexto de antecedentes que vinculan la contaminación de cuerpos de agua con actividades antrópicas intensivas. Alli et al (84), en el río Reconquista (Argentina), reportaron que las concentraciones más altas de Cd, Cu y Cr se encontraban asociadas a una intensa actividad industrial, mientras que Mokarram et al (85), en el río Kor (Irán), atribuyeron el deterioro de la calidad del agua a descargas industriales y aguas residuales con altos niveles de Cd, Cr, Cu y Ni. En este sentido, la carga metálica observada en la quebrada Sipchoc podría explicarse por la influencia de actividades mineras y por la disposición de relaves en zonas adyacentes al cauce (86), lo que evidencia una probable contribución antrópica al enriquecimiento metálico del sistema.

Esta interpretación se ve reforzada por la naturaleza tóxica de algunos de los metales detectados. Co y Cu han sido descritos como elementos con capacidad para promover daño genético; de hecho, Yildiz et al (87) demostraron que el sulfato de cobre y el cloruro de cobalto inducen aberraciones cromosómicas y daño en el ADN en *Allium cepa*. Asimismo, la concentración de Fe registrada en QSipc3 (9.0923 mg/L) supera los valores reportados por Custodio et al (88) para el río Mantaro, donde se informó una media de 1.140 mg/L y un máximo de 2.841 mg/L, lo que sugiere una carga férrica particularmente elevada en este punto de muestreo. Dado que Fe y Cu son metales redox-activos, su presencia en altas concentraciones podría favorecer la generación de especies reactivas del oxígeno, mecanismo señalado por Wu et al (89) como una de las principales vías de toxicidad de las mezclas metálicas, capaz de inducir daño al ADN, peroxidación lipídica y alteraciones proteicas. En conjunto, estos resultados apoyan la hipótesis de que las actividades antrópicas, particularmente las mineras e industriales, constituyen una fuente importante de metales pesados en la quebrada Sipchoc y podrían contribuir a los efectos tóxicos observados en este ecosistema.

El IM registrado en las muestras de la quebrada Sipchoc se mantuvo dentro de rangos no mutagénicos o ligeramente mutagénicos, ya que ninguno de los valores alcanzó el umbral de positividad establecido para el test de Ames (IM ≥ 2). No obstante, se observaron incrementos del IM principalmente en la cepa TA100, especialmente en presencia de activación metabólica. Los valores más altos se registraron en QSipc2, donde TA100 con Mix S9 alcanzó un IM de 1.65 a 15% y de 1.59 a 50% y 100%; en QSipc3, los mayores valores también se concentraron en TA100, con IM de 1.45 a 15% y 1.44 a 50% con Mix S9, y de 1.43 a 15% sin activación metabólica. En conjunto, este patrón sugiere una respuesta mutagénica de baja magnitud, más evidente en TA100 que en TA98, aunque sin evidenciar mutagenicidad positiva en las condiciones evaluadas.

Este comportamiento guarda similitud con lo reportado por Rivas et al (45), quienes observaron una mayor respuesta en la cepa TA100 en presencia de activación metabólica, aunque sin alcanzar valores positivos, con un IM máximo

de 1.67. Asimismo, los resultados coinciden parcialmente con los descritos por Xue et al (55), donde los valores de IM oscilaron entre 0.94 y 1.53 y fueron interpretados como no mutagénicos. Sin embargo, difieren de lo reportado en el río Cauca por Rivas et al (45), donde la mutagenicidad positiva se presentó principalmente en TA98 sin Mix S9, con valores de IM de 2.66, 2.92 y 3.60. En contraste, en la quebrada Sipchoc no se observaron incrementos comparables, siendo el mayor valor registrado 1.66, lo que refuerza la ausencia de una respuesta mutagénica claramente positiva.

A pesar de ello, el incremento del IM observado en TA100 sugiere la posible presencia de compuestos capaces de inducir mutaciones puntuales, aun cuando su efecto haya sido de baja magnitud. Esta respuesta podría estar relacionada con la carga metálica presente en las muestras, dado que diversos metales pesados han sido asociados con mecanismos biológicos que incluyen estrés oxidativo, daño al ADN, alteraciones en los sistemas de reparación genética e inestabilidad cromosómica, tal como describe Zhu et al (90). No obstante, debido a que el presente estudio evaluó específicamente mutagenicidad mediante el test de Ames, estos procesos deben interpretarse como mecanismos plausibles vinculados al potencial genotóxico de los contaminantes, y no como evidencia directa de genotoxicidad. En este sentido, una respuesta mutagénica baja no excluye la presencia de sustancias capaces de interactuar con el material genético.

Además, valores moderados o bajos del IM podrían estar influenciados por un posible efecto citotóxico de la mezcla de contaminantes presentes en la muestra, lo que habría reducido la supervivencia bacteriana y, en consecuencia, el número de colonias revertantes observadas. Por ello, una baja respuesta en el ensayo no necesariamente descarta la presencia de compuestos con potencial mutagénico, especialmente cuando se trata de mezclas complejas de contaminantes, como ha sido señalado en estudios previos (91, 92).

La interpretación anterior se ve reforzada al relacionar el comportamiento del IM con la concentración de metales en los puntos evaluados. QSipc2, que presentó concentraciones por encima de los ECA para As (0.11384 mg/L), Cd (0.07487 mg/L) y Pb (0.3542 mg/L), fue también el punto con los mayores índices de mutagenicidad. Del mismo modo, QSipc3, con concentraciones elevadas de As (0.10564 mg/L), Cd (0.02763 mg/L), Pb (0.1351 mg/L) y Cr (0.0135 mg/L), mostró incrementos del IM principalmente en TA100. En contraste, QSipc1 y QSipc4 presentaron respuestas mutagénicas globales menores. Aunque esta relación no fue estrictamente lineal, el patrón observado sugiere una posible asociación entre una mayor carga metálica y un mayor incremento del IM, lo que podría reflejar el efecto combinado de la mezcla de contaminantes presentes en cada punto. En particular, metales como As, Cd y Pb han sido relacionados con procesos que favorecen la aparición de alteraciones genéticas y mutaciones, por lo que el predominio de la respuesta en TA100, con y sin activación metabólica, sugiere que la carga metálica presente en QSipc2 y QSipc3 pudo contribuir al aumento del IM observado, aunque sin alcanzar niveles compatibles con mutagenicidad positiva (93, 94).

El análisis estadístico mostró que la comparación directa del IM con y sin Mix S9 no fue significativa en ninguno de los puntos de muestreo ni en las diluciones evaluadas ($p > 0.05$). Asimismo, al comparar las diluciones (100 %, 75 %, 50 % y 15 %), no se evidenció un patrón dosis-respuesta. En la cepa TA98 no se observaron diferencias significativas entre diluciones ($p = 0.050–0.862$), mientras que en TA100 únicamente QSipc4 sin Mix S9 presentó una significancia global ($p = 0.033$), la cual no fue confirmada en la prueba post hoc. De igual forma, en presencia de Mix S9 los valores continuaron siendo no significativos (QSipc1 $p = 0.055$; QSipc2 $p = 0.181$; QSipc3 $p = 0.468$; QSipc4 $p = 0.376$). En conjunto, estos resultados sugieren que la activación metabólica no modificó de manera relevante la respuesta de las cepas TA98 y TA100, lo que podría indicar que los compuestos presentes en las muestras no actúan principalmente como promutágenos que requieran bioactivación metabólica, considerando que el sistema Mix S9 se incorpora precisamente para simular este proceso (95).

Por otro lado, la ausencia de diferencias significativas entre diluciones podría explicarse, al menos en parte, por un posible efecto citotóxico de los metales pesados sobre *Salmonella* Typhimurium. En muestras con alta carga metálica, las concentraciones más elevadas pueden disminuir la supervivencia bacteriana y, en consecuencia, reducir el número de colonias revertantes. En este sentido, la OECD 471 señala que la citotoxicidad en el test de Ames puede reconocerse por una reducción en el número de revertantes (69). Esta interpretación coincide con lo reportado por Francisco et al (83), quienes al evaluar Al y Mn en las cepas TA98 y TA100 observaron citotoxicidad y ausencia de mutagenicidad, tanto con como sin Mix S9. Aunque en algunos casos se detectaron incrementos significativos respecto al control ($p < 0.05$), los valores de IM permanecieron por debajo de 2; por ejemplo, TA100 con Al presentó valores entre 1.22 y 1.34, mientras que TA98 con Mn mostró valores entre 1.26 y 1.27. De manera similar, Rodrigues et al (96) reportaron en muestras de agua de río un incremento aislado en TA98 sin Mix S9 ($p < 0.01$), aunque con un IM de 1.69, por lo que fue interpretado como negativo; además, en TA100 no encontraron incrementos significativos con y sin activación metabólica. En conjunto, estos antecedentes refuerzan que, en muestras ambientales complejas, la ausencia de significancia estadística, o incluso la presencia de aumentos puntuales del IM, puede estar influenciada por efectos citotóxicos de los metales sobre las bacterias más que por una mutagenicidad claramente expresada.

Bajo las condiciones evaluadas, las muestras de agua de la quebrada Sipchoc no mostraron mutagenicidad positiva en el test de Ames, ya que los valores de IM no superaron el umbral de positividad ($IM \geq 2$). Sin embargo, los incrementos observados en QSipc2 y QSipc3, particularmente en la cepa TA100 con Mix S9, junto con el posible efecto citotóxico de los metales pesados, sugieren la presencia de compuestos capaces de inducir una respuesta mutagénica de baja magnitud. Aunque estos hallazgos no evidencian mutagenicidad positiva, sí indican la necesidad de mantener vigilancia sobre la calidad de estas aguas, debido a la posible contribución de la mezcla de contaminantes a efectos biológicos adversos en exposiciones prolongadas.

7. CONCLUSIONES

- Las aguas superficiales de la quebrada Sipchoc presentaron un pH ácido en todos los puntos de muestreo (3.66 a 4.17), valores bajos de oxígeno disuelto (2.52 a 2.84 mg/L) y una conductividad eléctrica entre 471 y 893 µS/cm, lo que indican una alteración en la calidad de las aguas evaluadas.

- La comparación de metales pesados entre los diferentes puntos de muestreo evidenció que sus concentraciones variaron, siendo QSipc2 el punto con la mayor concentración de metales pesados (As, Cd, Cu, Co, Mn, Zn) seguido de QSipc3, QSipc1 y QSipc4. El Cd superó los ECA en los cuatro puntos, mientras que el As, Pb y Fe presentaron las concentraciones más elevadas en los puntos cercanos a los relaves mineros, lo que sugiere la presencia de contaminación por mezcla de metales pesados en la quebrada Sipchoc.

- Los valores del IM obtenidos para las cepas TA98 y TA100 mostraron que las muestras de agua evaluadas no alcanzaron niveles mutagénicos; sin embargo, en los puntos QSipc2 y QSipc3 con la presencia de activación metabólico para la cepa TA100, se observó valores de ligera mutagenicidad. Lo que sugiere un efecto citotóxico de los metales pesados que habría limitado la expresión de una respuesta mutagénica más evidente.

- La comparación del IM en los puntos con y sin Mix S9 no evidenció diferencias estadísticamente significativas en ninguno de los puntos de muestreo ni en las diluciones analizadas ($p > 0.05$), tanto en TA98 como en TA100, lo que indica que la activación metabólica no modificó de manera relevante la respuesta mutagénica de las muestras analizadas.

8. RECOMENDACIONES

- Incrementar el número de puntos de muestreo a lo largo de la quebrada Sipchoc, con la finalidad de obtener una evaluación más representativa.

- Realizar el test de Ames por quintuplicado para mejorar la precisión, reproducibilidad y confiabilidad de los resultados obtenidos en la evaluación mutagénica.

- Muestrear en diferentes épocas del año, como temporada de lluvia y estiaje, a fin de observar variaciones estacionales en la concentración de metales pesados y en la respuesta biológica.

- Ampliar el análisis fisicoquímico y evaluar la presencia de hidrocarburos y compuestos orgánicos, ya que estos también podrían contribuir al riesgo tóxico y mutagénico de las aguas.

- Complementar el test de Ames con otros bioensayos de citotoxicidad, genotoxicidad y estrés oxidativo, para obtener una evaluación más integral del riesgo ambiental y sanitario de las aguas estudiadas.

9. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Gil MJ, Soto AM, Usma JI, Gutierrez OD. Contaminantes emergentes en aguas, efectos y posibles tratamientos. Rev P+L. 2012; 7 (2): 52-73.

2. Pabón S, Benítez R, Sarria R, Gallo J. Contaminación del agua por metales pesados, métodos de análisis y tecnologías de remoción. Entre Cienc e Ing. 2020; 14 (27): 9–18.

3. Mancilla-Villa OR, Ortega-Escobar HM, Ramírez-Ayala C, Uscanga-Mortera E, Ramos-Bello R, Reyes-Ortigoza AL. Metales pesados totales y arsénico en el agua para riego de Puebla y Veracruz, México. Rev Int Contam Ambient. 2012; 28 (1): 39-48.

4. Borenstein S. Estudio: Contaminación mata a 9 millones de personas al año. Los Angeles Times. 2022 [Internet] Disponible en: https://lat.ms/3DYsXXu

5. Ku L, Cacñahuaray RN, Montoya GC. Boletín sobre la cobertura de agua potable. Región Lambayeque. Serie Informes de Adjuntía N° 006-2021-DP/AMASPPI. 2021.

6. Tucker D, Niezen C. Perú: Nueva evidencia confirma crisis de salud por metales tóxicos en Espinar. Amnistía Internacional. 2021 [Internet] Disponible en: https://bit.ly/3G4y7Td

7. Alvarez A, Novoa JM. Determinación de la mutagenicidad de sustancias migradas desde recipientes plásticos de bajo costo comercializados en Villavicencio (Meta) mediante test Ames. Villavicencio: Universidad Santo Tomás; 2020.

8. Autoridad Nacional del Agua (ANA). Tratamiento del cauce del río para el control de inundaciones en la cuenca Santa. 2011

9. Sedalib S.A. Diagnóstico hídrico rápido de la cuenca del río Santa como fuente de agua y servicios ecosistémicos hídricos para la EPS Sedalib S.A. 2018

10. Arencibia DF, Fernández Rosario A, Gámez Menéndez R. Métodos generales de conservación de microorganismos. ResearchGate [Internet]. 2014; (2008): 1–15. Disponible en: https://bit.ly/3U0Z3qH

11. Autoridad Nacional del Agua (ANA). Resultados del monitoreo de la calidad del agua - Cuenca del río Santa 2019. 2020.

12. Autoridad Nacional del Agua. Monitoreo Participativo de la calidad del agua superficial en la cuenca del río Santa 2015. Ministerio de Agricultura y riego. 2016: 41.

13. Huallpa Vargas HS, Torres Garay A, Mancilla Figueroa KG. Evaluación y monitoreo de los parámetros físico-químicos y microbiológicos en el agua potable de las localidades de Ocana y Pichiurca, Distrito de Luricocha, Huanta. AYPATE. 2025; 4 (1): 50-66.

14. Ohe T, Watanabe T, Wakabayashi K. Mutagens in surface waters: a review. Mutat Res. 2004; 567 (2-3): 109-49.

15. Roubicek DA, Rech CM, Umbuzeiro GA. Mutagenicity as a parameter in surface water monitoring programs-opportunity for water quality improvement. Environ Mol Mutagen. 2020; 61 (1): 200-211.

16. Guan Y, Wang X, Wong M, Sun G, An T, Guo J, Zhang G. Evaluation of Genotoxic and Mutagenic Activity of Organic Extracts from Drinking Water Sources. PLoS One. 2017; 12 (1): e0170454.

17. Gil-Marín JA, Vizcaino C, Montaño-Mata NJ. Evaluación de la calidad del agua superficial utilizando el índice de calidad del agua (ICA). Caso de estudio: Cuenca del Río Guarapiche, Monagas, Venezuela. An Científicos. 2018; 79 (1): 111.

18. Torres P, Hernán C, Patiño P. Índices de calidad de agua en fuentes superficiales utilizadas en la producción de agua para consumo humano. Rev Ing Univ Medellín. 2009; 8 (15): 79–94.

19. Aguas Urbanas. Conceptos sobre monitoreo de calidad de agua. Espacio Interdisciplinario, Udelar. 2018

20. Ministerio del Medio Ambiente. Libro Blanco del Agua en España. Jacaryan; Madrid: 2000.

21. Betancourt Portela JM, Díazgranados JGS, Mejía-Ladino LM, Kintz JRC. Quality of superficial waters in Bahía Málaga Colombian Pacific. Acta Biológica Colomb. 2011; 16 (2): 175–92.

22. Chán SML, Peña W. Evaluación de la calidad del agua superficial con potencial para consumo humano en la cuenca alta del Sis Icán, Guatemala. Junio. 2015; 7 (1): 19–23.

23. Autoridad Nacional del Agua. Clasificación de cuerpos de agua continental: Parte 1. 2018; (511): 59. Disponible en: https://bit.ly/3QSxsZP

24. Decreto Supremo Nº 004-2017-MINAM. Aprueban Estándares de Calidad Ambiental (ECA) para Agua y establecen Disposiciones Complementarias. Ministerio del Ambiente. 2017.

25. Tchounwou PB, Yedjou CG, Patlolla AK, Sutton DJ. Heavy metal toxicity and the environment. Exp Suppl. 2012; 101: 133-64.

26. Ali MM, Hossain D, Al-Imran, Khan MS, Begum M, Osman MH. Environmental Pollution with Heavy Metals: A Public Health Concern. IntechOpen; 2021. doi: 10.5772/intechopen.96805

27. He ZL, Yang XE, Stoffella PJ. Trace elements in agroecosystems and impacts on the environment. J Trace Elem Med Biol. 2005; 19 (2–3): 125–140.

28. Yuan G, Dai S, Yin Z, Lu H, Jia R, Xu J, et al. Toxicological assessment of combined lead and cadmium: Acute and sub-chronic toxicity study in rats. Food Chem Toxicol. 2014; 65: 260–8.

29. Wu X, Cobbina SJ, Mao G, Xu H, Zhang Z, Yang L. A review of toxicity and mechanisms of individual and mixtures of heavy metals in the environment. Environ Sci Pollut Res. 2016; 23 (9): 8244–59.

30. Gautam PK, Gautam RK, Banerjee S, Chattopadhyaya MC, Pandey JD. Heavy metals in the environment: Fate, transport, toxicity and remediation technologies. Heavy Met Sources, Toxic Remediat Tech. 2016; (February): 101–30.

31. Mahalakshmi M. Characteristic levels of heavy metals in canned tuna fish. J Toxicol Environ Heal Sci. 2012; 4 (2): 43-45.

32. Tchounwou PB, Yedjou CG, Patlolla AK, Sutton DJ. Molecular, clinical and environmental toxicicology Volume 3: Environmental Toxicology [Internet]. Vol. 101, Molecular, Clinical and Environmental Toxicology. 2012: 133–164. Disponible en: http://link.springer.com/10.1007/978-3-7643-8340-4

33. Jan AT, Azam M, Siddiqui K, Ali A, Choi I, Haq QMR. Heavy metals and human health: Mechanistic insight into toxicity and counter defense system of antioxidants. Int J Mol Sci. 2015; 16 (12): 29592–630.

34. Mahurpawar M. Effects of Heavy Metals on Human Health. Int J Res - GRANTHAALAYAH. 2015; 3 (9SE): 1–7.

35. Argota-Pérez G, Argota-Coello H, Rodríguez-Amado J, Fernández-Heredia Á. Determinación de Cu, Zn, Pb y Cd por espectrometría de emisión atómica con plasma inductivamente acoplado en órganos de la especie *Gambusia punctata* (Poeciliidae). Rev Cuba Química. 2013; 25 (1): 92-99.

36. Cervantes A. Desarrollo de una metodología automática para la determinación de Cadmio por IPC-MS en muestras orgánicas. Centro de Investigación en Materiales Avanzados S.C.: Chihuahua; 2017.

37. Martincorena I, Campbell PJ. Somatic mutation in cancer and normal cells. Science. 2015; 349 (6255): 1483–9.

38. Chem Safety Pro. Mutagenicity and Genotoxicity. Toxicology and Health Risk Assessment. 2016. Disponible en: https://bit.ly/3sBkuq7

39. Sant Joan de Déu. Tipos de mutaciones. Guía Metabólica: Divulgación Médica. 2013. Disponible en: https://bit.ly/46k7inB

40. Trossero C, Caffarena G, Hure E, Rizzotto M. Detección de mutagenicidad en compuestos N-nitroso con el Test de Ames. Acta Farm Bonaer. 2006; 25 (1): 139–44.

41. Tejs S. The Ames test: a methodological short review. Environ Biotechnol. 2008; 4 (1): 7–14.

42. Gabay M. Estudio de la relación mutagénesis-estructura de derivados de N-óxido de heterociclos aromáticos como potenciales fármacos. Universidad de la República: Montevideo; 2013.

43. Cabrera GL, Rodriguez DM. Genotoxicity of soil from farmland irrigated with wastewater using three plant bioassays. Mutat. Res Fund Mol Mech Mut. 1999; 426 (2): 211–214.

44. Khan S, Anas M, Malik A. Mutagenicity and genotoxicity evaluation of textile industry wastewater using bacterial and plant bioassays. Toxicol Rep. 2019; 6: 193-201.

45. Vivas AH, Arboleda MA, Sánchez R, Benítez-Campo N, Bravo E, Soto A, et al. Mutagenicity evaluation caused by heavy metals found in Cauca river water in the city of Cali, Colombia. Rev Colomb Quim. 2014; 43 (2): 18–24.

46. Gameiro PH, Assis KH, Rozino LO, Pescke IK, Cardozo TR, Pavan FA, Ferrão Vargas VM. Mutagenic drinking water and different levels of emerging micropollutants in Southern Brazil: A new challenge. Environ Pollut. 2025; 365: 125401.

47. Safana AI, Badamasi M, Imam TS. Evaluation of the genotoxic and mutagenic potential of River Challawa impacted by industrial effluents using Ames and comet assays. IJRSI. 2025; 12 (2): 938–947.

48. Rybak J, Struk-Sokołowska J, Kotowska U, Szalińska E, Orlińska-Woźniak P, Wilk P, et al. Can micropollutants act as mutagens? A case study of surface runoff, riverine water and sediments in Poland, central Europe. Water Resour Ind. 2025; 33: 100293.

49. Khatoon K, Malik A. Cyto-genotoxic potential of petroleum refinery wastewater mixed with domestic sewage used for irrigation of food crops in the vicinity of an oil refinery. Heliyon. 2021; 7 (10): 1–14.

50. Quispe Yana RF, Belizario Quispe G, Chui Betancur HN, Huaquisto Cáceres S, Calatayud Mendoza AP, Yábar Miranda PS. Concentración de Metales Pesados: Cromo, Cadmio y Plomo en los Sedimentos Superficiales en el Río Coata, Perú. Rev Boliv Química. 2019; 2 (36).

51. Martín A, Arias J, López J, Santos L, Venegas C, Duarte M, et al. Evaluation of the effect of gold mining on the water quality in Monterrey, Bolívar (Colombia). Water (Switzerland). 2020; 12 (9): 1–17.

52. Rajput S, Kaur T, Arora S, Kaur R. Heavy metal concentration and mutagenic assessment of pond water samples: A case study from India. Polish J Environ Stud. 2020; 29 (1): 789–98.

53. Reátegui-Zirena EG, Stewart PM, Whatley A, Chu-Koo F, Sotero-Solis VE, Merino-Zegarra C, et al. Polycyclic aromatic hydrocarbon concentrations, mutagenicity, and Microtox® acute toxicity testing of Peruvian crude oil and oil-contaminated water and sediment. Environ Monit Assess. 2014; 186 (4): 2171–84.

54. Iqbal M, Abbas M, Nisar J, Nazir A, Qamar A. Bioassays based on higher plants as excellent dosimeters for ecotoxicity monitoring: A review. Chem Int. 2019; 5 (1): 1–80.

55. Xue P, Zhao Y, Zhao D, Chi M, Yin Y, Xuan Y et al. Mutagenicity, health risk, and disease burden of exposure to organic micropollutants in water from a drinking water treatment plant in the Yangtze River Delta, China. Ecotoxicol Environ Saf. 2021; 221: 112421.

56. Kim H, Nam KS, Oh S, Son S, Jeon D, Chan Gye M, et al. Toxicological assessment of phthalates and their alternatives using human keratinocytes. Environ Res. 2019; 175 (May): 316–22.

57. Alvarez A, Novoa JM. Determinación de la mutagenicidad de sustancias migradas desde recipientes plásticos de bajo costo comercializados en Villavicencio (Meta) mediante test Ames. Villavicencio: Universidad Santo Tomás; 2020.

58. Do B, Kwon H. Genotoxicity test of eight natural color additives in the Korean market. Genes Environ [Internet]. 2022; 44 (1): 1–15. Disponible en: https://doi.org/10.1186/s41021-022-00247-0

59. Huaman FDP, Toscano EM, Acosta O, Rojas DE, Inocente MA, Garrido DP, et al. Genotoxicity study of an experimental beverage made with quinua, kiwicha and kañiwa. Rev Peru Biol. 2014; 21 (3): 251–8.

60. Solís-Castro Y, Zúñiga-Zúñiga LA, Mora-Alvarado D. La conductividad como parámetro predictivo de la dureza del agua en pozos y nacientes de Costa Rica. Rev Tecnol en Marcha. 2018; 31 (1): 35.

61. Johnson P, Besselsen D. Practical Aspects of Experimental Design in Animal Research Experimental Design : Initial Steps. Inst Lab Anim Res [Internet]. 2018; 43 (4): 203–4.

62. Babula P, Adam V, Opatrilova R, Zehnalek J, Havel L et al. Uncommon Heavy Metals, Metalloids and Their Plant Toxicity: A Review. Environmental Chemistry Letters. 2009; (6): 275–317.

63. Ignacio J, Bodes R, López P. La actividad física y el zinc: una revisión. Arch Med del Deport. 2011; 28 (141): 36–44.

64. Mansilla G. Potencial de hidrogeniones - pH. Rev Actual Clínica. 2013; 40: 2076–82.

65. Astete J, Lucero M, Sabastizagal I, Oblitas T, Pari J. Intoxicación por plomo y otros problemas de salud en niños de poblaciones aledañas a relaves mineros. Rev Peru Med Exp Salud Publica. 2009; 26 (1): 15–9.

66. Perugachi R. Evaluación y propuesta de la demanda química de oxígeno (DQO) y sólidos disueltos totales (TDS) en las aguas residuales del baño de tintura en la empresa “Textiles Tornasol”. Universidad Técnica del Norte: Ibarra; 2015.

67. Chimenos-Küstner E, Schemel-Suárez M, Robledo-Ramos C. Xenobióticos: implicación en enfermedad oral y sistémica. Piel. 2018; 33 (8): 507–12.

68. ANA. Protocolo nacional para el monitoreo de la calidad de los recursos hídricos superficiales [Internet]. Ministerio de Agricultura y Riego. 2016. p. 92. Disponible en: http://repositorio.ana.gob.pe/handle/20.500.12543/209

69. Organisation for Economic Co-operation and Development. Test No. 471: Bacterial reverse mutation test. In: OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Section 4. Paris: OECD Publishing; 2020.

70. Vijay U, Gupta S, Mathur P, Suravajhala P, Bhatnagar P. Microbial Mutagenicity Assay: Ames Test. Bio Protoc. 2018; 8 (6): e2763.

71. Galagarza OA, Abdollahi A, Soleimanian-Zad S, et al. Occurrence of chemical contaminants in Peruvian produce: a food-safety perspective. Foods. 2021; 10 (7): 1461.

72. Aftab K, Khan A, Hameed A, et al. Wastewater-irrigated vegetables are a significant source of heavy metal contaminants: toxicity and health risks. Toxics. 2023; 11 (2): 134.

73. García SL, Arguello A, Parra R, Pincay Pilay M. Factores que influyen en el pH del agua mediante la aplicación de modelos de regresión lineal. INNOVA Res J. 2019; 4 (2): 59–71.

74. Instituto de Ingenieros de Minas del Perú.Minera Lincuna paraliza operaciones por derrame de relaves en Recuay. PERUMIN. 2021. Disponible en: https://bit.ly/3R1ZOks

75. Gómez A, Villalba A, Acosta G, Castañeda M, Kamp D. Metales pesados en el agua superficial del río San Pedro durante 1997 y 1999. Rev Int Contam Ambient. 2004; 20 (1): 1–8.

76. Larrea J, Alvarez B, Lugo D, Rojas MM. Aspectos fundamentales del monitoreo de calidad de las aguas: el río almendares como caso de estudio. Rev CENIC Cienc Biol. 2022; 53 (2): 148–264.

77. Fernández A, Volpedo A V. Indicadores físico-químicos: ¿Qué, cómo y cuánto reflejan la calidad del agua? In: La bioindicación en el monitoreo y evaluación de los sistemas fluviales de la Argentina. 2020: 10–21.

78. Mancilla-Villa OR, Ortega-Escobar HM, Ramírez-Ayala C, Uscanga-Mortera E, Ramos-Bello R, Reyes-Ortigoza AL. Metales pesados totales y arsénico en el agua para riego de Puebla y Veracruz, México. Rev. Int. Contam. Ambie. 2012; 28 (1): 39-48.

79. Boyd CE. Conductividad eléctrica del agua, Parte 1. Global Seafood Alliance. 2017. Disponible en: https://www.globalseafood.org/advocate/conductividad-electrica-del-agua-parte-1/

80. Calao-Ramos D, López-González L, Ramos-González R, Gómez-Ferrer A, Valencia V. Genotoxicidad del arsénico en agua de consumo en zona minera de Colombia: estudio de daño en el ADN. J Toxicol Environ Health A. 2019; 82 (13): 754-63.

81. Ngoc HT, Linh HN, Mai DL, Tuong ND, Duy BH. Concentraciones de metales pesados en aguas superficiales de la cuenca del río Ro. Environ Sci Pollut Res Int. 2020; 27 (5): 5393-401.

82. da Silva BC, da Silva SM, Costa DS, Lemos ML, Macêdo JG, Souza JF. Efectos del cadmio en la mitosis y la génesis de micronúcleos y aberraciones cromosómicas en Allium cepa. Ecotoxicol Environ Saf. 2016; 124: 282-9.

83. Francisco LFV, Baldivia DDS, Crispim BDA, Klafke SMFF, Castilho PF, Viana LF et al. Acute Toxic and Genotoxic Effects of Aluminum and Manganese Using In Vitro Models. Toxics. 2021; 9 (7): 153.

84. Alli CE, Cantera CG, Viillalba LB, Dos Santos M, Scasso RA, Alcira M. Determinación De Metales Pesados Y Arsénico En Muestras De Agua Del Río Reconquista Mediante Espectroscopía De Absorción Atómica Por Horno De Grafito. Rev Senasa. 2016; 10: 50–8.

85. Mokarram M, Saber A, Sheykhi V. Effects of heavy metal contamination on river water quality due to release of industrial effluents. J Clean Prod [Internet]. 2020; 277: 123380.

86. Llanos M, Muñiz AA, Muñiz MH, Vílchez GL, Cotrina GG. Contaminación por metales pesados de microcuenca del río Alto Huallaga y suelos agrícolas. Revista Alfa. 2024;8 (22): 41-8.

87. Yildiz N, Ekmekci M, Atakol O, Gümüşlü S. Toxicity of copper and cobalt on *Allium cepa* root tip cells: induction of chromosomal aberrations and DNA damage. Environ Toxicol. 2008; 23 (3): 370-6.

88. Custodio MA, Díaz-Barriga F, Pérez L, Gómez AR, Soto J, Silva N, et al. Contaminación de metales pesados en el río Mantaro, Perú: implicaciones para la salud humana. Rev Environ Sci Biotechnol. 2008; 7 (4): 359-68.

89. Wu X, Cobbina SJ, Mao G, Xu H, Zhang Z, Yang L. A review of toxicity and mechanisms of individual and mixtures of heavy metals in the environment. Environ Sci Pollut Res Int. 2016; 23 (9): 8244-59.

90. Zhu Y, Costa M. Metals and molecular carcinogenesis. Carcinogenesis. 2020; 41 (9): 1161–1172.

91. Trejo-Martin A, Bercu JP, Thresher A, Tennant RE, Thomas RF, Cross K, Czich A, Waese K, Nicolette JJ, Murray J, Sonders P, Kondratiuk A, Cheung JR et al. Use of the bacterial reverse mutation assay to predict carcinogenicity of N-nitrosamines. Regul Toxicol Pharmacol. 2022; 135: 105247.

92. U.S. Food and Drug Administration. Redbook 2000: IV.C.1.a. Bacterial Reverse Mutation Test [Internet]. Silver Spring (MD): U.S. Food and Drug Administration; 2000. Disponible en: https://www.fda.gov/regulatory-information/search-fda-guidance-documents/redbook-2000-ivc1a-bacterial-reverse-mutation-test

93. Hemmaphan S, Bordeerat NK. Genotoxic effects of lead and their impact on the expression of DNA repair genes. Int J Environ Res Public Health. 2022; 19 (7): 4307.

94. Alabi OA. Comparative chemical analysis, mutagenicity, and genotoxicity of petroleum refinery wastewater and its contaminated river using prokaryotic and eukaryotic assays. Protoplasma. 2023; 260: 89-101.

95. Ho KT, Konovets IM, Terletskaya AV, Milyukin MV, Lyashenko AV, Shitikova LI et al. Contaminants, mutagenicity and toxicity in the surface waters of Kyiv, Ukraine. Mar Pollut Bull. 2020; 155: 111153.

96. Rodrigues VB, Menezes JM, Da Silva LC, Müller I, Mallmann L, Hermann BS et al. Caenorhabditis elegans as a suitable model to evaluate the toxicity of water from Rolante River, southern Brazil. Toxicol Res (Camb). 2023; 13 (1): tfad117.

10. ANEXOS

ANEXO 1. Trabajo de campo en la quebrada Sipchoc (cuenca del río Santa, Ancash)



Figura 24. (A-C) Muestreo de los puntos en quebrada Sipchoc. (D) Parámetros obtenidos por multitester. (E) Punto de muestreo QSipc1.

ANEXO 2. Cuantificación de oligoelementos en aguas y residuos mediante espectrometría de masas con plasma acoplado inductivamente por Laboratorios SGS.

SGS **REPORTE DE RESULTADOS**
ANÁLISIS AMBIENTAL

DATOS GENERALES

ORDEN:	MA2335054
CLIENTE:	UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS
PROCEDENCIA:	SAN MARCOS
CANTIDAD DE MUESTRAS:	6
FECHA DE RECEPCIÓN SGS:	09/10/2023 20:08
COMENTARIOS:	
FECHA DE EMISIÓN:	18/10/2023 16:10

DATOS DE LA MUESTRA

		FECHA DE MUESTREO:			07/09/2023		07/09/2023		07/09/2023		07/09/2023		
		HORA DE MUESTREO:			10:03		11:14		15:47		16:43		
		CATEGORÍA:			AGUA NATURAL		AGUA NATURAL		AGUA NATURAL		AGUA NATURAL		
		SUB CATEGORÍA:			AGUA SUPERFICIAL		AGUA SUPERFICIAL		AGUA SUPERFICIAL		AGUA SUPERFICIAL		
		IDENTIFICACION DE MUESTRA:			Qsipc1		Qsipc2		Qsipc3		Qsipc4		
PARÁMETRO	**REFERENCIA**	**UNIDAD**	**LD**	**LC**	**RESULTADO**	**INCERTIDUMBRE**	**RESULTADO**	**INCERTIDUMBRE**	**RESULTADO**	**INCERTIDUMBRE**	**RESULTADO**	**INCERTIDUMBRE**
Metales Totales												
Plata Total	EW_EPA200_8	mg/L	0.000003	0.000010	<0.000010		0.000633	± 0.000095	0.000434	± 0.000065	<0.000010	
Aluminio Total	EW_EPA200_8	mg/L	0.001	0.003	14.366	± 1.293	10.780	± 0.970	38.784	± 3.491	13.573	± 1.222
Arsénico Total	EW_EPA200_8	mg/L	0.00003	0.00010	0.07319	± 0.00805	0.11384	± 0.01252	0.10564	± 0.01162	0.04055	± 0.00446
Boro Total	EW_EPA200_8	mg/L	0.002	0.006	0.008	± 0.001	0.007	± 0.001	0.063	± 0.008	0.279	± 0.033
Bario Total	EW_EPA200_8	mg/L	0.0001	0.0003	0.0212	± 0.0019	0.0233	± 0.0021	0.5382	± 0.0484	0.1644	± 0.0148
Berilio Total	EW_EPA200_8	mg/L	0.00002	0.00006	0.00065	± 0.00014	0.00129	± 0.00027	0.00164	± 0.00034	0.00155	± 0.00033
Bismuto Total	EW_EPA200_8	mg/L	0.00001	0.00003	<0.00003		0.00035	± 0.00007	0.01969	± 0.00413	0.00155	± 0.00033
Calcio Total	EW_EPA200_8	mg/L	0.003	0.009	25.245	± 2.525	92.517	± 9.252	78.415	± 7.842	84.190	± 8.419
Cadmio Total	EW_EPA200_8	mg/L	0.00001	0.00003	0.04226	± 0.00972	0.07487	± 0.01722	0.02763	± 0.00635	0.02614	± 0.00601
Cerio Total	EW_EPA200_8	mg/L	0.00008	0.00024	0.01081	± 0.00088	0.01775	± 0.00144	0.04130	± 0.00335	0.02141	± 0.00174
Cobalto Total	EW_EPA200_8	mg/L	0.00001	0.00003	0.03341	± 0.00301	0.06091	± 0.00548	0.05986	± 0.00539	0.06710	± 0.00604
Cromo Total	EW_EPA200_8	mg/L	0.0001	0.0003	<0.0003		0.0008	± 0.0002	0.0135	± 0.0034	0.0026	± 0.0007
Cesio Total	EW_EPA200_8	mg/L	0.0001	0.0003	0.0040	± 0.0007	0.0096	± 0.0016	0.0223	± 0.0038	0.0142	± 0.0024
Cobre Total	EW_EPA200_8	mg/L	0.00003	0.00009	0.15358	± 0.03840	0.31068	± 0.07767	0.11696	± 0.02924	0.09811	± 0.02453
Hierro Total	EW_EPA200_8	mg/L	0.0004	0.0013	4.9573	± 0.3966	9.0923	± 0.7274	50.3518	± 4.0281	7.9894	± 0.6392
Galio Total	EW_EPA200_8	mg/L	0.00004	0.00012	<0.00012		0.00024	± 0.00002	0.01178	± 0.00095	0.00206	± 0.00017
Germanio Total	EW_EPA200_8	mg/L	0.0002	0.0006	<0.0006		<0.0006		<0.0006		<0.0006	
Hafnio Total	EW_EPA200_8	mg/L	0.00005	0.00015	<0.00015		<0.00015		0.00085	± 0.00007	0.00026	± 0.00002
Mercurio Total	EW_EPA200_8	mg/L	0.00003	0.00009	<0.00009		<0.00009		<0.00009		<0.00009	
Potasio Total	EW_EPA200_8	mg/L	0.04	0.13	3.07	± 0.25	4.23	± 0.34	10.54	± 0.84	6.04	± 0.48
Lantano Total	EW_EPA200_8	mg/L	0.0005	0.0015	0.0044	± 0.0012	0.0066	± 0.0018	0.0190	± 0.0051	0.0088	± 0.0024
Litio Total	EW_EPA200_8	mg/L	0.0001	0.0003	0.0101	± 0.0009	0.0148	± 0.0013	0.0465	± 0.0042	0.0951	± 0.0086
Lutecio Total	EW_EPA200_8	mg/L	0.00002	0.00006	<0.00006		0.00007	± 0.00002	0.00011	± 0.00003	0.00007	± 0.00002
Magnesio Total	EW_EPA200_8	mg/L	0.001	0.003	4.904	± 0.588	11.388	± 1.367	25.424	± 3.051	22.729	± 2.727
Manganeso Total	EW_EPA200_8	mg/L	0.00003	0.00010	5.05324	± 0.35373	18.67392	± 1.30717	7.12910	± 0.49904	7.03408	± 0.49239
Molibdeno Total	EW_EPA200_8	mg/L	0.00002	0.00006	0.00013	± 0.00003	0.00073	± 0.00017	0.00588	± 0.00135	0.00076	± 0.00017
Sodio Total	EW_EPA200_8	mg/L	0.006	0.019	6.231	± 0.685	13.440	± 1.478	22.440	± 2.468	23.949	± 2.634
Niobio Total	EW_EPA200_8	mg/L	0.0005	0.0015	<0.0015		<0.0015		<0.0015		<0.0015	
Niquel Total	EW_EPA200_8	mg/L	0.0002	0.0006	0.0067	± 0.0015	0.0212	± 0.0049	0.0211	± 0.0049	0.0227	± 0.0052
Fósforo Total	EW_EPA200_8	mg/L	0.015	0.047	<0.047		<0.047		0.813	± 0.228	0.106	± 0.030
Plomo Total	EW_EPA200_8	mg/L	0.0002	0.0006	0.0961	± 0.0086	0.3542	± 0.0319	0.1351	± 0.0122	0.0495	± 0.0045
Rubidio Total	EW_EPA200_8	mg/L	0.0003	0.0009	0.0128	± 0.0013	0.0216	± 0.0022	0.0474	± 0.0047	0.0221	± 0.0022
Antimonio Total	EW_EPA200_8	mg/L	0.00004	0.00013	0.00119	± 0.00033	0.00535	± 0.00150	0.01087	± 0.00304	0.00270	± 0.00076
Selenio Total	EW_EPA200_8	mg/L	0.0004	0.0013	<0.0013		<0.0013		0.0026	± 0.0006	<0.0013	
Silicio Total	EW_EPA200_8	mg/L	0.040	0.128	11.447	± 1.374	12.707	± 1.525	77.068	± 9.248	33.207	± 3.985
Silice Total	EW_EPA200_8	mg/L	0.09	0.27	24.49	± 2.94	27.19	± 3.26	164.88	± 19.79	71.04	± 8.52
Estaño Total	EW_EPA200_8	mg/L	0.00003	0.00010	0.00012	± 0.00002	0.00023	± 0.00004	0.00103	± 0.00020	0.00030	± 0.00006
Estroncio Total	EW_EPA200_8	mg/L	0.0002	0.0006	0.1298	± 0.0117	0.3164	± 0.0285	0.6333	± 0.0570	0.5536	± 0.0498
Tantalio Total	EW_EPA200_8	mg/L	0.0007	0.0021	<0.0021		<0.0021		<0.0021		<0.0021	
Teluro Total	EW_EPA200_8	mg/L	0.001	0.003	<0.003		<0.003		<0.003		<0.003	
Thorio Total	EW_EPA200_8	mg/L	0.00006	0.00019	<0.00019		<0.00019		<0.00019		<0.00019	
Titanio Total	EW_EPA200_8	mg/L	0.0002	0.0006	0.0019	± 0.0002	0.0065	± 0.0008	0.4126	± 0.0536	0.1048	± 0.0136
Talio Total	EW_EPA200_8	mg/L	0.00002	0.00006	0.00024	± 0.00006	0.00025	± 0.00006	0.00160	± 0.00037	0.00034	± 0.00008
Uranio Total	EW_EPA200_8	mg/L	0.000003	0.000010	0.000255	± 0.000054	0.000399	± 0.000084	0.001344	± 0.000282	0.000701	± 0.000147
Vanadio Total	EW_EPA200_8	mg/L	0.0001	0.0003	<0.0003		<0.0003		0.0473	± 0.0071	<0.0003	
Wolframio Total	EW_EPA200_8	mg/L	0.0002	0.0006	0.0007	± 0.0001	<0.0006		<0.0006		<0.0006	
Yterbio Total	EW_EPA200_8	mg/L	0.00002	0.00006	0.00033	± 0.00007	0.00064	± 0.00013	0.00094	± 0.00020	0.00067	± 0.00014
Zinc Total	EW_EPA200_8	mg/L	0.0008	0.0026	4.6806	± 0.4681	12.8310	± 1.2831	5.0052	± 0.5005	4.5309	± 0.4531
Zirconio Total	EW_EPA200_8	mg/L	0.00015	0.00045	0.00053	± 0.00012	<0.00045		0.01368	± 0.00315	0.00365	± 0.00084

ANEXO 3. Constancia de acreditación de resultados realizados por Laboratorios SGS.

LABORATORIO DE ENSAYO ACREDITADO POR EL ORGANISMO DE ACREDITACIÓN INACAL - DA CON REGISTRO N° LE - 002

INFORME DE ENSAYO
MA2335054 Rev. 0

UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS

CAL.GERMAN AMEZAGA NRO. 375 OTROS - LIMA - LIMA - LIMA

ENV / LB-353046-003

PROCEDENCIA : SAN MARCOS

Fecha de Recepción SGS : 09-10-2023

Fecha de Ejecución : Del 09-10-2023 al 18-10-2023

Muestreo Realizado Por : CLIENTE

Estación de Muestreo
Qsipc1
Qsipc2
Qsipc3
Qsipc4
Qsipc5
Qsipc6

Emitido por SGS del Perú S.A.C.

Impreso el 18/10/2023

Frank M. Julcamoro Quispe
C.Q.P. 1033
Supervisor de Laboratorio

"Este informe de ensayo, al estar en el marco de la acreditación del INACAL-DA, se encuentra dentro del ámbito de reconocimiento multilateral/mutuo de los miembros firmantes de IAAC e ILAC"

ANEXO 4. Concentraciones de metales totales en los puntos de muestreo

Tabla 26. Concentraciones obtenidas de metales totales (mg/L) en los puntos de muestreo de la Quebrada Sipchoc.

Metal	Unidades de medida	Punto de muestreo			
		QSipc1	QSipc2	QSipc3	QSipc4
Aluminio Total	**mg/L**	14.366*	10.780*	38.784*	13.573*
Bario Total	**mg/L**	0.0212	0.0233	0.5382	0.1644
Boro Total	**mg/L**	0.008	0.007	0.063	0.279
Litio Total	**mg/L**	0.0101	0.0148	0.0465	0.0951
Magnesio Total	**mg/L**	4.904	11.388	25.424	22.729
Selenio Total	**mg/L**	<0.0013	<0.0013	0.0026	<0.0013

*Valores por encima de los ECA del MINAM (x).

**Valores que el parámetro no aplica para esta Subcategoría.

ANEXO 5. Pruebas de identificación para las cepas TA98 y TA100.

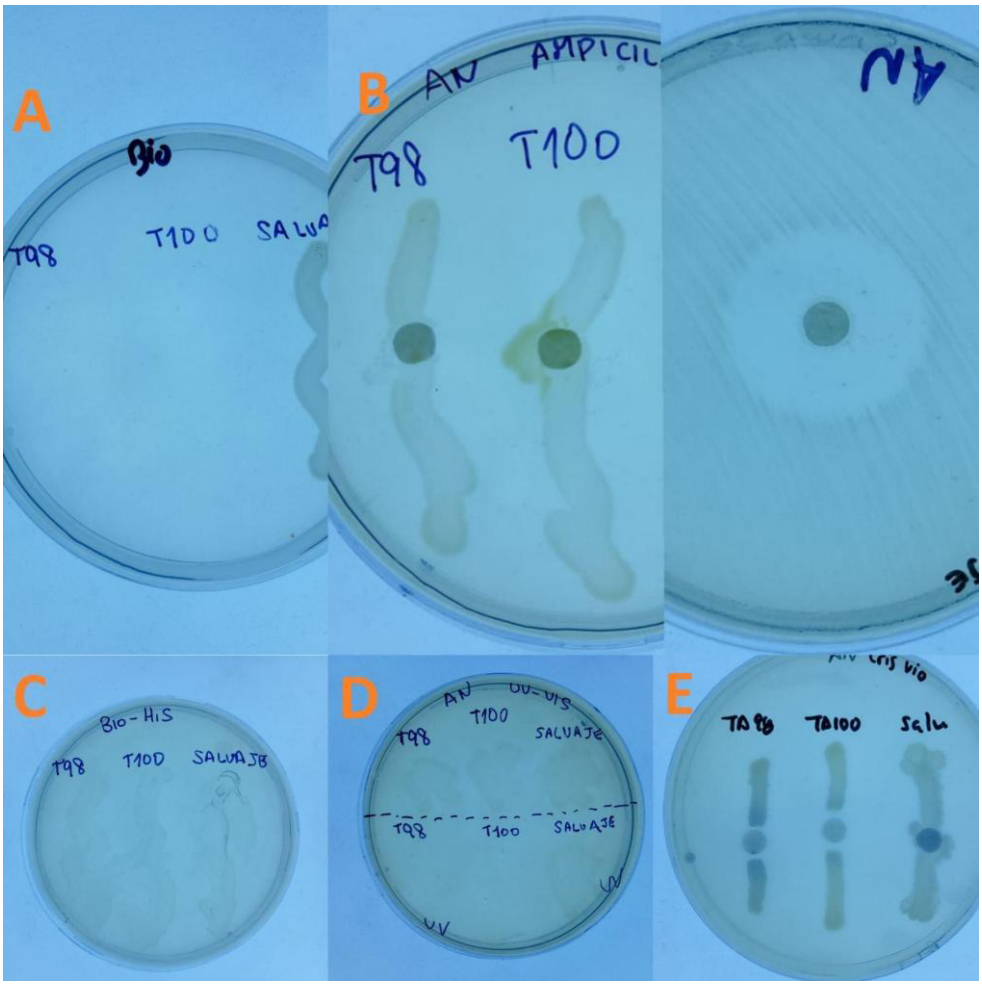

Figura 25. Pruebas de identificación para las cepas TA98 y TA100 (A) Dependencia a Biotina: TA98/TA100 (—), Salvaje (+). (B) Sensibilidad a Ampicilina: TA98/TA100 (—), Salvaje (+). (C) Dependencia a Histidina-Biotina: TA98/TA100/Salvaje (+). (D) Sensibilidad a UV-Vis: TA98/TA100 (—), Salvaje (+). (E) Sensibilidad a Cristal Violeta: TA98/TA100 (—), Salvaje (+).

ANEXO 6. Pruebas de controles positivos y negativos para el test de Ames.

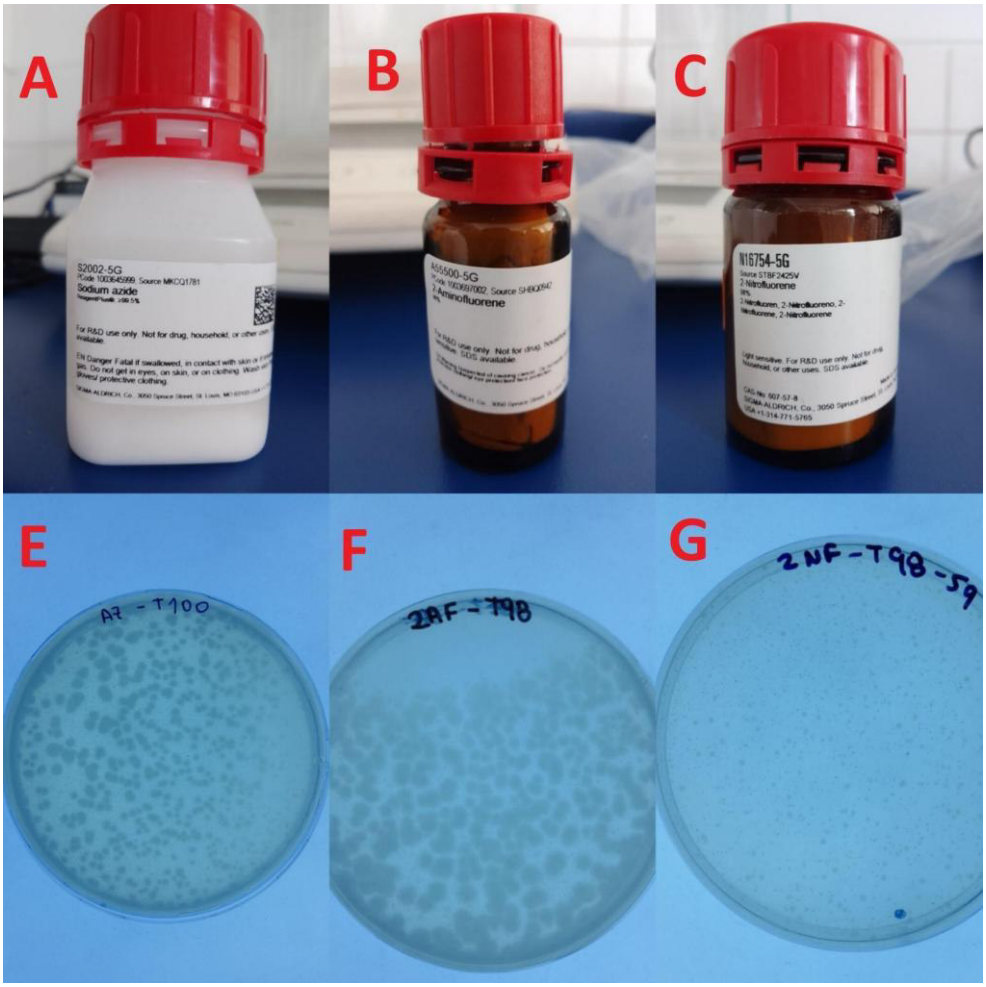

Figura 26. Controles positivos para la prueba del test de Ames (A) Reactivo de Azida de sodio. (B) Reactivo de 2-aminofluoreno. (C) Reactivo de 2-nitrofluoreno. (E-G) Colonias revertantes obtenidas para cada control positivo.

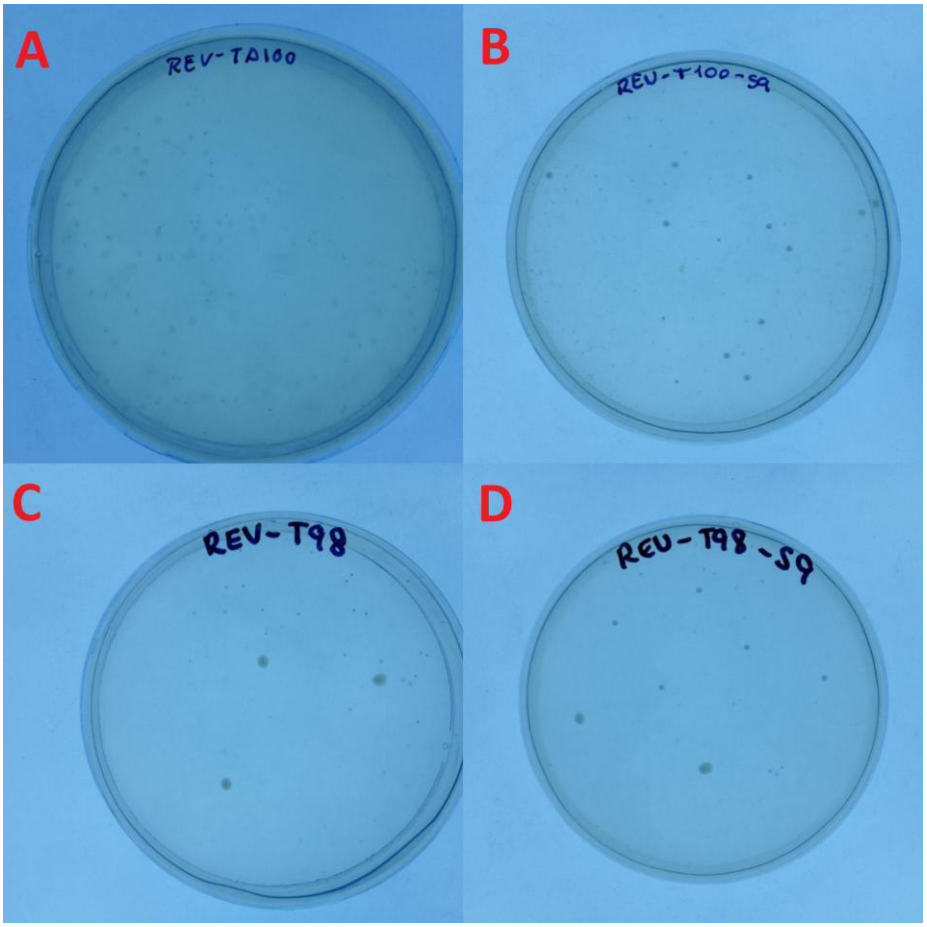

Figura 27. Revertantes espontáneos (Control Negativo). (A, B) Revertantes espontáneos para la cepa TA100. (C, D) Revertantes espontáneos para la cepa TA98.

ANEXO 7. Reactivos, equipos y materiales utilizados para el test de Ames.

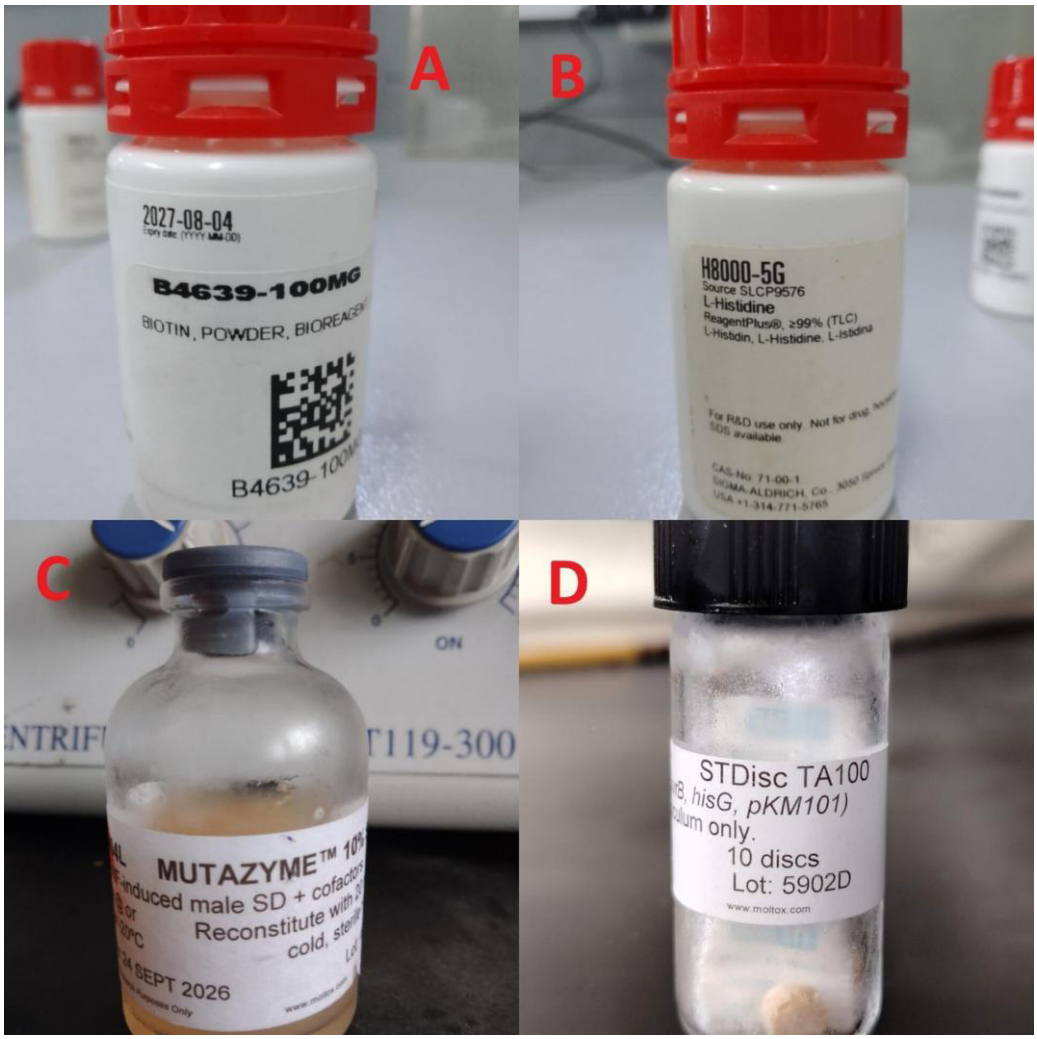

Figura 28. Reactivos utilizados para el test de Ames. (A, B) Biotina y Histidina, aminoácidos claves para el Agar Superior y crecimiento de las colonias revertantes. (C) Mix S9 Mutazyme ™ Liofilizado para reconstituir. (D) Discos liofilizados de cepas TA100/TA98.



Figura 29. Equipos e instrumentos utilizados para la prueba del test de Ames. (A) Densitómetro. (B) Pipetas volumétricas. (C) Vortex Mixer. (D) Cámara UV-Vis. (E) Incubadora. (F) Shaker (agitador orbital).

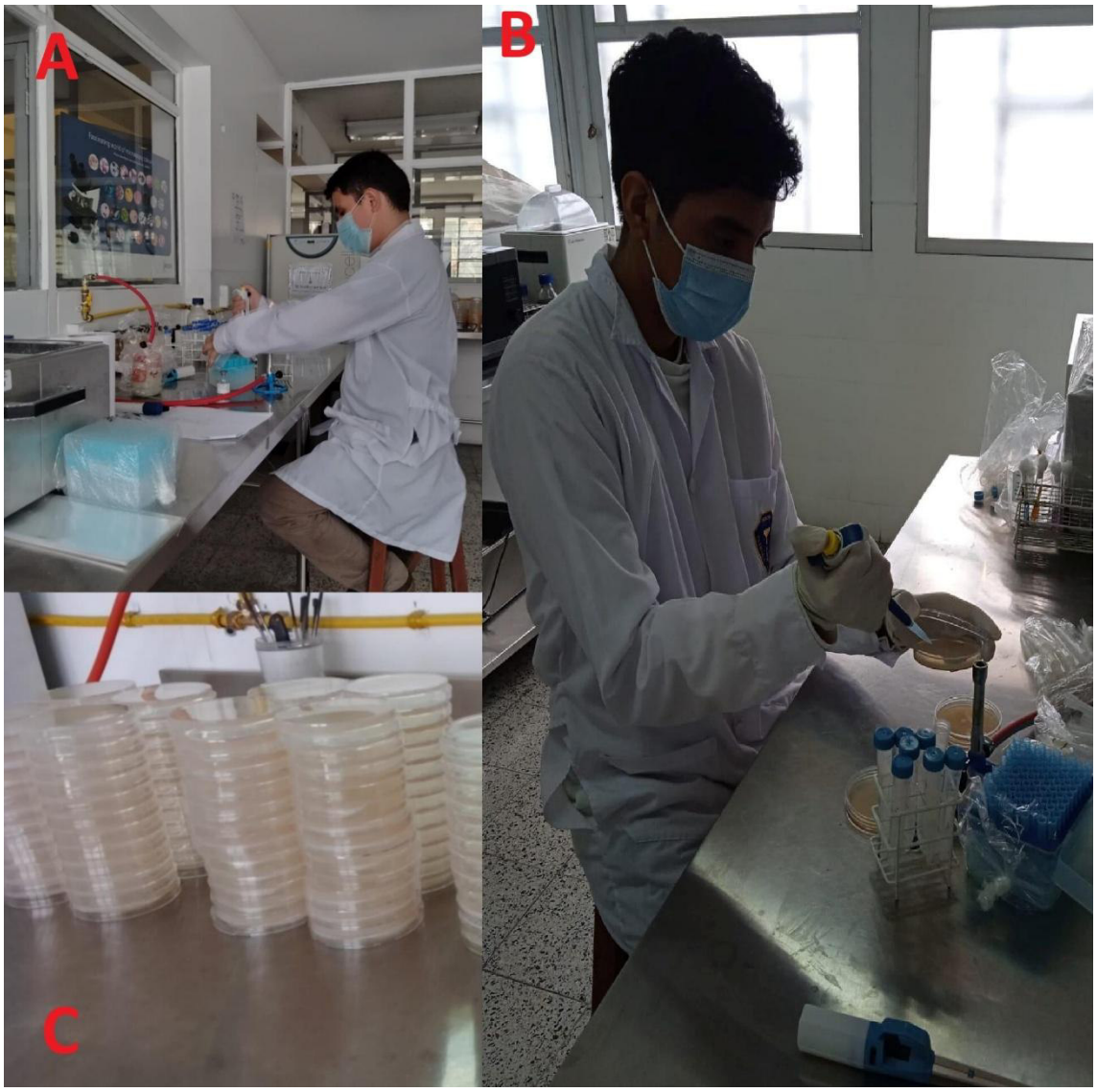

Figura 30. (A, B) Tesistas realizando el test de Ames. (C) Placas de agar mínimo listas para ser utilizadas.

ANEXO 8. Prueba de test de Ames

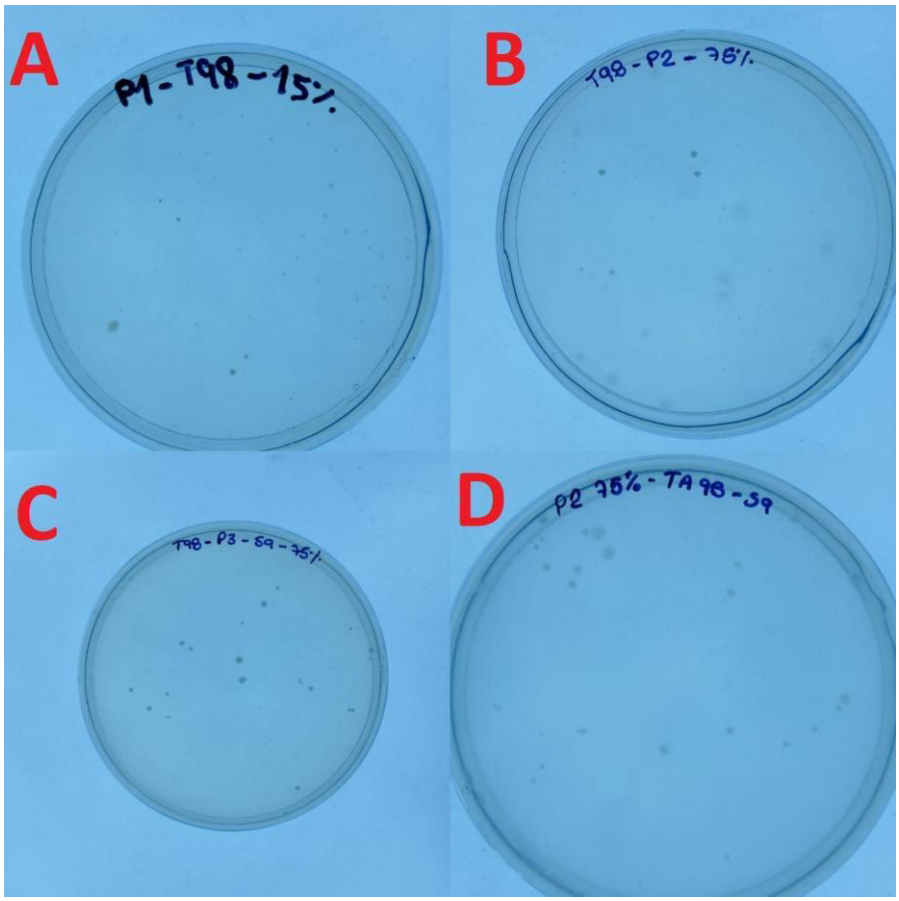

Figura 31. Colonias revertantes de TA98 expuestas a las aguas de la quebrada Sipchoc. (A) Placa correspondiente a QSipc1 al 15% sin Mix S9. (B) Placa correspondiente a QSipc2 al 75% sin Mix S9. (C) Placa correspondiente a QSipc3 al 75% con Mix S9. (D) Placa correspondiente a QSipc2 al 75% con Mix S9.

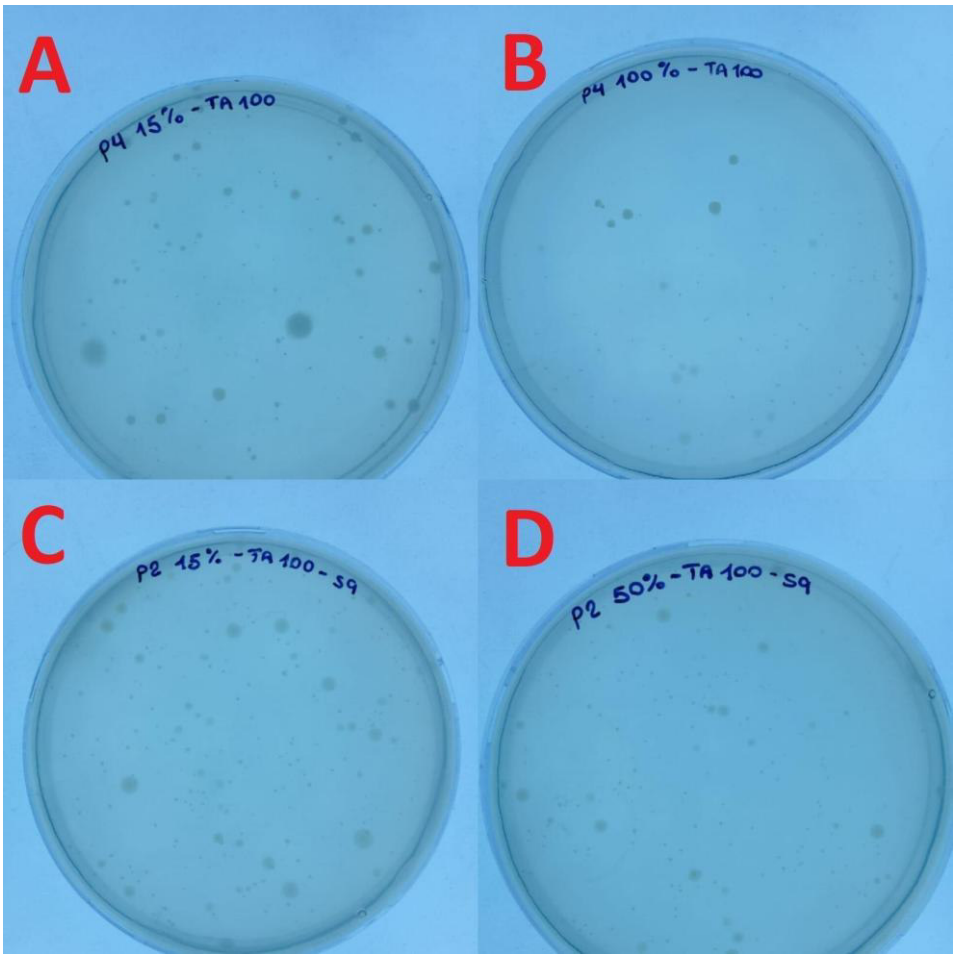

Figura 32. Colonias revertantes de TA100 expuestas a las aguas de la quebrada Sipchoc. (A) Placa correspondiente a QSipc4 al 15% sin Mix S9. (B) Placa correspondiente a QSipc4 al 100% sin Mix S9. (C) Placa correspondiente a QSipc2 al 15% con Mix S9. (D) Placa correspondiente a QSipc2 al 50% con Mix S9.

ANEXO 9. Análisis estadístico

Estadísticos de prueba

Análisis comparativo del índice de mutagenicidad en *Salmonella* Typhimurium TA98 frente a la muestra QSipc1en distintas concentraciones (100 %, 75 %, 50 % y 15 %), en ausencia y presencia de mezcla S9.

QSipc1 TA98 100%

Estadísticos de prueba

	Indice mutagénico
U de Mann-Whitney	,000
W de Wilcoxon	6,000
Z	-1,964
Sig. asintótica(bilateral)	,050
Significación exacta [2*(sig. unilateral)]	,100[b]

a. Variable de agrupación: Mixs9
b. No corregido para empates.

QSipc1 TA98 75%

Estadísticos de prueba[a]

	Indice mutagénico
U de Mann-Whitney	4,000
W de Wilcoxon	10,000
Z	-,218
Sig. asintótica(bilateral)	,827
Significación exacta [2*(sig. unilateral)]	1,000[b]

a. Variable de agrupación: Mixs9
b. No corregido para empates.

QSipc1 TA98 50%

Estadísticos de prueba[a]

	Indice mutagénico
U de Mann-Whitney	1,000
W de Wilcoxon	7,000
Z	-1,550
Sig. asintótica(bilateral)	,121
Significación exacta [2*(sig. unilateral)]	,200[b]

a. Variable de agrupación: Mixs9
b. No corregido para empates.

QSipc1TA98 15%

Estadísticos de prueba[a]

	Indice mutagénico
U de Mann-Whitney	3,500
W de Wilcoxon	9,500
Z	-,443
Sig. asintótica(bilateral)	,658
Significación exacta [2*(sig. unilateral)]	,700[b]

a. Variable de agrupación: Mixs9
b. No corregido para empates.

Análisis comparativo del índice de mutagenicidad en *Salmonella* Typhimurium TA98 frente a la muestra QSipc2 en distintas concentraciones (100 %, 75 %, 50 % y 15 %), en ausencia y presencia de mezcla S9.

QSipc2 TA98 100%

Estadísticos de prueba[a]

	Indice mutagénico
U de Mann-Whitney	,000
W de Wilcoxon	6,000
Z	-1,964
Sig. asintótica(bilateral)	,050
Significación exacta [2*(sig. unilateral)]	,100[b]

a. Variable de agrupación: Mixs9
b. No corregido para empates.

QSipc2 TA98 75%

Estadísticos de prueba[a]

	Indice mutagénico
U de Mann-Whitney	1,500
W de Wilcoxon	7,500
Z	-1,328
Sig. asintótica(bilateral)	,184
Significación exacta [2*(sig. unilateral)]	,200[b]

a. Variable de agrupación: Mixs9
b. No corregido para empates.

QSipc2 TA98 50%

Estadísticos de prueba[a]

	Indice mutagénico
U de Mann-Whitney	2,000
W de Wilcoxon	8,000
Z	-1,091
Sig. asintótica(bilateral)	,275
Significación exacta [2*(sig. unilateral)]	,400[b]

a. Variable de agrupación: Mixs9
b. No corregido para empates.

QSipc2 TA98 15%

Estadísticos de prueba[a]

	Indice mutagénico
U de Mann-Whitney	4,000
W de Wilcoxon	10,000
Z	-,218
Sig. asintótica(bilateral)	,827
Significación exacta [2*(sig. unilateral)]	1,000[b]

a. Variable de agrupación: Mixs9
b. No corregido para empates.

Análisis comparativo del índice de mutagenicidad en *Salmonella* Typhimurium TA98 frente a la muestra QSipc3 en distintas concentraciones (100 %, 75 %, 50 % y 15 %), en ausencia y presencia de mezcla S9.

QSipc3 TA98 100%

Estadísticos de prueba[a]

	Indice mutagénico
U de Mann-Whitney	3,000
W de Wilcoxon	9,000
Z	-,655
Sig. asintótica(bilateral)	,513
Significación exacta [2*(sig. unilateral)]	,700[b]

a. Variable de agrupación: Mixs9
b. No corregido para empates.

QSipc3 TA98 75%

Estadísticos de prueba[a]

	Indice mutagénico
U de Mann-Whitney	4,000
W de Wilcoxon	10,000
Z	-,218
Sig. asintótica(bilateral)	,827
Significación exacta [2*(sig. unilateral)]	1,000[b]

a. Variable de agrupación: Mixs9
b. No corregido para empates.

QSipc3TA98 50%

Estadísticos de prueba[a]

	Indice mutagénico
U de Mann-Whitney	2,000
W de Wilcoxon	8,000
Z	-1,091
Sig. asintótica(bilateral)	,275
Significación exacta [2*(sig. unilateral)]	,400[b]

a. Variable de agrupación: Mixs9
b. No corregido para empates.

QSipc3 TA98 15%

Estadísticos de prueba[a]

	Indice mutagénico
U de Mann-Whitney	3,000
W de Wilcoxon	9,000
Z	-,655
Sig. asintótica(bilateral)	,513
Significación exacta [2*(sig. unilateral)]	,700[b]

a. Variable de agrupación: Mixs9
b. No corregido para empates.

Análisis comparativo del índice de mutagenicidad en *Salmonella* Typhimurium TA98 frente a la muestra QSipc4 en distintas concentraciones (100 %, 75 %, 50 % y 15 %), en ausencia y presencia de mezcla S9.

QSipc4 TA98 100%

Estadísticos de prueba[a]

	Indice mutagénico
U de Mann-Whitney	,000
W de Wilcoxon	6,000
Z	-1,964
Sig. asintótica(bilateral)	,050
Significación exacta [2*(sig. unilateral)]	,100[b]

a. Variable de agrupación: Mixs9
b. No corregido para empates.

QSipc4 TA98 75%

Estadísticos de prueba[a]

	Indice mutagénico
U de Mann-Whitney	2,000
W de Wilcoxon	8,000
Z	-1,091
Sig. asintótica(bilateral)	,275
Significación exacta [2*(sig. unilateral)]	,400[b]

a. Variable de agrupación: Mixs9
b. No corregido para empates.

QSipc4 TA98 50%

Estadísticos de prueba[a]

	Indice mutagénico
U de Mann-Whitney	4,000
W de Wilcoxon	10,000
Z	-,218
Sig. asintótica(bilateral)	,827
Significación exacta [2*(sig. unilateral)]	1,000[b]

a. Variable de agrupación: Mixs9
b. No corregido para empates.

QSipc4 TA98 15%

Estadísticos de prueba[a]

	Indice mutagénico
U de Mann-Whitney	4,500
W de Wilcoxon	10,500
Z	,000
Sig. asintótica(bilateral)	1,000
Significación exacta [2*(sig. unilateral)]	1,000[b]

a. Variable de agrupación: Mixs9
b. No corregido para empates.

Comparación del índice de mutagenicidad en *Salmonella* Typhimurium TA100 expuesta a la muestra QSipc1 a diferentes concentraciones (100%, 75%, 50% y 15%), en ausencia y presencia de mezcla S9.

QSipc1 TA100 100%

Estadísticos de prueba[a]

	Indice mutagénico
U de Mann-Whitney	,000
W de Wilcoxon	6,000
Z	-1,964
Sig. asintótica(bilateral)	,050
Significación exacta [2*(sig. unilateral)]	,100[b]

a. Variable de agrupación: Mixs9
b. No corregido para empates.

QSipc1 TA100 75%

Estadísticos de prueba[a]

	Indice mutagénico
U de Mann-Whitney	1,000
W de Wilcoxon	7,000
Z	-1,528
Sig. asintótica(bilateral)	,127
Significación exacta [2*(sig. unilateral)]	,200[b]

a. Variable de agrupación: Mixs9
b. No corregido para empates.

QSipc1 TA100 50%

Estadísticos de prueba[a]

	Indice mutagénico
U de Mann-Whitney	4,000
W de Wilcoxon	10,000
Z	-,218
Sig. asintótica(bilateral)	,827
Significación exacta [2*(sig. unilateral)]	1,000[b]

a. Variable de agrupación: Mixs9
b. No corregido para empates.

QSipc1 TA100 15%

Estadísticos de prueba[a]

	Indice mutagénico
U de Mann-Whitney	,000
W de Wilcoxon	6,000
Z	-1,964
Sig. asintótica(bilateral)	,050
Significación exacta [2*(sig. unilateral)]	,100[b]

a. Variable de agrupación: Mixs9
b. No corregido para empates.

Análisis comparativo del índice de mutagenicidad en *Salmonella* Typhimurium TA100 frente a la muestra QSipc2 en distintas concentraciones (100 %, 75 %, 50 % y 15 %), en ausencia y presencia de mezcla S9.

QSipc2 TA100 100%

Estadísticos de prueba[a]

	Indice mutagénico
U de Mann-Whitney	3,000
W de Wilcoxon	9,000
Z	-,655
Sig. asintótica(bilateral)	,513
Significación exacta [2*(sig. unilateral)]	,700[b]

a. Variable de agrupación: Mixs9
b. No corregido para empates.

QSipc2 TA100 75%

Estadísticos de prueba[a]

	Indice mutagénico
U de Mann-Whitney	3,000
W de Wilcoxon	9,000
Z	-,655
Sig. asintótica(bilateral)	,513
Significación exacta [2*(sig. unilateral)]	,700[b]

a. Variable de agrupación: Mixs9
b. No corregido para empates.

QSipc2 TA100 50%

Estadísticos de prueba[a]

	Indice mutagénico
U de Mann-Whitney	1,000
W de Wilcoxon	7,000
Z	-1,528
Sig. asintótica(bilateral)	,127
Significación exacta [2*(sig. unilateral)]	,200[b]

a. Variable de agrupación: Mixs9
b. No corregido para empates.

QSipc2 TA100 15%

Estadísticos de prueba[a]

	Indice mutagénico
U de Mann-Whitney	2,000
W de Wilcoxon	8,000
Z	-1,091
Sig. asintótica(bilateral)	,275
Significación exacta [2*(sig. unilateral)]	,400[b]

a. Variable de agrupación: Mixs9
b. No corregido para empates.

Análisis comparativo del índice de mutagenicidad en *Salmonella* Typhimurium TA100 frente a la muestra QSipc3 en distintas concentraciones (100 %, 75 %, 50 % y 15 %), en ausencia y presencia de mezcla S9.

QSipc3 TA100 100%

Estadísticos de prueba[a]

	Indice mutagénico
U de Mann-Whitney	1,000
W de Wilcoxon	7,000
Z	-1,528
Sig. asintótica(bilateral)	,127
Significación exacta [2*(sig. unilateral)]	,200[b]

a. Variable de agrupación: Mixs9
b. No corregido para empates.

QSipc3 TA100 75%

Estadísticos de prueba[a]

	Indice mutagénico
U de Mann-Whitney	4,000
W de Wilcoxon	10,000
Z	-,218
Sig. asintótica(bilateral)	,827
Significación exacta [2*(sig. unilateral)]	1,000[b]

a. Variable de agrupación: Mixs9
b. No corregido para empates.

QSipc3 TA100 50%

Estadísticos de prueba[a]

	Indice mutagénico
U de Mann-Whitney	4,000
W de Wilcoxon	10,000
Z	-,218
Sig. asintótica(bilateral)	,827
Significación exacta [2*(sig. unilateral)]	1,000[b]

a. Variable de agrupación: Mixs9
b. No corregido para empates.

QSipc3 TA100 15%

Estadísticos de prueba[a]

	Indice mutagénico
U de Mann-Whitney	4,000
W de Wilcoxon	10,000
Z	-,218
Sig. asintótica(bilateral)	,827
Significación exacta [2*(sig. unilateral)]	1,000[b]

a. Variable de agrupación: Mixs9
b. No corregido para empates.

Análisis comparativo del índice de mutagenicidad en *Salmonella* Typhimurium TA100 frente a la muestra QSipc4 en distintas concentraciones (100%, 75%, 50% y 15%), en ausencia y presencia de mezcla S9.

QSipc4 TA100 100%

Estadísticos de prueba[a]

	Indice mutagénico
U de Mann-Whitney	3,000
W de Wilcoxon	9,000
Z	-,655
Sig. asintótica(bilateral)	,513
Significación exacta [2*(sig. unilateral)]	,700[b]

a. Variable de agrupación: Mixs9
b. No corregido para empates.

QSipc4 TA100 75%

Estadísticos de prueba[a]

	Indice mutagénico
U de Mann-Whitney	4,000
W de Wilcoxon	10,000
Z	-,218
Sig. asintótica(bilateral)	,827
Significación exacta [2*(sig. unilateral)]	1,000[b]

a. Variable de agrupación: Mixs9
b. No corregido para empates.

QSipc4 TA100 50%

Estadísticos de prueba[a]

	Indice mutagénico
U de Mann-Whitney	,500
W de Wilcoxon	6,500
Z	-1,771
Sig. asintótica(bilateral)	,077
Significación exacta [2*(sig. unilateral)]	,100[b]

a. Variable de agrupación: Mixs9
b. No corregido para empates.

QSipc4 TA100 15%

Estadísticos de prueba[a]

	Indice mutagénico
U de Mann-Whitney	3,000
W de Wilcoxon	9,000
Z	-,655
Sig. asintótica(bilateral)	,513
Significación exacta [2*(sig. unilateral)]	,700[b]

a. Variable de agrupación: Mixs9
b. No corregido para empates.

Comparación del índice de mutagenicidad según concentración en TA98 para cada punto QSipc1–QSipc4, con y sin mezcla S9

TA98 QSipc1

Estadísticos de prueba[a,b]

	IM_S9	IM_sinS9
H de Kruskal-Wallis	1,097	6,549
gl	3	3
Sig. asintótica	,778	,088

a. Prueba de Kruskal Wallis
b. Variable de agrupación: Concentración

TA98 QSipc2

Estadísticos de prueba[a,b]

	IM_S9	IM_sinS9
H de Kruskal-Wallis	6,549	7,798
gl	3	3
Sig. asintótica	,088	,050

a. Prueba de Kruskal Wallis
b. Variable de agrupación: Concentración

TA98 QSipc3

Estadísticos de prueba[a,b]

	IM_S9	IM_sinS9
H de Kruskal-Wallis	5,957	3,512
gl	3	3
Sig. asintótica	,114	,319

a. Prueba de Kruskal Wallis
b. Variable de agrupación: Concentración

TA98 QSipc4

Estadísticos de prueba[a,b]

	IM_S9	IM_sinS9
H de Kruskal-Wallis	,749	5,872
gl	3	3
Sig. asintótica	,862	,118

a. Prueba de Kruskal Wallis
b. Variable de agrupación: Concentración

Comparación del índice de mutagenicidad según concentración en TA100 para cada punto QSipc1–QSipc4, con y sin mezcla S9

TA100 QSipc1

Estadísticos de prueba[a,b]

	IM_S9	IM_sinS9
H de Kruskal-Wallis	7,615	2,792
gl	3	3
Sig. asintótica	,055	,425

a. Prueba de Kruskal Wallis
b. Variable de agrupación: Concentración

TA100 QSipc2

Estadísticos de prueba[a,b]

	IM_S9	IM_sinS9
H de Kruskal-Wallis	4,876	,322
gl	3	3
Sig. asintótica	,181	,956

a. Prueba de Kruskal Wallis
b. Variable de agrupación: Concentración

TA100 QSipc3

Estadísticos de prueba[a,b]

	IM_S9	IM_sinS9
H de Kruskal-Wallis	2,538	3,769
gl	3	3
Sig. asintótica	,468	,287

a. Prueba de Kruskal Wallis
b. Variable de agrupación: Concentración

TA100 QSipc4

Estadísticos de prueba[a,b]

	IM_S9	IM_sinS9
H de Kruskal-Wallis	3,103	8,715
gl	3	3
Sig. asintótica	,376	,033

a. Prueba de Kruskal Wallis
b. Variable de agrupación: Concentración

Comparaciones por parejas de Concentración

Sample 1-Sample 2	Estadístico de prueba	Desv. Error	Desv. Estadístico de prueba	Sig.	Sig. ajustada[a]
100%-15%	-2,500	2,934	-,852	,394	1,000
100%-50%	-6,667	2,934	-2,273	,023	,138
100%-75%	-7,500	2,934	-2,557	,011	,063
15%-50%	4,167	2,934	1,420	,156	,933
15%-75%	5,000	2,934	1,704	,088	,530
50%-75%	,833	2,934	,284	,776	1,000

Cada fila prueba la hipótesis nula que las distribuciones de la Muestra 1 y la Muestra 2 son iguales.
Se visualizan las significaciones asintóticas (pruebas bilaterales). El nivel de significación es de ,05.
a. Los valores de significación se han ajustado mediante la corrección Bonferroni para varias pruebas.

Comparación del índice de mutagenicidad según punto de recolección (QSipc1–QSipc4) en *Salmonella* Typhimurium TA98 para cada concentración evaluada (100%, 75%, 50% y 15%), en ausencia y presencia de mezcla S9

TA98 100%

Estadísticos de prueba[a,b]

	IM_S9	IM_sinS9
H de Kruskal-Wallis	6,046	5,957
gl	3	3
Sig. asintótica	,109	,114

a. Prueba de Kruskal Wallis
b. Variable de agrupación: Punto de recolección

TA98 75%

Estadísticos de prueba[a,b]

	IM_S9	IM_sinS9
H de Kruskal-Wallis	2,626	5,448
gl	3	3
Sig. asintótica	,453	,142

a. Prueba de Kruskal Wallis
b. Variable de agrupación: Punto de recolección

TA98 50%

Estadísticos de prueba[a,b]

	IM_S9	IM_sinS9
H de Kruskal-Wallis	3,137	6,724
gl	3	3
Sig. asintótica	,371	,081

a. Prueba de Kruskal Wallis
b. Variable de agrupación: Punto de recolección

TA98 15%

Estadísticos de prueba[a,b]

	IM_S9	IM_sinS9
H de Kruskal-Wallis	2,832	5,833
gl	3	3
Sig. asintótica	,418	,120

a. Prueba de Kruskal Wallis
b. Variable de agrupación: Punto de recolección

Comparación del índice de mutagenicidad según punto de recolección (QSipc1–QSipc4) en *Salmonella* Typhimurium TA98 para cada concentración evaluada (100%, 75%, 50% y 15%), en ausencia y presencia de mezcla S9

TA100 100%

Resumen de contrastes de hipótesis

	Hipótesis nula	Prueba	Sig.	Decisión
1	La distribución de IM_S9 es la misma entre categorías de Punto de recolección.	Prueba de Kruskal-Wallis para muestras independientes	,033	Rechace la hipótesis nula.
2	La distribución de IM_sinS9 es la misma entre categorías de Punto de recolección.	Prueba de Kruskal-Wallis para muestras independientes	,041	Rechace la hipótesis nula.

Se muestran significaciones asintóticas. El nivel de significación es de ,050.

p= 0.033

Comparaciones por parejas de Punto de recolección

Sample 1-Sample 2	Estadístico de prueba	Desv. Error	Desv. Estadístico de prueba	Sig.	Sig. ajustada[a]
QSipc1-QSipc4	-1,000	2,944	-,340	,734	1,000
QSipc1-QSipc3	-5,667	2,944	-1,925	,054	,325
QSipc1-QSipc2	-7,333	2,944	-2,491	,013	,076
QSipc4-QSipc3	4,667	2,944	1,585	,113	,678
QSipc4-QSipc2	6,333	2,944	2,151	,031	,189
QSipc3-QSipc2	1,667	2,944	,566	,571	1,000

Cada fila prueba la hipótesis nula que las distribuciones de la Muestra 1 y la Muestra 2 son iguales.
Se visualizan las significaciones asintóticas (pruebas bilaterales). El nivel de significación es de ,05.
a. Los valores de significación se han ajustado mediante la corrección Bonferroni para varias pruebas.

p= 0.041

Comparaciones por parejas de Punto de recolección

Sample 1-Sample 2	Estadístico de prueba	Desv. Error	Desv. Estadístico de prueba	Sig.	Sig. ajustada[a]
QSipc4-QSipc1	3,667	2,944	1,246	,213	1,000
QSipc4-QSipc2	6,667	2,944	2,265	,024	,141
QSipc4-QSipc3	7,667	2,944	2,604	,009	,055
QSipc1-QSipc2	-3,000	2,944	-1,019	,308	1,000
QSipc1-QSipc3	-4,000	2,944	-1,359	,174	1,000
QSipc2-QSipc3	-1,000	2,944	-,340	,734	1,000

Cada fila prueba la hipótesis nula que las distribuciones de la Muestra 1 y la Muestra 2 son iguales.
Se visualizan las significaciones asintóticas (pruebas bilaterales). El nivel de significación es de ,05.
a. Los valores de significación se han ajustado mediante la corrección Bonferroni para varias pruebas.

TA100 75%

Resumen de contrastes de hipótesis

	Hipótesis nula	Prueba	Sig.	Decisión
1	La distribución de IM_S9 es la misma entre categorías de Punto de recolección.	Prueba de Kruskal-Wallis para muestras independientes	,047	Rechace la hipótesis nula.
2	La distribución de IM_sinS9 es la misma entre categorías de Punto de recolección.	Prueba de Kruskal-Wallis para muestras independientes	,424	Conserve la hipótesis nula.

Se muestran significaciones asintóticas. El nivel de significación es de ,050.

Comparaciones por parejas de Punto de recolección

Sample 1-Sample 2	Estadístico de prueba	Desv. Error	Desv. Estadístico de prueba	Sig.	Sig. ajustada[a]
QSipc1-QSipc4	-4,167	2,939	-1,418	,156	,937
QSipc1-QSipc2	-5,833	2,939	-1,985	,047	,283
QSipc1-QSipc3	-8,000	2,939	-2,722	,006	,039
QSipc4-QSipc2	1,667	2,939	,567	,571	1,000
QSipc4-QSipc3	3,833	2,939	1,304	,192	1,000
QSipc2-QSipc3	-2,167	2,939	-,737	,461	1,000

Cada fila prueba la hipótesis nula que las distribuciones de la Muestra 1 y la Muestra 2 son iguales.
Se visualizan las significaciones asintóticas (pruebas bilaterales). El nivel de significación es de ,05.
a. Los valores de significación se han ajustado mediante la corrección Bonferroni para varias pruebas.

TA100 50%

Resumen de contrastes de hipótesis

	Hipótesis nula	Prueba	Sig.	Decisión
1	La distribución de IM_S9 es la misma entre categorías de Punto de recolección.	Prueba de Kruskal-Wallis para muestras independientes	,040	Rechace la hipótesis nula.
2	La distribución de IM_sinS9 es la misma entre categorías de Punto de recolección.	Prueba de Kruskal-Wallis para muestras independientes	,183	Conserve la hipótesis nula.

Se muestran significaciones asintóticas. El nivel de significación es de ,050.

Comparaciones por parejas de Punto de recolección

Sample 1-Sample 2	Estadístico de prueba	Desv. Error	Desv. Estadístico de prueba	Sig.	Sig. ajustada[a]
QSipc4-QSipc1	2,000	2,944	,679	,497	1,000
QSipc4-QSipc3	5,667	2,944	1,925	,054	,325
QSipc4-QSipc2	7,667	2,944	2,604	,009	,055
QSipc1-QSipc3	-3,667	2,944	-1,246	,213	1,000
QSipc1-QSipc2	-5,667	2,944	-1,925	,054	,325
QSipc3-QSipc2	2,000	2,944	,679	,497	1,000

Cada fila prueba la hipótesis nula que las distribuciones de la Muestra 1 y la Muestra 2 son iguales.
Se visualizan las significaciones asintóticas (pruebas bilaterales). El nivel de significación es de ,05.
a. Los valores de significación se han ajustado mediante la corrección Bonferroni para varias pruebas.

TA100 15%

Resumen de contrastes de hipótesis

	Hipótesis nula	Prueba	Sig.	Decisión
1	La distribución de IM_S9 es la misma entre categorías de Punto de recolección.	Prueba de Kruskal-Wallis para muestras independientes	,040	Rechace la hipótesis nula.
2	La distribución de IM_sinS9 es la misma entre categorías de Punto de recolección.	Prueba de Kruskal-Wallis para muestras independientes	,028	Rechace la hipótesis nula.

Se muestran significaciones asintóticas. El nivel de significación es de ,050.

p= 0.040

Comparaciones por parejas de Punto de recolección

Sample 1-Sample 2	Estadístico de prueba	Desv. Error	Desv. Estadístico de prueba	Sig.	Sig. ajustada[a]
QSipc4-QSipc1	1,833	2,939	,624	,533	1,000
QSipc4-QSipc3	6,500	2,939	2,212	,027	,162
QSipc4-QSipc2	7,000	2,939	2,382	,017	,103
QSipc1-QSipc3	-4,667	2,939	-1,588	,112	,674
QSipc1-QSipc2	-5,167	2,939	-1,758	,079	,472
QSipc3-QSipc2	,500	2,939	,170	,865	1,000

Cada fila prueba la hipótesis nula que las distribuciones de la Muestra 1 y la Muestra 2 son iguales.
Se visualizan las significaciones asintóticas (pruebas bilaterales). El nivel de significación es de ,05.

p=0,028

Comparaciones por parejas de Punto de recolección

Sample 1-Sample 2	Estadístico de prueba	Desv. Error	Desv. Estadístico de prueba	Sig.	Sig. ajustada[a]
QSipc4-QSipc1	1,667	2,939	,567	,571	1,000
QSipc4-QSipc2	5,833	2,939	1,985	,047	,283
QSipc4-QSipc3	7,833	2,939	2,666	,008	,046
QSipc1-QSipc2	-4,167	2,939	-1,418	,156	,937
QSipc1-QSipc3	-6,167	2,939	-2,098	,036	,215
QSipc2-QSipc3	-2,000	2,939	-,681	,496	1,000

Cada fila prueba la hipótesis nula que las distribuciones de la Muestra 1 y la Muestra 2 son iguales.
Se visualizan las significaciones asintóticas (pruebas bilaterales). El nivel de significación es de 0.05.
a. Los valores de significación se han ajustado mediante la corrección Bonferroni para varias pruebas.

ANEXO 10. Operacionalización de variables

Tabla 27. Operacionalización de variables.

VARIABLES		TIPO DE VARIABLE	DEFINICIÓN CONCEPTUAL	DEFINICIÓN OPERACIONAL	DIMENSIONES	INDICADOR	UNIDAD DE MEDIDA
Actividad mutagénica	Variable dependiente	Cuantitativa	Cambio del material genético de los organismos, causado por sustancia químicas mutagénicas produciendo una alteración en la secuencia de la expresión	El Test de Ames evalúa la actividad mutagénica por medio de un cultivo inoculado con cepas de *Salmonella* Typhimurium modificadas genéticamente	Número de colonias revertantes	Número de colonias revertantes inducidas entre el número de colonias revertantes espontáneas	Índice mutagénico

			del ADN, generando una mutación de marco de lectura				
Concentración de metales pesados en las aguas provenientes de la quebrada Sipchoc	Variable independiente	Cuantitativa	Aguas que presentan elementos de elevado peso atómico, potencialmente tóxicos, que se emplean en procesos industriales	Se medirán las concentraciones de metales totales por Espectrometría de emisión atómica por plasma inductivamente acoplado	Concentraciones de metales pesados en agua superficial	Cantidad de miligramos de metal en un mililitro de agua superficial	mg/mL