



**UNIVERSIDAD NACIONAL DEL ALTIPLANO- PUNO**  
**FACULTAD DE INGENIERIA QUIMICA**  
**ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERIA QUIMICA**



**DETERMINACION DE RESIDUOS DE HORMONAS 17  $\alpha$ -  
ETINILESTRADIOL, 17  $\beta$ - ESTRADIOL Y ESTRONA EN AGUAS DEL  
RIO AYABACAS, POZOS SUBTERRANEOS Y AGUA POTABLE DE LA  
CIUDAD DE JULIACA EMPLEANDO CROMATOGRAFIA LIQUIDA  
DE ALTA EFICIENCIA Y ESPECTROMETRIA DE MASA**

**PROYECTO DE INVESTIGACION  
PARA SOLICITAR FEDU - 2021**

**PRESENTADO POR:**

**Dr. WALTER ALEJANDRO ZAMALLOA CUBA  
PROFESOR PRINCIPAL A D.E. DE LA FIQ – UNA – PUNO  
PUNO-PERU**

**2021**



### **Autores del trabajo**

1. Walter Alejandro Zamalloa Cuba: Escuela Profesional de Ingeniería Química de la Universidad Nacional del Altiplano, Av Floral S/N Puno Perú.  
zamalloacuba@hotmail.com, 951922802
2. Dra. Olivia M. Luque Vilca. Universidad Nacional de Juliaca. UNJ
3. Franz Zirena Vilca: Docente Investigador, Universidad Nacional de Moquegua, - Ilo, franzvilca@usp.br , 956753735
4. Bachiller en Ingeniería Química: Para tesis para Título profesional de Ingeniero Químico.
5. Valdemar Luiz Tornisielo: Investigador del Centro de Energía Nuclear na Agricultura, (CENA) Laboratorio de Ecotoxicología, Piracicaba, SP, Brasil, vltornis@cena.usp.br, + 5519 3429 4762.

### **I.**



# **DETERMINACION DE RESIDUOS DE HORMONAS 17 ALFA ETINILESTRADIOS, 17 BETA ESTRADIOL Y ESTRONA EN AGUAS DEL RIO AYAVACAS, POZOS SUBTERRANEOS Y AGUA POTABLE DE LA CIUDAD DE JULIACA EMPLEANDO CROMATOGRAFIA LIQUIDA DE ALTA EFICIENCIA Y ESPECTROMETRIA DE MASA**

## **II. Resumen**

La contaminación de las aguas es uno de los problemas ambientales más importantes que afectan a nuestro mundo, resultado de la introducción de nuevos contaminantes emergentes como las hormonas que causan alteración endocrina en humanos y animales acuáticos. Si bien las hormonas no se introducen intencionalmente en cuerpos de agua, se encuentran en los efluentes de las aguas residuales domésticas y escorrentías agrícolas que desembocan en los ríos, las muestras se tomarán en frascos de vidrio ámbar, filtradas para concentrar las hormonas en los cartuchos Strata Polymeric (SPE) , previamente acondicionadas. se procesarán en el Laboratorio de Calidad de la UNAJ – Juliaca la determinación cromatográfica líquida será en el laboratorio de Ecotoxicología del CENA- USP- Brasil o el laboratorio de Cromatografía de la UNAJ . El objetivo de la investigación es determinar y cuantificar las hormonas: 17  $\alpha$ - etinilestradiol, 17  $\beta$ - estriol y la estrona en aguas del río Ayabacas, pozos subterráneos y potable de diferentes zonas de la ciudad de Juliaca, , esta investigación provocara debates sobre la mejora para tratamiento de agua de consumo y evitar los riesgos contra la salud acuática y humana

palabras claves; Agua, hormonas, cromatografía líquida, riesgo ambiental , Juliaca



## I. Title

# DETERMINATION OF RESIDUES OF HORMONES 17 ALPHA ETHINYLESTRADIOL, 17 BETA ESTRADIOL AND ESTRONE IN WATERS OF THE AYABACAS RIVER, UNDERGROUND WELLS AND DRINKING WATER OF THE CITY OF JULIACA USING CHROMATOGRAPHY AND ALPHA LIQUID EFFICIENCY SPECTRO

## **Abstract**

Water pollution is one of the most important environmental problems affecting our world, the result of the introduction of new emerging pollutants such as hormones that cause endocrine disruption in humans and aquatic animals. While hormones are not intentionally introduced into bodies of water, they are found in effluents from domestic sewage and agricultural runoff that flow into rivers, the samples will be taken in amber glass vials, filtered to concentrate the hormones in the cartridges Strata Polymeric (SPE), pre-packed. The liquid chromatographic determination will be processed in the UNAJ Quality Laboratory - Juliaca in the Ecotoxicology laboratory of CENA- USP- Brazil or the UNAJ Chromatography laboratory. The objective of the research is to determine and quantify the hormones: 17  $\alpha$ -ethinyl estradiol, 17  $\beta$ -estriol and estrone in waters of the Ayabacas river, underground and drinking wells from different areas of the city of Juliaca, this investigation will provoke debates about the improvement for drinking water treatment and avoiding risks against aquatic and human health

keywords; Water, hormones, liquid chromatography, environmental risk, Juliaca



### **III. Justificación del proyecto**

Las aguas del río Ayabacas son tratadas para el uso como agua potable de la ciudad de Juliaca, así mismo mucha parte de la población se abastece agua de pozos subterráneos, estas aguas, se ve perturbado en la actualidad por contaminantes emergentes. No se tiene reportes de investigación ni bibliografía nacional, regional ni local sobre compuestos emergentes y persistentes. en estos sistemas. el río Ayavacas, recibe una considerable carga de contaminantes provenientes de desagües urbanos (cloacas y pluviales) de las ciudades ribereñas y afectan el riesgo creciente de contaminación de los ríos de las cuencas, las aguas del río Ayavacas proporciona beneficios a las comunidades ribereñas como agua de consumo.

La presente investigación es pertinente y relevante, surge como respuesta al problema de investigar la existencia y concentración de residuos de hormonas esteroides en el agua del río Ayabacas, agua de pozos subterráneos agua potable de la ciudad de Juliaca. Evaluar los residuos de hormonas mencionadas como disruptores endocrinos. Para acotar e implementar sistemas de gestión ambiental, que coadyuvará a mitigar riesgos ambientales y proteger la biota acuática y la salud humana, con desarrollo sostenible.

Para el desarrollo de la investigación, se cuenta con apoyo del Centro de Energía Nuclear para la Agricultura (CENA) de la Universidad de Piracicaba USP- Brasil. O el laboratorio de Calidad de la Universidad Nacional de Juliaca. UNAJ. .

#### **4.1. Impactos esperados**

##### **1. Impactos en Ciencia y Tecnología**

En ciencia. Conocimiento de la existencia de residuos de hormonas esteroides en el agua del río y agua de consumo que es preocupación para los investigadores, por ser disruptores endocrinos, pueden afectar el desarrollo de los seres vivos, sabiendo el consumo de pastillas anticonceptivas. Desarrollar estrategias coherentes adecuadas a la conservación del río Ayabacas.

En lo tecnológico la aplicación de polímeros adsorbentes de mayor concentración y el uso del HPLC y su validación de los métodos de extracción y cuantificación de la concentración de residuos de hormonas esteroidales

##### **2. Impactos Económicos**

La necesidad de proteger nuestros recursos hídricos ante los efectos nocivos de los esteroides está clara, pero la comprensión de nuestra voluntad como



sociedad de pagar para tal protección no lo es (o, cuando menos, la de quienes tienen intereses, principalmente, económicos, qué defender). Tampoco está claro quién es el responsable; incluso, las compañías farmacéuticas que deberían estar comprometidas con las autoridades responsables para prestar la máxima atención a la elaboración de todos sus productos, quizá diseñándolos de manera que no provoquen daños al medio ambiente

### **3. Impactos Sociales**

Dar a conocer la existencia de residuos de hormonas en las aguas del Río Ayabacas, pozos subterráneos y agua potable y ver el riesgo de efectos en vida acuática y la salud humana.

### **4. Impactos Ambientales**

La presencia de contaminantes emergentes en nuestros recursos hídricos es motivo de preocupación acerca de la seguridad del ambiente. Las plantas convencionales de tratamiento de aguas residuales o para uso potable no están diseñadas para eliminar este tipo de contaminantes. Se estima que la principal fuente de contaminación son las aguas residuales urbanas no tratadas y los efluentes de las plantas de tratamiento de aguas residuales, ya que estas sustancias terminan siendo liberadas en el agua superficial, en el suelo o, en casos muy específicos, reinyectadas al sistema acuífero.

Mostrar la existencia y prever métodos de eliminación de los residuos de hormonas puesto que afecta a la vida lacustre de los peces.

## **IV. Antecedentes del proyecto**

**5.1. Agua contaminada.** La Organización Mundial de la Salud (OMS- 2012) señala que: “(...) el agua está contaminada o polucionada, cuando su composición o estado se encuentran alterados de tal modo que no reúne las condiciones para su consumo.

### **5.2 La contaminación de las aguas del río Ayabacas.**

la cuenca del Ramis está conformada por varios ríos entre ellos el río Ayabacas, está expuesto a los desechos de las comunidades y de la actividad minera. y esta cuenca termina en el Lago Titicaca el cual acelera fenómenos como la eutrofización que altera la vida de la flora y fauna y pone en riesgo la salud de las comunidades del lago. Programa de las Naciones Unidas para el Desarrollo (PNUD) y el financiamiento del Fondo para el Medio Ambiente Mundial (GEF). (2019) Un observatorio contra la contaminación del lago



Titicaca. Objetivos de desarrollo sostenible.

### 5.3 Hormonas Esteroides.

Las hormonas son sustancias químicas producidas por las glándulas endocrinas que, a través de los capilares que rodean a la glándula, son liberadas a la circulación sanguínea hasta alcanzar los órganos y tejidos diana sobre los que actúan.

El 17- $\alpha$  etinil-estradiol EE2, sintético, vehiculado al medioambiente aborda la disrupción endocrina originada en los organismos acuáticos a través de los efluentes de las estaciones depuradoras de aguas residuales, (A.L. Oropeza Jiménez, 2008). (Caldwell, Mastrocco, et. al, 2012).

El 17  $\beta$  Estradiol, E2, uno de los EDC con alto efecto estrogénico, tiene el potencial de causar múltiples efectos disruptores endocrinos, incluso en pequeñas concentraciones. (Díaz-Torres, et al. , 2013); (Wu , Fang et al., 2014)

La Comisión Europea consideró como una acción prioritaria una evaluación en profundidad del potencial de disrupción endocrina de 12 sustancias entre las cuales se encontraba el 17- $\alpha$ -etinilestradiol (COM (2001) 262). La EPA (2012), incorporó en su lista de evaluación de nuevos contaminantes al estradiol, estriol, estrona y etinilestradiol, debido a que hay evidencias que demuestran su potencial como disruptores

La presencia de los estrógenos en el ambiente es de origen natural y antropogénico. Como fuente natural la excreción diaria humana de estradiol, estrona y estriol varía de hombre (1.6, 3.9,  $\mu\text{g}$ ) de mujer (3.5; 4.8  $\mu\text{g}$ ); en mujeres embarazadas, la excreción diaria de estriol llega hasta 6 000  $\mu\text{g}$ ; mujeres que toman anticonceptivos basados en etinilestradiol excretan 35  $\mu\text{g}$  de este estrógeno sintético cada día. (Petrovic, et al., 2008).

El 17  $\beta$  Estradiol (E2) se detectó en una fuente de agua en los EE. UU. A una concentración de 17  $\text{ng.L}^{-1}$ , en Taiwán del orden de 1,4 a 33,9  $\text{ng.L}^{-1}$  en aguas superficiales, en Brasil en el afluente de un tratamiento de agua convencional (ETA) en el rango de 3.0 a 9.1  $\text{ng.L}^{-1}$  y en agua de suministro humano con una concentración de 0.78 a 1.48  $\text{ng.L}^{-1}$  y en fuentes de agua en Belo Horizonte y São Paulo con concentraciones de 1.5 a 36.8  $\text{ng.L}^{-1}$  y 0.72 a 17.1  $\text{ng.L}^{-1}$  respectivamente (Benotti et al., 2009); (Chen et al., 2007); (Gerolin, 2008) ; MIERZWA et al., 2009).



Gilbert (2012) reportó que la Comisión Europea propuso a sus estados miembros establecer un límite promedio de concentración anual de  $17\alpha$  etinilestradiol en 0.035 ng/l. aguas depuradas de la Isla de la Gran Canaria con un rango de 015 a 9,35 ng L<sup>-1</sup> (Rayco et al., 2016). Contenido de Estrona en aguas de alcantarilla no tratada y tratadas Brasil 33737ng L<sup>-1</sup> 955 ng L<sup>-1</sup> (Moura 2009). Suecia 14,5 ng L<sup>-1</sup> 3 ng L<sup>-1</sup> ( Zorita y col.2009). , Japón 21-68 ng L<sup>-1</sup> 0,6-80 ng L<sup>-1</sup> ( Hashimoto y Murakami 2009). , para el  $17\beta$  estradiol ng L<sup>-1</sup> en alcantarillas no tratadas y tratadas Alemania 15 n.d. Brasil 21 n.d,( Ternes y col.1999). Brasil 690 102 ( Moura 2009) Suecia 3,2 < 1,6 ( Zorita y col.2009) ., para la ,  $17\alpha$  etinilestradiol; Brasil 180 100 (Moura 2009) Suecia < 10 < 10 ( Zorita y col.2009)

El uso del HPLC y la metodología, permite la detección y cuantificación de estos compuestos en agua (Torres & Valdemar, 2014) es el método más utilizado para evaluar el efecto matriz es de la fortificación pos-extracción (Matuszewski et al, 2011)

## V. Planteamiento del problema

### 6.1 Identificación del Problema

La presencia de contaminantes emergentes como las hormonas esteroides en el medio acuático, es el problema ambiental más crítico y preocupante a nivel mundial, porque afectan el sistema endocrino de organismos acuáticos y cuerpos humanos. Entre los contaminantes emergentes se encuentran las hormonas esteroides, que se están detectando en las aguas ambientales (Adeel *et al.*, 2017; Fent, 2015; Gogoi *et al.*, 2018; Ismail et al., 2019; Omar *et al.*, 2016).

Los países: Europa, EEUU, China, España, México y Brasil. Presentan estudios sobre hormonas esteroides en el medio acuático debido a que pueden interferir en el funcionamiento normal del sistema endócrino de los seres humanos y animales (Zheng et al., 2008). Los estrógenos naturales, Estrona (E1),  $17\beta$ -estradiol (E2) y el sintético,  $17\alpha$ -etinilestradiol (EE2), son los estrógenos que se encuentran comúnmente en las aguas residuales (Racz y Goel, 2010), representan un riesgo ambiental debido a su alto potencial de persistir en los ecosistemas, y producir acumulación y toxicidad para los seres vivos (Silva, Otero, & Esteves, 2012); (Ramírez-Sánchez, et al., 2015)

En las últimas décadas se han producido y consumido productos (Insecticidas,





plaguicidas, fármacos hormonas esteroides, hidrocarburos aromáticos policíclicos y otros) catalogados como sustancias emergentes y persistentes y sus residuos son potenciales contaminantes disruptores endocrinos. Miriam et, al., 2012) Hortence T. N., & Valdemar L.T, 2014).

cuya presencia en fuentes de aguas naturales y de abastecimiento destinada al consumo causan perjuicios inherentes sobre los ambientes acuáticos y a los seres humanos. Estas hormonas se han detectado en aguas residuales en ríos y lagos a través del mundo a niveles en los que son capaces de causar alteraciones endocrinas.

### **Enunciados del problema**

Con todos los factores mencionados y para mejor entendimiento de la evidencia de residuos de hormonas en estudios en muestras de agua del río Ayabacas, pozos subterráneos y de agua potable de la ciudad de Juliaca, se realiza el trabajo de investigación para responder a los siguientes interrogantes:

### **6.2 Identificación planeamiento de problemas específicos**

¿Evidenciar residuos de hormonas esteroides mencionadas en aguas del río Ayabacas, pozos subterráneos y agua potable de la ciudad de Juliaca con el uso del HPLC podrá identificar y cuantificar?

### **VI. Planteamiento de problemas específicos**

- **Problema específico 1:** ¿La técnica de cromatografía líquida de Alta eficiencia permitirá la determinación y cuantificación de las hormonas:  $17\beta$  Estriol,  $17\alpha$  Etinilestradiol y la Estrona en el agua?
- **Problema específico 2:** ¿Existirá diferencia de concentración de hormonas en agua del río, agua de pozo subterráneo y agua potable de consumo?
- **Problema específico 3.** ¿La validación de la metodología de extracción y cuantificación de las hormonas será óptima

### **VII. Hipótesis general**

Usando cromatografía líquida de alta eficiencia, evidenciará la existencia de residuos de hormonas esteroides, como contaminantes emergentes de las aguas del río, pozos subterráneos y en agua potable de la ciudad de Juliaca

### **VIII. Hipótesis específicas**

- **H.E.1.** La técnica de cromatografía líquida de Alta eficiencia permite la determinación y cuantificación de residuos de  $17\beta$  Estriol;  $17\alpha$  Etinilestradiol y Estrona en el agua
- **H.E.2.** Existe diferencia de concentración de hormonas en agua del río



Ayabacas, de los pozos subterráneos y agua potable de consumo

- **H.E.3.** La validación de la metodología de extracción y cuantificación de las hormonas será óptima

### **IX. Objetivo general**

**Determinar la concentración de residuos de Hormonas 17 alfa etinilestradiol, 17 beta estradiol, y estrona en aguas del rio Ayabacas, pozos subterráneos y Potable de la ciudad de Juliaca Empleando Cromatografía Líquida de Alta Eficiencia y espectrometría de masa**

#### **. Objetivos específicos**

1. Extraer y cuantificar la concentración de hormonas: 17  $\beta$  Estriol; 17  $\alpha$  Etinilestradiol y Estrona en aguas del rio Ayabacas, de pozos subterráneos y de potable de la ciudad de Juliaca utilizando cromatografía líquida de alta eficiencia.
2. Diferenciar la concentración de residuos de hormonas esteroides en aguas del rio y aguas de pozo subterráneos y agua potable de consumo
3. Validar el método de extracción y cuantificación por cromatografía líquida de alta eficiencia y espectrometrías de masa

### **X. Metodología de Investigación**

Para evaluar, determinar, cuantificarlas y validar del método de extracción de hormonas esteroides, se trabajará con los protocolos del Laboratorio del Centro de Energía Nuclear para la Agricultura (CENA) de la Universidad de Piracicaba-USP-Brasil. Para utilizar el equipo de cromatografía líquida de alta eficiencia (HPLC), siendo en la actualidad este método el más aceptado en los trabajos de investigación.

1. Toma de muestras de agua del rio Ayabacas. Se usará **muestreador de agua de Teflón Niskin** y se colectará en botellas de vidrio ámbar de 650 mL mantenidas a 4°C, en cooler, de tres puntos del rio distantes de 10 km antes de la toma de agua para la planta potabilizadora de Juliaca.; las muestras se trasladarán al laboratorio de calidad de la UNAJ – Puno para su pretratamiento, se filtrará en papel filtros para eliminar sólidos suspendidos, luego usará la fase extracción sólido-líquido en cartuchos polymeric SPE, para adsorber las hormonas, previamente acondicionadas con agua ultra pura y metanol grado HPLC, se utiliza bombas de vacío para filtrar a través de estos cartuchos.
2. Toma de muestras de agua de pozo subterráneos se tomará de tres sectores de



la ciudad que utilizan la población de Juliaca, zona, norte, zona sur y zona centro donde existen pozos Juliaca usando **muestreador de agua de Teflón Niskin**

3. el agua potable se tomará del hospital General Monge Medrano, hospital del Seguro Social y del Municipio de Juliaca.
4. Los cartuchos polymeric SPE, debidamente acondicionadas a 4°C, serán trasladadas y procesados en el CENA.
5. El uso de cartuchos es una técnica sostenible, que es extracción en fase solida (SPE, Solid Phase Extraction), los avances que se han llevado, se han convertido en metodologías de detección y determinación cada vez más selectiva y sensibles. Sin embargo, pese a estos avances, requieren un paso previo de extracción y preconcentración en la técnica más utilizada y estandarizada. De hecho, la SPE es utilizada en protocolos de análisis de diversas administraciones como la (US-EPA, 2012) o la Comisión Europea (United States Enviromental Protection Agency: 2010) ,  
extracción en fase solida está basada en la retención selectiva de los analitos en una fase adsorbente y su posterior elución, utilizando un disolvente adecuado es vital para obtener recuperaciones lo más altas posibles
6. El desarrollo que tiene la cromatografía liquida de alta eficiencia (HPLC), hace, que esta sea la más utilizada en la actualidad para la separación y determinación de hormonas en muestras medioambientales, tanto liquidas como sólidas, por lo que existen una gran cantidad de trabajos de esta área (K Shimade et, al; 2001), estriba en la baja volatilidad de las hormonas esteroides, basados en HPLC con detectores de fluorescencia. Por esta razón, esta técnica esta llamada a ser técnica de referencia en el ámbito de análisis de hormonas esteroideas para su verificación y validación se usarán los patrones de alta pureza y reactivos y solventes para HPLC. Los equipos de HPLC ya tienen un Software especializado para evaluar y cuantificar sustancias emergentes.

## **XI. Referencias bibliográficas**

1. Adeel, M., Song, X., Wang, Y., Francis, D., Yang, Y., 2017. Environmental impact of estrogens on human, animal and plant life: a critical review. Environ. Int. 99, 107–119. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2016.12.010>.
2. Agencia de Protección Ambiental de Estados Unidos (2012). Leyes y Normas



– Reglamentos ambientales

3. Benotti MJ , Trenholm RA, Vanderford BJ, Holady JC, Stanford BD, Snyder SA. *Environ Sci Technol.* (2009). 43 (3): 597-603. doi: 10.1021 / es 801845a.
4. Caldwell, D. J., Mastrocco, F., Anderson, P. D., Lange, R., & Sumpter, J. P. (2012). Predicted - No- Effect Concentrations for the Steroid Estrogens: Estrone, 17b-Estradiol, Estriol, and 17a-Ethinylestradiol. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 31(6), 1396-1406.
5. Comision Europea (United States Enviromental Protection Agency: 2010) , Method 539. Determination of Hormones in Drinking Water by Solid Phase Extraction (SPE) and Liquid Chromatography Electrosopy Ionization Tandem Mass Spectrometry (LC-ESI MS/MS), United States Enviromental Protection, Agency 2010. <https://nepis-epa.gov/Exe/ZyPURL.cgi?Dockey=P100176V.txt> (accessed April 3, 2017).
6. Escobar Ramírez & Barg, 1990). los desechos orgánicos al **lago Titicaca**. Obteniendo este, el 42% del total de carga orgánica emitida. (La suma es de un millón ...por H Salhuana - 2019 - Artículos relacionados
7. Fent, K., 2015. Progestins as endocrine disrupters in aquatic ecosystems: concentrations, effects and risk assessment. *Environ. Int.* 84, 115–130. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2015.06.012>.
8. Gilbert, N. (November, 22, 2012). Drug-Pollution Law All Washed Up. *Nature*, 491, 503-504.
9. Gogoi, A., Mazumder, P., Tyagi, V.K., Tushara Chaminda, G.G., An, A.K., Kumar, M., 2018. Occurrence and fate of emerging contaminants in water environment: a review. *Groundw. Sustain. Dev.* 6, 169–180. <https://doi.org/10.1016/j.gsd.2017.12.009>.
10. Gilbert, N. (2012). Drug-Pollution Law All Washed Up. *Nature*, 491, 503-5.
11. Hortence T. N., & Valdemar L.T, (2014). Determinacao de hormonios e antimicrobianos no Rio Piracicaba e testa de toxicidade agua com Daphnia magna. Teses Doutor 2014.
12. Matuszewski, B.K. ; Constanzer, M.L. Chavez-Eng, C.M.; 2010). Strategies for the of matrix effect in quantitative bioanalytical methods base don HPLC-C-MS/MS. *Analytical Chemistry* , Washington, DC, v.75, n 13, p.3019-3030 2010.
13. Miriam Janet Gil\* / Adriana María Soto\*\* / Jorge Iván Usma\*\*\* / Omar Darío Gutiérrez\*\*\*\*.(2012). Contaminantes emergentes en aguas, efectos y posibles tratamientos Producción + Limpia - Julio - Diciembre de 2012. Vol.7, No.2 - 52•73
14. Moura J.A. Estudo da eficiência de estações de tratamento de esgoto - ETE e estações de tratamento de água – ETA na eliminação de resíduos de estrógenos naturais e sintéticos na UGRHI-13 (Tietê-Jacaré). Tese (Doutoradoem Química/ Química Analítica), Instituto de Química, Universidade Estadual Paulista; 2009.



15. Omar, T.F.T., Ahmad, A., Aris, A.Z., Yusoff, F.M., 2016. Endocrine disrupting compounds (EDCs) in environmental matrices: review of analytical strategies for pharmaceuticals, estrogenic hormones, and alkylphenol compounds. *TrAC Trends Anal. Chem. (Reference Ed.)* 85, 241–259. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2016.08.004>.
16. Organización Mundial de la Salud (OMS) publicó cuatro ediciones de las Guías para la calidad del **agua potable** (en 1983-1984, 1993-1997, 2004 y 2011),
17. Petrovic, M., Radjenovic, J., Postigo, C., Kuster, M., Farre, M., De Alda, M. L., & Barceló, (2008). *Emerging Contaminants in Wastewaters: Sources and Occurrence* (pp. 1-35).
18. Programa de las Naciones Unidas para el Desarrollo (PNUD) y el financiamiento del Fondo para el Medio Ambiente Mundial (GEF). 2019. *Un observatorio contra la contaminación del lago Titicaca*
19. Ramírez-Sánchez, I. M., Martínez-Austria, P., Quiroz-Alfaro, M. A., & Bandala, E. R. (septiembre-octubre, 2015). Efectos de los estrógenos como contaminantes emergentes en la salud y el ambiente. *Tecnología y Ciencias del Agua*, 6(5), 31-42.
20. **Silva, C.P., Otero, M., Esteves, V., 2012.** Processes for the elimination of estrogenic steroid hormones from water: a review. *Environ. Pollut.* 165, 38–58. **Silva, B.**
21. Ternes T.A., Stumpf M., Mueller J., Haberer K., Wilken R.D., Servos M. Behavior and occurrence of estrogens in municipal sewage treatment plants. Investigations in Germany, Canadá and Brazil. *Sci Total Environ.* 1999;225:81-90.
22. Wu F<sup>1</sup>, Fang Y, Li Y, Cui X, Zhang R, Guo G, Giesy JP (2014). Predicted no-effect concentration and risk assessment for 17-[beta]-estradiol in waters of China. *Rev. Environ Contam Toxicol.*
23. Zheng, W., Yates, S.R. & Bradford, S. A. ; (2008). Analysis of steroid hormones in a typical dairy waste disposal systems. *Environment Sci. Technol*, 42, 530-5
24. Zorita S., Mårtensson L., Mathiasson L. Occurrence and removal of pharmaceuticals in a municipal sewage treatment system in the south of Sweden. *Sci Total Environ.* 2009;407:2760-2770.

## **XII. Uso de los resultados y contribuciones del proyecto**

Siendo la investigación pertinente y relevante que dará a conocer la existencia de las cantidades de residuos de hormonas en estudio, para hacer un plan de gestión de tratamiento de estos compuestos existentes en las aguas del río, de pozos y agua de consumo.

Publicar los resultados en un artículo científico para dar a conocer a la comunidad en general los cuidados que se debe optar en el consumo de agua.



### **XIII. Recursos necesarios**

#### **Materiales**

##### **1. Equipos**

- Para el análisis de las hormonas esteroides.
- Cromatógrafo líquido de alta eficiencia (HPLC): Workstation (agiletn Chen Estation).
- columna Agilent Zorbax a determinar: 80 SB-C8 (9.4 x 15 mm).
- Columna Kromasil 100-5c18, 5um x 4,6 mm x 250 mm.
- Columna de guarda -Kromasil 100 -5C18.
- Balanza analítica HA-202 m- and Company.
- horno de columnas 1200 Series G1316A y válvula de 10 puertas.
- Bomba de vacío .
- Cámara de vacío Visiprep DL TM .
- Cartucho strata polymeric SPE phenomenon .
- bomba binaria (bomba analítica) 1200 Series G1312A; inyector automático 1260 Infinity G1329A con adaptación para volumen hasta 900 Pl.
- desgasificador 1260 Infinity G4225A.
- Baño de ultrasonido Bandelin Sonorex RK5 10S.
- Frascos o boetllas de vidrio ambar de 1 litro o de 650 ml .
- Micripipetas de 100, 200, 1000 y 10000Ul.
- Balones volumétricos de 10 ml.
- Otros materiales de laboratorio como bequer, probetas, pipetas tubos de ensayo.
- Sonda Multiparamétrico Aquaread AP 5000 - Ag Solve.

##### **2. Solventes y Reactivos**

Los solventes y reactivos que utilizaran son: metanol grado HPLC (Tedia), agua ultrapura, dimetildiclorosilano, tolueno grado HPLC diclorometano grado HPLC, gas de nitrógenos para la concentración de las muestras.

##### **3. Patrones Analíticos**

- E3, 17alfa EE2 y el 17 beta E2. Abastecedor Dr. Ehrenstorfer GmbH, Augsburg Germany .

### **XIV. Localización del Proyecto**

#### **1. Población y Muestra**

Las muestras de agua del rio ayabacas , tres zonas, agua potable de tres zonas de la ciudad de Juliaca, tres zonas de pozos suterraneos de la ciudad de Juliaca



## XV. Cronograma de actividades

**Tabla 1:** Cronograma de Actividades

Actividades	En	Fe	Ma	Ab	Ma	Ju	Ju	Ag	Se	Oc	No	Di
	e	b	r	r	y	n	l	o	t	t	v	c
Búsqueda y revisión de bibliografía científica	X	X	X	X	X	X	X	X				
Visitas preliminares a zona de muestreo		X	X	X								
Toma de muestras de agua del rio Ayabacas										X		
Toma de muestras de agua potable										X		
Viaje y traslado de muestras al laboratorio (CENA- Brasil)										X		
Presentación del Perfil del Proyecto de Tesis					X							
Revisión del Perfil del Proyecto (Jurados)						X						
Redacción de la Tesis							X	X	X	X	X	
Presentación de la Tesis												X
Sustentación de la Tesis												X
Redacción de Artículo Científico												X



## XVI. Presupuesto

En la siguiente tabla se detalla el presupuesto considerado para la realización de la presente investigación, el total del presupuesto será financiado con recursos propios.

**Tabla 2:** Presupuesto para realizar la investigación.

Ítem	Unidad de medida	Cantidad	Valor Unitario S/.	Valor Total S/.
Materiales (cartuchos)		24	55,00	1320,00
Cooler Rubbermaid RB071 con Ruedas	Unidad	1	200,00	200,00
Frascos ámbar	Unidad	24	3,00	72
Indumentaria para recolección de muestras	Global	3	50,00	150,00
<b>Insumos</b>				
Solventes y reactivos	Unidad	6	2000	1200
Columna cromatográfica	Unidad	2	2500,00	5000,00
Patrones analíticos de antibióticos	Unidad	3	800,00	2400
<b>Materiales de escritorio</b>				
Materiales de escritorio	Global	1000 hjs	50,00	50,00
Impresiones	Global	6 ejemp.	30,00	180,00
<b>Servicios</b>				
Gastos de Toma de muestras: Lancha, Equipos, otros	Global	4 personas	100,00	400,00
Pasajes y viáticos del investigador para procesamiento de muestras (Sao Paulo - Brasil)	Global	1	2200,00	2200,00
Pago a terceros	Servicio	3	100,00	300,00
<b>Sub total</b>				<b>18492,00</b>
Imprevistos (10%)				1849,00
<b>Total</b>				<b>20345,00</b>



## XVII. Cuadro Matriz de Consistencia

Planteamiento del problema	Hipótesis	Objetivos	Variables	Indicadores	Métodos
<p><b>P:G:</b> ¿Existirá residuos de hormonas esteroides en aguas del lago Titicaca y agua de consumo de la ciudad de Puno y el HPLC podrá identificar y cuantificar?</p> <p><b>P.E. 1.</b> -¿La técnica de cromatografía líquida de Alta eficiencia permitirá la determinación y cuantificación de residuos de 17 β Estriol en el agua?</p> <p><b>P.E.2.</b> ¿La técnica de HPLC permitirá la determinación y cuantificación de residuos de 17 α Etinilestradiol en el agua?</p> <p>P.E.3. ¿La técnica de HPLC permitirá la determinación y cuantificación de residuos de Estrona en el agua?</p> <p>P.E.4. ¿Existirá diferencia de concentración de hormonas en agua del lago y agua potable de consumo?</p> <p>P.E.5. ¿La validación de la metodología de extracción y cuantificación de las hormonas será optima?</p>	<p>H.G. Usando HPLC, evidencia residuos de hormonas esteroides, de las aguas del Lago Titicaca y en agua potable de consumo en la ciudad de Puno,</p>	<p>O.G. Extraer y cuantificar residuos de hormonas esteroides en aguas del Lago Titicaca y agua de consumo en la ciudad de Puno utilizando HPLC.</p>	<p>Variables independientes</p>		
	<p>H.E.1. La técnica de HPLC determina y cuantifica residuos de 17 β Estriol en el agua.</p> <p>H.E.2. La técnica de HPLC determina y cuantifica residuos de 17 α Etinilestradiol en el agua.</p> <p>H.E.3. La técnica de HPLC determina y cuantifica residuos de 17 α Etinilestradiol en el agua.</p> <p>H.E.4. La técnica de HPLC determina y cuantifica residuos de Estrona en el agua</p> <p>H.E.5. Valida óptimamente de la extracción y cuantificación de las hormonas</p>	<p>O.E.1.Extraer y cuantificar la concentración de residuos de 17 β Estriol en el agua, utilizando HPLC.</p> <p>O.E.2 Extraer y cuantificar la concentración de residuos de Estrona en el agua, utilizando HPLC.</p> <p>O.E.3. Diferencia de concentración de residuos de hormonas esteroides en agua del lago y agua de consumo</p> <p>O.E.4. Diferencia de concentración de residuos de hormonas esteroides en agua del lago y agua de consumo</p> <p>O.E.5. Validar el método de extracción y cuantificación por cromatografía líquida de alta eficiencia</p>	<p>Hormonas:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Estrona</li> <li>- 17 alfa etinilestradiol</li> <li>- 17 beta estradiol</li> </ul> <p>Tamaño de columna HPLC</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Patrones de hormonas</li> </ul> <p>Flujo de carga del</p>	<p>-concentración de hormonas en ngL-1</p> <p>Numero de columnas de la columna</p>	HPLC
				<p>Variables Dependientes</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Distancia de toma de Muestra de agua</li> <li>- Profundidad de toma de muestra.</li> <li>- Volumen de agua</li> <li>- Temperatura de carga al HPLC</li> <li>- Concentración de hormonas</li> <li>-</li> </ul>	<p>Km.</p> <p>Volumen en ml</p> <p>°C</p> <p>M</p> <p>Ng L-1</p>