

LA CONTAMINACIÓN BIOLÓGICA DEL AGUA Y LA DESINFECCIÓN SOLAR

Se describen los principales organismos patógenos y las enfermedades hídricas causadas por ellos. Se mencionan también los métodos de análisis microbiológico del agua, y los problemas que plantean las enfermedades infecciosas emergentes. A continuación, se discuten los métodos de desinfección tradicionales del agua, para centrar finalmente la discusión en los métodos que usan la energía solar (o de lámparas ultravioletas) para desinfectar el agua.

■ Cecilia Paulino,^a María Cristina Apella,^b Ramón Pizarro^c y Miguel A. Blesa^d

^a Universidad Nacional de Tucumán; ^b Centro de Referencia para Lactobacilos, Universidad Nacional de Tucumán, Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas; ^c Departamento de Radiobiología, Comisión Nacional de Energía Atómica; ^d Gerencia de Química, Comisión Nacional de Energía Atómica, Instituto de Investigación e Ingeniería Ambiental, Universidad Nacional de San Martín, Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas.

miguelblesa@yahoo.es

■ CONTAMINACIÓN BIOLÓGICA

El Código Alimentario Argentino (CAA) y sus modificaciones del artículo 982 de la ley 18.284 (2007), la Organización Mundial de la Salud (OMS) en sus Guías para la calidad del agua potable y otras normas internacionales, como las de la Organización Panamericana de la Salud (OPS) y el Consejo Federal de Entidades Sanitarias (COF) establecen o recomiendan requisitos de calidad para el agua de consumo humano. En general, la normativa establece que el agua es apta bacte-

riológicamente para consumo si se encuentra exenta de microorganismos patógenos de origen entérico y parasitario intestinal.

La presencia de microorganismos patógenos en el agua de bebida es un riesgo que se incrementa en las áreas marginales de mayor densidad poblacional o en zonas sin disponibilidad de agua potable. La seguridad de que un agua contaminada puede ser causal de enfermedades, ha conducido a la necesidad de controlar rutinariamente la calidad microbiológica de muestras de diversos orígenes.

Los controles rutinarios de la totalidad de los microorganismos hídricos, potencialmente riesgosos para la salud, resultan difíciles de llevar a cabo debido a la gran variedad de bacterias patógenas cultivables, a la complejidad de los ensayos de aislamientos y a la presencia en baja concentración de varias especies altamente agresivas, sin que el orden detallado indique prioridad. Por esta razón, los análisis bacteriológicos apuntan a la búsqueda de microorganismos indicadores de contaminación fecal y se centralizan en la cuantificación de coliformes. Este

grupo está integrado por enterobacterias, siendo *Escherichia coli* el indicador universal de contaminación fecal.

La contaminación biológica de aguas es causada básicamente por la presencia de excrementos humanos o de origen animal, y está habitualmente asociada a la rápida urbanización y la falta de tratamiento de las aguas servidas.

En las aguas con contaminación biológica, ricas en materia orgánica de origen doméstico, proliferan organismos patógenos con capacidad de causar distintas afecciones incluyendo alergias, diarrea, tifus, cólera, entre otras. También son importantes otros organismos (oportunistas) que, aunque no se los clasifica como patógenos, potencialmente pueden producir enfermedades en perso-

nas con los sistemas de defensa reducidos.

En esta reseña discutiremos primero los aspectos microbiológicos de la contaminación del agua y sus consecuencias para la salud humana, poniendo énfasis en la aparición de nuevas enfermedades infecciosas (*EID: Emerging Infectious Diseases*). Posteriormente discutiremos los desarrollos recientes relacionados con el efecto de la radiación electromagnética sobre los microorganismos, y su uso para la desinfección; particularmente, nos centraremos en el uso de radiación solar para proveer agua segura a la población que no dispone de servicios de agua de red.

■ ORGANISMOS RESPONSABLES Y ENFERMEDADES DE TRANSMISIÓN HÍDRICA

La Tabla I muestra los principales organismos patógenos clásicos transmitidos a través del agua. La Tabla II muestra las enfermedades resultantes de los patógenos presentes en el agua. Muchas veces es difícil distinguir entre enfermedades causadas por el consumo de agua contaminada y las ocasionadas por condiciones deficientes de higiene, como falta de cloacas, pozos ciegos próximos, etc. Sin embargo, la causa subyacente es siempre la misma: la presencia de microorganismos patógenos en medios acuosos que ingresan al organismo ya sea por ingesta directa, o a través de manos contaminadas, etc.

Tabla I
Patógenos clásicos más frecuentes asociados con la contaminación del agua.

Tipo de Organismo	Organismo	Incidencia sanitaria	Observaciones
BACTERIAS	<i>E. coli</i> patógenos	Alta	
	<i>Salmonella typhi</i>	Alta	
	Otras salmonelas	Alta	
	<i>Shigella</i> spp.	Alta	
	<i>Vibrio Cholerae</i>	Alta	
	<i>Yersinia enterocolítica</i>	Alta	
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Mediana	Es más frecuente la transmisión por alimentos
	Otras <i>Pseudomonas</i>	Mediana	Es más frecuente la transmisión por alimentos
VIRUS	Poliovirus	Alta	
	Virus de hepatitis A	Alta	
	Enterovirus	Alta	Es más frecuente la transmisión por alimentos
	Rotavirus	Alta	Es más frecuente la transmisión por alimentos
PROTOZOOS	<i>Entamoeba histolytica</i>	Alta	Es más frecuente la transmisión por alimentos
	<i>Giardia</i> ssp.	Alta	Es más frecuente la transmisión por alimentos
	<i>Cryptosporidium</i> ssp.	Alta	Es más frecuente la transmisión por alimentos

Tabla II
Enfermedades más frecuentes asociadas con la contaminación biológica del agua.

Virósicas	Bacterianas	Protozoarias	Otras
Hepatitis A y B Poliomielitis Gastroenteritis por Rotavirus	Cólera Fiebre tifoidea Paratifoidea Shigelosis Diarreas por <i>E. coli</i>	Giardiasis Amebiasis	Ascariasis

■ ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DEL AGUA

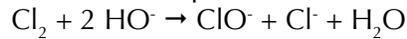
El diagnóstico de la contaminación biológica se hace mediante el análisis microbiológico del agua. Los métodos más comúnmente usados se basan en la determinación de unidades formadoras de colonias o el número más probable. Otro método, que no distingue entre bacterias vivas y bacterias muertas, es útil por su simplicidad en cierto tipo de usos. Cada uno de estos métodos tiene sus ventajas y desventajas, los mismos se describen resumidamente en el Cuadro I.

Resulta muy complejo investigar rutinariamente la presencia de todos y cada uno de los microorganismos que pueden estar presentes en el agua. Por ese motivo, el control microbiológico de la calidad del agua se realiza mediante el recuento de organismos indicadores. Los usados comúnmente son los coliformes totales y los coliformes fecales. Estos últimos en particular ponen en evidencia contacto de la fuente de agua con materia fecal.

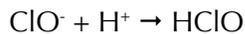
■ DESINFECCIÓN

Como ya se discutió en la Introducción, la forma más usual de tratamiento de aguas para prevenir la contaminación biológica en el agua para consumo humano recurre a la cloración, método eficiente y económico para tratar agua distribuida por redes.

En aguas alcalinas, el cloro, que es un gas moderadamente soluble en agua, se transforma mediante una reacción química conocida como dismutación en una mezcla de cloruro e hipoclorito:



En aguas de pH entre 5 y 9, esta reacción ocurre parcialmente, y se encuentra en solución tanto cloro molecular como la mezcla cloruro/hipoclorito. El poder oxidante, que es la base del poder desinfectante del cloro, permanece adecuadamente alto. Además, el hipoclorito manifiesta su afinidad por el protón, y forma ácido hipocloroso:



El ácido hipocloroso es un excelente agente desinfectante: puede atravesar con facilidad las paredes de las bacterias (habitualmente las mismas tienen carga negativa, y repelen a los iones ClO^-), y en su interior libera radicales oxigenados altamente oxidantes.

El mayor inconveniente en el uso de cloro es la generación de sustancias cloradas, los subproductos de la desinfección: si el agua contiene contaminantes orgánicos, el cloro puede atacarlos, formando compuestos organoclorados. Uno de estos productos, tal vez el más estudiado, es el cloroformo, HCCl_3 . La preocupación por la toxicidad de esta sustancia ha llevado a sugerir o requerir límites máximos en agua que van desde 80 hasta 200 $\mu\text{g/L}$. En ge-

neral, el propio proceso de potabilización remueve el grueso de la materia orgánica, y los niveles de subproductos de desinfección son adecuados. Sin embargo, cabe recordar el episodio del 3 de septiembre de 2003, cuando Aguas Argentinas, antecesora de AySA interrumpió el suministro de agua para la ciudad de Buenos Aires porque debió detener la planta potabilizadora General San Martín; esta medida obedeció a la detección en el agua de alimentación de la planta de "una sustancia orgánica que impedía hacer el proceso de potabilización". La sustancia detectada era aparentemente un fenol, con cierto grado de toxicidad de por sí, y que genera clorofenoles por cloración, de toxicidad mayor. Los niveles guía para fenol ($\text{C}_6\text{H}_5\text{OH}$) y para 2,4-diclorofenol ($\text{C}_6\text{H}_3\text{Cl}_2\text{OH}$) son 2 y 0,3 $\mu\text{g/L}$, respectivamente. La mala calidad del agua de alimentación al proceso de potabilización encarece fuertemente este proceso, si el mismo mantiene su eficiencia.

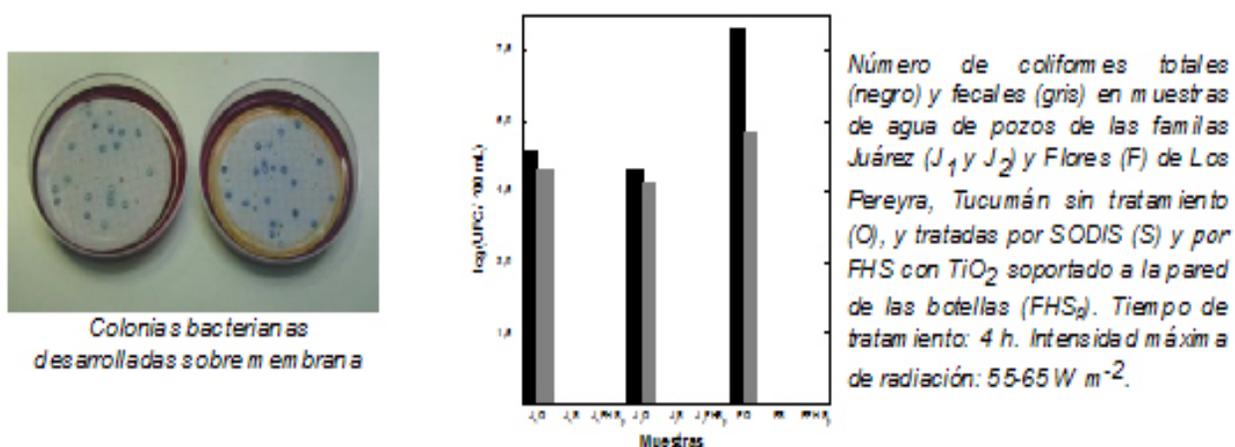
■ PATÓGENOS Y ENFERMEDADES INFECCIOSAS EMERGENTES

Hasta aquí nos hemos referido esencialmente a enfermedades de transmisión hídrica. Como se mencionó en otro artículo,² existen otras enfermedades de origen microbiológico asociadas con el uso del agua: las vinculadas con la higiene personal, con el con-

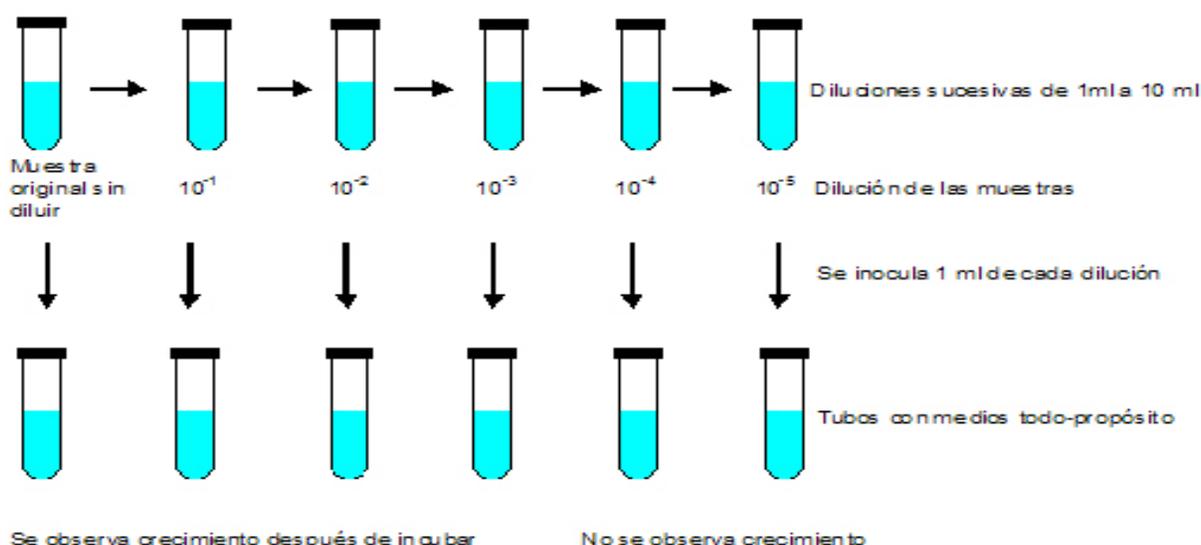
Cuadro I

Técnicas de evaluación de la calidad microbiológica de aguas

1. Determinación de las unidades formadoras de colonias (UCF). El recuento de microorganismos cultivables se puede llevar a cabo por siembra directa en un medio de cultivo selectivo sólido de un volumen de muestra de agua, o previa concentración de la misma por filtración a través de membranas de ésteres de celulosa, denominada *Técnica de la Membrana Filtrante*. En ambos casos, cada célula viable crece (en el medio o sobre la membrana) y genera una colonia contable (UFC). El número de UFC contables debe estar comprendido entre 30 y 100, y el límite de detección es < 102 UFC / mL. La Figura muestra el aspecto típico de un cultivo donde las colonias se desarrollaron sobre una membrana y los resultados de los análisis microbiológicos realizados para la validación de metodologías de desinfección solar (discutido más adelante).



2. Método del número más probable (MNP). La densidad microbiana probable en una muestra de agua con baja carga se puede determinar mediante la Técnica de Fermentación con Tubos Múltiples (Método de Wilson) y los resultados se expresan como NMP de microorganismos existentes. Se siembran alícuotas de diluciones seriadas de la muestra en medios de cultivos líquidos específicos y, al cabo de una incubación adecuada, se consideran los números de cultivos “positivos” y negativos”. El NMP se calcula por fórmulas o por tablas que utilizan el número de tubos positivos en las diluciones. La Figura ilustra el procedimiento.



tacto con agua, y con los vectores que usan el agua como hábitat. En esta sección nos centraremos no sólo en las enfermedades de transmisión hídrica, sino también en aquellas que tienen como vectores especies que usan el agua como hábitat.

Durante las últimas décadas del Siglo XX el reconocimiento

de nuevos patógenos emergentes demostró que las medidas de prevención no eran adecuadas.

En 2001, un estudio de Taylor, Latham & Woolhouse reveló que se habían descrito 1415 especies de organismos infecciosos, patógenos para el hombre: 217 virus y priones, 538 bacterias y rickettsias, 307 hongos, 66 protozo-

os y 287 helmintos. 61% de las especies eran zoonóticas y 12% correspondían a enfermedades emergentes. Estos resultados se muestran en la Figura 1.

Las razones que contribuyen a la aparición de nuevos patógenos, o a la re-emergencia de viejos patógenos responsables de nuevos síntomas, son múltiples.

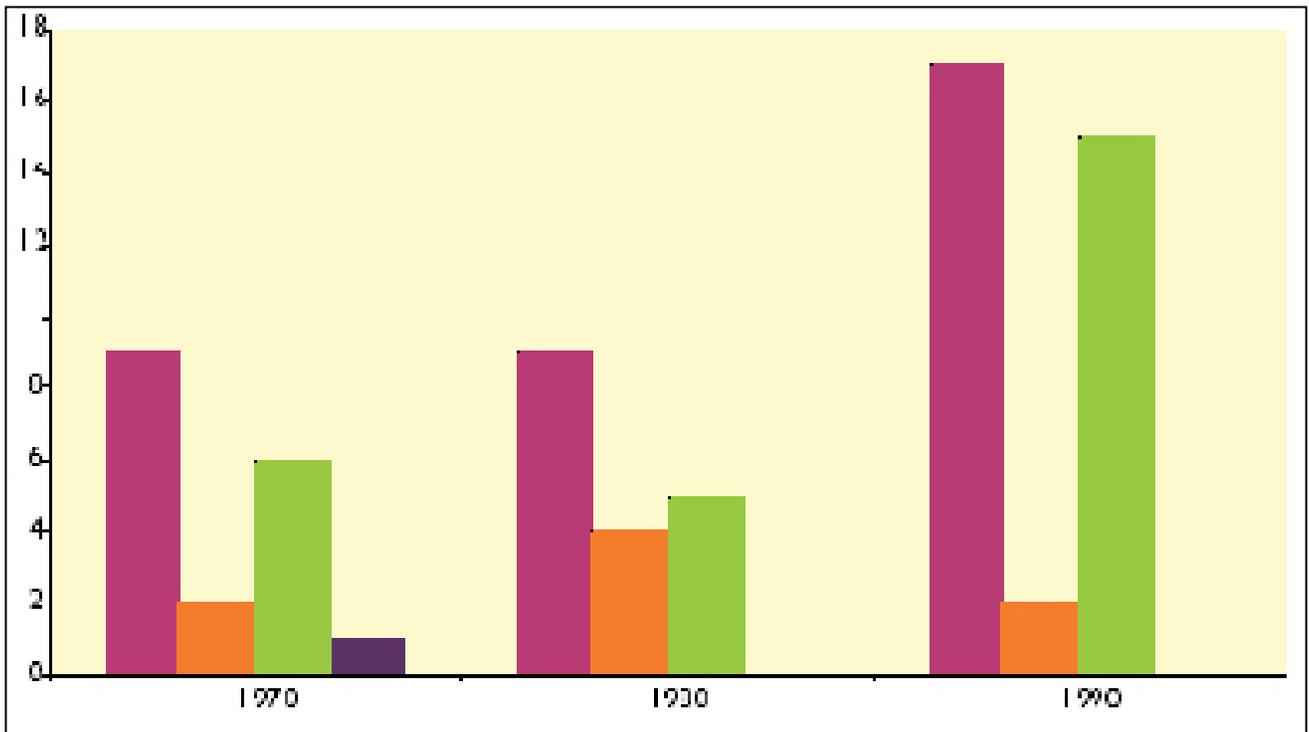


Figura 1: Número de organismos patógenos descubiertos en las décadas de 1970, 1980 y 1990. La barra violeta indica el número total de microorganismos; la barra naranja, número de bacterias del género *Rickettsia*; la barra verde, número de virus/priones; la barra azul, número de protozoos. Tomado de WHO Library, Cataloguing-in-Publication Data: *Emerging issues in water and infectious disease. (Emerging issues in water and infectious diseases)*, ISBN 92 4 159082 3 (LC/NLM classification: QW 80), ISSN 1728-2160, © World Health Organization 2003.

Tabla III
Causas de emergencia y re-emergencia de patologías infecciosas.

Causas	Ejemplo
Diseminación de patógenos por migraciones humanas	Epidemia de cólera
Aparición de especies zoonóticas por nuevas técnicas en ganadería	Encefalitis japonesa
Progresos en las técnicas de recuento y caracterización	<i>Helicobacter pylori</i>
Aparición de vectores resistentes a los insecticidas	<i>Plasmodium malariae</i>
El impacto de grandes presas hidráulicas	Cianobacterias: <i>Anabaena</i> y <i>Microcystis</i>
Uso de agua de refrigeración en edificios mal ventilados	<i>Legionella pneumophila</i>
Población inmuno-comprometida	Microsporidia
Identificación de nuevos protozoos patógenos	<i>Cryptosporidium</i>

La Tabla III resume las razones responsables de algunos casos importantes.

A continuación se describen algunos de estos casos.

1. Patógenos de difícil caracterización. Infecciones con *Helicobacter pylori*.

En algunos países, se ha podido demostrar una fuerte correlación entre la infección por *H. pylori* y cáncer de estómago.³ Se ha demostrado que el *H. pylori* tiene una resistencia elevada en agua, pero su recuento y caracterización es difícil.

2. Resistencia aumentada de los vectores transmisores. Incidencia del paludismo.

Se ha demostrado una resistencia del mosquito anopheles a los insecticidas usuales, lo que facilita la transmisión del *Plasmodium malariae*, responsable de la enfermedad. En este caso, el papel del agua es el de proveer el lugar para el desove de los mosquitos.

3. Diseminación de patógenos por viajeros. Son casos paradigmáticos las epidemias de cólera (a lo largo de la historia) y aparición del virus del Nilo occidental en EE.UU alrededor de 1999. En el primer caso son los propios viajeros los portadores del virus. En el segundo caso, aparecen poblaciones del vector, el mosquito *Culex pipens* (que desova en agua), infectado por el virus, que pertenece a la familia *Flaviviridae*; es pues una variante de la encefalitis japonesa. Ya en 1848, John Snow decía: *Las epidemias de cólera siguen las rutas principales del comercio internacional. La enfermedad aparece en los puertos y se disemina en islas y continentes.*

4. Cambios en el uso del agua acoplados a otros factores. En Sri Lanka, el resultado de varios fac-

tores fue una epidemia de encefalitis japonesa. Esta enfermedad es transmitida por un agente del género *Flavivirus*, y el vector habitual es el mosquito *Culex*; está vinculada con la fiebre amarilla, típica de América del Sur y el Caribe, y cuyo vector es el mosquito *Aedes*. Los nuevos métodos de irrigación del arroz produjeron un aumento de la población de mosquitos *Culex*, y un programa de incentivación de la cría de cerdos proveyó los huéspedes amplificadores para el virus.

5. El impacto de grandes obras hidráulicas. En 1988, una epidemia de gastroenteritis severa en las vecindades del dique Itaparica en la región de Paulo Afonso, Estado de Bahia, Brasil fue causada por las toxinas producidas por cianobacterias presentes en el agua (*Anabaena* y *Microcystis*, en concentraciones del orden de 1000 a 10.000 UFC). Se registraron alrededor de 2.000 casos, con 88 muertes.

6. Enfermedades transmitidas por aerosoles: la enfermedad de los legionarios. La epidemia de neumonía en la Convención de la American Legion en Filadelfia en 1976 fue causada por bacterias del género *Legionella*, normalmente presentes en la microflora acuática, que florecieron en los circuitos de recirculación de agua. La formación de aerosoles permitió la infección por *Legionella pneumophila*.

7. Patógenos emergentes en la población inmunocomprometida. Existen alrededor de 1000 especies de *Microsporidia*, un protozoo intracelular que forma esporas. Son habitualmente parásitos de peces e invertebrados. En un huésped humano susceptible, la infección puede causar diarrea crónica, deshidratación y pérdida

de peso. La microsporidiosis humana era casi desconocida antes de la aparición de HIV, y de los tratamientos con drogas inmunosupresivas para trasplante de órganos. Se han registrado epidemias de microsporidiosis vinculadas con la transmisión por agua.

8. Otros protozoos patógenos. Recién en 1976 se identificó a *Cryptosporidium* como un patógeno humano. Puede causar diarrea aun en individuos inmunocompetentes. La enfermedad es endémica en todo el mundo, con alta incidencia de infección: en EEUU, 20% de los adultos jóvenes presentan evidencia de infección. En una favela brasileña, la incidencia en niños menores de 1 año resultó ser del 90%.

La Figura 2 muestra imágenes de los microorganismos responsables de estas enfermedades, tomados todos ellos de Wikipedia.

■ REMEDIACIÓN

Está claro que las enfermedades de transmisión hídrica pueden presentarse aun en sitios cubiertos por redes de distribución, si el tratamiento es inadecuado. Si tal caso ocurre, la solución es sencilla: poner en condiciones la operación de la planta de potabilización. En cambio, en países de Latinoamérica, es importante el caso de la población que no está servida por redes de distribución. En ese contexto, se vuelven importantes las tecnologías de tratamiento de aguas en el punto de uso (POU). Se entiende por tecnologías de POU a las que potabilizan el agua en el lugar mismo de consumo; se distinguen así de las tecnologías de punto de entrada (POE), en las que el agua es potabilizada en la entrada de una red de distribución (como las plantas de potabilización de AySA).⁵

Los tratamientos de punto de

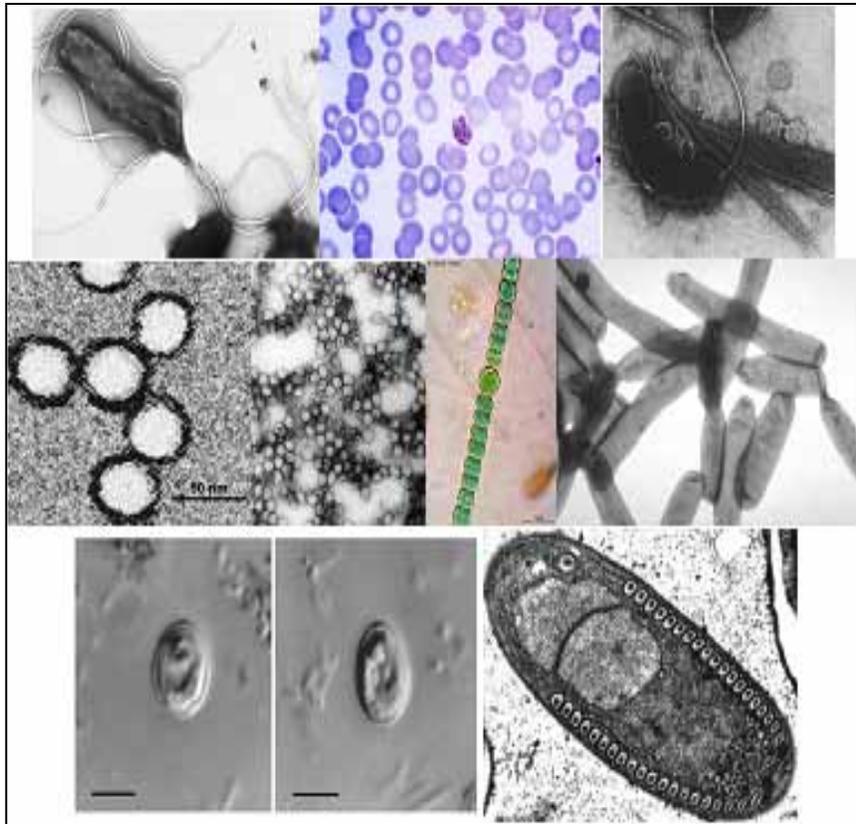


Figura 2: Microorganismos patógenos. De izquierda a derecha: (a) fila de arriba: *Helicobacter pylori*; esquizontes maduros de *Plasmodium malariae* (tinción de Giemsa) y *Vibrio cholerae*. (b) fila del medio: virus del Nilo Occidental; virus de la fiebre amarilla; Filamento de *Anabaena* con un heterociste; *Legionella pneumophila*. (c) fila inferior: ooquistes del parásito *Cryptosporidium muris* encontrados en heces humanas; *Fibrillanosema crangonycis* (parásito de la clase Microsporidia). Advértase que las imágenes tienen magnificaciones muy diversas. Las imágenes de mayor resolución fueron obtenidas por microscopía electrónica de transmisión.

uso de efectividad comprobada para remoción de organismos patógeno son los siguientes:

- **Cloración filtración por gravedad**
- **Floculación-desinfección, que combina el uso de un floculante basado en hierro y un desinfectante basado en cloro**
- **Desinfección solar**

Las dos primeras son similares a las tecnologías POE; el uso de cloro u otro oxidante permite conferir al agua de una protección residual contra el recrecimiento de colonias bacterianas. En lo que sigue describiremos brevemente la desinfección solar.

■ DESINFECCIÓN SOLAR

Conceptos fundamentales

La absorción de radiación solar por los organismos fotosintéticos (productores primarios) es la base misma de la existencia de seres vivos. La parte del espectro solar apta para la fotosíntesis es la región visible, de 400 a 700 nm. La Figura 3 muestra el Espectro de Acción Fotosintética (en inglés, su sigla es PAR) La absorción principal se encuentra en la región del rojo y del azul.

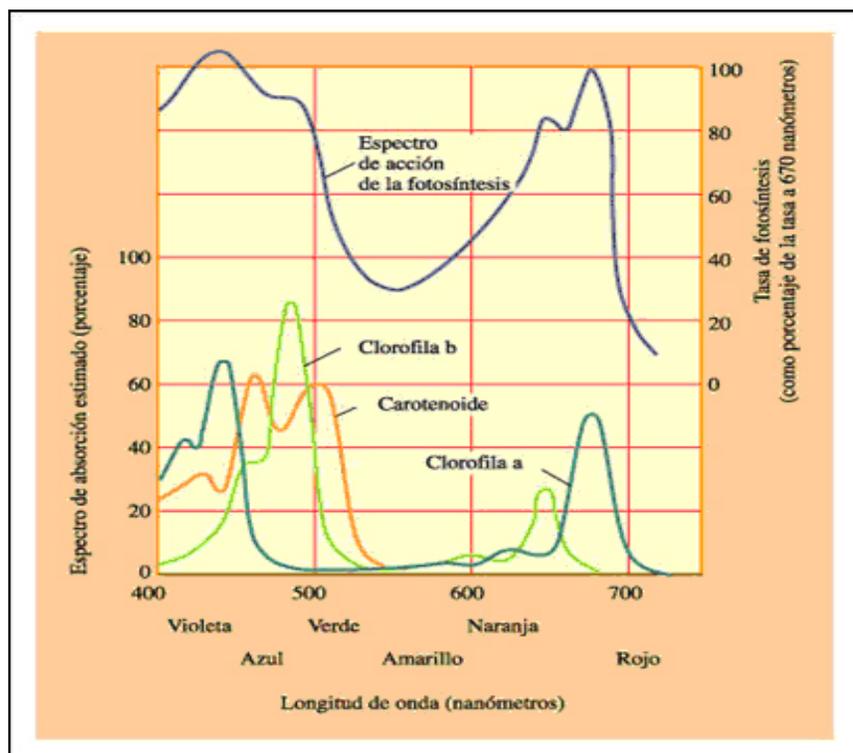


Figura 3: Parte inferior: espectros de absorción de luz por clorofila a, clorofila b y carotenoides. Parte superior: espectro de acción fotosintética. Tomado de las notas sobre Fisiología Vegetal publicado electrónicamente por la Universidad Nacional de Colombia, Sede Bogotá. Ver: http://www.virtual.unal.edu.co/cursos/ciencias/2000051/lecciones/cap02/02_07.htm

Cuadro II Floración de algas

Las cianobacterias tienen mucha importancia práctica, con efectos beneficiosos y negativos. Son importantes como productoras primarias (una fracción importante de la fotosíntesis se debe a ellas) y como fijadoras de nitrógeno (algunas cianobacterias son capaces de fijar nitrógeno atmosférico en condiciones aeróbicas, y contribuyen así a generar suelos fértiles). Por otro lado, su floración excesiva en reservorios de agua es peligrosa, ya que algunas cepas contienen toxinas, las *cianotoxinas*, que presentan un riesgo para la salud humana y de los animales.

Bajo ciertas condiciones, especialmente en cuerpos de agua lénticos (lagos, embalses) ricos en nutrientes y con mucha radiación solar, condiciones que conducen a la eutrofización, se produce la floración de las cianobacterias asociadas al fitoplancton, y la liberación de agregados de macrófitos béticos (que también contienen cianobacterias).

Dado que las cianobacterias son capaces de sintetizar su propio nitrógeno orgánico a partir del aire, el nutriente más importante para limitar su crecimiento es el fósforo. Se usa la medición de niveles de clorofila a como indicador de los niveles de biomasa de algas y cianobacterias; existe una correlación clara con el grado de eutrofización. Para lagos oligotróficos se han medido niveles de 1-10 µg/L de clorofila a, mientras que en lagos eutróficos se han detectado niveles de hasta 3.000 µg/L.

En muchos casos, se ha tratado las aguas con cianobacterias con sulfato de cobre. Este tratamiento puede ser contraproducente pues si bien los microorganismos son destruidos, la lisis celular puede liberar cantidades grandes de toxinas. Eso ocurrió, por ejemplo, en Armindale, New South Wales, Australia, en 1981. El tratamiento de agua del reservorio de Malpas Dam, en una floración de *Microcystis aeruginosa* produjo la liberación de microcistina-YM, una toxina que causó daño hepático en la población.⁴

Un fenómeno relacionado es conocido popularmente como marea roja. Se trata en este caso de una floración de dinoflagelados, organismos unicelulares eucariotas flagelados, capaces de producir neurotoxinas como la saxitoxina. El nombre más correcto de la marea roja es *floración dañina de algas* (HAB, del inglés Harmful Algal Bloom); la misma ocurre en ambientes marinos. Los efectos del HAB son:

- Mortalidad de peces, aves acuáticas y mamíferos marinos.
- Morbilidad o mortalidad humana por consumo de mariscos bivalvos contaminados.
- Disrupción de los tejidos epiteliales (branquias) de peces, lo que lleva a la muerte por asfixia.
- Hipoxia o anoxia en el agua, por consumo del oxígeno por respiración y degradación de bacterias.

En contraste, la radiación ultravioleta puede producir importante daño celular. Es usual distinguir tres rangos de longitud de onda dentro del espectro ultravioleta: la radiación UV-A, entre 320 y 400 nm, la UV-B, entre 290 y 320 nm, y la UV-C, entre 200 y 290 nm. Dado que la energía de un fotón es inversamente proporcional a la longitud de onda, un fotón de 250 nm tiene el doble de energía que un fotón de 500 nm, como los usados en la fotosíntesis. Esa más alta energía hace que su absorción por moléculas biológicas resulte en daño.

El daño por radiación puede ser directo o indirecto. El daño directo se asocia principalmente

con el ataque al ADN. La radiación UV-C (254 nm) y, en menor medida la UV-B, son capaces de producir daño directo por ataque al ADN. Los cromóforos más importantes de los microorganismos son las bases púricas y pirimidínicas de los ácidos nucleicos, que absorben intensamente la radiación UV, con un máximo de absorción para el ADN y ARN a una longitud de onda de 260 nm. Las proteínas también son afectadas por la absorción de radiación UV por aminoácidos aromáticos (triptofano, fenilalanina, tirosina) a 280 nm.⁶ El ataque al ADN se produce por formación de dímeros, a través de dos timinas adyacentes, como se muestra en la Figura 4.

Se forman dímeros de ciclobutano pirimidina (mostrados a la derecha, en la Figura 4), se altera la estructura secundaria del ADN, y la polimerasa que intervienen en la replicación pueden insertar un nucleótido incorrecto en esa posición.

Algunas bacterias pueden reparar el daño por radiación, ya sea a oscuras o bajo acción de luz de longitud de onda más larga (ver Cuadro III).

La radiación UV-C ó UV-B también puede producir fotodaño indirecto. En este caso el fotón no es absorbido por la molécula biológica (como el ADN), sino por cualquier cromóforo presente en el medio. A longitudes de onda

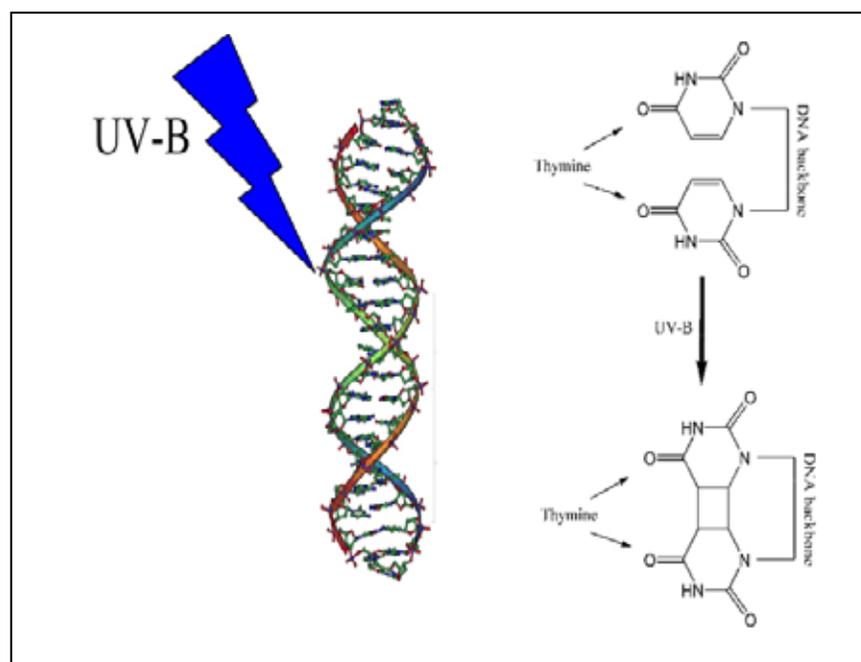
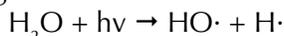


Figura 4: Daño directo al ADN por radiación UV-B. Tomado de http://en.wikipedia.org/wiki/Direct_DNA_damage.

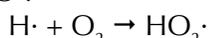
Cuadro III Reactivación después del daño por radiación

Algunos microorganismos poseen mecanismos de reparación de los daños provocados por la luz UV-A través del proceso de fotoreactivación. La luz UV activa una fotoliasa que escinde el dímero, llevando a la molécula a su configuración original. Existe también el mecanismo de reactivación oscura, en el que una enzima endonucleasa elimina el dímero de timina y algunos nucleótidos adyacentes. Luego, una ADN polimerasa y ligasa insertan los nucleótidos complementarios. Estos mecanismos forman parte de un sistema reparador complejo, llamado sistema regulador SOS. Algunos de estos procesos parecen ser propensos a errores, por lo que en algunas ocasiones el mecanismo de reparación origina una mutación. Tomado textualmente de: C.B. Paulino, Actividad bactericida inducida por procesos de fotólisis y fotocatalisis sobre bacterias patógenas presentes en agua, Tesis de Licenciatura, U.N. Tucumán (2009).

muy cortas, la molécula de agua es capaz de absorber la radiación y genera radicales libres:



En presencia de oxígeno disuelto, los radicales $\text{H}\cdot$ (reductores) son rápidamente transformados en $\text{HO}_2\cdot$, que son oxidantes, aunque menos energéticos que el $\text{HO}\cdot$:



La fotólisis directa del agua no es importante ni aun para la lon-

gitud de onda de las lámparas germicidas (254 nm); la misma toma importancia sólo en presencia de radiación UV de longitud de onda menor que 200 nm. En cambio, muchos compuestos orgánicos son capaces de absorber la radiación UV-B, UV-A, y aun visible, para formar moléculas excitadas que transfieren su energía al agua formando los radicales oxidantes. El ataque indirecto al

ADN se muestra en la Figura 5. El daño indirecto es la base del uso de los llamados procesos de oxidación avanzada (POAs) para la desinfección de aguas. En los POAs, los radicales son generados ya sea por reacción química o por reacción fotoquímica. Tres variantes importantes de procesos fotoquímicos son los llamados Foto-Fenton, UV-peróxido y Foto-catalisis Heterogénea. Este último proceso es descrito en más detalle más abajo.

En la Figura 5 se muestra que una de las posibles especies excitadas de oxígeno generadas por el cromóforo son moléculas de oxígeno en estado singlete, $^1\text{O}_2$. Estas moléculas, a diferencia de las que se encuentran en su estado fundamental (no excitadas), no poseen ningún electrón desapareado, y son oxidantes modestos. La Figura 6 muestra esquemáticamente cómo se genera el oxígeno singlete.⁷

A diferencia de los radicales $\text{HO}\cdot$, el oxígeno singlete puede ser generado aun con luz visible, usando cromóforos que absorben en esa región (*sensibilizadores*). Los sensibilizadores más comúnmente utilizados para la generación de oxígeno singlete son la *fenalenona*, el *rosa de bengala*, el *azul de metileno* y, más recientemente, los compuestos de coordinación de rutenio(II) con ligandos poliazaheterocíclicos quelantes del tipo 2,2'-bipiridina o 1,10-fenantrolina y sus derivados, así como los derivados de *porfirinas* y *ftalocianinas* y sus complejos metálicos. La Figura 7 muestra las estructuras de estos fotosensibilizadores.⁴

La desinfección mediante radiación UV-C es una tecnología que se usa en gran escala (ver Cuadro IV). Se usan lámparas de mercurio, ya sea de baja presión que emiten esencialmente radiación de 254 nm, o de media pre-

sión, que emiten un espectro continuo de longitudes de onda desde 200 nm.

La principal fuente natural de radiación ultravioleta es el Sol. La atmósfera ejerce un efecto de filtro del UV, y esta acción es tanto más eficaz cuanto menor es la longitud de onda. De esta forma, el 98% de la radiación UV que llega a la superficie terrestre es UV-A, cuya acción deletérea en organismos eucariontes y procariontes es dependiente de oxígeno. La irradiación con UV-A genera especies reactivas del oxígeno capaces de causar varios tipos de lesiones en las células con diferentes consecuencias.

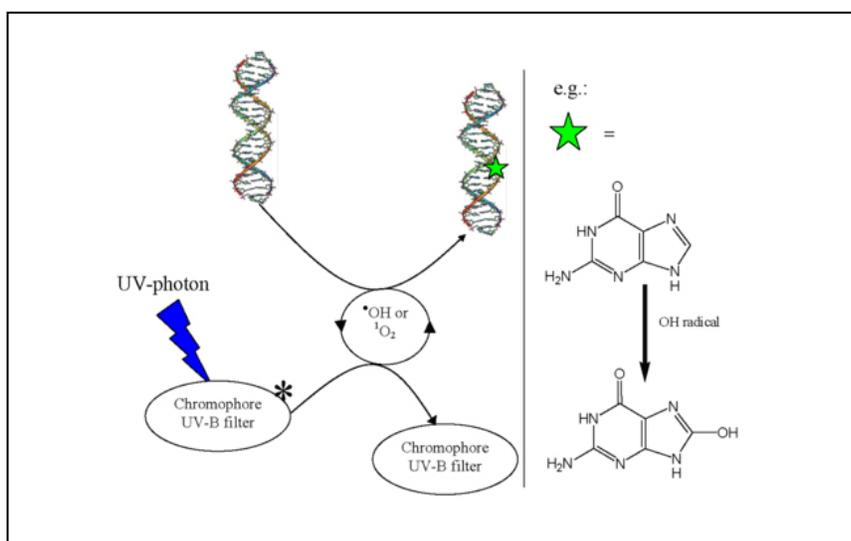


Figura 5: Absorción de radiación por un cromóforo, generación de radicales oxidantes y ataque indirecto al ADN. Tomado de http://en.wikipedia.org/wiki/Indirect_DNA_damage.

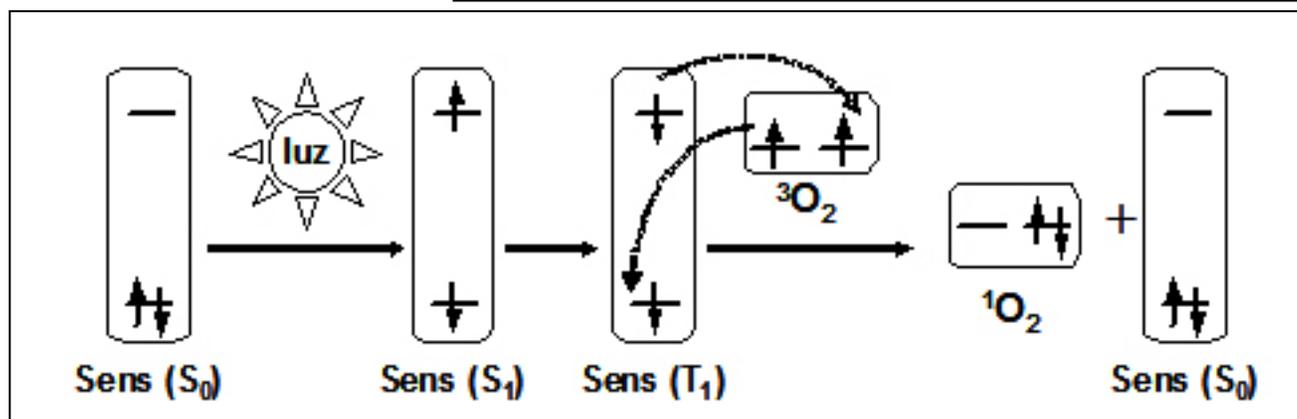


Figura 6: Proceso de fotosensibilización para la fotogeneración de oxígeno singlete ($^1\text{O}_2$).

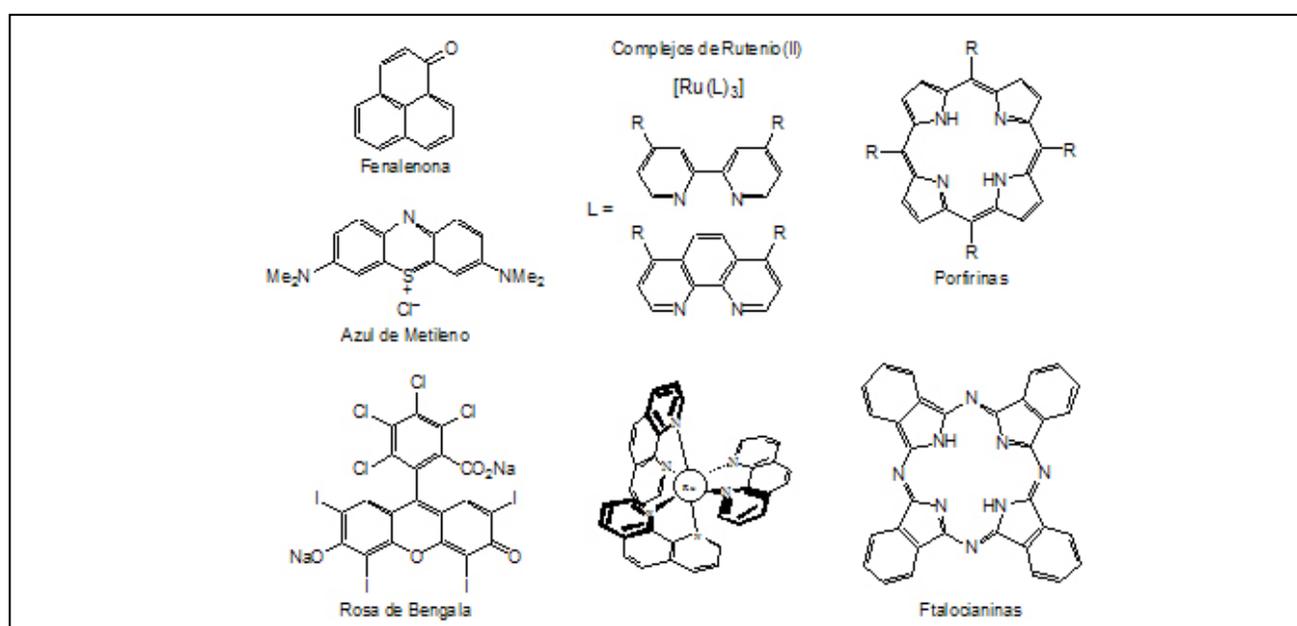
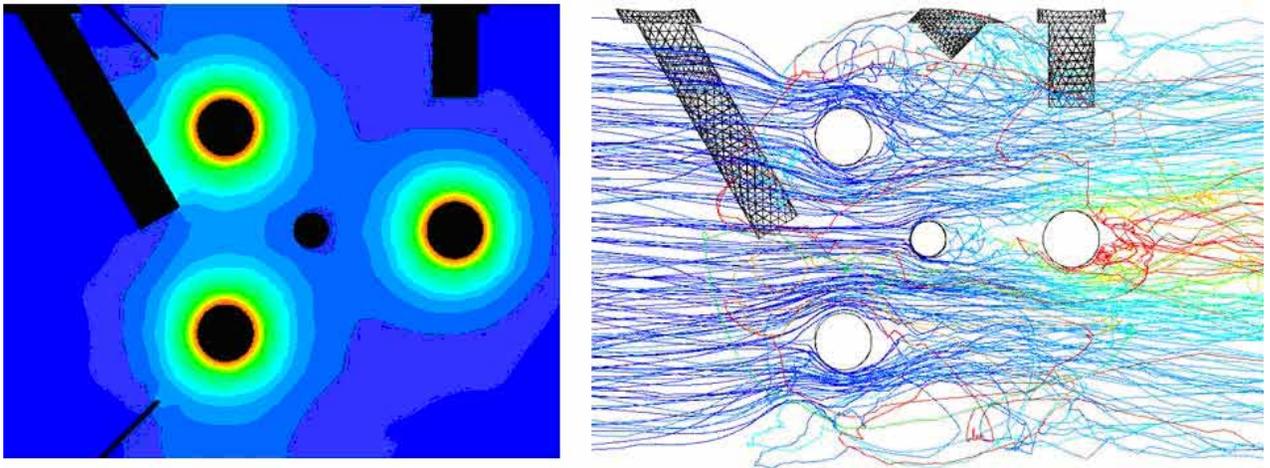


Figura 7: Fotosensibilizadores más usuales.

Cuadro IV

Desinfección fotoquímica con lámparas: La facilidad Catskill/Delaware de desinfección ultravioleta para la ciudad de Nueva York

Desinfectar agua para consumo humano usando radiación UV-C requiere resolver y comprender una serie de temas de biología y de ingeniería. Entre los primeros, cabe mencionar que la viabilidad de usar esta técnica en gran escala se validó recién cuando pudo demostrarse que el *Cryptosporidium* no era inmune a la radiación. Entre los temas de ingeniería, no es menor la validación de la dosis de irradiación recibida por todos los elementos de volumen del agua que circula alrededor de la lámpara. La figura que sigue muestra un ejemplo de modelación por dinámica computacional de fluidos de los campos de radiación producidos por tres lámparas (a la izquierda) y de la trayectoria de partículas cuando una lámpara está encendida (derecha). (Tomado de C.K. Ho, H. Wright, S.S. Khalsa y E. Wicklein, <http://www.sandia.gov/cfd-water/uvdisinfection.htm>)



La ciudad de Nueva York ha encarado la construcción de una facilidad muy grande para desinfectar el agua por radiación ultravioleta; la escala del proyecto supera en un orden de magnitud todos los ejemplos previos. Cuando se complete (fecha prevista: 2013), la *Catskill and Delaware Ultraviolet Light Disinfection Facility de Mount Pleasant, N.Y.*, tratará 8.000 millones de litros de agua de las potabilizadoras de Catskill y Delaware, que proveen más del 90% del agua potable de la ciudad de Nueva York. El costo estimado de la planta es 2.000 millones de dólares estadounidenses.



Vista de la facilidad de desinfección UV de Catskill/Delaware.

■ EL PROCESO SODIS (*Solar DISinfection*)

El daño causado por la radiación UV-A es modesto, en comparación con el conocido efecto bactericida de la radiación UV-C. Puede resultar entonces algo sorprendente que la eficacia del proceso de desinfección por luz solar está bien documentada. Dicho proceso, llamado SODIS, fue desarrollado muy especialmente por el grupo de Wegelin en Suiza⁸ a partir de los trabajos originales de Acra y colaboradores.⁹ La Figura 8, tomada de la referencia¹⁰, muestra esquemáticamente el proceso.

En el proceso SODIS, se expone a la luz solar el agua en botellas de PET (tereftalato de polietileno), cuidando de mantener en la botella una cantidad adecuada de aire, como fuente del oxígeno. La absorción de radiación infrarroja conduce a un calentamiento moderado del agua, que no alcanza

a generar condiciones de pasteurización. La acción sinérgica del calentamiento producido por la radiación infrarroja y del ataque por las especies reactivas del oxígeno generadas por la radiación UVA conduce a la desinfección. Este proceso ha sido validado en Tucumán, en estudios de campo llevados a cabo por M.C. Apella y sus colaboradores, en el marco de un Proyecto Iberoamericano.^{11,12}

El daño a la membrana bacteriana juega un papel fundamental en la inactivación por SODIS. La habilidad para mantener partes esenciales del metabolismo energético de las bacterias se ve fuertemente afectada por la irradiación. En particular, la cadena respiratoria es la más afectada. Se ha sugerido que el daño de las enzimas de la membrana es la causa más probable del deterioro de dicha membrana.¹³

Es interesante realizar algunas observaciones sobre la posibilidad real de implementar esta metodología en forma masiva. Como

en cualquier tema que tiene que ver con la Gestión Ambiental, comienzan aquí a jugar factores sociales que, si no son tenidos en cuenta, provocan la no aceptación de la tecnología. La Fundación SODIS ha promovido el método en 33 países en vías de desarrollo, a través de campañas de información y toma de conciencia, entrenamiento y asesoría al sector público, actividades en red, y entrenamiento a nivel individual. Más de dos millones de personas usan el método en la actualidad. Los factores sociales que influyen sobre la aceptación del método incluyen la disponibilidad de botellas, programas recurrentes de promoción y entrenamiento, motivación y compromiso de los promotores, nivel educativo de los usuarios, presión social y aspectos institucionales.¹⁴

Recientemente,¹⁵ se ha desarrollado el concepto del botellón SODIS, llevando a una escala mayor el proceso. Este Proyecto, llevado adelante por la Plataforma

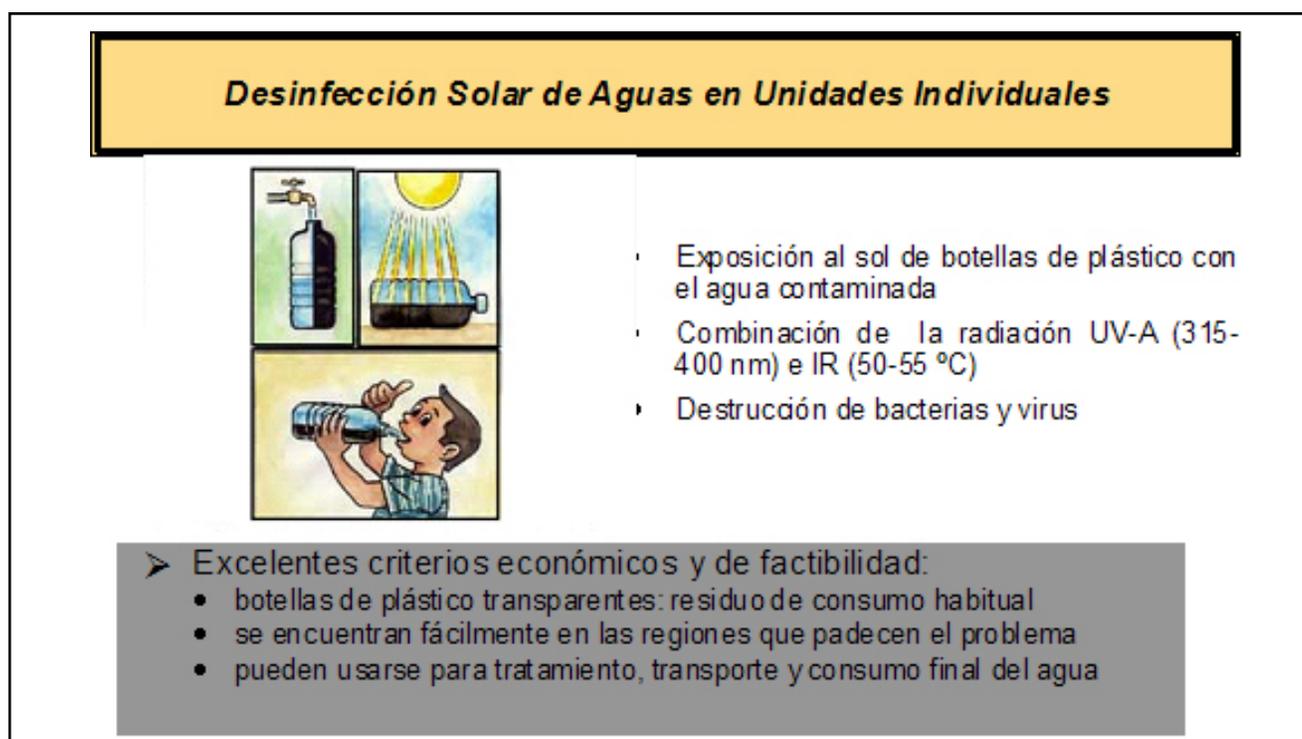


Figura 8: Esquema del proceso SODIS.

Solar Almería y otros socios europeos, ha desarrollado el reactor que se muestra en la Figura 9, y ha identificado las dosis de radiación solar necesarias para llevar a cabo una desinfección efectiva del agua a tratar.¹⁶

■ FOTOCATÁLISIS HETEROGÉNEA

En 1985 Matsunaga y col. informaron que los microorganismos presentes en agua podrían ser eliminados agregando al agua TiO_2 e irradiando con luz UV artificial durante 60 a 120 minutos.

La irradiación de TiO_2 suspendido conduce a la excitación de un electrón desde la banda de valencia a la banda de conducción. Se genera así un electrón excitado y un hueco; ambas especies normalmente se recombinan muy rápidamente, pero una pequeña fracción puede llegar a la superficie de la partícula, y allí genera radicales HO^\bullet y otras especies reactivas de oxígeno (ROS), capaces de atacar a las células bacterianas.

Los compuestos celulares más sensibles a los efectos del radical

hidroxilo son los ácidos nucleicos, las proteínas, los carbohidratos, los lípidos insaturados. Cuando las especies reactivas oxidantes superan las defensas antioxidantes se produce el estrés oxidativo y existe daño en las macromoléculas. El posible destino celular, bajo condiciones de estrés, depende de varios factores: contenido endógeno de defensas antioxidantes, grado de estimulación de las mismas bajo la condición de estrés, reversibilidad de las modificaciones a macromoléculas producidas, magnitud del estrés oxidativo y sus consecuencias funcionales.

- *Daño sobre los ácidos nucleicos*

La citotoxicidad del radical hidroxilo es, en gran medida, una consecuencia de las alteraciones cromosómicas producidas por las modificaciones químicas que sufren las bases y los azúcares del DNA, con consecuencias similares a las de los agentes carcinógenos. Las modificaciones químicas de los nucleótidos provocan, en muchos casos, la ruptura de las

hebras del DNA y además entrecruzamientos ADN-proteína. Si el daño originado es muy grande y no puede ser reparado, se produce una mutación o la muerte celular.

- *Daño sobre las proteínas*

La oxidación de aminoácidos específicos de la cadena polipeptídica altera la conformación y función de la proteína.

- *Daño sobre los carbohidratos*

Los carbohidratos sufren un daño en menor proporción que las otras moléculas biológicas. Los azúcares tales como glucosa, manitol o ciertos desoxiazúcares pueden reaccionar con el radical hidroxilo y originar sustancias reactivas. Además, los polisacáridos se pueden fragmentar a unidades más sencillas (por ej. despolimerización del ácido hialurónico).

- *Daño sobre los lípidos - Peroxidación lipídica*

Los ácidos grasos poliinsaturados (PUFAs) son fundamentales para la célula ya que forman parte de los fosfolípidos, constituyentes principales de la bicapa lipídica de las membranas plasmática.

Los radicales libres hidroxilo e hidroperóxido atacan a los PUFAs generando hidroperóxidos que pueden alterar la estructura y función de las membranas. Los PUFAs de las membranas celulares, son muy vulnerables a los ataques oxidativos, puesto que contienen grupos metileno ($-\text{CH}_2-$) separados por dobles enlaces que debilitan el enlace C-H metileno.

El proceso de peroxidación lipídica es el efecto más importante de los radicales libres sobre la célula, ya que la destrucción de PUFAs junto con la formación de puentes disulfuro en las cadenas proteicas y la ruptura de éstas,

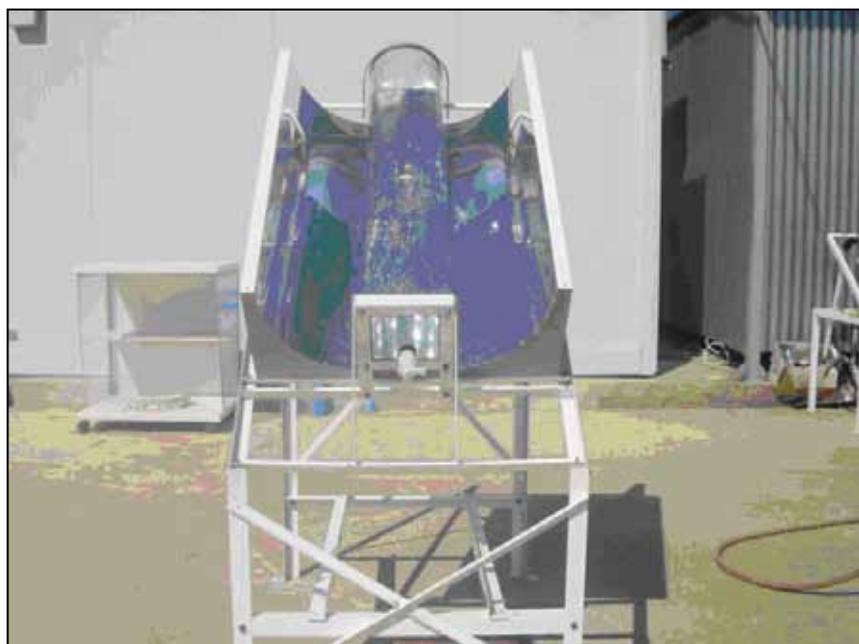


Figura 9: El botellón SODIS, con los espejos tipo CPC usados para maximizar el aprovechamiento de la radiación solar.

provoca un desmoronamiento en la estructura de la membrana lo que conduce a una pérdida de la permeabilidad, y posteriormente, la muerte celular.

Los peróxidos lipídicos, derivados de la oxidación de los PUFAs son muy inestables y se descomponen rápidamente generando una serie compleja de compuestos en los que se incluyen productos carbonilos muy reactivos (aldehídos, epóxidos, etc.), entre los se encuentra el malondialdehído (MDA)¹⁷. Así, la determinación de MDA, producto más abundante de la peroxidación lipídica, es utilizada como método para estimar cuantitativamente la concentración de lípido peroxidado y por lo tanto de la evaluación del estrés oxidativo celular.

El mecanismo de la peroxidación oxidativa que define el daño oxidativo de los PUFAs, mediado por el radical HO• tiene lugar en sucesión de etapas¹⁸ (ver Figura 10).

La abstracción de un átomo de hidrógeno del grupo -CH₂- de un PUFA adyacente origina otro R• e hidroperóxido o lipoperóxido (ROOH) y así se produce una reacción en cadena y el daño a un número creciente de PUFAs.

En la etapa de terminación o descomposición, los hidroperóxidos formados se descomponen en etano, pentano, aldehídos reactivos y cetonas. Los aldehídos formados, como el malonildialdehído y el 4-hidroxinonal, pueden reaccionar con proteínas y ácidos nucleicos, lo que determina efectos citotóxicos, genotóxicos y mutagénicos que llevan a la pérdida de la viabilidad celular.

En comparación con SODIS, la Fotocatálisis Heterogénea tiene la desventaja de la mayor complejidad asociada con la necesidad de usar dióxido de titanio. Por otro lado, ofrece ventajas en lo que se refiere a la rapidez del proceso, y a la posibilidad de ofrecer alguna protección residual frente al re-

crecimiento bacteriano en el agua tratada y almacenada. Si bien ninguno de los dos procesos provee efecto residual prolongado como la cloración, frente a ésta ofrecen la ventaja de evitar el uso de un reactivo químico agresivo, capaz de formar los subproductos de oxidación clorados por ataque a la materia orgánica que puede estar presente. La Fotocatálisis Heterogénea se encuentra en estado de desarrollo para su uso en desinfección; en cambio, su uso para destruir contaminantes orgánicos está bien demostrada.²⁰

■ CONCLUSIONES

La contaminación biológica del agua evoluciona con el tiempo, en función de la aparición de nuevos patógenos y nuevas enfermedades infecciosas hídricas. Es necesario disponer de herramientas adicionales, que complementen a la tradicional cloración, para enfrentar los problemas contemporáneos de la contaminación biológica. En particular, resulta atractivo recurrir a la radiación solar y a la radiación ultravioleta para la desinfección. Esta última (la radiación ultravioleta) será usada en gran escala en Nueva York, mientras que la radiación solar ofrece interesantes, y simples, soluciones para que las personas que no disponen de agua de red segura puedan desinfectar su propia agua de consumo.

■ GLOSARIO

Ácidos grasos poliinsaturados (PUFAs): los ácidos grasos son ácidos carboxílicos con cadenas largas carbonosas (por ejemplo, el ácido esteárico tiene 18 átomos de carbono). Los ácidos grasos insaturados tienen por lo menos un doble enlace (por ejemplo, la introducción de un doble enlace en el ácido esteárico entre C9 y C10

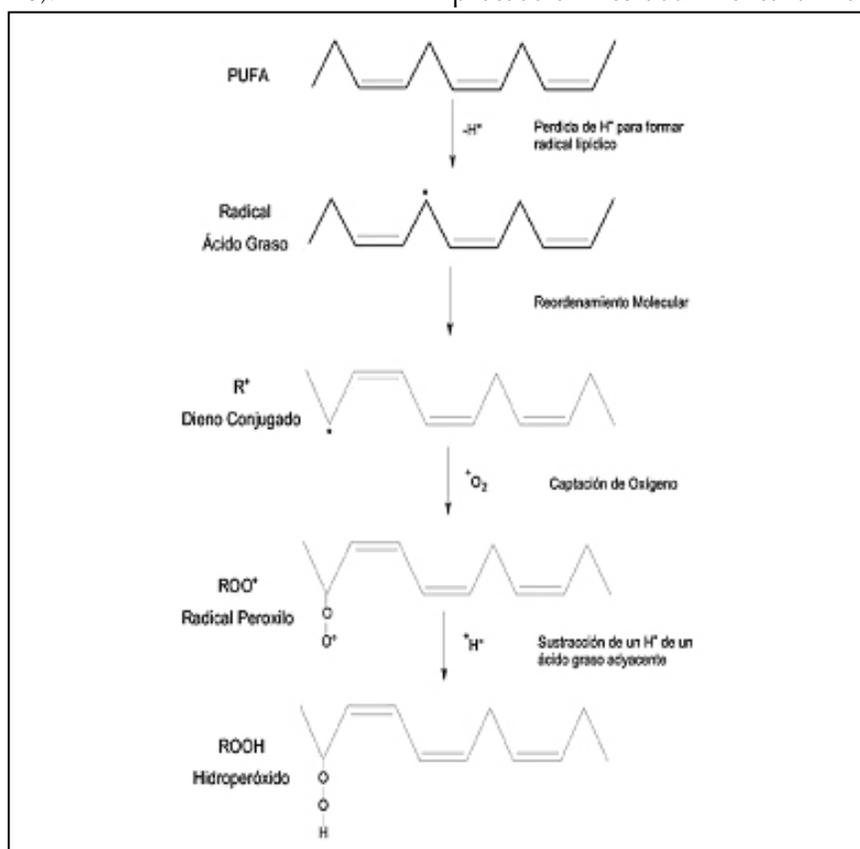
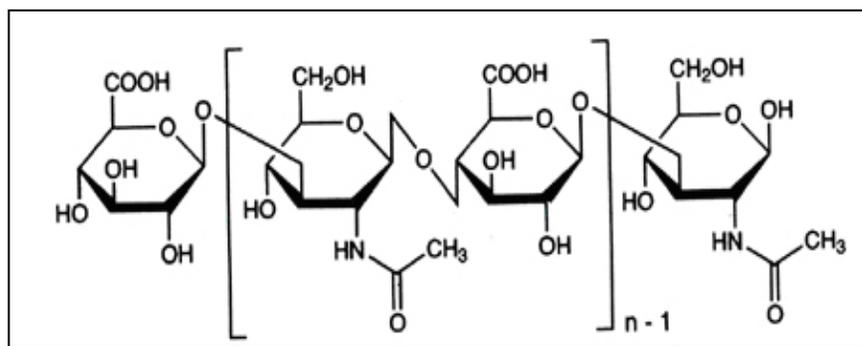


Figura 10 : . Mecanismo de peroxidación lipídica. Tomado de la referencia¹⁹.

conduce al ácido oleico). Los ácidos grasos poliinsaturados contienen más de un doble enlace. Por ejemplo, el ácido linoleico (omega 6), contiene dos dobles enlaces, entre C9 y C10 y entre C12 y C23.

Ácido hialurónico: es un polisacárido formado por dímeros de N-acetilglucosamida y ácido glucurónico, como se muestra abajo. Cumple importantes funciones estructurales en articulaciones, piel y cartílago.



Banda de valencia, banda de conducción: la estructura electrónica de los sólidos se caracteriza por poseer bandas. Las bandas están formadas por un gran número de niveles todos próximos en energía. Las distintas bandas están separadas en energía, de manera que, para pasar de una banda a otra de mayor energía es necesario excitar al material. En los aislantes, la banda de valencia está completamente llena, la banda de conducción está completamente vacía, y la diferencia de energía entre ambas es muy grande, por lo que es muy difícil excitar los electrones de la banda de valencia a la banda de conducción. Por el contrario, en los metales, la banda de conducción se encuentra a medio llenar, y ello les otorga sus características propiedades de conducción eléctrica, ya que los electrones pueden moverse con facilidad a lo largo de la banda de valencia. En el caso de los semiconductores, la banda de valencia

contiene casi la totalidad de los electrones de valencia del material, y se encuentra casi llena. La banda de conducción, de mayor energía, por el contrario está casi vacía. El dióxido de titanio es un semiconductor de banda ancha; ello significa que la diferencia de energía entre la banda de conducción y la de valencia es importante. A oscuras, el material es aislante. Al ser iluminado con radiación electromagnética de longitud de onda adecuada, se promueven

electrones de la banda de valencia a la banda de conducción (se forma un par hueco en la banda de valencia / electrón en la banda de conducción). Este hueco es un poderoso oxidante, y el electrón es un reductor suave.

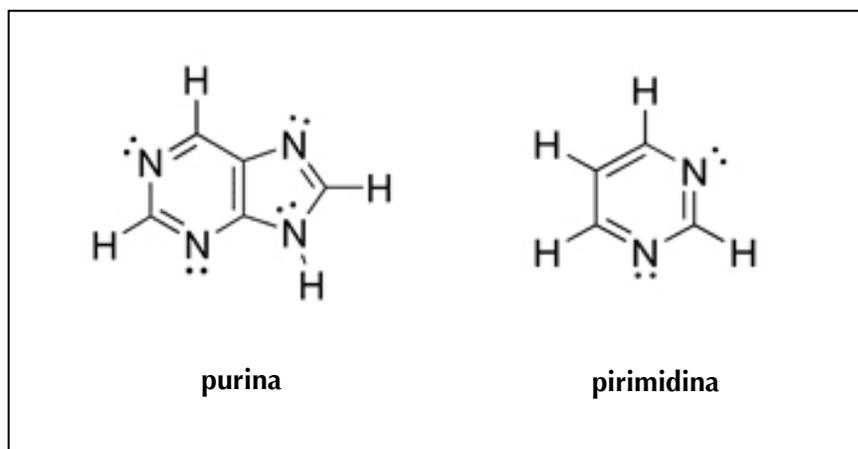
Bases púricas y pirimidínicas: el ADN es una cadena de nucleótidos unidos por grupos fosfato. Cada nucleótido contiene un azúcar (la desoxirribosa, de allí el nombre DNA) y una base nitrogenada. Lo que distingue a los dis-

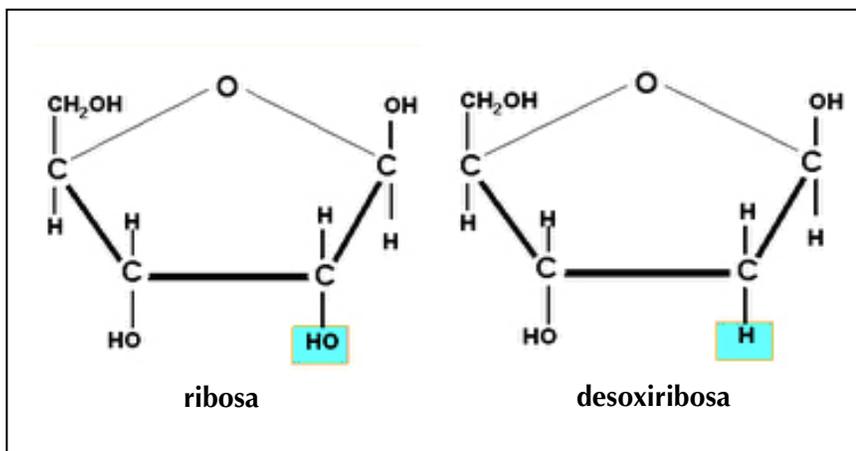
tintos nucleótidos de la secuencia es precisamente la naturaleza de la base nitrogenada. Las bases más importantes son cuatro: dos de ellas, adenina y guanina, derivan de la purina, un compuesto heterocíclico cuya estructura se muestra abajo. Por ese motivo, se las conoce como bases púricas. Las otras dos bases, citosina y timina, derivan de la pirimidina (ver abajo su estructura), y se las conoce como bases pirimidínicas. El RNA contiene una quinta base, el uracilo, que es también pirimidínic.

Cromóforo: sustancias que contienen en sus moléculas estructuras capaces de absorber radiación electromagnética en una determinada región de longitudes de onda.

Desoxiazúcares: son sustancias que derivan de los azúcares normales por reemplazo de un grupo -OH por un -H. Se muestran más abajo las estructuras de ribosa y desoxirribosa.

Dismutación: reacción química en la cual un elemento cambia su estado de oxidación, de forma tal de generar estados más oxidados y estados más reducidos. Por ejemplo, en la dismutación del cloro, el estado de oxidación original del cloro es 0, y al cabo de la reacción se genera cloruro (estado de oxidación del cloro -1) e hipoclorito (estado de oxidación del cloro +1).





Eucariontes: organismos constituidos por células con núcleos verdaderos. Su ADN está contenido en el núcleo, que se separa del resto de la célula por una doble membrana. Los organismos eucariontes pueden ser unicelulares o pluricelulares.

Eutrofización: proceso causado por un incremento de la disponibilidad de nutrientes en un ecosistema. El término es usado habitualmente para describir los efectos de un incremento de nitrógeno y fósforo en ambientes acuáticos. Un sistema eutrófico produce cantidades anormalmente altas de biomasa, con el consiguiente aumento de la demanda bioquímica de oxígeno.

Fosfolípidos: se puede describir a los fosfolípidos como derivados de la glicerina. La glicerina es a su vez un derivado del propano, en el cada uno de los carbonos tiene un grupo -OH (es un triol). En los fosfolípidos, dos de esos grupos -OH se esterifican con dos ácidos grasos, y el tercero se esterifica con un derivado del ácido fosfórico. Al lado se muestra la fórmula de un fosfolípido. Las cadenas de los ácidos grasos son hidrofóbicas, mientras que los grupos fosfato constituyen el extremo polar (hidrofílico) de la molécula. Los fosfolípidos se disponen en bicapas, con los grupos polares hacia fuera, y esas bicapas son constituyentes esenciales de

las membranas celulares.

Fotólisis: reacción química en la cual se rompen enlaces por acción de luz absorbida. La absorción de un fotón de energía adecuadamente alta rompe un enlace químico. Para que haya fotólisis se requieren dos condiciones: (a) que el fotón sea absorbido; (b) que la energía absorbida sea adecuada para romper el enlace. Cada fotón absorbido puede romper una molécula y no más.

Fotón: partícula elemental que describe las propiedades corpusculares de la radiación electromagnética. La energía E de un fotón está relacionada con la frecuencia ν de la radiación electromagnética, a través de la conocida ecuación $E = h\nu$, donde h es la constante de Planck.

Helminto: gusano, animal pluricelular eucariota parásito de otros organismos, responsable de enfermedades como la esquistosomiasis, la hidatidosis y otras.

Lago oligotrófico: un lago con baja productividad primaria: bajos niveles de nutrientes, bajo contenido de algas y altos tenores de oxígeno disuelto.

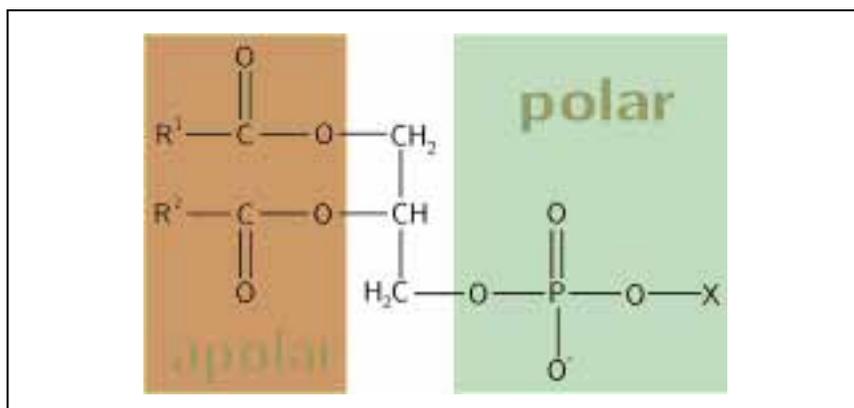
Léntico: se dice de un cuerpo de agua que no fluye, como un lago, embalse o pantano, en oposición a un cuerpo de agua lótico, como un río.

Macrófitos bénticos: plantas que habitan el fondo de ecosistemas acuáticos (el bentos). Un ejemplo muy conocido de comunidad bentónica lo constituyen los arrecifes de coral.

Prion: glicoproteína que se expresa en diversos tejidos, y que resulta de una modificación estructural en la etapa de síntesis proteica conocida como postraducción. Los priones son responsables de una serie de enfermedades degenerativas del sistema nervioso central, como la enfermedad de Creutzfeldt-Jakobs, y el síndrome de "la vaca loca".

Procariontes: organismos unicelulares que no poseen un núcleo claramente diferenciado. Su ADN se encuentra disperso en el citoplasma.

Productores primarios (autótrofos): organismos capaces de sintetizar materia orgánica (biomasa) a partir de dióxido de carbono y otras sustancias inorgánicas. Los productores primarios más importantes son los fotosintéticos, que llevan a cabo este proceso absorbiendo luz solar. Protozoos:



organismos de un grupo muy amplio y diverso del reino protista. Son unicelulares, microscópicos y viven en ambientes ricos en agua. Incluye especies muy variadas y con poca relación filogenética, que no encaja con los criterios modernos de clasificación.

Rickettsia: un género de bacterias que son parásitos intracelulares obligados. Causan diversas enfermedades como el tifus.

Zoonosis: enfermedad que puede transmitirse de los animales a los seres humanos. Puede ser causada por bacterias, virus, priones, hongos o parásitos.

■ BIBLIOGRAFÍA

- 1 La solubilidad es de 3 L de gas por litro de agua. Esa solubilidad equivale a una concentración de 0,13 moles/L, o unos 10 g/L.
- 2 M.A. Blesa, *La contaminación del agua en el siglo XXI*, Ciencia e Investigación.
- 3 H. Suzuki, E. Iwasaki y T. Hibi, *Helicobacter pylori and gastric cancer*. *Gastric Cancer* (2009) 12: 79–87 DOI 10.1007/s10120-009-0507-x.
- 4 T. Kuiper-Goodman, I. Falconer y J. Fitzgerald, en *Toxic Cyanobacteria in Water: A guide to their public health consequences, monitoring and management*, I. Chorus y J. Bartram (Eds.), Capítulo 4 (1999). ISBN 0-419-23930-8. Ver: http://www.who.int/water_sanitation_health/resourcesquality/toxcyanchap4.pdf
- 5 Ver artículo precedente.
- 6 C.B. Paulino, *Actividad bactericida inducida por procesos de fotólisis y fotocátalisis sobre bacterias patógenas presentes en agua*, Tesis de Licenciatura, Universidad Nacional de Tucumán (2009)
- 7 D. García Fresnadillo, *Fotosensibilización y el Sensibilizador: Síntesis, Propiedades y Limitaciones*. Capítulo 8 en *Solar-safewater: Tecnologías solares para la desinfección y descontaminación del agua*, M.A. Blesa, (ed.), Capítulo 16, págs 253-269, UNSAM Edita (2005).
- 8 R. Mereierehofer y M. Wegelin, *Solar water disinfection: a guide for the application of SODIS*. SANDEC Report N° 06/02, Suiza. 88 pp (2002). Disponible en: www.sodis.ch.
- 9 A. Acra, M. Jurdi, H. Mu'alleem, Y. Karahagopian y Z. Raffoul, *Water Disinfection by Solar Radiation*, Technical study 66c (1990). Disponible en: <http://www.idrc.ca/library/document/041882/>
- 10 M.I. Litter (Editora), *Final Results of the OAS/AE/141 Project: Research, Development, Validation and Application of Solar Technologies for Water Potabilization in Isolated Rural Zones of Latin America and the Caribbean*, 409 pp., Estudio JAF, Vicente López-Buenos Aires (2006). ISBN: 978-987-22574-4-6.
- 11 P.A. Powell, M.I. Litter, M.A. Blesa y M.C. Apella. *Desinfección Solar de Aguas por Fotólisis y Fotocátalisis: Aplicación en Tucumán, Argentina*. En *Medioambiente en Iberoamérica. Visión desde la Física y la Química en los Albores del Siglo XXI*, Gallardo Lancho J.F. (ed.), 2.368 pp., Ediciones Gráficas Diputación de Barajoz, Barajoz, Cap. III, 725-733 (2006). ISBN: 978-84-611-0352-2.
- 12 M.C. Soria, P.A. Powell y M.C. Apella. *Waters treated by photolysis and heterogeneous photocatalysis for bacterial inactivation*. En *Final Results of the OAS/AE/141 Project: Research, Development, Validation and Application of Solar Technologies for Water Potabilization in Isolated Rural Zones of Latin America and the Caribbean*, Litter M.I. (ed.), 409 pp., Estudio JAF, Vicente López-Buenos Aires, Cap. 2, 39-62 (2006). ISBN: 978-987-22574-4-6.
- 13 F. Bosshard, M. Bucheli, Y. Meur y Th. Egli, *The respiratory chain is the cell's Achilles' heel during UVA inactivation in Escherichia coli*. *Microbiology* 156: 2006-2015 (2010).
- 14 R. Meierhofer y G. Landolt, *Factors supporting the sustained use of solar water disinfection - Experiences from a global promotion and dissemination programme*. *Desalination* 251:144–151 (2010).
- 15 C. Navntoft, Tesis Doctoral, Universidad Nacional de San Martín (2009).
- 16 E. Ubomba-Jaswa, C. Navntoft, M.I. Polo-López, P. Fernández-Ibáñez y K.G. McGuigan, *Solar disinfection of drinking water (SODIS): an investigation of the effect of UV-A dose on inactivation efficiency*. *Photochem. Photobiol. Sci.* 8: 587-95 (2009).
- 17 D.R. Janero, *Malondialdehyde and thiobarbituric acid-reactivity as diagnostic indices of lipid peroxidation and peroxidative tissue injury*. *Free Radical Biol. Med.* 9: 515-540 (1990).
- 18 B. Halliwell B. *Reactive oxygen species in living systems: source, biochemistry and role in human disease*. *Am. J. Med.* 91: 14S-22S (1991).
- 19 M.A. Adiazola Jopada, *Enzimas Antioxidantes Eritrocitarias en Sujetos de Altura*. Tesis Grado, Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima (2005). Disponible en: <http://www.cybertesis.edu.pe>.
- 20 M.A. Blesa y B. Sánchez (Editores). *Destrucción de contaminantes por fotocátalisis heterogénea* Texto colectivo elaborado por la Red CYTED". 2ª ed. CIEMAT, Madrid, 2004. 388 p. ISBN: 84-7834-489-6.