



Universidad Nacional Mayor de San Marcos

Universidad del Perú. Decana de América

Dirección General de Estudios de Posgrado

Facultad de Farmacia y Bioquímica

Unidad de Posgrado

**Estudio químico del agua termal de San Antonio de
Putina-Puno, toxicidad a 28 días en ratas y efecto
contractil de la vesícula biliar en cobayos por ecografía**

TESIS

Para optar el Grado Académico de Doctor en Farmacia y
Bioquímica

AUTOR

Mg. José Antonio LLAHUILLA QUEA

ASESOR

Dr. Jorge Luis ARROYO ACEVEDO

Lima, Perú

2019



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

Llahuilla J. Estudio químico del agua termal de San Antonio de Putina-Puno, toxicidad a 28 días en ratas y efecto contractil de la vesícula biliar en cobayos por ecografía [Tesis de doctorado]. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad de Farmacia y Bioquímica / Unidad de Posgrado; 2019.



UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS

(Universidad del Perú, DECANA DE AMÉRICA)

FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA

UNIDAD DE POSGRADO



ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS PARA OPTAR AL GRADO ACADÉMICO DE DOCTOR EN FARMACIA Y BIOQUÍMICA

Siendo las 10:00 hrs. del 26 de febrero de 2019 se reunieron en el auditorio de la Unidad de Posgrado de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, el Jurado Evaluador de tesis, presidido por el Dr. Juan Manuel Parreño Tipian e integrado por los siguientes miembros: Dr. Jorge Luis Arroyo Acevedo (Asesor), Dr. José Alfonso Apesteguía Infantes, y el Dr. Cesar Máximo Fuertes Ruiton; para la sustentación oral y pública de la tesis intitulada: "ESTUDIO QUÍMICO DEL AGUA TERMAL DE SAN ANTONIO DE PUTINA-PUNO, TOXICIDAD A 28 DÍAS EN RATAS Y EFECTO CONTRACTIL DE LA VESÍCULA BILIAR EN COBAYOS POR ECOGRAFÍA", presentada por el Magíster en Toxicología JOSÉ ANTONIO LLAHUILLA QUEA.

Acto seguido se procedió a la exposición de la tesis, con el fin de optar al Grado Académico de Doctor en Farmacia y Bioquímica. Formuladas las preguntas, éstas fueron absueltas por el graduando.

A continuación el Jurado Evaluador de tesis procedió a la calificación, la que dio como resultado el siguiente calificativo:

Diecinueve (19) - Excelente

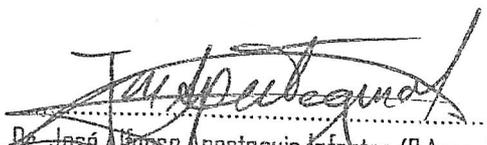
Luego, el Presidente del Jurado recomienda que la Facultad proponga que se le otorgue al Magíster en Toxicología JOSÉ ANTONIO LLAHUILLA QUEA, el Grado Académico de Doctor en Farmacia y Bioquímica.

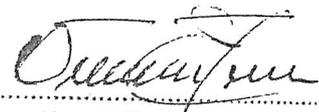
Siendo las 10:00 hrs. se levanta la sesión.

Se extiende el acta en Lima, a las 12:00 hrs. del 26 de febrero de 2019.


.....
Dr. Juan Manuel Parreño Tipian (P.P., T.C.)
Presidente


.....
Dr. Jorge Luis Arroyo Acevedo (P.P., T.C.)
Miembro - Asesor


.....
Dr. José Alfonso Apesteguía Infantes (P.Asoc., T.P.)
Miembro


.....
Dr. Dr. Cesar Máximo Fuertes Ruiton (P.P., D.E.)
Miembro

Observaciones:

.....

AGRADECIMIENTOS A:

Dr. Jorge Luis Arroyo Acevedo Profesor y Catedrático de Farmacología de la Facultad de Medicina de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, **asesor** de esta tesis por ser una excelente persona y brindarme su gran apoyo, compartir su experiencia y transmitirme sus conocimientos como eminente investigador.

Dr. Francisco Armijo Castro Subdirector de la Facultad de Medicina, Escuela Profesional de Hidrología Médica e Hidroterapia de la Universidad Complutense Madrid España, por su apoyo incondicional, sus consejos y sobre todo por transmitirme su vasta experiencia y conocimiento sobre las Aguas Mineromedicinales españolas.

Dr. Antonio Fraioli director, Coordinador de la Especialización en Medicina Termal - Facultad de Medicina Universidad Sapiencia de Roma Italia, por su apoyo y consejos para culminar la obra.

A la universidad Nacional Mayor de San Marcos la Decana de América por ser mi alma mater en la formación profesional y a mi facultad y casa de estudio Farmacia y Bioquímica por nutrirme de conocimiento a través de sus excelentes docentes y mis maestros.

A la municipalidad Provincial de San Antonio de Putina-Puno por verme nacer, permitirme y facilitarme que se lleve a cabo esta investigación.

A los miembros del jurado:

Dr. Juan Manuel Parreño Tipian (presidente)

Dr. Jorge Luis Arroyo Acevedo (miembro asesor)

Dr. José Alfonso Apesteguía Infantes (miembro)

Dr. Cesar Máximo Fuertes Ruitón (miembro).

Por sus sabios y acertados recomendaciones para este trabajo de investigación.

IV

DEDICO A:

Dios por iluminarme y guiarme por el sendero del éxito.

A mi madre Rosa Leonor, a mi padre Máximo, por su incondicional e invaluable apoyo.

A Zelen Roslyn, por ser la inspiración y fuerza moral.

A Guadalupe por su gran apoyo invaluable en los momentos más importantes de mi vida.

A toda mi familia, amigos y amigas que hicieron posible de esta obra.

ÍNDICE

| | Páginas |
|---|----------|
| RESUMEN..... | XI |
| SUMARY..... | XII |
| RESUMO..... | XIII |
| CAPÍTULO1: INTRODUCCIÓN..... | 1 |
| 1.1 Situación problemática | 1 |
| 1.2 formulación del problema..... | 1 |
| 1.3 Justificación teórica..... | 1 |
| 1.4 Justificación práctica..... | 3 |
| 1.5 Objetivos | 4 |
| 1.5.1 Objetivo General..... | 4 |
| 1.5.2 Objetivos Específicos..... | 4 |
| CAPÍTULO 2:MARCO TEÓRICO..... | 5 |
| 2.1. Marco filosófico o epistemológico de la investigación..... | 5 |
| 2.2. Antecedentes de investigación..... | 5 |
| 2.3. Bases teóricas..... | 8 |
| 2.3.1. Ubicación geográfica de San Antonio de Putina Puno..... | 9 |
| 2.3.2. Aguas minero-medicinales | 9 |
| 2.3.3. Toxicidad a dosis repetidas..... | 11 |
| 2.2.2. Ecografía | 11 |
| 2.2.3. ICP-MS (Espectrometría de Masas con Plasma Acoplado Inductivamente)..... | 12 |

| | |
|---|----|
| CAPÍTULO 3: METODOLOGÍA | 14 |
| 3.1 Estudio químico de las aguas termales..... | 14 |
| 3.1.1 Métodos y criterios de selección de las aguas termales..... | 14 |
| 3.1.2 Toma de muestra..... | 14 |
| 3.1.3 Transporte y Procesamiento de la muestra..... | 14 |
| 3.1.4 Análisis de las aguas termales..... | 14 |
| 3.2. Determinación de la toxicidad a dosis repetidas durante 28 días, por administración oral en ratas..... | 15 |
| 3.3 Determinación del efecto contráctil de las aguas termales sobre la Vesícula biliar en cobayos por ecografía..... | 17 |
| CAPÍTULO 4: RESULTADOS Y DISCUSIÓN | 18 |
| 4.1 RESULTADOS | 18 |
| 4.2 DISCUSIÓN | 30 |
| CONCLUSIONES | 34 |
| RECOMENDACIONES | 35 |
| REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS | 36 |

LISTA DE CUADROS

| | |
|--|----|
| <i>Cuadro N 1</i> Un Litro de Agua contiene: Materias gaseosas calculadas al estado seco, temperatura de 0°C y presión de 760mmHg..... | 6 |
| <i>Cuadro 2</i> Análisis químico de aguas termales de Huayna Putina Alta, Miraflores, Libertad y Huaynaputina baja, realizados por la municipalidad de San Antonio de Putina Puno..... | 7 |
| <i>Cuadro 3</i> Análisis químico de los componentes del agua termal de San Antonio de Putina Puno, promedio de las cuatro estaciones del año, aniones y cationes..... | 8 |
| <i>Cuadro4</i> Metodologías y apartados para analizar propiedades físico-químicas del agua termal de San Antonio de Putina-Puno | 15 |
| <i>Cuadro 5</i> Análisis de metales totales del agua termal de San Antonio de Putina, cationes por el método ICP-MS, durante las cuatro estaciones del año..... | 18 |
| <i>Cuadro 6.</i> Análisis por estadística descriptiva de metales en agua termal de San Antonio de Putina, en las cuatro estaciones del año considerando unidades en mg/L. | 19 |
| <i>Cuadro 7</i> Determinación de aniones y gases en las cuatro estaciones del año en agua termal de San Antonio de Putina. | 20 |
| <i>Cuadro 8</i> Comparación de las concentraciones medias de metales encontrados durante las 4 estaciones del año en el agua termal de San Antonio de Putina..... | 20 |
| <i>Cuadro 9</i> Promedio de los valores de los iones en las cuatro estaciones del año del Agua Termal de San Antonio de Putina considerando diferentes unidades de medida. | 21 |
| <i>Cuadro 10.</i> Comparación de los valores media de los pesos de ratas albinas Holtzman según el tiempo cada 7 días durante los 28 días..... | 22 |

VIII

| | |
|--|----|
| <i>Cuadro 11</i> Modelo multivariado del efecto del grupo control, estudio y el tiempo en los pesos durante los 28 días de estudio..... | 23 |
| <i>Cuadro 12</i> Parámetros bioquímicos y hematológicos al evaluar la toxicidad a dosis repetidas durante 28 días en ratas Holtzman del agua termal de San Antonio de Putina. | 24 |
| <i>Cuadro 13</i> Variación del peso de órganos de las ratas Holtzman que reciben la administración oral de agua termal de San Antonio de Putina durante 28 días..... | 25 |
| <i>Cuadro 14.</i> Variación de la medida de vesícula biliar por ecografía a 4 tiempos, en cobayos que recibieron el agua termal de San Antonio de Putina por vía orogástrica..... | 27 |
| <i>Cuadro 15</i> Comparación de medias de las medidas ecográficas del grupo de estudio y grupo control..... | 29 |

LISTA DE FIGURAS

| | |
|---|----|
| <i>Figura 1</i> Mapa de Puno y la ubicación de la provincia de San Antonio de Putina | 9 |
| <i>Figura 2.</i> Ecógrafo veterinario. <i>Fuente.</i> Datos tomados de: Mindray(https://cvm.es/ecografia/ecografos-veterinarios-mindray.html)..... | 12 |
| <i>figura 3</i> Equipo de Espectrometría de Masas con Plasma Acoplado Inductivamente..... | 13 |
| <i>Figura 4</i> Comportamiento de los metales según las concentraciones medias durante las 4 estaciones del año en el agua termal de San Antonio de Putina. | 19 |
| <i>figura 5</i> Variación del peso corporal de las ratas Holtzman que recibieron por vía oral el agua termal de San Antonio de Putina Puno durante 28 días..... | 22 |
| <i>Figura 6</i> Comportamiento de los valores media de pesos de ratas albinas Holtzman del grupo control y el grupo estudio durante los 28 días del estudio. | 23 |
| <i>Figura 7.</i> Manifestaciones histológicas en ratas albinas Holtzman que recibieron por administración oral durante 28 días el agua termal de San Antonio de Putina..... | 26 |
| <i>Figura 8</i> Resultado de las medidas de los cortes transversales y longitudinales de la vesícula biliar de cobayos del grupo control después de la administración del agua potable por vía orofaríngea..... | 28 |
| <i>Figura 9</i> Resultado de las medidas de los cortes transversales y longitudinales de la vesícula biliar de cobayos del grupo estudio después de la administración del agua termal por vía orofaríngea..... | 28 |
| <i>Figura 10</i> Comparación de la medida longitudinal de los resultados ecográficos según el grupo estudio y control después de administrar vía orofaríngea agua termal al grupo estudio y agua potable al grupo control..... | 29 |

| | |
|--|----|
| <i>Figura 11.</i> Informe del ensayo de aguas termales fuente SGS del Perú..... | 42 |
| <i>Figura 12.</i> Informe del ensayo de aguas termales. Fuente SGS del Perú...43 | |
| <i>Figura 13,</i> Análisis de aguas termales de San Antonio de Putina, en laboratorio SGS del Perú..... | 44 |
| <i>Figura 14,</i> resultados del control de calidad del ensayo de las aguas en laboratorio de SGS del Perú..... | 45 |
| <i>Figura 15.</i> referencia de los métodos del ensayo..... | 46 |
| <i>Figura 16</i> administración del agua en estudio..... | 47 |
| <i>Figura 17</i> sacando ecografía al cobayo..... | 47 |
| <i>Figura 18</i> ecografía (ecograms) de la vesícula biliar de cobayos | 47 |
| <i>Figura 19.</i> Imágenes de la vesícula biliar de cobayos por ecografía..... | 48 |
| <i>Figura 20,</i> imágenes de vesícula biliar corte longitudinal y transversal | 49 |
| <i>Figura 21</i> observación de signos y comportamiento a ratas..... | 50 |
| <i>Figura 22</i> necropsia de ratas y extracción de órganos de interés toxicológico..... | 50 |
| <i>Figura 23</i> peso de los órganos de las ratas albinas en la balanza analítica..... | 50 |
| <i>Figura 24</i> valor del peso de órganos (hígado) para la toxicidad..... | 50 |
| <i>Figura 25</i> Fuente termal Huayna Putina..... | 51 |
| <i>Figura 26</i> lugar de toma de muestra del agua termal para su análisis..... | 51 |
| <i>Figura 27</i> frascos de envase polimérico con muestras (para aniones, cationes y gases) de agua termal de san Antonio de Putina..... | 51 |

RESUMEN

Las Aguas Termales mineromedicinales son utilizadas como alternativa terapéutica en múltiples patologías, sus propiedades han sido bien documentadas. En el presente trabajo, se ha estudiado la presencia de componentes químicos, su toxicidad a 28 días en ratas albinas y el efecto contráctil sobre la vesícula biliar en cobayos del agua termal de San Antonio de Putina-Puno. Materiales y métodos: la composición química por el método ICP-MS, diseño experimental para la toxicidad, se establecieron un grupo control y un grupo estudio, se siguió las directrices de la Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económico (OECD) norma 407 y el efecto contráctil por el método ecográfico. Los resultados de los componentes químicos en las cuatro estaciones del año: promedio de las concentraciones más elevadas, sodio 1604 mg/L, cloruro 1,829.83 mg/L, sulfato 763.97 mg/L y potasio 74.92 mg/L. Los valores promedio de los componentes químicos según estaciones del año, primavera 82.67 mg/L, verano 85.23 mg/L, otoño 83.70 mg/L e invierno 84.12 mg/L las diferencias son significativas. Para la toxicidad se observaron diariamente los signos clínicos, se realizó la determinación semanal del peso corporal y al final del estudio la necropsia del animal, se determinó los parámetros hematológicos y bioquímicos, así como el procesamiento histológico de los órganos; se aplicó el ANOVA considerando el $p < 0.05$ para la significancia. En la vesícula biliar de cobayos, las medidas longitudinales y transversales del grupo estudio con respecto al grupo control a tiempo 20 min difieren significativamente con ($p < 0.05$) conclusiones: El agua termo mineral de San Antonio de Putina-Puno presenta, sodio, potasio, cloruro y sulfato en altas concentraciones y las concentraciones máximas en verano y mínima en primavera, no es tóxico en ratas al ser administrados por un periodo de 28 días y produce efecto contráctil sobre la Vesícula biliar de cobayo

Palabras clave: Agua Termo mineral, componente químico, toxicidad, efecto contráctil.

SUMMARY

Mineral-medicinal thermal waters are used as a therapeutic alternative in multiple pathologies, their properties have been well documented. In the present work, the presence of chemical components has been studied, its toxicity at 28 days in albino rats and the contractile effect on the gallbladder in guinea pigs of the thermal water of San Antonio de Putina-Puno. Materials and methods: the chemical composition by the ICP-MS method, experimental design for toxicity, a control group and a study group were established, followed the guidelines of the Organization for Economic Cooperation and Development (OECD) norm 407 and the contractile effect by the ultrasound method. The results of the chemical components in the four seasons of the year: average of the highest concentrations, sodium 1604 mg / L , chloride 1,829.83 mg / L , sulfate 763.97 mg / L and potassium 74.92 mg / L . The average values of the chemical components according to seasons of the year, spring 82.67mg / L summer 85.23mg / L , autumn 83.70mg / L and winter 84.12mg / L the differences are significant. For toxicity, clinical signs were observed daily, the weekly determination of body weight was made and at the end of the study the necropsy of the animal was determined, the hematological and biochemical parameters were determined, as well as the histological processing of the organs; the ANOVA was applied considering $p < 0.05$ for the significance. In the gallbladder of guinea pigs, the longitudinal and transverse measurements of the study group with respect to the control group at 20 min time differ significantly with ($p < 0.05$) conclusions: The thermo mineral water of San Antonio de Putina-Puno presents, sodium, potassium , chloride and sulfate in high concentrations and maximum concentrations in summer and minimum in spring, is not toxic in rats when administered for a period of 28 days and produces contractile effect on the gallbladder of guinea pig

Keywords: Water, mineral thermo, chemical component, toxicity, contractile effect.

RESUMO

As águas termais minerais medicinais são utilizadas como alternativa terapêutica em múltiplas patologias, suas propriedades estão bem documentadas. Neste trabalho, nós estudamos a presença de componentes químicos, a sua toxicidade para 28 dias em ratos e contrações efeito albino na vesícula biliar em cobaias de água termal San Antonio de Putina puno. Materiais e métodos: a composição química pelo método de ICP-MS, desenho experimental para toxicidade, um grupo controle e um grupo de estudo foram estabelecidos, seguindo as diretrizes da Organização para Cooperação e Desenvolvimento Econômico (OCDE), norma 407 e o efeito contrátil pelo método de ultra-som. Os resultados dos componentes químicos nas quatro estações: concentrações médias mais elevadas, de sódio 1.604 mg / L, cloreto de 1829,83 mg / L sulfato de 763,97 mg / L e potássio 74,92 mg / L . Os valores médios dos componentes químicos de acordo com as estações do ano, mola 82.67mg / L Verão 85.23 mg / L , outono 83.70mg / L e de inverno 84.12mg / L as diferenças são significativas. Para toxicidade foram observados sinais clínicos diariamente, semanalmente o peso corporal determinação foi realizada em estudo e animal necropsia, parâmetros hematológicos e bioquímicos foram determinados e processamento histológico de órgãos; a ANOVA foi aplicada considerando $p < 0,05$ para a significância. Na vesícula biliar de cobaias, as dimensões longitudinais e transversais do grupo de estudo comparado com o controle de tempo de 20 min grupo diferem significativamente ($P < 0,05$) Conclusões: Thermo mineral Água San Antonio de Putina Puno apresenta, de sódio, de potássio , cloreto e sulfato em altas concentrações e concentrações máximas no verão e mínimo na primavera, não é tóxico em ratos quando administrado por um período de 28 dias e produz efeito contrátil na vesícula biliar de cobaia

Palavras-chave: Água, mineral termo, componente químico, toxicidade, efeito contrátil.

CAPÍTULO 1: INTRODUCCIÓN

1.1 Situación problemática.

La Organización Mundial de la Salud (OMS) y la Organización Panamericana de la Salud (OPS) indican que la prevalencia de enfermedades biliodigestivas, a nivel mundial varían entre 5,9% y 21,9%; Latinoamérica es una región con alta prevalencia y en Perú las enfermedades biliodigestivas ocupan el segundo lugar en mortalidad.

Las personas que hacen uso de las aguas termo minerales necesitan tener conocimientos de las propiedades terapéuticas que brindan estas aguas, por ello es importante saber qué están haciendo los demás y cuál es la razón por la que se obtienen resultados favorables al ingerir dichas aguas los cuales son de interés para los empresarios y público en general, realizar múltiples estudios de Interés, que sea novedoso y viable. El uso prolongado de fármacos para las enfermedades biliares y digestivas presenta considerables reacciones adversas, gasto económico en los pacientes consecuencia de ello el abandono de la terapia. Mucha agua termal minero mineral corre y aún no sabemos qué hacer con ellas y como aprovechar su enorme potencial. (Badía J, 2014)

1.2 formulación del problema.

¿El agua termal de San Antonio de Putina-Puno contiene componentes químicos que no inducen toxicidad a 28 días y contrae el músculo liso de la vesícula biliar al estudio ecográfico?

1.3 Justificación teórica.

La composición química (generalmente inorgánicas) de las aguas subterráneas naturales se definen a partir de los análisis de muestras recogidas, y se cuantifican más de 60 constituyentes de ellos por lo general en estudios convencionales solo se determinan entre 10 a 20 parámetros fundamentales, los constituyentes mayoritarios o fundamentales aniones: $(\text{HCO}_3^- + \text{CO}_3^{=4})$, Cl^- , $\text{SO}_4^{=4}$, NO_3^- cationes: Na^+ , K^+ , Ca^{++} , NH_4^+ . Las sales de sodio son altamente solubles y tienden a

permanecer en solución ya que no se producen entre ellas reacciones de precipitación. Las rocas por lo común presentan escasa proporción de cloruros sin embargo dada la elevada solubilidad de sus sales estos pasan rápidamente a la fase acuosa alcanzando concentraciones muy altas (a más de 3000 mg/L). Y los sulfatos proceden de la oxidación de sulfuros, del lavado de rocas ígneas y sedimentarias que se encuentran ampliamente distribuidas. El ion sulfato está sometido a procesos de reducción especialmente en presencia de bacterias y de materia orgánica, en ambientes reductores con $\text{pH} < 7$, la forma reducida estable es H_2S , mientras que en soluciones alcalinas predomina el ion HS^- . (Maraver F. 2010).

La contracción de la vesícula se realiza bajo control colinérgico y hormonal, el principal estímulo para el vaciamiento de la vesícula es la llegada de alimentos, sulfatos y grasas al duodeno que genera contracciones vesiculares rítmicas al liberarse la colecistoquinina y la acetilcolina, cuando los alimentos alcanzan al duodeno alrededor de 30 min después de la comida y cuando existe grandes cantidades de grasa la vesícula suele evacuarse por completo en 1 hora. (Guyton A. 2011).

La toxicidad por exposición repetida o prolongada por acuerdo internacional se considera la expresión, toxicidad por dosis repetidas para aludir a ensayos con administraciones diarias durante un periodo de tiempo inferior a 10 % de la vida media del animal empleado. Los efectos por exposiciones prolongadas y de órgano diana se estudian básicamente en ensayos por dosis repetidas durante 14, 28 días por vía oral (Repetto M, 2009).

La toxicidad de las aguas se puede determinar aplicando el ensayo de toxicidad oral de 28 días con dosis repetidas en roedores, este método proporciona información sobre el riesgo para la salud que probablemente surja de la exposición a la sustancia de prueba mediante administración oral. El método se basa en la administración oral repetida de la sustancia de interés durante un período limitado una dosis diaria durante 28 días. Esta Guía está destinada principalmente para su uso con roedores

preferiblemente en ratas. (OECD 407). Por tanto, este trabajo de investigación se basa en búsqueda de elementos químicos, su atoxicidad y el efecto contráctil en vesícula biliar de cobayos que producen estos elementos químicos que lo componen las aguas termo minerales de San Antonio de Putina Puno.

1.4 Justificación práctica.

Las aguas minerales han estado y están presentes en nuestras vidas desde épocas remotas hasta la actualidad; de ahí la gran relevancia de ahondar en el conocimiento de su procedencia y mineralización a través del análisis de los mecanismos de formación que dan lugar al origen de esta agua y su relación con las formaciones en las que son captadas (Maraver F. 2010).

La importancia del estudio de las aguas mineromedicinales, es considerado en la actualidad por la Organización Mundial de la Salud (OMS.) tal es el caso que estableció en el año 2013, como recurso natural, para el tratamiento de diversas enfermedades (OMS,2013).

El Instituto Geológico Minero y Metalúrgico (INGEMMET) Identificó 537 fuentes termales distribuidos en todo el Perú de ellos 228 son exclusivamente termales, los cuales aún no son estudiados completamente las propiedades las características que presentan dichas aguas y no están clasificadas según su aplicación terapéutica (Huamani A. 2001) Las aguas subterráneas y su contexto hidrogeológico están relacionadas con factores geológicos físico-químicos y biológicos. Dentro del ciclo hidrológico existen aguas con características diferenciables por el grado de mineralización y/o por su temperatura de las aguas subterráneas, denominadas aguas minerales (Baeza et al, 2001)

La ingesta de agua mineral natural que contiene sulfatos conduce a la contracción de la vesícula biliar, probablemente inducida por la liberación de colecistoquinina (CCK).

Ya en 1959, hubo algunos indicios en la literatura sobre las variaciones circadianas en la respuesta de la vesícula biliar; para averiguar si esto se aplica con el sulfato como estímulo, se realizó una prueba preliminar de información básica sobre la reacción de la vesícula biliar al agua mineral que contenía sulfato en 19 voluntarios sanos (Gutenbrunner.C 2001)

Por lo expuesto es necesario contribuir al conocimiento de los componentes químicos, su atoxicidad y el efecto contráctil de las aguas termales de San Antonio de Putina.

1.5 Objetivos

1.5.1 Objetivo General

Demostrar la presencia de componentes químicos del agua termal de San Antonio de Putina-Puno, su atoxicidad a 28 días en ratas y el efecto contráctil sobre la vesícula biliar por ecografía en cobayos.

1.5.2 Objetivos Específicos.

- a.** Determinar los componentes químicos del agua termal de San Antonio de Putina-Puno en las cuatro estaciones del año
- b.** Comparar los valores de los elementos químicos del agua termal de las cuatro estaciones del año.
- c.** Determinar su atoxicidad a dosis repetidas durante 28 días, por administración oral en ratas albinas.
- d.** Demostrar el efecto contráctil de la vesícula biliar en cobayos por ecografía, al administrar el agua termal de San Antonio de Putina-Puno.

CAPÍTULO 2: MARCO TEÓRICO

2.1. Marco filosófico o epistemológico de la investigación

La tesis busca dilucidar la avalancha de problemas y tensiones cotidianas, para abstraerse en esos escabrosos temas de termalismo. Conocer y abordar el tema tratando de explicar con rigor científico. y la búsqueda del conocimiento se basa principalmente en dos enfoques el cuantitativo y el cualitativo ambos emplean procesos cuidadosos metódicos y empíricos para generar nuevos conocimientos, Hernández R. (2014) Respecto al marco filosófico en que se sustenta esta tesis, debo decir que, las variables, la unidad de análisis y los criterios metodológicos están sujetos coherentemente al pensamiento filosófico que se tiene.

2.2. Antecedentes de investigación.

Sterczer A, en 1996; en su investigación “Efecto colagogo en el volumen de la vesícula biliar de los perros.”, con el objetivo de demostrar la reducción del volumen vesicular en perros al administrar agua con sulfato de magnesio; al estudiar el volumen de la vesícula biliar mediante la ecografía bidimensional en seis perros sanos en ayunas durante 24 horas. en donde reporta que la hormona colecistoquinina redujo el volumen de la vesícula biliar en un 40 por ciento 10 minutos después de su administración, y el volumen se redujo notablemente de 30 a 50 minutos después de la dosificación. Concluyo que redujeron el volumen de la vesícula biliar. Los resultados indican que el sulfato de magnesio y clanobutin ejercen un efecto directo sobre la actividad motora de la vesícula biliar.

Los autores Coiro V, Volpi R, Vescovi (1997). Estudiaron el efecto colerético y colagogo de aguas sulfato sulfúrico de las fuentes de Tobiano, en donde demuestran que la administración oral de aguas con sulfato cálcico, ejercen una actividad colagoga en los seres humanos. La actividad colagoga junto con el efecto colerético de esta agua argumenta a favor de la posibilidad de su uso como tratamiento de soporte a la terapia de la estasis biliar en el alcoholismo.

Huamaní A. (2001), en su estudio que realizó menciona que las *aguastémales* mineromedicinales en el suroriente del Perú (Dptos. Apurímac, Cusco, Madre de Dios y Puno) En el área de estudio *se identificaron elementos químicos y se clasificaron el tipo de aguas en Puno.*

Raimondi A. en el año (1902), en su investigación afirma que al pie de los cerros de arenisca se encuentra un manantial que se conoce con el nombre de Huayna Putina. Su agua es transparente no deposita óxido de hierro y se deposita en ella un alga de color verdoso y consistencia gelatinosa, la temperatura de este manantial es de 46,3 °C y al Análisis de agua del manantial que sirve para baños: Peso específico del agua es 1,008190

Cuadro 1 Análisis de elementos químicos en un litro de agua termal contiene: materias gaseosas calculadas al estado seco, temperatura de 0°C y presión de 760mmHg

| | | |
|---|--------|------------------|
| Acido carbónico | litro | 0.0423 |
| Gas sulfhídrico | litro | 0.00421 |
| Oxigeno | litro | 0.00148 |
| Azoe | litro | 0.0064 |
| Materias fijas calculadas al estado anhidro | | |
| | | Bicarbonato |
| Carbonato de cal | gramos | 0.0150 = 0,02160 |
| Carbonato de magnesio | gramos | 0.0030 = 0,00557 |
| Óxido de hierro | gramos | 0.0150 = 0,03000 |
| Sulfato de cal | gramos | 0,7684 |
| Sulfato de magnesio | gramos | 0.135 |
| Sulfato de soda | gramos | 0.2871 |
| Cloruro de sodio | gramos | 3.1955 |
| Sílice | gramos | 0.02 |
| | gramos | 4.4390. |

Fuente. Datos tomados de, Raimoni A. 1902, ELPERÚ, Estudios Mineralógicos y Geológicos tomo IV primera serie, Lima

La Municipalidad Provincial de San Antonio de Putina, (2000) realizo el análisis químico de 04 muestras de agua termal a través de SGS laboratorio sede Perú, y según el informe de ensayo O/L ECO-200625-A, reporta los siguientes resultados que se puede apreciar en el siguiente cuadro 2.

Cuadro 2 Análisis químico de las aguas termales de huaynaputina alta, Libertad, Miraflores y Huaynaputina baja, realizado por la municipalidad de San Antonio de Putina Puno.

| Metales totales | símbolo | Unidad | Huayna putina baja | Libertad | Miraflores | Huayna Putina alta |
|-----------------|---------|--------|--------------------|----------|------------|--------------------|
| Aluminio | Al | mg/L | 0.07 | 0.06 | 0.08 | 0.05 |
| Arsénico | As | mg/L | 0.07 | 0.06 | 0.053 | 0.021 |
| Cadmio | Cd | mg/L | < 0.001 | < 0.001 | < 0.001 | < 0.001 |
| Calcio | Ca | mg/L | 193.523 | 170.61 | 175.91 | 130.683 |
| Hierro | Fe | mg/L | 0.35 | 0.78 | 0.14 | 0.06 |
| Magnesio | Mg | mg/L | 40.9 | 37.63 | 37.7 | 29.85 |
| Manganeso | Mn | mg/L | 0.157 | 0.157 | 0.166 | 0.042 |
| Plomo | Pb | mg/L | 0.017 | 0.02 | 0.015 | 0.016 |
| Potasio | K | mg/L | 57.69 | 46.96 | 50.07 | 31.35 |
| Sodio | Na | mg/L | 1350 | 1160 | 1290 | 589.4 |

Fuente: datos tomados de SGS del Perú S.A.C división laboratorios, Informe de ensayo O/L ECO-200625-A, (2000).

El estudio que realizó el Instituto Geológico Minero y Metalúrgico en su boletín Nro. 24 serie D Estudios regionales clasificacomo cloruradas sulfatadas y sódicas, a las aguas termales de San Antonio de Putina, considerando Temperatura promedio 49°C

Llahuilla J. (2007) afirma en el estudio que realizó la Evaluación químico toxicológico de litio en la piscina termo medicinal de San Antonio de Putina (Puno) y en la orina de las personas que la utilizan, la presencia de litio en orina de personas (promedio 0.5265 mEq/L) y litio en el agua termal de la piscina 15,95 mg/L.

Llahuilla J. en el año (2013) en su investigación afirma que el agua termal de san Antonio de Putina puno presenta efecto antioxidante y en el estudio de toxicidad a dosis fijas no se evidencio signos ni alteraciones que se relacionen con la intoxicación ni cambios significativos en el análisis bioquímico (hemograma) demostrando que no son toxicas, además estudio la

composición química del agua termal por el método ICP-MS, en cual se evidencia múltiples componentes que se puede observar en el siguiente cuadro 3

Cuadro 3 Análisis químico de los componentes del agua termal de San Antonio de Putina Puno, promedio de las cuatro estaciones del año 2012, aniones y cationes.

| Cationes | mg/L | meq/L | %meq | Aniones | mg/L | meq/L | %meq |
|------------------------------|--------|-------|-------|--------------------------------|--------|--------|-------|
| Na ⁺ | 1693,5 | 73,67 | 80,38 | Cl ⁻ | 1985.8 | 56,02 | 71,94 |
| K ⁺ | 53,55 | 1,39 | 1,52 | F ⁻ | | 0 | 0 |
| Li ⁺ | 15,18 | 2,19 | 2,39 | Br ⁻ | | 0 | 0 |
| NH ₄ ⁺ | | 0 | 0 | HCO ₃ ⁻ | 253.63 | 4,16 | 5,34 |
| Ca ⁺⁺ | 198,54 | 9,91 | 10,81 | CO ₃ ⁼ | | 0 | 0 |
| Mg ⁺⁺ | 54,62 | 4,5 | 4,9 | NO ₂ ⁻ | | 0 | 0 |
| Ba ⁺⁺ | | 0 | 0 | NO ₃ ⁻ | 0.04 | 0 | 0 |
| Sr ⁺⁺ | | 0 | 0 | SO ₄ ⁼ | 849.58 | 17,69 | 22,72 |
| Zn ⁺⁺ | | 0 | 0 | HS ⁻ | | 0 | 0 |
| Fe ⁺⁺ | 0,1 | 0 | 0 | PO ₄ ⁻⁻⁻ | | 0 | 0 |
| Suma cationes | 2015,4 | 91,65 | 100 | Suma aniones | 3089.1 | 77,866 | 100 |

Fuente. Datos tomados de Llahuilla J. (2013) Efecto antioxidante y toxicidad aguda oral de las aguas termales de san Antonio de Putina Puno (tesis de Maestría) Universidad Nacional Mayor de San Marcos

2.3. Bases teóricas

2.3.1. Ubicación geográfica de San Antonio de Putina Puno

San Antonio de Putina se encuentra en plena cordillera Oriental, en la parte central del departamento de Puno, suelo totalmente accidentado, con profundas quebradas y planicies. Tiene como capital a la ciudad de Putina, está situada a 3,879 m.s.n.m. 14°54`51" Latitud sur y 69° 52`25"0 longitud oeste del meridiano de Greenwich, con una superficie de 3,207.38 km², y una población de 50.460 habitantes con respecto al clima, es frígido durante el año. En invierno cae fuertes Heladas y nevadas, lluvias torrenciales en verano. (INEI,2017)



Figura 1 Mapa del Perú ubicación de la región Puno y la provincia de San Antonio de Putina. *Fuente.* Datos tomados de SINEACE.

Las aguas termales procedentes de San Antonio de Putina Puno posee variedad de aguas termales que es su principal centro de atracción turística. Entre las más conocidas tenemos aguas termales de: Huayna Putina, La Libertad, Wenceslao Molina, el Ruedo, Vidal Lama, Infiernillo, Cachi chupa (Huamaní H, 2001)

2.3.2. Aguas minero-medicinales

Las aguas minero-medicinales ricas en sulfatos, que por su grado de mineralización por más de 1g/L y el contenido de azufre en forma de ion sulfato que resulten superior al 20% en su composición son clasificadas como aguas sulfatadas. Por su contenido catiónico pueden ser ricas en: sodio, calcio o magnesio, los aniones y cationes presentes en su composición nos permiten a su vez clasificarlas en: Aguas sulfatosódicas, sulfato cálcicas y sulfato magnésicas (Maraver F, Armijo F, 2010).

La temperatura de las aguas sulfato sódicas se relaciona tanto con su origen como con la composición resultante, de manera que las más mineralizadas suelen ser aguas superficiales, frías e hipertónicas de alta viscosidad, son inodoras y de sabor amargo, existen aguas sulfatadas sódicas de débil mineralización isotónicas e hipotónicas.

Las aguas sulfato sódicas en el intestino se comportan como purgantes y laxantes; en el hígado y vía biliar tienen efecto colágeno aumenta la secreción biliar, tienen efecto colecisto-quinético, favorecen la contracción vesicular, efecto colerético, favorece la salida de bilis al intestino a través de la relajación del esfínter de Oddi, en relación a su contenido de azufre, en la piel alivia el prurito y los síntomas del eccema (Maraver F, Armijo F, 2010)

Las aguas sulfato cloruradas tienen efectos en el aparato digestivo tales como aumento de deposición semiblanda, aumento de secreción salivar y gástrica, efecto estimulador del apetito por eso es bueno tomarla antes de las comidas, tiene acción diurética, Indicada para gastritis crónica hipo secretoras, estreñimiento, afecciones hepatobiliares (E. Yupanqui Torres 2006).

Calcio (Ca^{++}) El cuerpo almacena más del 99 por ciento del calcio en los huesos y los dientes para ayudarlos a ser fuertes y resistentes. El resto se encuentra en todo el cuerpo en la sangre, los músculos y el líquido entre las células. El organismo necesita del calcio para ayudar a que los músculos y los vasos sanguíneos se contraigan y se relajen, para secretar hormonas y enzimas y enviar mensajes a través del sistema nervioso. Es importante obtener abundante calcio en los alimentos que ingiere. Los alimentos ricos en calcio incluyen: La cantidad exacta de calcio que necesita depende de su edad y de otros factores. Los niños y adolescentes en etapa de crecimiento necesitan más calcio que los adultos jóvenes. Las mujeres mayores necesitan mucho calcio para prevenir la osteoporosis.(Laurence L. Brunton. 2011).

Magnesio (Mg^{++}) El magnesio es un nutriente que el cuerpo necesita para mantenerse sano. El magnesio es importante para muchos procesos que realiza el cuerpo. Por ejemplo, regula la función de los músculos y el sistema nervioso, los niveles de azúcar en la sangre, y la presión sanguínea. Además, ayuda a formar proteína, masa ósea y ADN (el material genético presente en las células).

Litio (Li⁺) El litio se utiliza para tratar y prevenir los episodios de manía (ánimo frenético, anormalmente emocionado) en las personas con trastorno bipolar (trastorno maníaco-depresivo; una enfermedad que provoca episodios de depresión, episodios de manía y otros estados de ánimo anormales). El litio se encuentra en una clase de medicamentos llamados agentes anti maníacos. Funciona al reducir la actividad anormal en el cerebro. (Medline plus) el litio se absorbe en forma completa en el tracto gastrointestinal en 4 a 8 h, una vez en la circulación tiene una mínima unión a proteínas y se distribuye de manera uniforme en el agua corporal total. 1mEq Li⁺ equivale a 6,9mg de Li⁺ (Peña L.2010).

2.3.3. Toxicidad a dosis repetidas

La sustancia de ensayo se administra por vía oral diariamente en dosis graduadas a varios grupos de animales de experimentación, un nivel de dosis por grupo durante un período de 28 días.

Durante el periodo de administración se observa de cerca a los animales, cada día para detectar signos de toxicidad. Los animales que mueren o son sacrificados durante la prueba son necropsiados y al final de la prueba los animales supervivientes son eutanasiados y necropsiados. Un estudio de 28 días proporciona información sobre los efectos de la exposición oral repetida y puede indicar la necesidad de nuevos estudios a más largo plazo (OECD 407)

2.3.4. Ecografía

La ecografía o ultrasonido es un tipo de imagen que utiliza ondas sonoras de alta frecuencia para observar órganos y estructuras al interior del cuerpo por ejemplo para ver el corazón, los vasos sanguíneos, los riñones, el hígado y otros órganos para observar al feto. A diferencia de las radiografías, la ecografía no expone a la radiación. Durante la prueba, se acuesta en una mesa. Un técnico especial o un médico mueve un dispositivo llamado transductor sobre una parte del cuerpo. El transductor envía ondas sonoras que rebotan en los tejidos dentro del cuerpo. El transductor también captura las

ondas que rebotan. La máquina ecográfica crea las imágenes de estas ondas sonoras (Medline plus). Fundamentos de la técnica, como el sonar de un submarino, el diagnóstico ultrasónico está basado en la propagación de una onda de sonido a través de un medio fluido o semifluido (tejidos blandos del cuerpo) y el registro del eco” o rebote del sonido para producir una imagen visual. Recibe el nombre de ultrasonido debido a la ultra-alta frecuencia de las ondas de sonido emitidas por el equipo(Echevarría L.2001)



Figura 2 Ecógrafo veterinario Fuente. Datos tomados de Mindray (<https://cvm.es/ecografia/ecografos-veterinarios-mindray.html>).

2.3.5. Espectrometría de Masas con Plasma Acoplado Inductivamente(ICP-MS) es una técnica de análisis inorgánico elemental e isotópico capaz de determinar y cuantificar la mayoría de los elementos de la tabla periódica en un rango dinámico lineal de 8 órdenes de magnitud (ng/L – mg/L) además de poder llevar a cabo la determinación de los elementos en un análisis multielemental que provee la composición de la muestra analizada. Puede además llevar a cabo la cuantificación de la composición isotópica y estudios de la estabilidad de isótopos traza. Carga/masa. Cada una de las masas sintonizadas llegan al detector donde se evalúa su abundancia en la muestra. Asu vez es posible determinar de forma cuantitativa la mayoría de los elementos de la tabla periódica a niveles de traza y ultra traza,

partiendo de muestras en disolución acuosa. La muestra, en forma líquida, es transportada por medio de una bomba peristáltica hasta el sistema nebulizador donde es transformada en aerosol gracias a la acción de gas argón. Dicho aerosol es conducido a la zona de ionización que consiste en un plasma generado al someter un flujo de gas argón a la acción de un campo magnético oscilante inducido por una corriente de alta frecuencia. En el interior del plasma se pueden llegar a alcanzar temperaturas de hasta 8000 K. En estas condiciones, los átomos presentes en la muestra son ionizados. Los iones pasan al interior del filtro cuadrupolar a través de una interfase de vacío creciente, allí son separados según su relación carga/masa. Cada una de las masas sintonizadas llegan al detector donde se evalúa su abundancia en la muestra. (universidad de Burgos,2019)

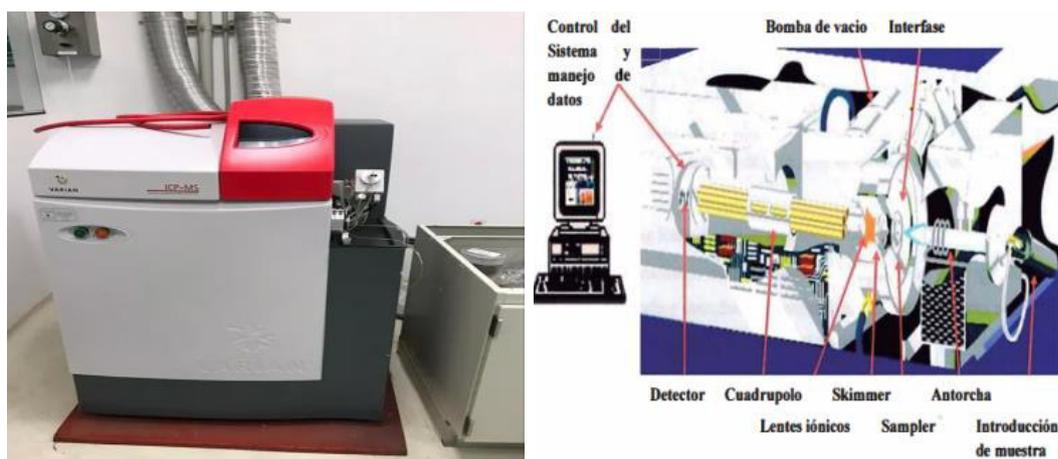


figura3. Equipo de Espectrometría de Masas con Plasma Acoplado Inductivamente. Fuente. Datos tomados de. <http://www.espectrometria-de-masas-de-plasma-icp-ms>.

CAPÍTULO 3: METODOLOGÍA

3.1. Estudio químico de las aguas termales

3.1.1 Métodos y criterios de selección de las aguas termales, se ha realizado siguiendo las recomendaciones incluidas en el apartado 1060B de Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater en su 21 edición. Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists (AOAC), y Norma US (EPA).

3.1.2. Toma de muestra: se realizó en la fuente termal de Huayna Putina, a una altitud de 3,879 m.s.n.m, 14°54`51" Latitud sur y 69° 52`01" longitud oeste del meridiano de Greenwich, de San Antonio de Putina Puno.

Para cada análisis se han tomado dos tipos de muestra:

-*El primero* para hacer el análisis de cationes, se han recolectado dos litros de muestra en frascos de material polimérico, nuevos, estériles y dotados de cierre hermético, estabilizándose inmediatamente con ácido nítrico(HNO₃) 63% p/p hasta pH inferior a 2, conservándose posteriormente a 4⁰C.

-*El segundo* para el análisis de aniones, se han recolectado dos litros de agua en el mismo tipo de envase polimérico conservándose en la oscuridad.

3.1.3. Transporte y Procesamiento de la muestra:

La muestra de agua que se recolectó se transportó en termo porta vacuna (2-8⁰C) a 4⁰C durante 4h hacia el laboratorio de análisis de SGS del Perú (Toma de muestra de aguas,2006)

3.1.4. Análisis de las aguas termales

Para realizar los análisis se siguió principalmente las técnicas de Standard Methods for the Examination of Water and Waste water en su 21 edición(SM). Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists(AOAC), y Norma US (EPA).

Cuadro 4 Metodologías y apartados para analizar componentes físico químicos del agua termal de San Antonio de Putina Puno

| Medida | Método | Apartado |
|--------------------------------------|----------------------------------|-----------------------|
| Temperatura | Electrométrico | SM 2550B |
| Densidad | Picnómetro | SM |
| pH | Electrometría | SM4500 H B |
| Metales totales | ICP-MASAS | EPA 200: 1994 rev.5,4 |
| Cloruros y sulfatos | Cromatografía iónica | EPA 300.1993 rev. 2.1 |
| Sulfuro de hidrogeno indisociable | Espectrofotometría,UV visible | EW_APHA4500S2BCDH |

Fuente. Datos tomados de Maraver F. (2010)

3.2. Determinación de la toxicidad a dosis repetidas durante 28 días, por administración oral en ratas según Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económico (OECD) 407.

Se emplearon 20 ratas albinas adultos jóvenes sanos hembras nulíparas y no embarazadas, cepas de laboratorio comúnmente utilizadas Grupo 1 control (agua potable esterilizada en autoclave) constituido por cinco hembras y cinco machos, Grupo 2 estudio (agua termal de san Antonio de Putina Puno) constituido por cinco hembras y cinco machos. El ensayo se realizó por 28 días, administrándose durante los siete días de la semana. Se emplearon una dosis para la muestra de ensayo, 1000 mg/kg de peso corporal según OECD 407. La muestra se administró mediante una cánula curva metálica, previo ayuno de ratas albinas. se ajustó el volumen para administrar semanalmente que dependía de las variaciones del peso corporal del grupo estudio, además se consideró el volumen límite admitido (de soluciones acuosas) para esta especie de 2 ml/100 g de peso corporal.

Mantenimiento y alimentación: los animales de experimentación se adaptaron a las condiciones del bioterio por un período de cinco días antes de iniciar el ensayo, se distribuyeron individualmente en cajas de policarbonato (Makrolón) tipo T3 (plástico) con fondo de rejilla metálica.

El agua y alimento se esterilizaron con autoclave para evitar cualquier tipo de contaminación. Se acondiciono la temperatura del medio ambiente (bioterio) a

22 ± 3 °C, la humedad relativa <70%, y el fotoperiodo de 12 horas de luz y 12 horas de oscuridad.

Se observaron diariamente los signos clínicos y patrón de comportamientos relacionados a la toxicidad, de los animales de experimentación, así como, cambios en la piel, pelaje, membranas mucosas, ojos, hiperventilación, vasodilatación, intranquilidad, actividad somato motora. Se prestó especial atención a la posible ocurrencia de algunos signos importantes para el estudio como temblor, convulsión, diarrea, letargo, irritabilidad, salivación, sueño y coma.

Se realizó mediciones diarias y semanales del consumo del agua y alimento. Los pesos corporales individuales se determinaron el día anterior a la administración de las aguas termales y agua potable luego a los 7, 14, 21 y 28 días. periodo que dura el ensayo.

Se determinaron parámetros hematológicos y bioquímicos (hemograma, urea, creatinina, TGO, TGP) a los 28 días de haber sido tratados con la muestra problema, las muestras de sangre se extrajeron por punción intracardiaca de los animales previamente anestesiados y en ayunas.

El último día de la experimentación se sacrificaron a los animales del grupo estudio y del grupo control por dislocación cervical previa anestesia. luego se realizó la necropsia donde se examinaron la superficie corporal, cavidades y órganos, en seguida se extrajeron los órganos para ser pesados, así como: hígado, bazo, riñones, corazón, pulmón y cerebro y se procesaron histopatológicamente los órganos, previa tinción con hematoxilina y eosina a continuación se describieron al observar bajo un microscopio electrónico L&B L3000wHBG.

3.3 Determinación del efecto contráctil de las aguas termales sobre la Vesícula biliar en cobayos por ecografía.

Se conformaron el grupo de estudio por 6 cobayos sanos machos y 6 cobayos sanos machos grupo control, seleccionados aleatoriamente, edad 45-75 días, peso 500-800 g cepa Hartley albinos.

El agua termal (sustancia de ensayo) se administraron a los cobayos en ayuno previo de 12 a 16 horas, a dosis de 5 mL y los del grupo control se le

administraron agua potable 5 mL, teniendo en cuenta la ausencia de signos o síntomas de toxicidad por esta vía de administración y los datos toxicológicos de las sustancias de ensayo (Coiro V,1997).

Ecografía Se utilizaron los ecogramas del (Model V-3000) a 3.5 MHz. Para determinar el tamaño y volumen vesicular. La vesícula biliar se visualizó a través de un espacio intercostal y del lóbulo derecho del hígado. La zonas antero posteriores y transversales de la vesícula biliar.(Res Vet Sci. 1996 Jan;60(1):44-7). Los volúmenes de vesícula biliar se determinaron tomando las medidas de corte longitudinal y transversal por ultrasonografía. Los ecotomograms se tomaron en $t=0$, antes de administrar las aguas, luego a los tiempos: $t=20\text{min}$; $t=40\text{min}$; y $t=60\text{min}$ después de la administración oral del agua.

Todos los resultados obtenidos de los ensayos, cuantitativos, se sometieron a un tratamiento estadístico mediante métodos estadísticos apropiados como (test de la t de Student para muestras independientes), la homogeneidad de varianza por el test de Levene y la prueba de Kruskal Wallis además para el procesamiento de datos se utilizó los programas Microsoft Office Excel 2010 y SPSS v17.

CAPÍTULO 4: RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 RESULTADOS

4.1.1. Análisis químico de las aguas termales de San Antonio de Padua Putina -Puno

Cuadro 5 Análisis de metales totales, cationes por el método ICP-MS del agua termal de San Antonio de Putina, durante las cuatro estaciones del año 2017 realizados en SGS del Perú.

| METALES TOTALES | UNIDAD | LD | M1 | M2 | M3 | M4 |
|--------------------|--------|---------|----------|----------|-----------|----------|
| | | | verano | otoño | primavera | invierno |
| Aluminio Total | mg/L | 0.001 | 0.036 | <0.001 | <0.001 | <0.001 |
| Antimonio Total | mg/L | 0.00567 | 0.0064 | 0.00567 | 0.00517 | 0.00525 |
| Arsénico Total | mg/L | 0.00003 | 0.04828 | 0.05111 | 0.04766 | 0.04952 |
| Bario Total | mg/L | 0.0001 | 0.0382 | 0.0383 | 0.0381 | 0.0381 |
| Boro Total | mg/L | 0.002 | 46.319 | 45.589 | 47.089 | 46.582 |
| Cadmio Total | mg/L | 0.00001 | <0.00001 | <0.00001 | <0.00001 | <0.00001 |
| Calcio Total | mg/L | 0.003 | 231.731 | 225.329 | 222.03 | 221.076 |
| Cesio Total | mg/L | 0.0001 | 2.5766 | 2.6632 | 2.6111 | 2.6832 |
| Cobalto Total | mg/L | 0.00001 | 0.00039 | 0.00038 | 0.00041 | <0.00001 |
| Estroncio Total | mg/L | 0.0002 | 6.1224 | 5.7701 | 5.8301 | 5.7201 |
| Germanio Total | mg/L | 0.0002 | 0.0111 | 0.0108 | 0.0113 | 0.0107 |
| Litio Total | mg/L | 0.0001 | 22.3266 | 22.0742 | 21.9013 | 20.9051 |
| Magnesio Total | mg/L | 0.001 | 52.593 | 53.643 | 52.985 | 53.876 |
| Manganeso Total | mg/L | 0.00003 | 0.20385 | 0.18846 | 0.18397 | 0.09197 |
| Mercurio total | mg/L | 1 | < 0.0001 | < 0.0001 | < 0.0001 | < 0.0001 |
| Molibdeno Total | mg/L | 0.00002 | 0.00452 | 0.00402 | 0.00401 | 0.00393 |
| Plomo Total | mg/L | 0.0002 | <0.0002 | <0.0002 | <0.0002 | <0.0002 |
| Potasio Total | mg/L | 0.04 | 78.2 | 75.59 | 71.42 | 74.49 |
| Rubidio Total | mg/L | 0.0003 | 0.2785 | 0.2612 | 0.2607 | 0.2564 |
| Selenio Total | mg/L | 0.0004 | 0.0025 | 0.0022 | 0.0029 | 0.0021 |
| Sílice Total * | mg/L | 0.09 | 44.73 | 44.82 | 45.1 | 46.55 |
| Silicio Total | mg/L | 0.04 | 20.91 | 20.95 | 21.08 | 21.76 |
| Sodio Total | mg/L | 0.006 | 1,639.26 | 156,969 | 1,601.86 | 1,608.82 |
| Talio Total | mg/L | 0.00002 | 0.00033 | 0.00032 | 0.00032 | 0.00026 |
| Titanio Total | mg/L | 0.0002 | 0.0238 | 0.0227 | 0.0217 | 0.022 |

Fuente. elaboración propia.

En el cuadro 5 se muestra los resultados de 25 metales de un total de 52 metales analizados, en verano,otoño,primavera e invierno considerando los valores mayores a cero y los que no superan el cero no se les consideró por razones estadísticas.

Cuadro 6. Análisis de metales por estadística descriptiva en agua termal de San Antonio de Putina, durante las cuatro estaciones del año 2017.

| Estación | | Estadístico | P |
|-----------|---------|-------------|-------|
| Verano | Media | 85.8169 | 0,99* |
| | Mediana | 0.0483 | |
| | Mínimo | 0 | |
| | Máximo | 1639.26 | |
| Primavera | Media | 82.6682 | |
| | Mediana | 0.0511 | |
| | Mínimo | 0 | |
| | Máximo | 1569.69 | |
| Otoño | Media | 83.6994 | |
| | Mediana | 0.0477 | |
| | Mínimo | 0 | |
| | Máximo | 1601.86 | |
| Invierno | Media | 84.1178 | |
| | Mediana | 0.0495 | |
| | Mínimo | 0 | |
| | Máximo | 1608.82 | |

* $P > 0,05$ no existe diferencias significativas al aplicar la Prueba de Kruskal Wallis. fuente. elaboración propia

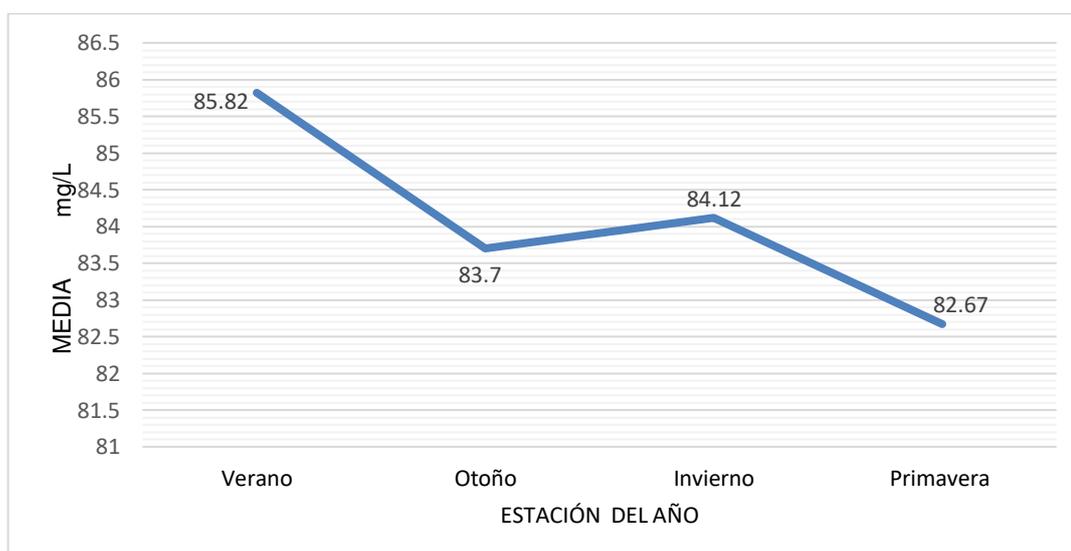


Figura 4 Comportamiento de los metales según las concentraciones medias en verano, otoño, invierno y primavera del año 2017 en el agua termal de San Antonio de Putina. fuente. elaboración propia.

Comportamiento anual durante las cuatro estaciones en donde se puede observar que las medias de los metales en la estación de primavera tienden a bajar las concentraciones de los metales con respecto a las otras estaciones que estadísticamente dicha diferencia no es significativa.

Cuadro 7 Análisis de aniones y gases del agua termal de San Antonio de Putina durante las cuatro estaciones del año 2017.

| Parámetro | Unidad | LD | M1 | M2 | M3 | M4 |
|-----------------------------------|--------|--------|----------|----------|-----------|----------|
| | | | verano | otoño | primavera | invierno |
| Sulfuro de hidrógeno indisociable | mg/L | 0.0004 | <0.0004 | <0.0004 | <0.0004 | <0.0004 |
| aniones | | | | | | |
| Cloruro | mg/L | 0.025 | 1,753.60 | 1,868.16 | 1,833.74 | 1,863.80 |
| sulfatos | mg/L | 0.01 | 728.45 | 781.87 | 766.34 | 779.23 |

fuentes. elaboración propia

Cuadro 8 Comparación de las medias de metales encontrados en las cuatro estaciones del año 2017 en el agua termal de Putina.

| Metales | Estación | Media** | Desviación estándar | p |
|----------|-----------|---------|---------------------|-------|
| Arsénico | Verano | ,0483 | ,0000 | ,000* |
| | Primavera | ,0511 | ,0000 | |
| | Otoño | ,0477 | ,0000 | |
| | Invierno | ,0495 | ,0000 | |
| Cadmio | Verano | ,0000 | ,0000 | ,878 |
| | Primavera | ,0000 | ,0000 | |
| | Otoño | ,0000 | ,0000 | |
| | Invierno | ,0000 | ,0000 | |
| Mercurio | Verano | ,0001 | ,0001 | ,928 |
| | Primavera | ,0002 | ,0001 | |
| | Otoño | ,0002 | ,0002 | |
| | Invierno | ,0002 | 1 | |
| Potasio | Verano | 78,17 | ,0577 | ,000* |
| | Primavera | 75,58 | ,0100 | |
| | Otoño | 71,38 | ,0666 | |
| | Invierno | 74,49 | ,0100 | |
| Sodio | Verano | 1639,26 | ,0058 | ,000* |
| | Primavera | 1669,68 | ,0115 | |
| | Otoño | 1601,85 | ,0115 | |
| | Invierno | 1608,82 | ,0058 | |
| Cloruro | Verano | 1753,50 | ,1000 | ,000* |
| | Primavera | 1868,15 | ,0115 | |
| | Otoño | 1833,74 | ,0100 | |
| | Invierno | 1863,77 | ,0577 | |
| sulfatos | Verano | 728,45 | ,0068 | ,000* |
| | Primavera | 781,86 | ,0100 | |
| | Otoño | 766,33 | ,0153 | |
| | Invierno | 779,22 | ,0100 | |

*P<0,05 existe diferencias significativas**ANOVA. Fuente. elaboración propia

Cuadro 9 Promedio de las concentraciones de mayor valor de iones de las 4 estaciones del año del Agua Termal de San Antonio de Putina 2017 considerando diferentes unidades de medida.

| Cationes | mg/L | meq/L | %meq | Aniones | mg/L | meq/L | %meq |
|------------------------------|----------|-------|-------|--------------------------------|----------|-------|-------|
| Na ⁺ | 1,604.91 | 69.78 | 77.1 | Cl ⁻ | 1,829.83 | 51.62 | 72 |
| K ⁺ | 74.925 | 1.94 | 2.14 | F ⁻ | | 0 | 0 |
| Li ⁺ | 21.8 | 3.15 | 3.47 | Br ⁻ | | 0 | 0 |
| NH ₄ ⁺ | | 0 | 0 | HCO ₃ ⁻ | 253.63 | 4.16 | 5.8 |
| Ca ⁺⁺ | 225.04 | 11.23 | 12.41 | CO ₃ ⁼ | | 0 | 0 |
| Mg ⁺⁺ | 53.27 | 4.39 | 4.85 | NO ₂ ⁻ | | 0 | 0 |
| Ba ⁺⁺ | | 0 | 0 | NO ₃ ⁻ | 0.04 | 0 | 0 |
| Sr ⁺⁺ | | 0 | 0 | SO ₄ ⁼ | 763.97 | 15.91 | 22.18 |
| Zn ⁺⁺ | | 0 | 0 | HS ⁻ | | 0 | 0 |
| Fe ⁺⁺ | 0 | 0 | 0 | PO ₄ ⁻⁻⁻ | | 0 | 0 |
| Suma cationes | 1,979.94 | 90.49 | 100 | Suma aniones | 2,847.43 | 71.69 | 100 |

Fuente elaboración propia

4.1.2. Determinación de la toxicidad a dosis repetidas durante 28 días, por administración oral en ratas.

Observaciones clínicas: Las observaciones de los signos clínicos a los animales se realizaron diariamente fundamentalmente el estado físico, comportamiento, en las mucosas nasales y oculares se buscó secreciones o alteraciones relacionados a la toxicidad. Se realizó la palpación del abdomen sin encontrar cambios, no se observó cambios en el pelaje, en sistema respiratorio no se evidencio cambios; se evaluó la actividad somato motora y se prestó especial atención a la posible ocurrencia de signos como temblores, convulsiones, diarrea, letargo, salivación, sueño y coma. y al final de la experimentación no se observo cambios o alteraciones en los signos clínicos. Teniendo en cuenta el comportamiento normal de los animales de dicha especie. Peso corporal, los animales se pesaron a los 0, 7, 14, 21 y 28 días. Al finalizar el estudio se promedió el peso de los animales por semana y grupo, teniendo en cuenta el sexo para observar cómo se comportó este parámetro

durante el ensayo, y los resultados muestran que la tendencia al aumento del peso corporal fue una constante durante el estudio en ambos grupos y sexos.

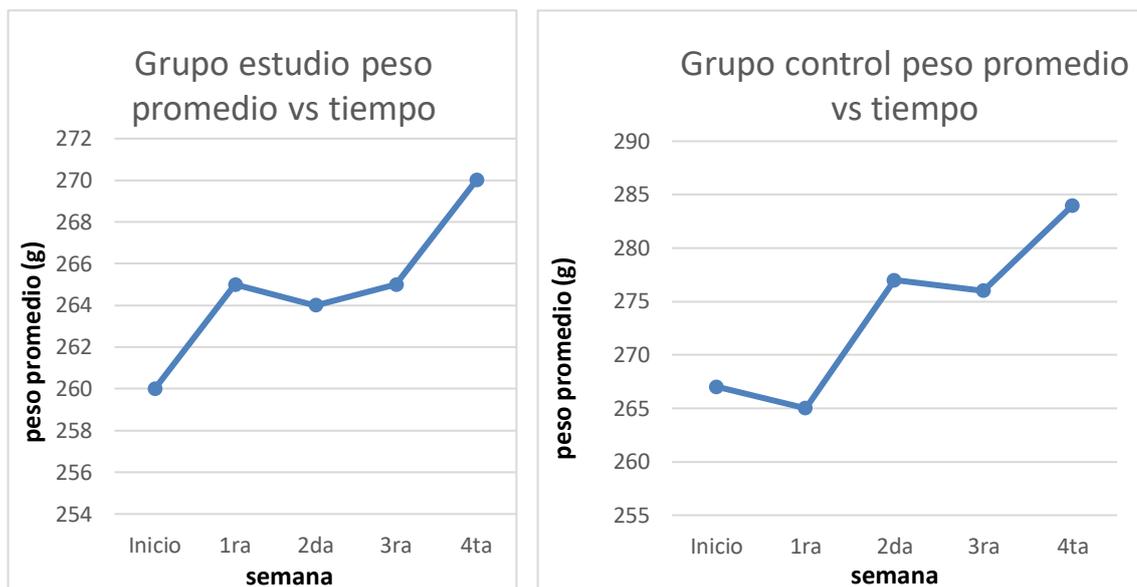


figura 5 Variación del peso corporal

de las ratas Holtzman que recibieron por vía oral el agua termal de San Antonio de Putina Puno durante 28 días. *fuentes. elaboración propia*

Cuadro 10. cuadro comparativo de los valores media de los pesos de ratas albinas Holtzman según el tiempo cada 7 días durante los 28 días.

| Grupo | tiempo | Media | Desviación estándar | N |
|---------|---------|-------|---------------------|----|
| Estudio | 7 días | 259,8 | 15,3 | 10 |
| | 14 días | 265,2 | 18,7 | 10 |
| | 21 días | 264,4 | 19,3 | 10 |
| | 28 días | 267,0 | 22,9 | 10 |
| | Total | 264,1 | 18,7 | 40 |
| Control | 7 días | 267,2 | 22,6 | 10 |
| | 14 días | 265,2 | 18,7 | 10 |
| | 21 días | 277,1 | 22,3 | 10 |
| | 28 días | 277,7 | 18,0 | 10 |
| | Total | 271,8 | 20,5 | 40 |

fuentes. elaboración propia

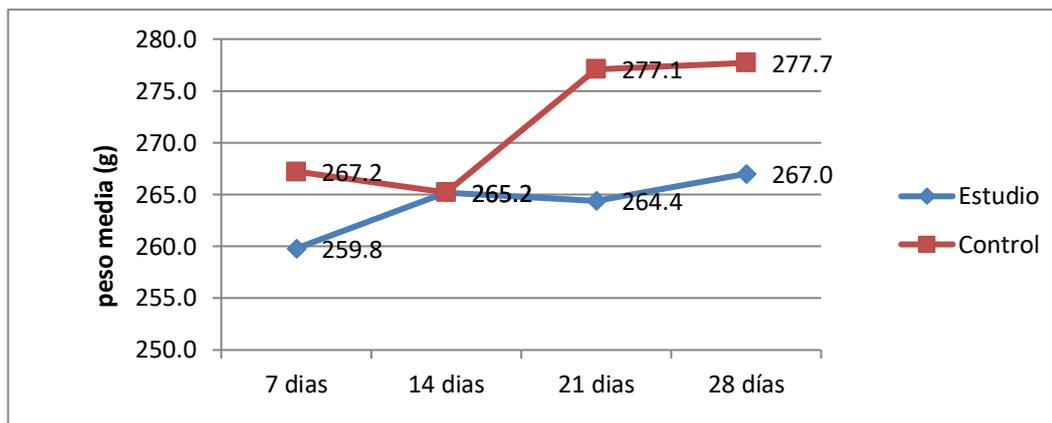


Figura 6 Comportamiento de los valores media de pesos de ratas albinas Holtzman del grupo control y del grupo estudio durante los 28 días del estudio. fuente. elaboración propia

Cuadro 11 Modelo estadístico multivariado del efecto del grupo control, estudio, el tiempo en los pesos durante los 28 días de estudio.

| Origen | Tipo III de suma de cuadrados | Gl | Cuadrático promedio | F | Sig, |
|------------------|-------------------------------|----|---------------------|------------|-------|
| Modelo corregido | 2744,000 ^a | 7 | 392,000 | ,991 | ,445 |
| Interceptación | 5,743,776,200 | 1 | 5,743,776,200 | 14,520,885 | ,000 |
| Grupo | 1,185,800 | 1 | 1,185,800 | 2,998 | ,088* |
| Tiempo | 1,091,300 | 3 | 363,767 | ,920 | ,436* |
| grupo * tiempo | 466,900 | 3 | 155,633 | ,393 | ,758* |
| Error | 28,479,800 | 72 | 395,553 | | |
| Total | 5,775,000,000 | 80 | | | |
| Total corregido | 31,223,800 | 79 | | | |

fuente. elaboración propia

En el cuadro se puede observar que al comparar el grupo estudio y el grupo control con el tiempo no hay diferencia significativa, no se encontró efecto de los grupos y del tiempo en los pesos de ratas albinas.

Exámenes de laboratorio clínico: Las determinaciones hematológicas y de química sanguínea se llevaron a cabo a los 28 días de administración oro gástrica de las aguas termales. La obtención de sangre se realizó por punción cardiaca previo ayuno de 12 h de los animales, se recolecten viales de seguridad. En ambos casos los parámetros se presentaron con sus estadígrafos de media (X) y desviación estándar (DE) los cuales fueron establecidos por grupos. Con ayuda del paquete estadístico SPSS más la prueba de T student. Con el tratamiento estadístico sé evidenció que no hay

diferencias significativas con el grupo control y el grupo de estudio con respecto a la hemoglobina, hematocrito, leucocitos y linfocitos, además no se evidenciaron cambios ni alteraciones en la fórmula sanguínea.

Cuadro 12 Parámetros bioquímicos y hematológicos al evaluar la toxicidad a dosis repetidas durante 28 días en ratas Holtzman del agua termal de San Antonio de Putina.

| Grupo | | N | Media+ (X) | Desviación estándar (DE) | p |
|--------------------------|---------|---|------------|--------------------------|-------|
| HEMOGLOBINA | Estudio | 5 | 14.17 | 1.08 | ,433* |
| | Control | 5 | 14.64 | 0.69 | |
| HEMATOCRITO % | Estudio | 5 | 41.8 | 3.19 | ,433* |
| | Control | 5 | 43.2 | 2.05 | |
| HEMATIES/mm ³ | Estudio | 5 | 4598000 | 351311.83 | 433* |
| | Control | 5 | 4752000 | 225432.92 | |
| LEUCOCITOS | Estudio | 5 | 11350 | 1172.07 | ,192* |
| | Control | 5 | 10360 | 1016.98 | |
| MIELOCITOS | Estudio | 5 | 0 | ,00000 ^a | |
| | Control | 5 | 0 | ,00000 ^a | |
| METAMIELOCITOS | Estudio | 5 | 0 | ,00000 ^a | |
| | Control | 5 | 0 | ,00000 ^a | |
| N.EN CAYADOS | Estudio | 5 | 0.2 | 0.45 | ,545* |
| | Control | 5 | 0.4 | 0.55 | |
| N.EN SEGMENTADO | Estudio | 5 | 19.8 | 4.92 | ,266* |
| | Control | 5 | 16.2 | 4.6 | |
| LINFOCITOS | Estudio | 5 | 77 | 5.39 | ,181* |
| | Control | 5 | 81.8 | 4.97 | |
| MONOCITOS | Estudio | 5 | 3 | 1.73 | ,147* |
| | Control | 5 | 1.6 | 0.89 | |
| EOSINOFILOS | Estudio | 5 | 0 | ,00000 ^a | |
| | Control | 5 | 0 | ,00000 ^a | |
| BASOFILOS | Estudio | 5 | 0 | ,00000 ^a | |
| | Control | 5 | 0 | ,00000 ^a | |
| CREATININA | Estudio | 5 | 0.8 | 0.06 | ,609* |
| | Control | 5 | 0.71 | 0.41 | |
| UREA | Estudio | 5 | 40.17 | 6.32 | ,276* |
| | Control | 5 | 30.33 | 17.73 | |
| TGO | Estudio | 5 | 161.42 | 23.54 | ,491* |
| | Control | 5 | 135.14 | *77.94 | |
| TGP | Estudio | 5 | 130.86 | 40.43 | ,152* |
| | Control | 5 | 85.99 | 48.79 | |

*No se encontró diferencias significativas ($p > 0.05$) +Prueba T student.

fuentes. elaboración propia

En el estudio anatomopatológico al finalizar el tratamiento no se evidenció muerte de ningún animal por lo que se realizó la eutanasia a los 20 animales de experimentación en la cual se aplicó previamente éter y luego se procedió a la dislocación cervical, para llevar a cabo las correspondientes observaciones macroscópicas un posterior estudio microscópico. Luego se prosiguió a la extracción y pesaje de los siguientes órganos: corazón, pulmones, riñones, bazo, hígado., no se observó diferencia significativa con respecto a los pesos de los órganos, además, en el estudio histológico microscópico que se realizó a: pulmón, corazón, bazo, hígado, no se encontraron alteraciones macroscópicas ni microscópicas atribuibles a la muestra en estudio.

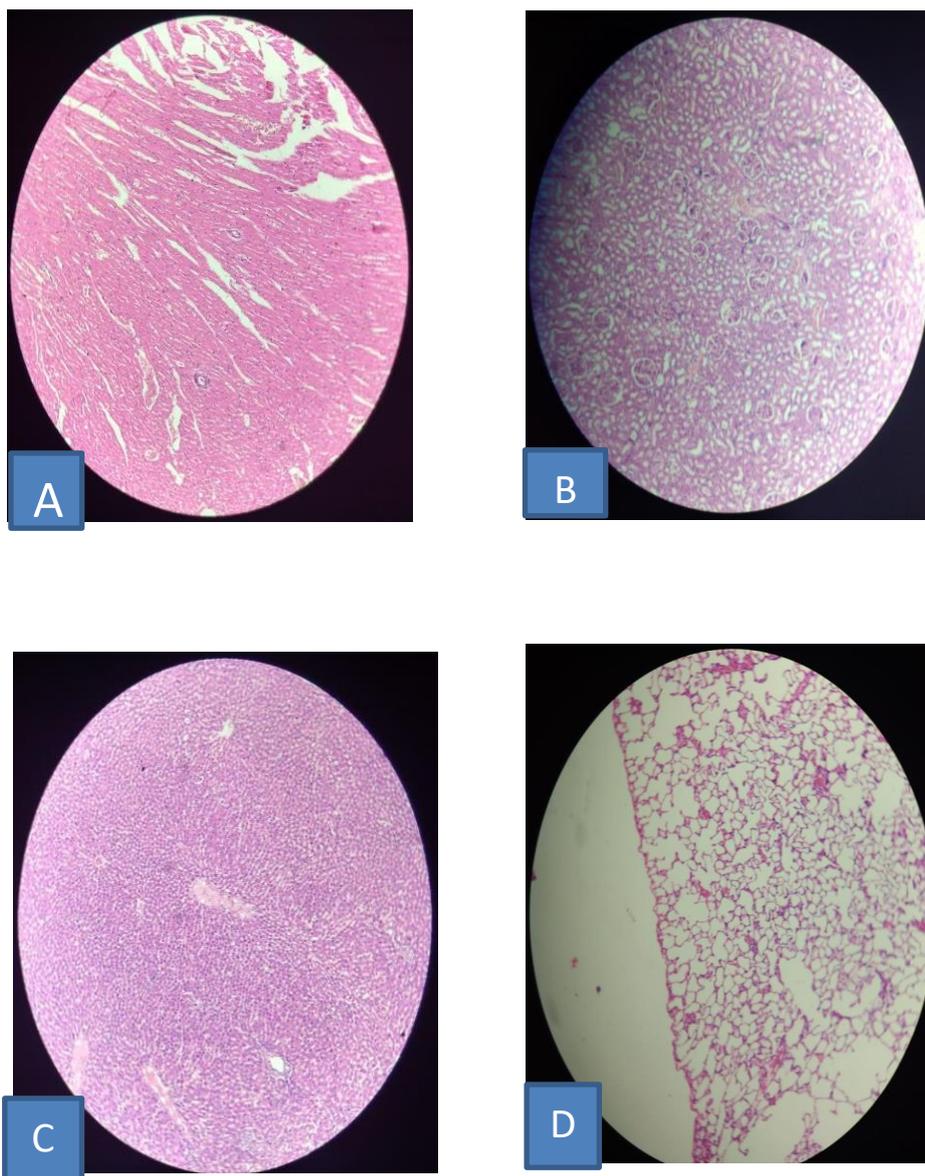
Cuadro 13 variación del peso de órganos de las ratas Holtzman que reciben la administración oral de agua termal de San Antonio de Putina durante 28 días.

| grupo1 | | N | Media+ | Desviación estándar | p |
|---------|---------|----|--------|---------------------|-------|
| HIGADO | Estudio | 10 | 11.65 | 1.36 | .192* |
| | Control | 10 | 12.35 | 0.89 | |
| RIÑON | Estudio | 10 | 1.22 | 0.17 | .215* |
| | Control | 8 | 1.33 | 0.19 | |
| BAZO | Estudio | 10 | 2.02 | 0.55 | .172* |
| | Control | 9 | 1.66 | 0.55 | |
| CORAZÓN | Estudio | 10 | 1.48 | 0.25 | .200* |
| | Control | 10 | 1.35 | 0.17 | |
| PULMON | Estudio | 10 | 5.41 | 1.11 | .910* |
| | Control | 10 | 5.46 | 1.02 | |

*No se encontró diferencias significativas+Prueba T student t

fuentes. Elaboración propia

No se evidencia diferencia significativa con respecto a los pesos de los órganos del grupo control con respecto al grupo estudio. No se produjo la muerte de ningún animal durante el estudio, por ello todos fueron sacrificados al finalizar la investigación y al realizar la necropsia no se encontraron lesiones macro ni microscópicas atribuibles a la sustancia de ensayo.



A: corazón normal, B: riñón normal, C: hígado normal, D: pulmón normal (100 x)

Figura 7. Manifestaciones clínicas histopatológicas en ratas albinas Holtzman que recibieron por vía oral, agua termal durante 28 días el agua termal de San Antonio de Putina. fuente. elaboración propia

4.1.3. Determinación del efecto contráctil de la Vesícula biliar en cobayos por ecografía.

Cuadro 14. Variación de la medida de vesícula biliar por ecografía a 4 tiempos, en cobayos que recibieron el agua termal de San Antonio de Putina por vía orogástrica.

| GRUPO-ESTUDIO | CORTE ECOGRÁFICO | T=0 | T=20 | T=40 | T=60 |
|---------------|------------------|------|------|------|------|
| AGUA TERMAL | TRANSVERSAL | 9,5 | 6,1 | 8,2 | 15 |
| | | 7,6 | 4,8 | 5,9 | 13,6 |
| AGUA TERMAL | LONGITUDINAL | 14 | 16,4 | 12,1 | 21,6 |
| | | 8,9 | 4,3 | 7,3 | 11,9 |
| AGUA TERMAL | TRANSVERSAL | 10,5 | 7,9 | 9,3 | 9,8 |
| | | 11,1 | 6,8 | 10,1 | 8,3 |
| AGUA TERMAL | LONGITUDINAL | 20,3 | 12,3 | 18,2 | 16,5 |
| | | 11,1 | 5,7 | 9,6 | 4 |
| AGUA TERMAL | TRANSVERSAL | 13,8 | 13 | 14,6 | 11,8 |
| | | 12,8 | 12 | 14,8 | 10,8 |
| AGUA TERMAL | LONGITUDINAL | 18,6 | 17 | 18,1 | 17,6 |
| | | 13,4 | 9,8 | 13,2 | 8,4 |
| AGUA TERMAL | TRANSVERSAL | 5,2 | 7,3 | 6,5 | 8,1 |
| | | 4,9 | 6,6 | 5 | 7,4 |
| AGUA TERMAL | LONGITUDINAL | 8,8 | 10,6 | 14 | 12,5 |
| | | 5 | 6,9 | 3,9 | 3,8 |
| AGUA TERMAL | TRANSVERSAL | 4,9 | 8 | 9,1 | 9,8 |
| | | 5 | 6,8 | 11,3 | 10,5 |
| AGUA TERMAL | LONGITUDINAL | 7,9 | 14,1 | 20,7 | 19 |
| | | 3,8 | 7,9 | 7 | 8,2 |
| AZUL-CONTROL | | T=0 | T=20 | T=40 | T=60 |
| AGUA POTABLE | TRANSVERSAL | 10,1 | 9,4 | 12,1 | 14 |
| | | 3,4 | 9,2 | 10,7 | 12,1 |
| AGUA POTABLE | LONGITUDINAL | 10,4 | 17,8 | 19,9 | 27 |
| | | 3,8 | 8,6 | 10,8 | 11,5 |
| AGUA POTABLE | TRANSVERSAL | 3,6 | 4,6 | 8,6 | 1,7 |
| | | 2,8 | 4,7 | 6,6 | 1,8 |
| AGUA POTABLE | LONGITUDINAL | 8,6 | 10,2 | 13 | 5,1 |
| | | 2,7 | 4,8 | 7,3 | 1,7 |
| AGUA POTABLE | TRANSVERSAL | 7,1 | 12,4 | 3,3 | 6,4 |
| | | 7,2 | 12,2 | 4,9 | 5,1 |
| AGUA POTABLE | LONGITUDINAL | 10,8 | 17,9 | 11 | 12,1 |
| | | 6,2 | 8,2 | 4,2 | 3,5 |
| AGUA POTABLE | TRANSVERSAL | 9,9 | 10,8 | 7,2 | 12,2 |
| | | 13,6 | 11,6 | 8,6 | 9,4 |
| AGUA POTABLE | LONGITUDINAL | 14,5 | 16,9 | 11 | 16,2 |
| | | 10,6 | 11,1 | 6,8 | 8,3 |
| AGUA POTABLE | TRANSVERSAL | 11,4 | 3,2 | 2 | 13,7 |
| | | 9,3 | 2,5 | 2,4 | 10,5 |
| AGUA POTABLE | LONGITUDINAL | 14,7 | 4,8 | 5,6 | 16,1 |
| | | 8 | 2,5 | 2,1 | 9,9 |

Fuente. elaboración propia

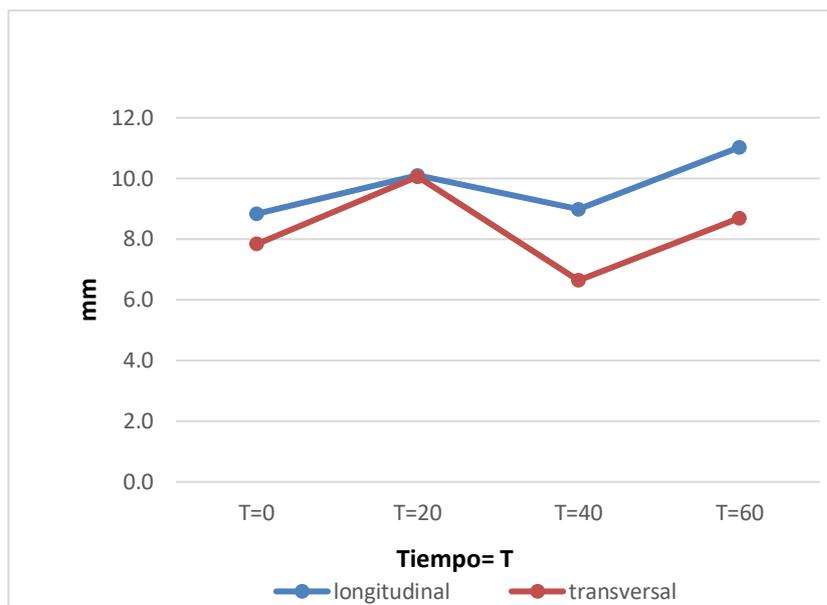


Figura 8 Resultado de las medidas de los cortes transversales y longitudinales de la vesícula biliar de cobayos del grupo control después de la administración del agua potable por vía orofaríngea fuente. elaboración propia

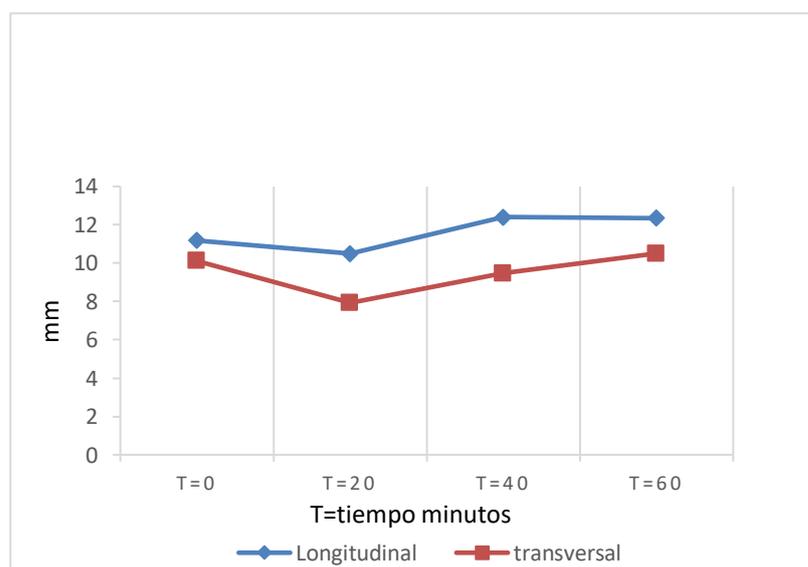


Figura 9 Resultado de las medidas de los cortes transversales y longitudinales de la vesícula biliar de cobayos del grupo estudio después de la administración del agua termal por vía orofaríngea. Fuente elaboración propia.

Cuadro 15 Comparación de medias de las medidas ecográficos del grupo de estudio y del grupo control.

| Corte | grupo2 | N | Media | Desviación estándar | p |
|--------------|---------|---|-------|---------------------|-------|
| longitudinal | Estudio | 4 | 11.61 | 0.93 | 0,04* |
| | Control | 4 | 9.73 | 1.02 | |
| transversal | Estudio | 4 | 9.51 | 1.14 | 0,23 |
| | Control | 4 | 8.31 | 1.44 | |

* $P < 0,05$ existe diferencias significativas Prueba T studen para muestras independientes fuente. elaboración propia.

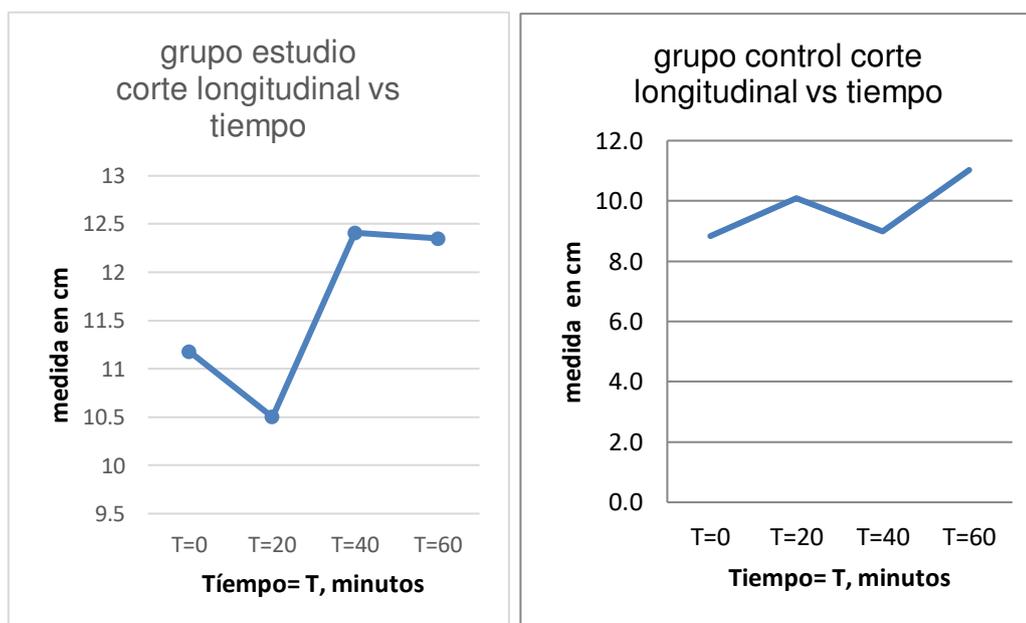


Figura 10 Comparación de la medida longitudinal de los resultados ecográficos según el grupo estudio y control después de administrar vía orofaríngea agua termal al grupo estudio y agua potable al grupo control.

Fuente. elaboración propia

4.2. DISCUSIÓN

Según los estudios realizados para el análisis químico de las aguas termales de San Antonio de Padua Putina -Puno por Raimondi A. (1902), que reporta la presencia de Sulfato de soda 0.2871 g, cloruro de sodio 3.1955 g entre otras, La Municipalidad Provincial de San Antonio de Putina, (2000) realizó análisis químico de 04 muestras de agua mediante SGS laboratorio según el informe de ensayo O/L ECO-200625-A, reporta lo siguiente potasio 57.69 mg/L, sodio 1350 mg/L, Huamaní A. 2001, afirma que las aguas mineromedicinales y minerales de Putina son cloruradas sódicas y sulfatadas. Llahuilla J. (2007). Afirma en el estudio de la Evaluación químico toxicológico de litio encontró en el agua termal 15,95 mg/L. Llahuilla J. (2013) afirma que el agua termal de san Antonio de Putina Puno presentan sodio 1693.50, cloruro 1985.83 y sulfato 849.58 mg/ L sin embargo en el estudio que se realizó encontramos sodio 1,829.83 mg/L, sulfato 763.9725 mg/L, potasio 74.92mg/L, cloruro 1604 mg/L, con respecto a los estudios anteriores las concentraciones de sodio se incrementaron en 26 % y potasio en 23 % a través del tiempo, sin embargo las concentraciones de sulfatos disminuyeron en 10 % y cloruros en 19 % van disminuyendo a medida que va transcurriendo el tiempo, probablemente se dé por la degradación de las rocas volcánicas entre otras.

En el *cuadro 5* se puede apreciar los resultados de metales totales de las cuatro estaciones del año resaltando algunos metales de interés toxicológico (arsénico, cadmio, mercurio, plomo, sodio, potasio) pero que al realizar las comparaciones entre los valores en diferentes estaciones del año no hay diferencia significativa entre ellos. En el *cuadro 6* se puede observar la media de los metales en la estación de verano es mayor y la media de los valores de los metales correspondientes a la estación de primavera son más bajas que cabe la posibilidad de la variación producto de los movimientos sísmicos, y desgaste de las rocas internas o en su defecto con las lluvias que arrastran minerales a la napa freática sin embargo esas diferencias no son significativas $p > 0,005$, en el *cuadro 7* se puede observar los aniones como sulfatos, cloruros donde la variación es insignificante. sin embargo, la presencia de estos componentes de azufre en forma de sulfatos le confiere efecto protector como

antioxidante a las aguas termales. Además, en el *cuadro 9* se puede apreciar los valores de las concentraciones de los elementos químicos que indican la clasificación de las aguas y su equivalente químico de interés bioquímico y terapéutico considerando que la concentración mayor a la concentración de 1 g/L u 80 meq/L tiene aplicabilidad terapéutica. Así como las aguas termales sulfatadas en Alcantud (Cuenca) presentan 830.4 mg/L 90, 17%meq, Graena(Granada) 1506.4 mg/L, 91.31%meq, Fortuna –Leana(Murcia) 710.7 mg/L ,22.53 %meq (Maraver 2010) en nuestro estudio se determinó sulfatos (SO_4^-) 763.97 , % meq 22.18 que estaría cumpliendo dicha clasificación.

El balneario de Lanjarón presenta cloruro 8867.7 mg/L, 86.63 %meq, Baños de Fitero (Navarra) 1481.6 mg/L 58.17 % meq (Aldave 2004) , La Hermida (Cantabria) 1054.8 mg/L, 76.90 %meq (Armijo 2010) en nuestro estudio que son las aguas termales de san Antonio de Putina-Puno(Perú) posee 1,829.83 mg/L , 72 %meq de cloruro

Según (Armijo 2010) afirma que el Balneario de Arnedillo presenta sodio (Na^+) 2102.8 mg/L 77,42 % meq. En nuestro estudio se determinó sodio, 1,604.91 mg/L, % meq 77.1 los cuales se asemejan a los valores de estudios realizados en España, por INGEMMET en Perú que corroborarían que las aguas termales de Putina son sódicas.

El autor Gröber U(2015). afirma que el magnesio es esencial para la regulación de la contracción muscular, la presión arterial, el metabolismo de la insulina, la excitabilidad cardíaca, el tono vasomotor, la transmisión nerviosa y la conducción neuromuscular, El magnesio además es necesario para la síntesis, reproducción y síntesis de proteínas de ADN y ARN. Además, el magnesio es esencial para la regulación muscular. Los niveles bajos de magnesio se han asociado con una serie de enfermedades crónicas, como la enfermedad de Alzheimer, la resistencia a la insulina y la diabetes mellitus tipo 2, la hipertensión, la enfermedad cardiovascular, así como en el estudio que se realizó se encontró magnesio 53 mg/L (ver cuadro 5) que probablemente le confiera las propiedades terapéuticas que tiene el agua termal. De San Antonio de Putina Puno.

Gáti T, Tefner I, en el año 2018 afirma en el estudio “los efectos del contenido de calcio, magnesio y bicarbonato en el agua mineral térmica sobre el dolor crónico de espalda baja”, la balneoterapia podría tener un impacto favorable en los parámetros clínicos y la calidad de vida de los pacientes con dolor lumbar crónico. Y según nuestros resultados en el estudio que realizamos al agua termal presentan calcio, magnesio que podrían favorecer en la mejoría de las lumbalgias.

Kerr F, Bjedov I, Sofola-Adesakin O. (2018) afirma que litio conserva la función neuronal y mejora la memoria en modelos animales de demencia., debido a su potente efecto benéfico como droga estabilizadora del estado de ánimo. Por lo tanto, la efectividad del litio para mejorar la función neurológica está bien descrita, estos mecanismos de defensa son los más necesarios para frenar el declive cognitivo y evitar la toxicidad perjudicial. Así como en nuestro estudio se encontró concentraciones elevadas de litio 15 mg/L en agua termal de San Antonio de Putina que servirían para aliviar problemas neurológicos.

Brun LR, Galich AM en el año 2014 afirma que El tratamiento con SrR incrementó los marcadores de DMO y de formación ósea y disminuyó el riesgo de reabsorción ósea. Así como en nuestro estudio se encontró estroncio que podría favorecer y fortalecer dichas propiedades.

Land SN, Rocha RCC en el año 2018 observó una correlación significativa entre Metalotioneinas (MT) y Fe en la bilis, y entre MT en el hígado y Cu y Zn en la bilis. Los cálculos de la relación molar demostraron efectos de elementos protectores contra Al, As, Cd, Hg, Pb y V tanto en la bilis como en el hígado, así como algunas nuevas interrelaciones, que indican la importancia de estas investigaciones. los metalotioneinas son inducidos por la presencia de estos metales, así como la presencia de metales en las aguas termales de san Antonio probablemente realicen esa función por la gran concentración de estos metales que le confieren esa propiedad.

Constantino M en el año 2008, en su estudio posible rol antioxidante de la balneoterapia con agua mineromedicinal sulfurada cloruro bicarbonatada, sugiere un posible efecto antioxidante de la cura hidropínica con el agua

sulfurada clorurada bicarbonatada con su beneficio sobre la fisiología intestinal, Llahuilla J. en el año 2013, afirma que los aguas termales de san Antonio de Putina tienen efecto antioxidante, así como en nuestro estudio se encontró alta concentraciones de sodio cloruro, azufre en forma de sulfatos que tendrían efecto protector.

Han F, Xu L, (2018) en su estudio El sulfato de magnesio puede aliviar el estrés oxidativo y reducir las citocinas inflamatorias en la placenta de ratas de colestasis intrahepática del modelo de embarazo. Concluyeron que El $MgSO_4$ tuvo un efecto beneficioso en la mejora del crecimiento de los descendientes en el modelo de ratas de ICP. El efecto protector del $MgSO_4$ en el alivio del daño oxidativo y la respuesta inflamatoria en la placenta puede jugar un papel importante en el proceso. $MgSO_4$ puede mejorar la función de la placenta. así como en nuestro estudio se determinó la presencia de magnesio y sulfato en concentraciones considerables que probablemente produciría el efecto protector contra el estrés oxidativo.

En lo que corresponde a la toxicidad, se realizó el estudio con el objetivo determinar la atoxicidad de las aguas termales de san Antonio de Putina-Puno, administrando a ratas albinas por vía orogástrica una vez por día durante los 28 días. En la *figura 5 y 6* se puede observar la diferencia que existe entre los promedios de los pesos durante la 1ra y 2da semana en donde los valores del grupo estudio empieza a detenerse el aumento del peso mientras que con los valores del grupo control continua el incremento de los pesos a través del tiempo durante el estudio(*cuadro 10*) sin embargo esa diferencia no es significativa desde el punto de vista estadístico , así lo demuestra el modelo estadístico multivariado del efecto del grupo control, estudio y el tiempo en los pesos durante los 28 días de estudio (*cuadro 11*) además de lo antedicho se puede inferir que probablemente las aguas termales estarían produciendo efecto purgante en ratas por la disminución de pesos, además no hay cambios clínicos evidentes. No se encontró efecto del grupo y del tiempo en los pesos.

También se observa en el *Cuadro 12* Parámetros bioquímicos y hematológicos al evaluar la toxicidad a dosis repetidas durante 28 días en

ratas holtzman del agua termal de San Antonio de Putina en las cuales se comparó los valores medias de indicadores de hemograma según grupo de estudio y el grupo control los parámetros enzimáticos así como las transaminasas no se evidencian diferencias significativas entre ellos; puesto que el hígado es el órgano por excelencia del metabolismo y es afectado ante los xenobióticos presentes de manera aguda o crónica, directa o indirectamente luego de la absorción por vía oral a través del primer paso, o el metabolismo hepático, en tanto que, posiblemente la dosis utilizada, de las aguas en estudio, sus componentes químicos aportados por las aguas termales han mantenido un equilibrio químico importante, que no produjo daños ni alteraciones al hígado. Uno de los parámetros bioquímicos como es la creatinina son considerados marcadores del daño renal. que están relacionados directamente con la masa corporal (Kandhare A); se evidencia que las ratas del grupo estudio (100 mg/kg) disminuyeron los valores de creatinina, estos valores coinciden con la pérdida de peso corporal durante la segunda semana de tratamiento (*cuadro 12*). que estadísticamente no son significativos la pérdida del peso corporal del grupo estudio con respecto al grupo control.

El sistema de hematopoyesis es sensible a los xenobióticos que son tóxicos (Karenina G, Coelho J,2015); esto implica la atoxicidad de las aguas termales al no observarse cambios en los parámetros hematológicos con respecto a la histopatología, los cambios patológicos, macroscópicos y microscópicos, son indicadores de toxicidad (Prabu P, Panchapak S,2012), sin embargo al observar las muestras de estudio macroscópicamente los tejidos a la dosis probada, no produjeron alteraciones en los órganos blancos relacionados a la toxicidad de los animales; además, al observar microscópicamente, no hubo signos que evidencien la toxicidad, todo estos resultados de los parámetros hematológicos y bioquímicos (*cuadro 12*).concuerdan con los valores encontrados en nuestro estudio que indican que no hay signos de intoxicación.

En la Determinación del efecto contráctil de la Vesícula biliar en cobayos por ecografía en el (*Cuadro14*) se observa las medidas longitudinales y transversales de la vesícula biliar de cobayos al administrar aguas termales de San Antonio de Putina vía oral en minuto 0 y tomar ecografía en los tiempos

respectivos minuto 20 minuto 40 y minuto 60 en las medidas longitudinales la diferencia con el grupo estudio y el grupo control ($P < 0,05$) es marcada y significativa en el minuto 20, que se demuestra estadísticamente con la Prueba T student para muestras independientes (figura 10). así como el autor en la cual se evidencia el efecto contráctil de las aguas termales sobre la vesícula biliar de cobayos, demostrándose de esta manera que al administrar las aguas termales a cobayos produce contracción en minuto 20. por consiguiente, se demuestra que las aguas tienen efecto contráctil en la vesícula biliar.

así como el autor (Mennuni G, PetracciaLy col.2014) que los Los trastornos funcionales del tracto biliar involucran vesícula biliar y esfínter de Oddi y causan dolor y / o problemas digestivos el uso de aguas minerales sulfato de sodio y bicarbonato de sulfato de sodio juega un papel importante que, debido a su composición en iones macro y oligoelementos, puede estimular la liberación o modular la actividad de algunos reguladores neuro humorales del proceso.

CONCLUSIONES.

- a. Se determinó los componentes y concentraciones químicos del agua termal de San Antonio de Putina-Puno en las cuatro estaciones del año, siendo un promedio de las concentraciones más elevadas, sodio 1604 mg/L, cloruro 1,829.83 mg/L sulfato 763.97 mg/L y potasio 74.92 mg/L.
- b. Los componentes químicos del agua termal de San Antonio de Putina, presentan la mayor concentración media en verano (85.23 mg/L) y la menor concentración media (82.67 mg/L) en primavera.
- c. El agua termal de San Antonio de Putina Puno no es tóxica en ratas albinas al ser administrada oralmente durante 28 días según al OECD 407.
- d. El agua termal de San Antonio de Putina-Puno. produce efecto contráctil sobre la vesícula biliar de cobayos.

RECOMENDACIONES

- Realizar estudios de componentes químicos de aguas termales en periodos de 2 años a 10 años.
- Considerar estudios telúricos para ver la variabilidad de las concentraciones de los elementos químicos del agua termal.
- Realizar estudios clínicos con las aguas termales in situ
- Realizar estudios de toxicidad crónica
- Realizar estudios clínicos y su aplicación en la terapéutica sobre el efecto contráctil.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Álvarez. (1995). Estudio del comportamiento secretor de las hormonas gastrointestinales implicadas en la motilidad vesicular de la colelitiasis en salud atención especializada Madrid Anatomía de cobayos Disponible en: <http://anatobioterio.blogspot.pe/2009/06/diseccion-de-cobayo-vista-decubito.html>.
- Aparicio R. informe de ensayo O/L ECO 200625-A análisis químico de las Aguas termales de San Antonio de Putina, SGS laboratorios del Perú SAC Callao Perú 2000 p.1-3.
- Badia. Williamson, R. (2004). Antibióticos e infección biliar, Cir Esp. 76(4):203-205. Biblioteca Nacional de Medicina de los Estados Unidos, Calcio. citado 17 de enero 2019 disponible en: <https://medlineplus.gov/spanish/calcium.html>
- Brun. Galish A. Vega E. Salerni H. Maffei L. Premrou V. Costanzo P. Sarli M. Rey P. Larroude M, Moggia M, BranceL, Sánchez A (2014), Strontium ranelate effect on bone mineral density is modified by previous bisphosphonate treatment. Springerplus. 18;3:676.
- Coiro V, Volpi R, Vescovi P, (1997) Efecto colerético y colagogo de agua sulfato sulfúrico a partir de las fuentes de Tobiano en la colestasis en las enfermedades hepáticas relacionadas con el alcohol, Clin Ter. Jan-Feb; 148(1-2):15-22.
- Composición química de las aguas subterráneas naturales, citado 07-de enero 19, disponible en: aguas.igme.es/igme/publica/libro43/pdf/lib43/1_1.pdf. Libros virtuales, https://www.intramed.net/sitios/librovirtual8/pdf/8_05.pdf
- Constantino M, GiubertiG, GaragliaM, Lombardi A, (2008), Posible Rol antioxidante de la Balneoterapia con agua mineromedicinal sulfurada-cloruro-bicarbonatada. vademécum II de las aguas mineromedicinales españolas editorial. ucm, complutense pag. 38.
- Corey F. Manual Washington de terapéutica medica 33° edición Washington 2010.
- Correlation between gallbladder size and release of cholecystokinin after oral magnesium sulfate in man, vol. 197 * no. 4 cck and gallbladder size

after mgso4 disponible en:
http://www.researchgate.net/publication/16369367_Correlation_between_gallbladder_size_and_release_of_cholecystokinin_after_oral_magnesium_sulfate_in_man.

Cvm, diagnóstico veterinario citado el 13 de enero del 2019 disponible en:
<https://cvm.es/ecografia/ecografos-veterinarios-mindray.html>.

Douglas. Anderson, M. (2006). Mosby Diccionario de Medicina, Enfermería y Ciencias de la Salud, sexta edición. Editorial. Madrid pg. 125.

Ecografos veterinarios, citado 13 de enero 2019, disponible en:
<https://cvm.es/img/honda-hs2100v-ecografo-veterinaria-seccion.png>

Echevarría L. (2001), La ecografía como técnica diagnóstica, *Rev.investig. vet. Perú* 12 (2) 1-2 pg.

Ecografía, medline plus, citado el 13 de enero 2019 disponible en:
<https://vsearch.nlm.nih.gov/vivisimo/cgi-bin/query/meta?v%3Aproject=medlineplus-spanish&v%3Asources=medlineplus>.

Espectrometría de Masas de Plasma(ICP-MS) Universidad de Burgos citado 13 de enero del 2019 disponible en <https://www.ebu.es/parque-cientifico-tecnologico/servicios-cientifico-tecnicos/espectrometria/espectrometria-de-masas-de-plasma-icp-ms>.

Estrategia de la Organización Mundial de la Salud sobre medicina Tradicional 2013-2023 citado el 11 de febrero del 2019, disponible en:
<http://apps.who.int/medicinedocs/documents/s21201es.pdf>

Gáti T, Tefner IK, Kovács L, Hodosi K, Bender T (2018) The effects of the calcium-magnesium-bicarbonate content in thermal mineral water on chronic low back pain: a randomized, controlled follow-up study. *Int J Biometeorol.* ;62(5):897-905.

Gröber U, Schmidt J, Kisters K. (2015) Magnesium in Prevention and Therapy. *Nutrients* 23;7(9):8199-226.

Gutenbrunner, C. Cherid, A. Gehrke, A. Fink, M. Chronobiol, I. (2001). Circadian variations in the responsiveness of human gallbladder to sulfated mineral water, 18(6):1029-39.

Guyton A. Tratado de fisiología médica duodécima edición 2011, Mississippi-Jackson.

Han F. Xu F. LHuang Y, Chen T, Zhou T, Yang L. (2018) Magnesium sulphate can alleviate oxidative stress and reduce inflammatory cytokines in rat placenta of intrahepatic cholestasis of pregnancy model. *298(3):631-638*.

Hernandez R. Fernandez C. (2014) *Metodología de la Investigación Mexico*: Interamericana Editores S.A.

- Huamani A. (2001) Aguas termales y minerales en el Suroriente del Perú Boletín N.º 24. serie D, pág. 124
- Kerr F, Bjedov I, Sofola-Adesakin O. (2018) Molecular Mechanisms of Lithium Action: Switching the Light on Multiple Targets for Dementia Using Animal Models. *Front Mol Neurosci.* Aug 28;11:297.
- Land, N. Rocha, Bordon. Saint'Pierre, D. Ziolli, L. Hauser-Davis, A. (2018). Biliary and hepatic metallothionein, metals and trace elements in environmentally exposed neotropical cichlids *Geophagus brasiliensis* *J Trace Elem Med Biol.* ;50:347-355.
- Laurence L. Brunton. (2011) las bases farmacológicas de la terapéutica 12 edición californiana, Editorial McGrawHill. pp. 1291
- Llahuilla J. (2013) Efecto antioxidante y toxicidad aguda oral de las aguas termales de San Antonio de Putina Tesis (Mg. en Toxicología)-Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Facultad de Farmacia y Bioquímica. Escuela de Post-Grado.
- Llahuilla J. 2007, Evaluación químico toxicológico de litio en la piscina termo medicinal de San Antonio de Putina (Puno) y en la orina de las personas que la utilizan Lima, 2007. Tesis (Químico Farmacéutico)-Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Facultad de Farmacia y Bioquímica.
- Mancebo A, Scull I, González Y. (2002) Ensayo de toxicidad a dosis repetidas (28 días) por vía oral del extracto acuoso de *Morindacitrifolia* en ratas SpragueDawley *Rev. Toxicol.* (2002) 19: 73-78.
- Maraver F, Armijo F, (2010) Vademécum II de Aguas Mineromedicinales Españolas. 2da Ed. Madrid: Ed. Complutense;
- Mennuni G, Petracchia L, Fontana M, Nocchi S, Stortini E, Romoli M, Esposito E, Priori F, Grassi M, Geraci A, Serio A, Fraioli A. (2014) The therapeutic activity of sulphate-bicarbonate-calcium-magnesium mineral water in the functional disorders of the biliary tract. *Clin Ter.* 165;(5):346-352.
- OECD 407 (2008) guidelines for the testing of chemicals repeated dose 28-day oral toxicity study in rodents.

- Osorio L. Patiño T, Tagle M, Huayanay L. (2010) Percepciones, conocimientos y actitudes sobre enfermedad hepática en adultos sanos que acuden a instituciones de salud de estrato A, B y C Rev. gastroenterol. Perú, 22 (4): 310-323.
- Raimondi A. (1902), El Perú estudio mineralógico y geológico, sociedad geográfica de Lima Perú 1902 tomo IV p.357.
- Repetto, M. Repetto. (2009). Toxicología Fundamental. Sevilla: Días de Santos. pag. 425
- Sistema Nacional de Evaluación Acreditación y Certificación de la calidad educativa (SINEACE). Caracterización de la región Puno citado 12 de enero 2019 disponible en: <https://www.sineace.gob.pe/wp-content/uploads/2017/08/PERFIL-PUNO.pdf>
- Sterczer A, Vörös K, Karsai F, (1996) Effect of cholagogues on the volume of the gallbladder of dogs. Res Vet Sci. Hungary Jan; 60(1):44-7.
- Vásquez B, Del Sol M. (2010). Estudio Morfológico de la Próstata y Glándulas Vesiculares de Cobayo (*Cavia porcellus*) Int. J. Morphol 28 (4):1301-1307,
- Yupanqui Torres (2006) Análisis fisicoquímico de fuentes de Aguas Termales minerales del Callejón de Huaylas [tesis maestría] Lima: Universidad Católica Facultad de Química.



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



**INFORME DE ENSAYO CON VALOR OFICIAL
MA1705945**

LLAHUILLA QUEA JOSE ANTONIO
AV. JOSE CARLOS MARIATEGUI NRO. 2582, EL AGUSTINO
ENV / LB-342861-004
PROCEDENCIA : HUYNAPUTINA - SAP - PUNO

Fecha de Recepción SGS : 13-04-2017 10:54

Muestreo Realizado Por : CLIENTE

| Estación de Muestreo |
|----------------------|
| M5H09 |
| M4H08 |
| M2H03 |
| M1H02 |
| M3H06 |

Emitido por SGS del Perú S.A.C.

Impreso el 20/04/2017

Rocio J. Manrique Torres

CIP 136634

Coordinador de Laboratorio

Figura 11. Informe del ensayo de aguas termales fuente SGS del Perú



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



INFORME DE ENSAYO CON VALOR OFICIAL
MA1705945

| IDENTIFICACION DE MUESTRA | | | | M5H09 | M4H08 | M2H03 | M1H02 |
|----------------------------------|-------------------|--------|----------|------------------|------------------|------------------|------------------|
| FECHA DE MUESTREO | | | | 11/04/2017 | 11/04/2017 | 11/04/2017 | 11/04/2017 |
| HORA DE MUESTREO | | | | 06:13 | 06:10 | 06:00 | 06:20 |
| CATEGORIA | | | | AGUA NATURAL | AGUA NATURAL | AGUA NATURAL | AGUA NATURAL |
| SUB CATEGORIA | | | | AGUA SUBTERRANEA | AGUA SUBTERRANEA | AGUA SUBTERRANEA | AGUA SUBTERRANEA |
| Parámetro | Referencia | Unidad | LD | Resultado | Resultado | Resultado | Resultado |
| Análisis Fisicoquímico | | | | | | | |
| Sulfuro de hidrógeno Indisoluble | EW_APHA4500S2BCDH | mg/L | 0.0004 | <0.0004 | <0.0004 | <0.0004 | <0.0004 |
| Análisis de Aniones | | | | | | | |
| Cloruro | EW_EPA300_0 | mg/L | 0.025 | 1,753.600 | 1,866.160 | 1,833.735 | 1,863.800 |
| Sulfato | EW_EPA300_0 | mg/L | 0.01 | 726.45 | 781.87 | 766.34 | 779.23 |
| Metales Totales | | | | | | | |
| Aluminio Total | EW_EPA200_8 | mg/L | 0.001 | 0.036 | <0.001 | <0.001 | <0.001 |
| Antimonio Total | EW_EPA200_8 | mg/L | 0.0004 | 0.00640 | 0.00567 | 0.00517 | 0.00525 |
| Arsénico Total | EW_EPA200_8 | mg/L | 0.00003 | 0.04828 | 0.05111 | 0.04766 | 0.04952 |
| Bario Total | EW_EPA200_8 | mg/L | 0.0001 | 0.0382 | 0.0383 | 0.0381 | 0.0381 |
| Berilio Total | EW_EPA200_8 | mg/L | 0.00002 | <0.00002 | <0.00002 | <0.00002 | <0.00002 |
| Bismuto Total | EW_EPA200_8 | mg/L | 0.00001 | <0.00001 | <0.00001 | <0.00001 | <0.00001 |
| Boro Total | EW_EPA200_8 | mg/L | 0.002 | 46.319 | 45.589 | 47.089 | 46.582 |
| Cadmio Total | EW_EPA200_8 | mg/L | 0.00001 | <0.00001 | <0.00001 | <0.00001 | <0.00001 |
| Calcio Total | EW_EPA200_8 | mg/L | 0.003 | 231.731 | 226.329 | 222.030 | 221.076 |
| Cerio Total | EW_EPA200_8 | mg/L | 0.00008 | <0.00008 | <0.00008 | <0.00008 | <0.00008 |
| Cesio Total | EW_EPA200_8 | mg/L | 0.0001 | 2.5766 | 2.6632 | 2.6111 | 2.6832 |
| Cobalto Total | EW_EPA200_8 | mg/L | 0.00001 | 0.00039 | 0.00038 | 0.00041 | <0.00001 |
| Cobre Total | EW_EPA200_8 | mg/L | 0.00003 | <0.00003 | <0.00003 | <0.00003 | <0.00003 |
| Cromo Total | EW_EPA200_8 | mg/L | 0.0001 | <0.0001 | <0.0001 | <0.0001 | <0.0001 |
| Estroncio Total | EW_EPA200_8 | mg/L | 0.00003 | <0.00003 | <0.00003 | <0.00003 | <0.00003 |
| Estroncio Total | EW_EPA200_8 | mg/L | 0.0002 | 6.1224 | 5.7701 | 5.8301 | 5.7201 |
| Fosforo Total | EW_EPA200_8 | mg/L | 0.015 | <0.015 | <0.015 | <0.015 | <0.015 |
| Galio Total | EW_EPA200_8 | mg/L | 0.00004 | <0.00004 | <0.00004 | <0.00004 | <0.00004 |
| Germanio Total | EW_EPA200_8 | mg/L | 0.0002 | 0.0111 | 0.0108 | 0.0113 | 0.0107 |
| Hafnio Total | EW_EPA200_8 | mg/L | 0.00005 | <0.00005 | <0.00005 | <0.00005 | <0.00005 |
| Hierro Total | EW_EPA200_8 | mg/L | 0.0004 | <0.0004 | <0.0004 | <0.0004 | <0.0004 |
| Lantano Total | EW_EPA200_8 | mg/L | 0.0005 | <0.0005 | <0.0005 | <0.0005 | <0.0005 |
| Litio Total | EW_EPA200_8 | mg/L | 0.0001 | 22.3266 | 22.0742 | 21.9013 | 20.9051 |
| Lutecio Total | EW_EPA200_8 | mg/L | 0.00002 | <0.00002 | <0.00002 | <0.00002 | <0.00002 |
| Magnesio Total | EW_EPA200_8 | mg/L | 0.001 | 52.593 | 53.643 | 52.985 | 53.876 |
| Manganeso Total | EW_EPA200_8 | mg/L | 0.00003 | 0.20385 | 0.18846 | 0.18397 | 0.09197 |
| Mercurio Total | EW_EPA200_8 | mg/L | 0.00003 | <0.00003 | <0.00003 | <0.00003 | <0.00003 |
| Molibdeno Total | EW_EPA200_8 | mg/L | 0.00002 | 0.00452 | 0.00402 | 0.00401 | 0.00393 |
| Niobio Total | EW_EPA200_8 | mg/L | 0.0005 | <0.0005 | <0.0005 | <0.0005 | <0.0005 |
| Niquel Total | EW_EPA200_8 | mg/L | 0.0002 | <0.0002 | <0.0002 | <0.0002 | <0.0002 |
| Plata Total | EW_EPA200_8 | mg/L | 0.000003 | <0.000003 | <0.000003 | <0.000003 | <0.000003 |
| Plomo Total | EW_EPA200_8 | mg/L | 0.0002 | <0.0002 | <0.0002 | <0.0002 | <0.0002 |
| Polonio Total | EW_EPA200_8 | mg/L | 0.04 | 76.20 | 75.59 | 71.42 | 74.49 |
| Rubidio Total | EW_EPA200_8 | mg/L | 0.0003 | 0.2785 | 0.2612 | 0.2607 | 0.2564 |
| Selenio Total | EW_EPA200_8 | mg/L | 0.0004 | 0.0025 | 0.0022 | 0.0021 | 0.0029 |
| Silicio Total | EW_EPA200_8 | mg/L | 0.09 | 44.73 * | 44.82 * | 45.10 * | 46.55 * |
| Silicio Total | EW_EPA200_8 | mg/L | 0.04 | 20.91 | 20.95 | 21.08 | 21.76 |
| Sodio Total | EW_EPA200_8 | mg/L | 0.006 | 1,639.259 | 1,569.690 | 1,601.855 | 1,608.821 |
| Talio Total | EW_EPA200_8 | mg/L | 0.00002 | 0.00033 | 0.00032 | 0.00032 | 0.00026 |
| Tantalio Total | EW_EPA200_8 | mg/L | 0.0007 | <0.0007 | <0.0007 | <0.0007 | <0.0007 |
| Teluro Total | EW_EPA200_8 | mg/L | 0.001 | <0.001 | <0.001 | <0.001 | <0.001 |
| Torio Total | EW_EPA200_8 | mg/L | 0.00005 | <0.00005 | <0.00005 | <0.00005 | <0.00005 |
| Titanio Total | EW_EPA200_8 | mg/L | 0.0002 | 0.0238 | 0.0227 | 0.0217 | 0.0220 |
| Uranio Total | EW_EPA200_8 | mg/L | 0.000003 | <0.000003 | <0.000003 | <0.000003 | <0.000003 |
| Vanadio Total | EW_EPA200_8 | mg/L | 0.0001 | <0.0001 | <0.0001 | <0.0001 | <0.0001 |
| Wolframio Total | EW_EPA200_8 | mg/L | 0.0002 | <0.0002 | <0.0002 | <0.0002 | <0.0002 |
| Yterbio Total | EW_EPA200_8 | mg/L | 0.00002 | <0.00002 | <0.00002 | <0.00002 | <0.00002 |
| Zinc Total | EW_EPA200_8 | mg/L | 0.0008 | <0.0008 | <0.0008 | <0.0008 | <0.0008 |
| Zirconio Total | EW_EPA200_8 | mg/L | 0.00015 | <0.00015 | <0.00015 | <0.00015 | <0.00015 |

| IDENTIFICACION DE MUESTRA | | | | M3H06 |
|----------------------------------|-------------------|--------|--------|------------------|
| FECHA DE MUESTREO | | | | 11/04/2017 |
| HORA DE MUESTREO | | | | 06:05 |
| CATEGORIA | | | | AGUA NATURAL |
| SUB CATEGORIA | | | | AGUA SUBTERRANEA |
| Parámetro | Referencia | Unidad | LD | Resultado |
| Análisis Fisicoquímico | | | | |
| Sulfuro de hidrógeno Indisoluble | EW_APHA4500S2BCDH | mg/L | 0.0004 | <0.0004 |
| Análisis de Aniones | | | | |

Figura 12. Informe del ensayo de aguas termales. Fuente SGS del Perú



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



**INFORME DE ENSAYO CON VALOR OFICIAL
MA1705945**

| IDENTIFICACIÓN DE MUESTRA | | | | M3H06 |
|----------------------------|-------------|--------|----------|------------------|
| FECHA DE MUESTREO | | | | 11/04/2017 |
| HORA DE MUESTREO | | | | 06:05 |
| CATEGORIA | | | | AGUA NATURAL |
| SUB CATEGORIA | | | | AGUA SUBTERRANEA |
| Parámetro | Referencia | Unidad | LD | Resultado |
| Análisis de Aniones | | | | |
| Cloruro | EW EPA300 0 | mg/L | 0.025 | 1,854.930 |
| Sulfato | EW EPA300 0 | mg/L | 0.01 | 779.21 |
| Metales Totales | | | | |
| Aluminio Total | EW EPA200 8 | mg/L | 0.001 | <-0.001 |
| Antimonio Total | EW EPA200 8 | mg/L | 0.00004 | 0.00478 |
| Arsénico Total | EW EPA200 8 | mg/L | 0.00003 | 0.04552 |
| Bario Total | EW EPA200 8 | mg/L | 0.0001 | 0.0350 |
| Berilio Total | EW EPA200 8 | mg/L | 0.00002 | <-0.00002 |
| Bismuto Total | EW EPA200 8 | mg/L | 0.00001 | <-0.00001 |
| Boro Total | EW EPA200 8 | mg/L | 0.002 | 44.711 |
| Cadmio Total | EW EPA200 8 | mg/L | 0.00001 | <-0.00001 |
| Calcio Total | EW EPA200 8 | mg/L | 0.003 | 212.078 |
| Cerio Total | EW EPA200 8 | mg/L | 0.00008 | <-0.00008 |
| Cesio Total | EW EPA200 8 | mg/L | 0.0001 | 2.5761 |
| Cobalto Total | EW EPA200 8 | mg/L | 0.00001 | 0.00045 |
| Cobre Total | EW EPA200 8 | mg/L | 0.00003 | <-0.00003 |
| Cromo Total | EW EPA200 8 | mg/L | 0.0001 | <-0.0001 |
| Estaño Total | EW EPA200 8 | mg/L | 0.00003 | <-0.00003 |
| Estroncio Total | EW EPA200 8 | mg/L | 0.0002 | 5.3665 |
| Fósforo Total | EW EPA200 8 | mg/L | 0.015 | <-0.015 |
| Gaio Total | EW EPA200 8 | mg/L | 0.00004 | <-0.00004 |
| Germanio Total | EW EPA200 8 | mg/L | 0.0002 | 0.0100 |
| Hafnio Total | EW EPA200 8 | mg/L | 0.00005 | <-0.00005 |
| Hierro Total | EW EPA200 8 | mg/L | 0.0004 | <-0.0004 |
| Lantano Total | EW EPA200 8 | mg/L | 0.0005 | <-0.0005 |
| Litio Total | EW EPA200 8 | mg/L | 0.0001 | 20.2307 |
| Lutecio Total | EW EPA200 8 | mg/L | 0.00002 | <-0.00002 |
| Magnesio Total | EW EPA200 8 | mg/L | 0.001 | 30.176 |
| Manganeso Total | EW EPA200 8 | mg/L | 0.00003 | 0.18254 |
| Mercurio Total | EW EPA200 8 | mg/L | 0.00003 | <-0.00003 |
| Molibdeno Total | EW EPA200 8 | mg/L | 0.00002 | 0.00365 |
| Niobio Total | EW EPA200 8 | mg/L | 0.0005 | <-0.0005 |
| Niquel Total | EW EPA200 8 | mg/L | 0.0002 | <-0.0002 |
| Plata Total | EW EPA200 8 | mg/L | 0.000003 | <-0.000003 |
| Piombo Total | EW EPA200 8 | mg/L | 0.0002 | <-0.0002 |
| Polonio Total | EW EPA200 8 | mg/L | 0.04 | 71.38 |
| Rubidio Total | EW EPA200 8 | mg/L | 0.0003 | 0.2405 |
| Selenio Total | EW EPA200 8 | mg/L | 0.0004 | 0.0020 |
| Silicio Total | EW EPA200 8 | mg/L | 0.05 | 42.78 * |
| Sodio Total | EW EPA200 8 | mg/L | 0.04 | 20.00 |
| Talio Total | EW EPA200 8 | mg/L | 0.006 | 1,505.918 |
| Talio Total | EW EPA200 8 | mg/L | 0.00002 | 0.00027 |
| Tantalo Total | EW EPA200 8 | mg/L | 0.0007 | <-0.0007 |
| Teluro Total | EW EPA200 8 | mg/L | 0.001 | <-0.001 |
| Torio Total | EW EPA200 8 | mg/L | 0.00005 | <-0.00005 |
| Titanio Total | EW EPA200 8 | mg/L | 0.0002 | 0.0218 |
| Uranio Total | EW EPA200 8 | mg/L | 0.000003 | <-0.000003 |
| Vanadio Total | EW EPA200 8 | mg/L | 0.0001 | <-0.0001 |
| Wolframio Total | EW EPA200 8 | mg/L | 0.0002 | <-0.0002 |
| Yterbio Total | EW EPA200 8 | mg/L | 0.00002 | <-0.00002 |
| Zinc Total | EW EPA200 8 | mg/L | 0.0008 | <-0.0008 |
| Zirconio Total | EW EPA200 8 | mg/L | 0.00015 | <-0.00015 |

Figura13, Análisis de aguas termales de San Antonio de Putina, en laboratorio SGS del Perú



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



**INFORME DE ENSAYO CON VALOR OFICIAL
MA1705945**

CONTROL DE CALIDAD

| |
|---|
| LD: Límite de detección |
| MB: Blanco del proceso. |
| LCS %Recovery: Porcentaje de recuperación del patrón de proceso. |
| MS %Recovery: Porcentaje de recuperación de la muestra adicionada. |
| MSD %RPD: Diferencia Porcentual Relativa entre los duplicados de la muestra adicionada. |
| Dup %RPD: Diferencia Porcentual Relativa entre los duplicados del proceso. |

| Parámetro | Unidad | LD | Fecha de Análisis | MB | DUP %RPD | LCS %Recovery | MS %Recovery | MSD %RPD |
|----------------------------------|--------|----------|-------------------|-----------|----------|---------------|--------------|----------|
| Sulfuro de hidrógeno Indisoluble | mg/L | 0.0004 | 13/04/2017 | <0.0004 | | 97 - 108% | 107% | 12% |
| Aluminio Total | mg/L | 0.001 | 13/04/2017 | <0.001 | 0 - 8% | NA - 102% | NA - 101% | NA - 0% |
| Antimonio Total | mg/L | 0.00004 | 13/04/2017 | <0.00004 | 0 - 6% | 101% | 94 - 98% | 0 - 2% |
| Arsénico Total | mg/L | 0.00003 | 13/04/2017 | <0.00003 | 0 - 8% | 107% | 93 - 108% | 2 - 7% |
| Bario Total | mg/L | 0.0001 | 13/04/2017 | <0.0001 | 0 - 8% | 100 - 103% | 96 - 99% | 0% |
| Berilio Total | mg/L | 0.00002 | 13/04/2017 | <0.00002 | 0 - 4% | 101 - 102% | 101 - 102% | 0% |
| Bismuto Total | mg/L | 0.00001 | 13/04/2017 | <0.00001 | 0% | 101 - 107% | 102 - 105% | 0% |
| Boro Total | mg/L | 0.002 | 13/04/2017 | <0.002 | 0 - 6% | 101 - 102% | 94 - 99% | 0 - 2% |
| Cadmio Total | mg/L | 0.00001 | 13/04/2017 | <0.00001 | 0% | 107% | 106 - 108% | 0% |
| Calcio Total | mg/L | 0.003 | 13/04/2017 | <0.003 | 0 - 7% | 101 - 103% | 98 - 99% | 0% |
| Cerio Total | mg/L | 0.00008 | 13/04/2017 | <0.00008 | 0 - 2% | 105 - 108% | 106 - 107% | 0% |
| Cesio Total | mg/L | 0.0001 | 13/04/2017 | <0.0001 | 0 - 5% | 100 - 104% | 93 - 106% | 0% |
| Cobalto Total | mg/L | 0.00001 | 13/04/2017 | <0.00001 | 0 - 7% | 103 - 108% | 95 - 104% | 0% |
| Cobre Total | mg/L | 0.00003 | 13/04/2017 | <0.00003 | 0 - 1% | 103 - 108% | 97 - 104% | 0% |
| Cromo Total | mg/L | 0.0001 | 13/04/2017 | <0.0001 | 0 - 1% | 102 - 107% | 101 - 108% | 0% |
| Estaño Total | mg/L | 0.00003 | 13/04/2017 | <0.00003 | 0% | 102 - 109% | 105 - 109% | 0% |
| Estroncio Total | mg/L | 0.0002 | 13/04/2017 | <0.0002 | 0 - 8% | 107 - 108% | 101 - 102% | 0 - 1% |
| Fósforo Total | mg/L | 0.015 | 13/04/2017 | <0.015 | 0 - 7% | NA - 106% | NA - 102% | NA - 0% |
| Galio Total | mg/L | 0.00004 | 13/04/2017 | <0.00004 | 0 - 2% | 103 - 108% | 104 - 107% | 0% |
| Germanio Total | mg/L | 0.0002 | 13/04/2017 | <0.0002 | 0 - 4% | 106 - 107% | 99 - 104% | 0% |
| Hafnio Total | mg/L | 0.00005 | 13/04/2017 | <0.00005 | 0 - 1% | 106% | 106 - 108% | 0% |
| Hierro Total | mg/L | 0.0004 | 13/04/2017 | <0.0004 | 0 - 3% | 102 - 104% | 99 - 104% | 0% |
| Lantano Total | mg/L | 0.0005 | 13/04/2017 | <0.0005 | 0 - 1% | 103 - 108% | 104 - 106% | 0% |
| Litio Total | mg/L | 0.0001 | 13/04/2017 | <0.0001 | 0 - 8% | 98 - 105% | 100 - 101% | 0% |
| Lutecio Total | mg/L | 0.00002 | 13/04/2017 | <0.00002 | 0% | 106% | 104 - 106% | 0% |
| Magnesio Total | mg/L | 0.001 | 13/04/2017 | <0.001 | 0 - 6% | 101 - 105% | 100 - 101% | 0 - 2% |
| Manganeso Total | mg/L | 0.00003 | 13/04/2017 | <0.00003 | 0 - 4% | 98 - 101% | 96 - 109% | 0 - 10% |
| Mercurio Total | mg/L | 0.00003 | 13/04/2017 | <0.00003 | 0% | 100 - 104% | 102 - 104% | 0% |
| Molibdeno Total | mg/L | 0.00002 | 13/04/2017 | <0.00002 | 0 - 7% | 105 - 106% | 99% | 0 - 1% |
| Niobio Total | mg/L | 0.0005 | 13/04/2017 | <0.0005 | 0% | 104 - 105% | 103 - 106% | 0% |
| Niquel Total | mg/L | 0.0002 | 13/04/2017 | <0.0002 | 0 - 1% | 103 - 107% | 104 - 106% | 0% |
| Plata Total | mg/L | 0.000003 | 13/04/2017 | <0.000003 | 0% | 104% | 103 - 106% | 0% |
| Piomio Total | mg/L | 0.0002 | 13/04/2017 | <0.0002 | 0 - 5% | 106 - 107% | 104 - 107% | 0% |
| Potasio Total | mg/L | 0.04 | 13/04/2017 | <0.04 | 0 - 4% | NA - 101% | NA - 100% | NA - 0% |
| Rubidio Total | mg/L | 0.0003 | 13/04/2017 | <0.0003 | 0 - 8% | 103 - 107% | 103 - 105% | 0% |
| Selenio Total | mg/L | 0.0004 | 13/04/2017 | <0.0004 | 0 - 2% | 103 - 104% | 98 - 101% | 0% |
| Silice Total | mg/L | 0.09 | 13/04/2017 | <0.09 | 0 - 8% | NA - 92% | NA - 94% | NA - 0% |
| Silicio Total | mg/L | 0.04 | 13/04/2017 | <0.04 | 0 - 8% | NA - 92% | NA - 94% | NA - 0% |
| Sodio Total | mg/L | 0.006 | 13/04/2017 | <0.006 | 0 - 3% | 102 - 106% | 97 - 98% | 0% |
| Talio Total | mg/L | 0.00002 | 13/04/2017 | <0.00002 | 0 - 1% | 101 - 105% | 93 - 96% | 2 - 4% |
| Tantalio Total | mg/L | 0.0007 | 13/04/2017 | <0.0007 | 0% | 101 - 103% | 105 - 107% | 0 - 1% |
| Teluro Total | mg/L | 0.001 | 13/04/2017 | <0.001 | 0% | 105 - 107% | 105 - 106% | 0% |
| Thorio Total | mg/L | 0.00005 | 13/04/2017 | <0.00005 | 0% | 105 - 106% | 106 - 109% | 0% |
| Titanio Total | mg/L | 0.0002 | 13/04/2017 | <0.0002 | 0 - 7% | NA - 105% | NA - 99% | NA - 2% |
| Uranio Total | mg/L | 0.000003 | 13/04/2017 | <0.000003 | 0% | 105 - 107% | 106% | 0% |
| Vanadio Total | mg/L | 0.0001 | 13/04/2017 | <0.0001 | 0 - 4% | 106% | 104 - 106% | 0% |
| Wolframio Total | mg/L | 0.0002 | 13/04/2017 | <0.0002 | 0% | 105 - 106% | 105 - 106% | 0% |
| Yterbio Total | mg/L | 0.00002 | 13/04/2017 | <0.00002 | 0% | 105 - 106% | 105 - 106% | 0% |
| Zinc Total | mg/L | 0.0008 | 13/04/2017 | <0.0008 | 0% | 102 - 103% | 99% | 0 - 1% |
| Zirconio Total | mg/L | 0.00015 | 13/04/2017 | <0.00015 | 0 - 1% | 105 - 107% | 106 - 108% | 0% |
| Cloruro | mg/L | 0.025 | 13/04/2017 | <0.025 | 0 - 1% | 101% | 99 - 100% | 0% |
| Sulfato | mg/L | 0.01 | 13/04/2017 | <0.01 | 0 - 1% | 99 - 100% | 99 - 101% | 0% |

Figura 14, resultados del control de calidad del ensayo de las aguas en laboratorio de SGS del Perú



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



**INFORME DE ENSAYO CON VALOR OFICIAL
MA1705945**

REFERENCIAS DE MÉTODOS DE ENSAYO

| Referencia | Sede | Parámetro | Método de Ensayo |
|-------------------|--------|----------------------------------|--|
| EW_APHA4500S2BCDH | Callao | Sulfuro de Hidrogeno Indisoluble | SMEWW-APHA-AWWA-WEF Part 4500-S2 B,C,D,H: 2012; 22nd Ed. - Sulfide Methylene Blue Method. Calculation of Un-ionized Hydrogen Sulfide |
| EW_EPA200_8 | Callao | Metales Totales | EPA 200.8: 1994 Rev 5.4 Determination of Trace Elements in Waters and Wastes by Inductively Coupled Plasma - Mass Spectrometry. |
| EW_EPA300_0 | Callao | Aniones | EPA 300.0. Rev. 2.1. 1993. Determination Of Inorganic Anions By Ion Chromatography. |

Notas:

El reporte de tiempo se realiza en el sistema horario de 24 horas.

Las muestras recibidas cumplen con las condiciones necesarias para la realización de los análisis solicitados.

(* El método indicado no ha sido acreditado por el INACAL - DA , para la matriz en mención.

Los resultados del Informe de ensayo sólo son válidos para la(s) muestra(s) ensayada(s) y no deben ser utilizados como una certificación de conformidad con normas de producto o como certificado del sistema de calidad.
Cualquier modificación no autorizada, fraude o falsificación del contenido o de la apariencia de este documento es ilegal y los culpables pueden ser procesados con el máximo rigor de la ley.
SGS del Perú SAC Laboratorios está acreditado por INACAL - DA conforme a los requisitos de NTP ISO/IEC 17025 para los ensayos especificados en el alcance de acreditación, el cual se encuentra en www.inacal.gob.pe.
Este documento es emitido por la Compañía bajo sus Condiciones Generales de Servicio, que pueden encontrarse en la página <http://www.sgs.pe/es-ES/Terms-and-Conditions.aspx> Son especialmente importantes las disposiciones sobre limitación de responsabilidad, pago de indemnizaciones y jurisdicción definidas en dichas Condiciones Generales de Servicio.

Página 5 de 5

Figura 15. referencia de los métodos del ensayo



Figura 16 administración del agua **Figura 17** sacando ecografía al cobayo en estudio.



Figura 18 ecografía (ecograms) de la vesícula biliar de cobayos

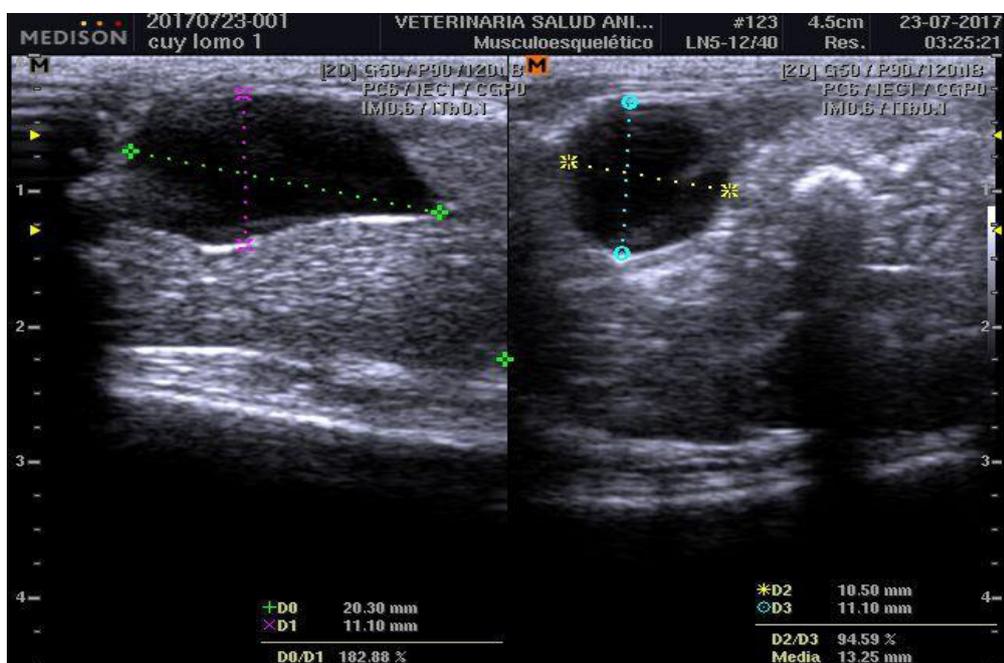
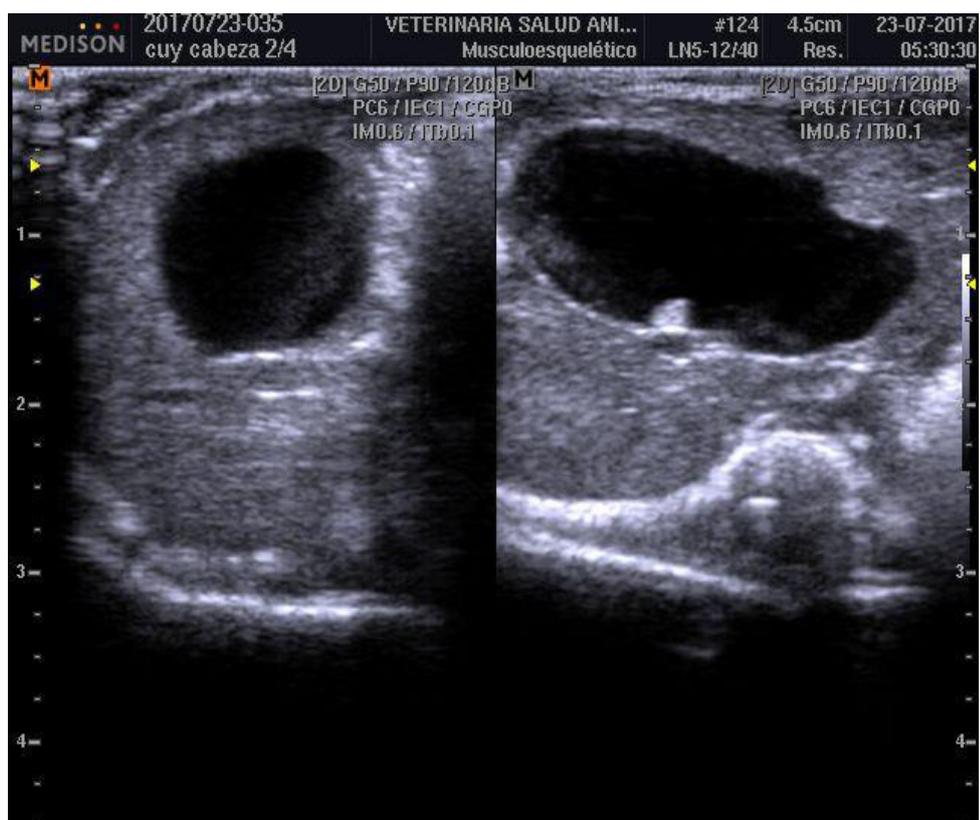


Figura 19. Imágenes de la vesícula biliar de cobayos por ecografía

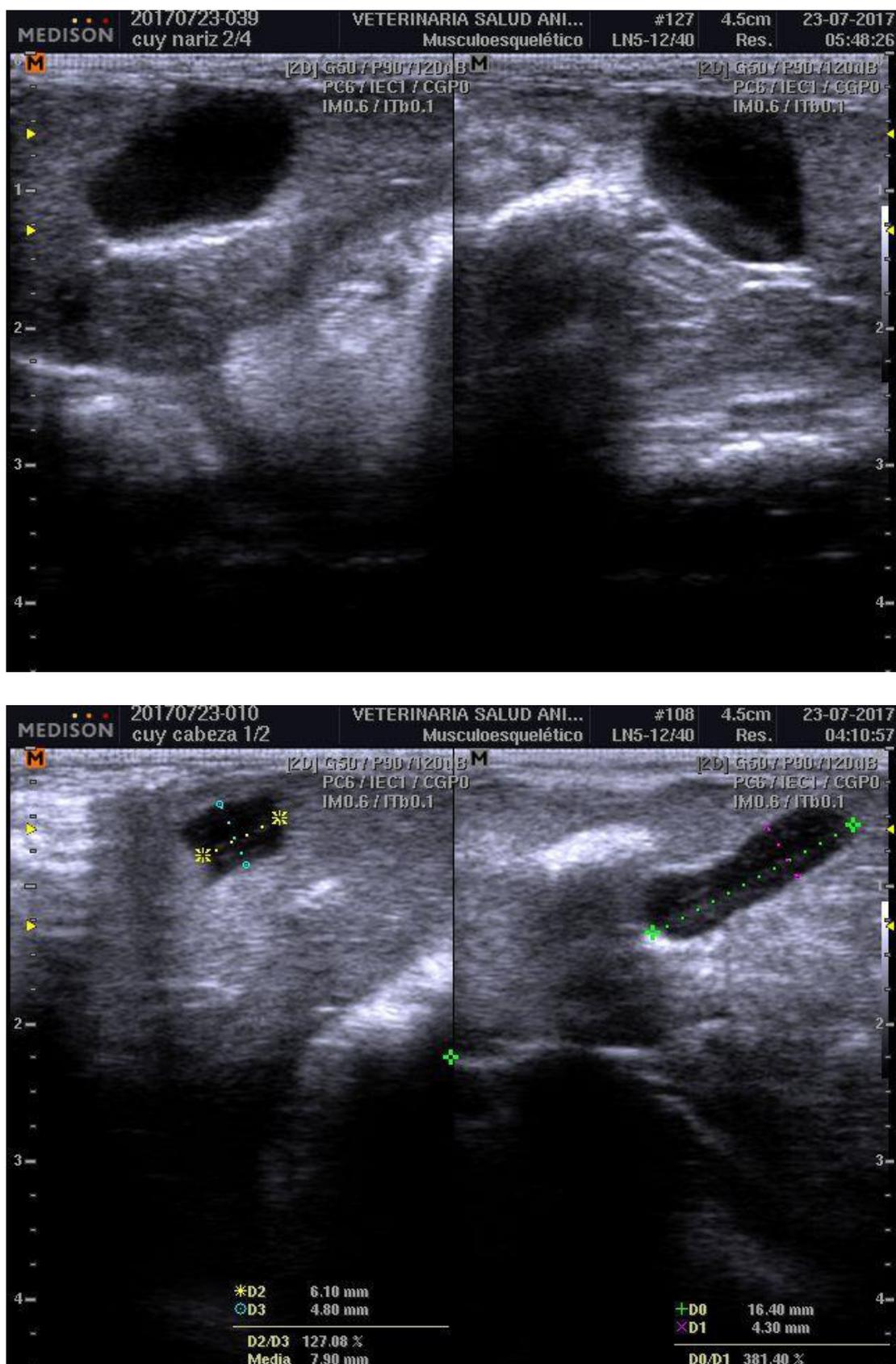


Figura 20, imágenes de vesícula biliar corte longitudinal y transversal.



Figura 21 observación de signos y comportamiento a ratas



Figura 22 necropsia de ratas, extracción de órganos de interés toxicológico

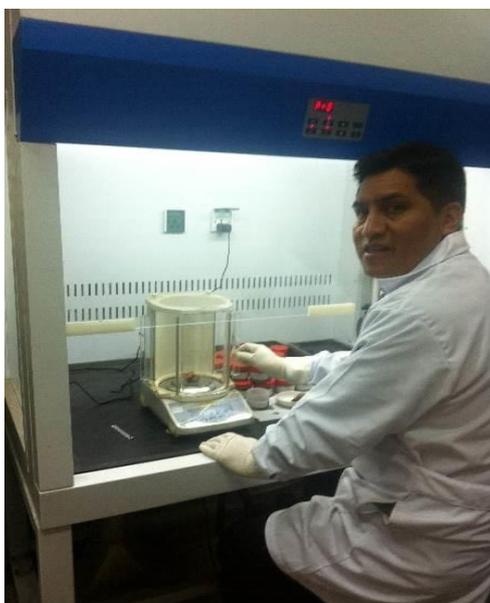


Figura 23, peso de los órganos de ratas albinas en la balanza analítica



Figura 24 valor del peso de los órganos (hígado) para la toxicidad.



Figura 25 Fuente termal Huayna Putina **Figura 26** lugar de toma de muestra del agua termal para su análisis



Figura 27 frascos de envase polimérico con muestras (para aniones, cationes y gases) de agua termal de san Antonio de Putina