



Mutagenicidad de aguas antes y después de clorar en la planta de potabilización Empopamplona

Natalia T Villamizar Cote. ¹, Luz Janeth Orozco ², Iván Meléndez Gélvez¹

1 Facultad de Ciencias Básicas, Grupo de Investigación en Biología Molecular .Universidad de Pamplona, Colombia.

2 Universidad de Antioquia, Antioquia, Colombia, Grupo de Gestión y Modelación Ambiental.

Resumen

Las aguas de consumo pueden contaminarse con pesticidas, desechos industriales, aguas negras y subproductos de la cloración, dichos compuestos pueden producir enfermedades tales como el cáncer.

La planta de purificación de agua del municipio de Pamplona (EMPOPAMPLONA), se abastece de cuatro microcuencas que atraviesan zonas agrícolas en las cuales se utilizan indiscriminadamente pesticidas con el fin de erradicar las plagas; estos pesticidas pueden llegar por escorrentía a las aguas que son tomadas para luego distribuir como agua potable a una parte de la población de Pamplona. Dichas aguas también pueden contaminarse con desechos domiciliarios debido a que las fuentes abastecedoras pasan por caseríos. Además las aguas de consumo pueden contaminarse con los subproductos del proceso de cloración, los cuales se ha demostrado son fuertes mutágenos. En el presente trabajo se evaluó la genotoxicidad y mutágenicidad inducida por aguas antes y después de ser tratadas con cloro en una planta de potabilización en Pamplona Norte de Santander. Para detectar la actividad mutagénica se utilizó el test de Ames con *Salmonella typhimurium*. Los resultados evidencian que en los tres tipos de aguas (crudas, tratadas y cloradas) hay presencia de compuestos mutagénicos y genotóxicos los cuales pueden constituir un riesgo para la población expuesta, dado que se sabe de la estrecha relación que existe entre la exposición a mutágenos y la aparición enfermedades como el cáncer.

Palabras clave : Mutágenicidad, genotoxicidad, agua, cáncer, test de ames, cloración

Mutagenicity of water before and after chlorination in water treatment plant Empopamplona

Abstract

The drinking water may be contaminated with pesticides, industrial wastes, sewage and chlorination byproducts, such compounds can cause diseases such as cancer. The water purification plant in the municipality of Pamplona (EMPOPAMPLONA) is supplied by four micro-watersheds that cross agricultural areas where pesticides are used indiscriminately to eradicate pests; these pesticides can run-off into the waters that are taken and then distributed as drinking water to one part of the population of Pamplona. These waters can also be contaminated with household waste because the supply sources pass through villages. Moreover, drinking water can be contaminated



04

with the by-products of the chlorination process, which have been shown are strong mutagens. In this work was evaluated mutagenicity induced by water before and after being treated with chlorine in a drinking water treatment plant in Pamplona Norte de Santander. To detect mutagenic activity was used the Ames test with *Salmonella typhimurium*. The results show that in all three types of water (raw, treated and chlorinated water) are present mutagenic compounds, which may constitute a risk to the exposed population, because it is known of the close relationship between exposure to mutagens and onset diseases such as cancer.

Keywords: Genotoxicity, mutagenicity, water, cancer, Ames test, chlorination.

+ Autor para el envío de correspondencia y la solicitud de las separatas: Melendez G I. Grupo de Investigación en Biología Molecular .Universidad de Pamplona, Colombia. imgelvez@unipamplona.edu.co

Recibido: Noviembre 15 de 2013 Aceptado: Junio12 de 2014



05

INTRODUCCION

La planta de purificación de agua del municipio de Pamplona (EMPOPAMPLONA), se abastece de 4 microcuencas: Ucuques, Morronegro, El Rosal o el Volcán y Cariongo o Monteadentro. Estas atraviesan las veredas Monteadentro, García, Alto Grande, Rosal y Navarro. La cobertura vegetal está constituida por áreas de misceláneos con cultivos transitorios de maíz, papa, arveja, frijol, cultivos semipermanentes como fresa, arracacha; cultivos permanentes como curuba, morón, tomate de árbol, lulo; como también áreas en pastos y rastrojos, por lo tanto las quebradas pueden recibir lixiviados cargados con pesticidas ya que recorren zonas agrícolas, también pueden recibir desechos domiciliarios por pasar por caseríos. Cabe resaltar que el tratamiento que se le hace al agua utilizando cloro como desinfectante, también puede aportar compuestos mutagénicos debido a la reacción de este con el material orgánico. Esto es preocupante porque los mutágenos presentes en el agua de consumo llegan continuamente a la población en cantidades muy pequeñas que pueden causar daño genético acumulable, que origina enfermedades tales como el cáncer y enfermedades hereditarias (Meléndez et al.2001). Muchos de los desechos industriales que presentan efecto mutagenico son frecuentemente vertidos a las aguas de quebradas y ríos que luego son usados para surtir las plantas de tratamiento de las aguas para consumo humano.(Tirado et al.2010; Kummerer 2009; Pereira et

al.2007; Mizuno et al.2007; Zuleta M., Meléndez I. 2001; Koivusalo et al.1997). Varios estudios epidemiológicos han mostrado que el consumo de agua clorada está asociado con un incremento en el riesgo de cáncer gástrico, de vejiga y de recto (Morelli. 2000). Según Cabello 2001, más de la mitad de los pesticidas han resultado ser potencialmente carcinogénicos. Se ha encontrado que pesticidas organofosforados como el malatión y el paratión inducen tumores mamarios en ratas (Mostafalou & Abdollahi. 2013). La mutagenicidad y carcinogenicidad de muchos pesticidas se ha demostrado ampliamente (USEPA). 2004; Carreño et al. 2007; IARC. 1991; Ames.1989). Preocupados por los reportes que a menudo están surgiendo alrededor del mundo con respecto a la presencia de mutágenos en aguas de consumo, realizamos este estudio con el fin de evaluar la genotoxicidad y mutagenicidad inducida por aguas antes y después de ser tratadas con cloro en una planta de potabilización en Pamplona Norte de Santander.

Metodología

Toma de muestras

Las muestras se tomaron a cincuenta centímetros de profundidad, el volumen total de cada muestra fue de 100L. Se captó en tres sitios diferentes: Zona 1, aguas inmediatamente antes de entrar a la planta de tratamiento de Empopamplona (Agua cruda). Zona 2, aguas tomadas después de pasar por sedimentación, coagulación y



06

floculación (Agua tratada) y Zona 3: Aguas después del proceso de cloración (Agua clorada).

Concentración y extracción del material orgánico del agua

Para concentrar el material orgánico, las muestras de agua se pasaron por una columna que contenía 100 gramos de resina XAD-2, a una velocidad aproximada de 15 ml/min. La elusión se hizo con 3 volúmenes de acetona seguida de tres volúmenes de dietil eter. Los eluyentes se retiraron por rotaevaporación a baja presión y temperatura, hasta alcanzar la sequedad. El extracto seco se disolvió en DMSO al 12%. Antes de usar las resinas XAD, se lavaron consecutivamente cada 24 horas, con metanol, acetona y metanol. En el momento de usar la XAD se enjuagó tres veces con agua destilada.

Detección de la potencialidad mutagénica por el test de ames

El efecto mutagénico de los extractos del material orgánico del agua se determina por medio del test de Ames. (Fluckiger-Isler , Kamber. 2012). En esta prueba el indicativo de la mutación está dado por la reversión his^- a his^+ , los revertantes se conocen porque crecen en medio mínimo sin histidina. Se trabaja con dos cepas de *Salmonella typhimurium*, la cepa TA 98 en la que se produce la reversión a his^+ por ganancia de un par de bases en el gen mutado, y la cepa TA-100 en la cual se produce la reversión por sustitución de un par de bases.

Se cataloga como respuesta positiva, los resultados que presentan un incremento significativo de mutación con relación al control negativo y este resultado es reproducible. Ensayos en los que se obtenga un incremento de la mutagenicidad entre dos y tres veces comparado con el control negativo, indican que la sustancia probada tiene una mutagenicidad débil y que sustancias con resultados mayores de tres tienen una mutagenicidad positiva alta (Recio-Vega et al.2011)

Resultados y discusión

Tabla 1: Numero de revertantes en *Salmonella typhimurium* cepas TA-98 y TA-100 inducidos por agua cruda, tratada y clorada; provenientes de la planta de tratamiento de Empopamplona.

	Dosis (g)	TA-98	TA-100
C-		23 ± 5	80 ± 8
Agua cruda	0,25	*246 ± 16	92 ± 6
	0,5	*362 ± 25	199 ± 9
	1,0	*648 ± 30	328 ± 13
Agua tratada	0,25	*108 ± 9	78 ± 7
	0,5	*147 ± 8	127 ± 14
	1,0	*215 ± 11	266 ± 16
Agua clorada	0,25	*233 ± 18	233 ± 11
	0,5	235 ± 13	316 ± 18
	1,0	284 ± 15	558 ± 22

Los datos corresponden al promedio tres experimentos independientes cada uno realizado por duplicado. Como control negativo se usó DMSO al 2%. El asterisco (*) indica que hubo diferencia significativa comparando con el control negativo $p \leq 0.01$.

Como podemos observar en la tabla 1 y figura 1 el número de revertantes en

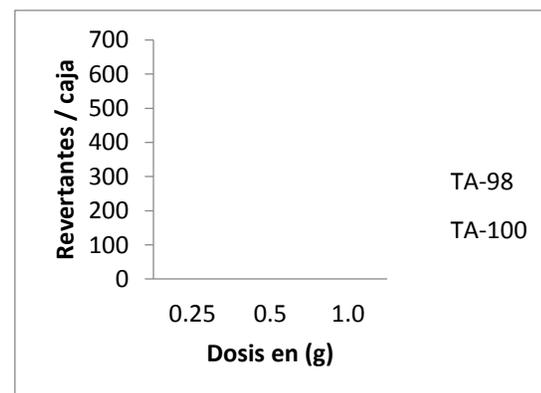
07

la cepa TA98 para la muestra de agua cruda supera hasta 28 veces las revertantes del control negativo, mientras que en la cepa TA-100 solamente se supera hasta cuatro veces el control. De igual manera podemos observar un efecto de dosis, dado que se da un incremento significativo ($p \leq 0.01$) a medida que se aumenta la dosis. De acuerdo a los resultados mostrados nos podemos dar cuenta que en el agua cruda predominan los compuestos cuyo mecanismo molecular de acción es la pérdida o ganancia de bases, comparado con los compuestos que inducen la mutación por sustitución de bases, que son aquellos detectados por la cepa TA-100. Debido a que las quebradas que surten la planta atraviesan zonas de cultivos de fresa, mora, papa, zonas ganaderas y asentamientos humanos, las aguas pueden contaminarse por escorrentía con pesticidas, agroquímicos y desechos antropogénicos, de los cuales ya se tiene evidencia de su relación con la aparición de diversas enfermedades.

Por ejemplo se ha demostrado que la exposición a compuestos Organoclorados está relacionada con el aumento de la incidencia de cáncer de mama (Schug et al.2011), los organoclorados también actúan como xenoestrógenos por interrumpir la función endocrina normal (Mastandrea et al.2005). De igual manera se ha evidenciado que algunos hidrocarburos policíclicos aromáticos (HPA) presentes en aguas son compuestos carcinógenos y/o

mutágenos y posibles disruptores endocrinos.(Webster, Muller-Isberner y Fransson.2002). El Benzo(a) pireno (BaP) es uno de los HPA que posee la capacidad de desarrollar efectos carcinogénicos, genotóxicos y/o mutagénicos Se han observado diferentes efectos citogenéticos inducidos por los pesticidas, principalmente Aberraciones cromosómicas (AC), Intercambio de cromátidas hermanas (ICH) y Micronúcleos (MN) en poblaciones laboralmente expuestas a plaguicidas (DeVoto y Yokel.1994). Por esta razón podemos atribuir la respuesta mutagénica encontrada en esta muestra a los compuestos mutagénicos anteriormente expuestos.

Figura 1. Numero de revertantes de *Salmonella typhimurium* en la cepa TA-98 Y TA-100 inducido por extractos de agua cruda provenientes de la planta de potabilización.



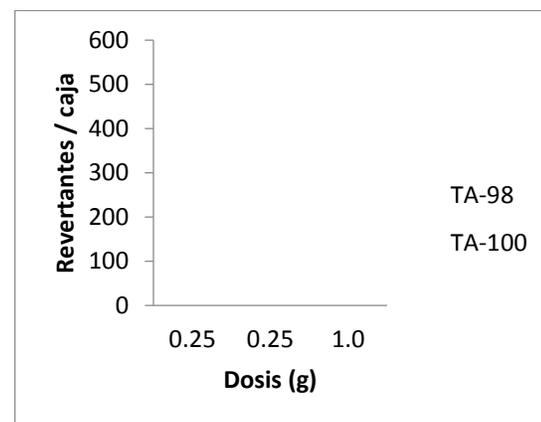
Como control negativo se usó DMSO al 2%. Cada ensayo se realizó por triplicado. Se considera respuesta positiva si el número de revertantes del tratamiento supera más de dos veces el control negativo.

En la tabla 1 y figura 2 se observa la actividad mutagénica en la cepa TA-98

y TA-100, inducida por la muestra de agua tratada, el número de revertantes en la cepa TA98 para la muestra de agua cruda supera 13 veces las revertantes del control negativo, de igual manera, el número de revertantes en la cepa TA-100 para la muestra de agua cruda supera 4 veces las revertantes del control. Se observa que el tratamiento (floculación, sedimentación y coagulación) realizado al agua disminuye tres veces la actividad mutagénica inducida por la muestra de agua tratada. La actividad mutagénica en esta muestra de agua la podemos atribuir al remanente de compuestos que lograron burlar el tratamiento y a los subproductos generados en el tratamiento mismo, tal es el caso del aluminio, porque en el tratamiento del agua se usa sulfato de aluminio, el cual usa para precipitar los sólidos en suspensión durante el tratamiento de agua, un proceso que ha demostrado aumento significativo en el metal, por ejemplo (Migliore et al.1999), encontraron que la adición de $Al_2(SO_4)_3$ durante el tratamiento incrementa el nivel del metal de 0,016 a 1,17 mg /L. Se ha demostrado que el Al induce micronucleos y aberraciones cromosómicas en células humanas (WHO,1998;Pereira et al. 2012). Se ha demostrado que este metal induce cáncer de pulmón en trabajadores de las industrias de coque, aluminio y acero(Lankoff et al.2006; Banasik et al. 2005) encontraron que el Aluminio aumenta la tasa de micronúcleos y el número de células apoptóticas y que dicho aumento depende de la concentración y el tiempo de

exposición. En otros estudios usando el ensayo del túnel sobre cultivos de células neuronales se demostrado la inducción de apoptosis mediada por el aluminio.(Kovacevi', Kalafati, Horvatin 2009);Lima et al.2007). En las larvas del díptero *Chironomus Riparius*, un organismo acuático, se han evidenciado aberraciones cromosómicas. Asi mismo, en los hemocitos de la sanguijuela *Hirudo verbena* y en los eritrocitos de *Gambusia holbrooki*, se ha encontrado un aumento en el daño del ADN mediado por el aluminio.(Ternjej et al.2010; Xu.Xu.,Zou Huixian y Zhang J. (1997).

Figura 2. Numero de revertantes de *Salmonella typhimurium* en la cepa TA-98 Y TA-100 inducido por extractos de agua tratada provenientes de la planta de potabilización



Como control negativo se usó DMSO al 2%. Cada ensayo se realizó por triplicado. Se considera respuesta positiva si el número de revertantes del tratamiento supera más de dos veces el control negativo.

En la tabla 1 y figura 3, se observa la actividad mutagénica en la cepa TA-98 y TA-100, en la muestra de agua clorada. El número de revertantes en

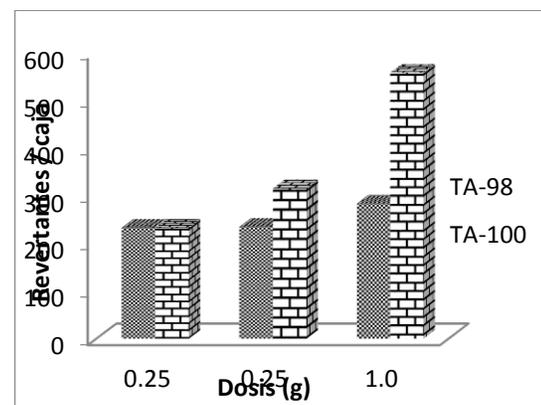
09

la cepa TA98 para la muestra de agua clorada supera 14 veces las revertantes del control negativo.. El número de revertantes en la cepa TA-100 para la muestra de agua clorada supera 7 veces las revertantes del control.

Cuando se utiliza el cloro como desinfectante para el agua potable este pueden reaccionar con materiales orgánicos originando subproductos que puedan representar un riesgo mutagénico. Se espera que en el agua clorada la mutagenicidad sea igual al agua tratada, pero se observa la muestra de agua clorada hay un incremento en la actividad mutagénica en ambas cepas la TA-98 Y TA-100, este incremento se atribuye a los subproductos generados en el proceso de cloración, los cuales son reportados como mutagenos, dentro de estos subproductos tenemos los triahalometanos (THM), muchos de los cuales son fuertes mutágenos y carcinógenos tales como el Mx (3-cloro-4-diclorometil)-5-hidroxi-2-(5H)-furanona) que es el mutacarcinógeno más abundante en aguas cloradas. (Schiliro et al.2009; Liu et al.2009; Marabini et al.2007). Se encontró que el mutágeno 3,3 dichloro -4-(dichloroetilene) -2,5- pyrrolidinedione, es el segundo en potencialidad mutagénica después del MX. Los estudios toxicológicos han demostrado que los THM bromados se metabolizan por la glutatión S-transferasa theta (GSTT1-1) a compuestos mutagénicos (DeMarini. et al.1997). Los compuestos haloacetoneitrilos, también formados

en aguas cloradas o con bromo han mostrado ser mutagénicos y carcinogénicos. Por ejemplo el dicloroacetoneitrilo (DCAN) y dibromoacetoneitrilo (DBAN) son positivos en el test de Ames; la inclusión de la mezcla S-9 aumenta la mutagenicidad del DBAN(Mortelmans et al.1986).Por estudios experimentales se ha encontrado que el Mx (3-cloro-4-diclorometil)-5-hidroxi-2-(5H)-furanona) induce cáncer en glándulas adrenales, en pulmón, páncreas y glándulas mamarias de ratas tratadas(35. Freedman et al.2001)

Figura 3. Numero de revertantes de *Salmonella typhimurium* en la cepa TA-98 Y TA-100 inducido por extractos de agua clorada provenientes de la planta de potabilización.



Como control negativo se usó DMSO al 12%. Cada ensayo se realizó por triplicado. Se considera respuesta positiva si el número de revertantes del tratamiento supera más de dos veces el control negativo

Conclusiones

Podemos concluir que a las aguas de consumo de una parte de la población



10

de Pamplona Norte de Santander, están llegando compuestos químicos provenientes de la contaminación ambiental y de los procesos mismos de potabilización.

En este estudio y acorde con otros realizados previamente, se puede determinar que los procesos convencionales de purificación del agua no son 100% efectivos para remover contaminantes químicos; por tal razón es importante continuar realizando este tipo de investigaciones con el fin de plantear alternativas que contribuyan a la disminución de la exposición, ya que en la actualidad se conoce del aumento diferentes tipos de enfermedades relacionadas con la exposición a mutagenos ambientales.

Referencias

Ames BN. (1989) Mutagenesis and carcinogenesis: endogenous and exogenous factors. *Environ. Mol. Mutagen.* 14, 66-77.

Banasik A., Lankoff A., Piskulak A., Adamowska K., Lisowska H., Wojcik A. (2005). Aluminum-induced micronuclei and apoptosis in human peripheral-blood lymphocytes treated during different phases of the cell cycle, *Environ. Toxicol.* 20 (4) 402–406.

Cabello G., Valenzuela M., Vilaxa A., Durán V., Rudolph I., Hrepic N., and Calaf C. (2001). A rat mammary tumor model induced by organophosphorous pesticides paration and malation,

possibly through acetylcholinesterase inhibition. *Environ. Health Perspectives* 109(5):471-479.

Carreño J., Rivas A., Granada A., Espinosa L., Mariscal M., Olea N., Serrano F. (2007). Exposure of young men to organochlorine pesticides in southern Spain. *Environ Research.* 103:55-61.

DeMarini. D.M., Shelton. M.L., Warren. S.H., Ross. T.M., Shim. J.Y., Richard .A.M. (1997). PEGAM, Glutathione S-transferase-mediated induction of GC → AT transitions by halomethanes in Salmonella. *Environ. Mol. Mutagen.* 30. 440–447.

DeVoto, E., Yokel, A.R. (1994). The biological speciation and toxicokinetics of Al. *Environ. Health Perspect.* 102, 940– 951.

Fluckiger-Isler S, Kamber M. (2012). Direct comparison of the Ames microplate format (MPF) test in liquid medium with the standard Ames pre-incubation assay on agar plates by use of equivocal to weakly positive test compounds. *Mutat Res.* 747(1):36-45.

Freedman AB., Robert E., Binder GR., Haddon WF. (2001). Halogenated 2,5 pyrrolinediones: Síntesis, bacterial mutagenicity in Ames tester strain TA-100 and semi-empirical molecular orbital calculations. *Mut. Res.* 490:89-98.

International Agency for Research on Cancer (IARC). (1991). Working Group. Occupational exposures in spraying and application of



insecticidas. IARC Monogr Eval Carcinog Risk Chem Hum. 53, 45–92.

Koivusalo M., Pukkala E., Vartiainen T., Jaakkola J.J., and Hakulinen T. (1997). Drinking water chlorination and cancer—a historical cohort study in Finland. *Cancer causes control*, 8:2, 192-200.

Kovacević G., Kalafatić M., Horvatin K. (2009). Aluminium deposition in hydras, *Folia Biol. (Krakow)* 57 (3–4) 139–142.

Kummerer Klaus (2009). The presence of pharmaceuticals in the environment due to human use—present knowledge and future challenges. *Journal Environ Management*. 1-13.

Lankoff, A., Banasik, A., Duma, A., Ochniak, E., Lisowska, H., Kuszewski, T., Gozdz, S., Wojcik, A. (2006). A comet assay study reveals that aluminium induces DNA damage and inhibits the repair of radiation-induced lesions in human peripheral blood lymphocytes. *Toxicol. Lett.* 161, 27–36.

Lima, P.D.L., Leite, D.S., Vasconcellos, M.C., Cavalcanti, B.C., Santos, R.A., Costa-

Liu J.R., Dong H.W., Tang X.L., Sun X.R., Han X.H., Chen B.O. *et al*, (2009). Genotoxicity of water from the Songhua river, China, in 1994-1995 and 2002-2003: potential risks from human health. *Environ Pollution*. 157:357-364.

Lotufo, L.V., Pessoa, C., Moraes, M.O., Burbano, R.R. (2007). Genotoxic effect of aluminium chloride in cultured human lymphocytes treated in different phases of cell cycle. *Food and Chemical Toxicology* 45, 1154–1159.

Marabini L., Frigerio S., Chiesara E., Maffei F., Forti G.C., Hrelia P. *et al*, (2007). In vitro cytotoxicity and genotoxicity of chlorinated drinking waters samples along the distribution system of municipal networks. *Mut. Res.* 634:1-13

Mastandrea. C., Chichizola, C., Ludueña. B., Sánchez. H., Álvarez. H., Gutiérrez. A., (2005). Hidrocarburos aromáticos policíclicos. Riesgos para la salud y marcadores biológicos. *Acta Bioquím Clín Latinoam*; 39 (1): 27-36.

Meléndez I., Zuleta M., Calle J., Salazar. D. (2001). Efecto mutagénico de aguas de consumo tratadas en la Planta Villa Hermosa. *Iatreia*. , v.14, n.Nº 3, p.167 – 175.

Migliore L., Cocchi L., Nesti C., Sabbioni E. (1999). Micronuclei assay and FISH analysis in human lymphocytes treated with six metal salts, *Environ. Mol Mutagen.* 34 (4) 279–284.

Mizuno T., Taakamara T., Watanabe T., Hasei T., Wakabayashi K., Ohe T. (2007). Quantification of a potent mutagenic 4-amino 3, 3'- dichloro –



12

5,4'-dinitrobiphenyl (ADDB) and the related chemicals in water from the waka river in Wakayama, Japan. *Mut. Res.* 630:112-121.

Morelli M. (2000). Industry viewpoint on thresholds genotoxic carcinogenic. *Toxicol Pathol* 28(3): 396-404.

Mortelmans, K., Haworth S., Lawlor T., Speck W., Taoner B., and Zaiger E. (1986). Salmonella mutagenicity test, II Results from the testing of 270 chemicals. *Environ. Mutagen.*, 8 (suppl 7) 1-119. *Toxicol. Pathol* 28: (3) 396-404

Mostafalou, S., & Abdollahi, M. (2013). Pesticides and human chronic diseases: Evidences, mechanisms, and perspectives. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 268(2), 157-177. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.taap.2013.01.025>.

Pereira. S., Cavaliea. I., Camilleria. V., Gilbinb. R, Adam-Guillermina. C.(2012). Comparative genotoxicity of aluminium and cadmium in embryonic zebrafish cells. *Mutation Research* 750 (2013) 19– 26.

Pereira T.S., Vaz Rocha J. A., Duccatti A., Silveira G.A., Pastoriza T.F., Bringuenti L. Vargas V. F. (2007) Evaluation of mutagenic activity in supply water at three sites in state of Rio grande do Sul, Brazil. *Mut. Res.* 629:71-80.

Recio-Vega, R., Velazco-Rodriguez, V., Ocampo-Gómez, G., Hernandez-

S., Ruiz-Flores, P., & Lopez-Marquez, F. (2011). Serum levels of polychlorinated biphenyls in Mexican women and breast cancer risk. *Journal of Applied Toxicology*, 31(3), 270-278. doi: 10.1002/jat.1672.

Schiliro T., Pignata C., Rovere R., Fea E., Gill G. (2009). The endocrine disrupting activity of surface water and wastewater treatment plant, effluents in relation to chlorination. *Chemosphere*. 75:335-340.

Schug, T. T., Janesick, A., Blumberg, B., & Heindel, J. J. (2011). Endocrine disrupting chemicals and disease susceptibility. *The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*, 127(3–5), 204-215. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jsbmb.2011.08.007>.

Ternjej I., Mihaljević Z., Stanković I., Kerovec M., Sipos L., Zeljezić D., et al, (2010). Estimation of DNA integrity in blood cells of eastern mosquitofish (*Gambusia holbrooki*) inhabiting an aluminium-polluted water environment: an alkaline comet assay study. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 59 (2) 182–193.

Tirado, L.G., González. O., Aragón, M. (2010). Revista Latinoamericana el ambiente y las ciencias, 1 (1):50-69, 50 Hidrocarburos aromáticos policíclicos: una amenaza potencial para la salud.

United States Environmental Protection Agency (USEPA). (2004). Office of Pesticide Programs, H. E. D.,



13

Science Information Management Branch. Chemicals evaluated for carcinogenic potential.

Xu.,Xu.,Zou Huixian and Zhang J. (1997). Formation of strong mutagen 3-cloro —4-(diclorometil) —5-hidroxi (5H) — furanon (MX). By chlorination of fractions of lake water. Water Res. Vol.31 No 5:1021-1026.

Zuleta M., Meléndez I. (2001). Genotoxicos y Carcinogenos En Aguas (minirrevisión. Actualidades Biológicas. , v.23, n.74, p.83 – 93.

Webster, C. D., Muller-Isberner, R. & Fransson, G. (2002) Violence risk assessment: using structured clinical guidelines professionally. *International Journal of Mental Health*, 1, 185– 193.

World Health Organization. International Programme on Chemical Safety (IPCS). (1998).Environmental Criteria 202. Selected non-heterocyclic PAHs. Geneva. WHO.