



# UNIVERSIDAD TÉCNICA DE COTOPAXI

## FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS Y RECURSOS NATURALES

### INGENIERÍA AMBIENTAL

### PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

**Título:**

---

**“TRAZABILIDAD MICROBIOLÓGICA EN SITIOS POCO MONITOREADOS Y CONTAMINADOS  
CON ARSÉNICO PROVENIENTE DE FUENTES NATURALES ENTRE LOS 3500 Y 3600 m.s.n.m.  
EN LA PARROQUIA DE TOACASO”.**

---

Proyecto de Investigación presentado previo a la obtención del Título de Ingenieras  
Ambientales

**Autoras:**

Caceres Zumbay Jenifer Elizabeth

Díaz Soatunce Mery Karina

**Tutora:**

Ilbay Yupa Mercy Lucila, Ph.D.

**LATACUNGA – ECUADOR**

**Marzo 2022**

## DECLARACIÓN DE AUTORÍA

Jenifer Elizabeth Caceres Zumbay, con cédula de ciudadanía No. 0504374075; y, Mery Karina Díaz Soatunce Mery Karina, con cédula de ciudadanía No. 0504258914; declaramos ser autoras del presente proyecto de investigación: “Trazabilidad microbiológica en sitios poco monitoreados y contaminados con arsénico proveniente de fuentes naturales entre los 3500 y 3600 m.s.n.m. en la parroquia de Toacaso”, siendo la Ingeniera Ph.D. Mercy Lucila Ilbay Yupa, Tutora del presente trabajo; y, eximimos expresamente a la Universidad Técnica de Cotopaxi y a sus representantes legales de posibles reclamos o acciones legales.

Además, certificamos que las ideas, conceptos, procedimientos y resultados vertidos en el presente trabajo investigativo, son de nuestra exclusiva responsabilidad.

Latacunga, 22 de marzo del 2022

Jenifer Elizabeth Caceres Zumbay

Estudiante

CC: 0504374075

Mery Karina Díaz Soatunce

Estudiante

CC: 0504258914

PhD. Mercy Lucila Ilbay Yupa

Docente Tutor

CC: 0604147900

## **CONTRATO DE CESIÓN NO EXCLUSIVA DE DERECHOS DE AUTOR**

Comparecen a la celebración del presente instrumento de cesión no exclusiva de obra, que celebran de una parte **CACERES ZUMBAY JENIFER ELIZABETH**, identificada con cédula de ciudadanía 0504374075 de estado civil soltera, a quien en lo sucesivo se denominará **LA CEDENTE**; y, de otra parte, el Ingeniero Ph.D. Cristian Fabricio Tinajero Jiménez, en calidad de Rector Encargado, y por tanto representante legal de la Universidad Técnica de Cotopaxi, con domicilio en la Av. Simón Rodríguez, Barrio El Ejido, Sector San Felipe, a quien en lo sucesivo se le denominará **LA CESIONARIA** en los términos contenidos en las cláusulas siguientes:

**ANTECEDENTES: CLÁUSULA PRIMERA.** - **LA CEDENTE** es una persona natural estudiante de la carrera de Ingeniería Ambiental titular de los derechos patrimoniales y morales sobre el trabajo de grado “Trazabilidad microbiológica en sitios poco monitoreados y contaminados con arsénico proveniente de fuentes naturales entre los 3500 y 3600 m.s.n.m. en la parroquia de Toacaso”, la cual se encuentra elaborada según los requerimientos académicos propios de la Facultad; y, las características que a continuación se detallan:

### **Historial Académico**

Inicio de la carrera: Abril 2018 - Agosto 2018

Finalización de la carrera: Octubre 2021 – Marzo 2022

Aprobación en Consejo Directivo. - 7 de enero del 2022

Tutor: Ing. Ph.D. Mercy Lucila Ilbay Yupa

Tema: “Trazabilidad microbiológica en sitios poco monitoreados y contaminados con arsénico proveniente de fuentes naturales entre los 3500 y 3600 m.s.n.m. en la parroquia de Toacaso”.

**CLÁUSULA SEGUNDA.** - **LA CESIONARIA** es una persona jurídica de derecho público creada por ley, cuya actividad principal está encaminada a la educación superior formando profesionales de tercer y cuarto nivel normada por la legislación ecuatoriana la misma que establece como requisito obligatorio para publicación de trabajos de investigación de grado en su repositorio institucional, hacerlo en formato digital de la presente investigación.

**CLÁUSULA TERCERA.** - Por el presente contrato, **LA CEDENTE** autoriza a **LA CESIONARIA** a explotar el trabajo de grado en forma exclusiva dentro del territorio de la República del Ecuador.

**CLÁUSULA CUARTA. - OBJETO DEL CONTRATO:** Por el presente contrato **LA CEDENTE**, transfiere definitivamente a **LA CESIONARIA** y en forma exclusiva los siguientes derechos patrimoniales; pudiendo a partir de la firma del contrato, realizar, autorizar o prohibir:

- a) La reproducción parcial del trabajo de grado por medio de su fijación en el soporte informático conocido como repositorio institucional que se ajuste a ese fin.
- b) La publicación del trabajo de grado.
- c) La traducción, adaptación, arreglo u otra transformación del trabajo de grado con fines académicos y de consulta.
- d) La importación al territorio nacional de copias del trabajo de grado hechas sin autorización del titular del derecho por cualquier medio incluyendo mediante transmisión.
- e) Cualquier otra forma de utilización del trabajo de grado que no está contemplada en la ley como excepción al derecho patrimonial.

**CLÁUSULA QUINTA.** - El presente contrato se lo realiza a título gratuito por lo que **LA CESIONARIA** no se halla obligada a reconocer pago alguno en igual sentido **LA CEDENTE** declara que no existe obligación pendiente a su favor.

**CLÁUSULA SEXTA.** - El presente contrato tendrá una duración indefinida, contados a partir de la firma del presente instrumento por ambas partes.

**CLÁUSULA SÉPTIMA. - CLÁUSULA DE EXCLUSIVIDAD.** - Por medio del presente contrato, se cede en favor de **LA CESIONARIA** el derecho a explotar la obra en forma exclusiva, dentro del marco establecido en la cláusula cuarta, lo que implica que ninguna otra persona incluyendo **LA CEDENTE** podrá utilizarla.

**CLÁUSULA OCTAVA. - LICENCIA A FAVOR DE TERCEROS.** - **LA CESIONARIA** podrá licenciar la investigación a terceras personas siempre que cuente con el consentimiento de **LA CEDENTE** en forma escrita.

**CLÁUSULA NOVENA.** - El incumplimiento de la obligación asumida por las partes en la cláusula cuarta, constituirá causal de resolución del presente contrato. En consecuencia, la resolución se producirá de pleno derecho cuando una de las partes comunique, por carta notarial, a la otra que quiere valerse de esta cláusula.

**CLÁUSULA DÉCIMA.** - En todo lo no previsto por las partes en el presente contrato, ambas se someten a lo establecido por la Ley de Propiedad Intelectual, Código Civil y demás del sistema jurídico que resulten aplicables.

**CLÁUSULA UNDÉCIMA.** - Las controversias que pudieran suscitarse en torno al presente contrato, serán sometidas a mediación, mediante el Centro de Mediación del Consejo de la Judicatura en la ciudad de Latacunga. La resolución adoptada será definitiva e inapelable, así como de obligatorio cumplimiento y ejecución para las partes y, en su caso, para la sociedad. El costo de tasas judiciales por tal concepto será cubierto por parte del estudiante que lo solicitare.

En señal de conformidad las partes suscriben este documento en dos ejemplares de igual valor y tenor en la ciudad de Latacunga, a los 22 días del mes de marzo del 2022.

Jenifer Elizabeth Caceres Zumbay

**LA CEDENTE**

Ing. Ph.D. Cristian Tinajero Jiménez

**LA CESIONARIA**

## CONTRATO DE CESIÓN NO EXCLUSIVA DE DERECHOS DE AUTOR

Comparecen a la celebración del presente instrumento de cesión no exclusiva de obra, que celebran de una parte **DIAZ SOATUNCE MERY KARINA**, identificada con cédula de ciudadanía **0504258914** de estado civil soltera, a quien en lo sucesivo se denominará **LA CEDENTE**; y, de otra parte, el Ingeniero Ph.D. Cristian Fabricio Tinajero Jiménez, en calidad de Rector Encargado y por tanto representante legal de la Universidad Técnica de Cotopaxi, con domicilio en la Av. Simón Rodríguez, Barrio El Ejido, Sector San Felipe, a quien en lo sucesivo se le denominará **LA CESIONARIA** en los términos contenidos en las cláusulas siguientes:

**ANTECEDENTES: CLÁUSULA PRIMERA.** - **LA CEDENTE** es una persona natural estudiante de la carrera de Ingeniería Ambiental, titular de los derechos patrimoniales y morales sobre el trabajo de grado “Trazabilidad microbiológica en sitios poco monitoreados y contaminados con arsénico proveniente de fuentes naturales entre los 3500 y 3600 m.s.n.m. en la parroquia de Toacaso”, la cual se encuentra elaborada según los requerimientos académicos propios de la Facultad; y, las características que a continuación se detallan:

### **Historial Académico**

Inicio de la carrera: Abril 2017 - Agosto 2017

Finalización de la carrera: Octubre 2021 – Marzo 2022

Aprobación en Consejo Directivo: 7 de enero del 2022

Tutor: Ing. PhD. Mercy Lucila Ilbay Yupa

Tema: “Trazabilidad microbiológica en sitios poco monitoreados y contaminados con arsénico proveniente de fuentes naturales entre los 3500 y 3600 m.s.n.m. en la parroquia de Toacaso”.

**CLÁUSULA SEGUNDA.** - **LA CESIONARIA** es una persona jurídica de derecho público creada por ley, cuya actividad principal está encaminada a la educación superior formando profesionales de tercer y cuarto nivel normada por la legislación ecuatoriana la misma que establece como requisito obligatorio para publicación de trabajos de investigación de grado en su repositorio institucional, hacerlo en formato digital de la presente investigación.

**CLÁUSULA TERCERA.** - Por el presente contrato, **LA CEDENTE** autoriza a **LA CESIONARIA** a explotar el trabajo de grado en forma exclusiva dentro del territorio de la República del Ecuador.

**CLÁUSULA CUARTA.** - **OBJETO DEL CONTRATO:** Por el presente contrato **LA CEDENTE**, transfiere definitivamente a **LA CESIONARIA** y en forma exclusiva los siguientes derechos patrimoniales; pudiendo a partir de la firma del contrato, realizar, autorizar o prohibir:

- f) La reproducción parcial del trabajo de grado por medio de su fijación en el soporte informático conocido como repositorio institucional que se ajuste a ese fin.
- g) La publicación del trabajo de grado.
- h) La traducción, adaptación, arreglo u otra transformación del trabajo de grado con fines académicos y de consulta.
- i) La importación al territorio nacional de copias del trabajo de grado hechas sin autorización del titular del derecho por cualquier medio incluyendo mediante transmisión.
- j) Cualquier otra forma de utilización del trabajo de grado que no está contemplada en la ley como excepción al derecho patrimonial.

**CLÁUSULA QUINTA.** - El presente contrato se lo realiza a título gratuito por lo que **LA CESIONARIA** no se halla obligada a reconocer pago alguno en igual sentido **LA CEDENTE** declara que no existe obligación pendiente a su favor.

**CLÁUSULA SEXTA.** - El presente contrato tendrá una duración indefinida, contados a partir de la firma del presente instrumento por ambas partes.

**CLÁUSULA SÉPTIMA. - CLÁUSULA DE EXCLUSIVIDAD.** - Por medio del presente contrato, se cede en favor de **LA CESIONARIA** el derecho a explotar la obra en forma exclusiva, dentro del marco establecido en la cláusula cuarta, lo que implica que ninguna otra persona incluyendo **LA CEDENTE** podrá utilizarla.

**CLÁUSULA OCTAVA. - LICENCIA A FAVOR DE TERCEROS.** - **LA CESIONARIA** podrá licenciar la investigación a terceras personas siempre que cuente con el consentimiento de **LA CEDENTE** en forma escrita.

**CLÁUSULA NOVENA.** - El incumplimiento de la obligación asumida por las partes en la cláusula cuarta, constituirá causal de resolución del presente contrato. En consecuencia, la resolución se producirá de pleno derecho cuando una de las partes comunique, por carta notarial, a la otra que quiere valerse de esta cláusula.

**CLÁUSULA DÉCIMA.** - En todo lo no previsto por las partes en el presente contrato, ambas se someten a lo establecido por la Ley de Propiedad Intelectual, Código Civil y demás del sistema jurídico que resulten aplicables.

**CLÁUSULA UNDÉCIMA.** - Las controversias que pudieran suscitarse en torno al presente contrato, serán sometidas a mediación, mediante el Centro de Mediación del Consejo de la Judicatura en la ciudad de Latacunga. La resolución adoptada será definitiva e inapelable, así como de obligatorio cumplimiento y ejecución para las partes y, en su caso, para la sociedad. El costo de tasas judiciales por tal concepto será cubierto por parte del estudiante que lo solicitare.

En señal de conformidad las partes suscriben este documento en dos ejemplares de igual valor y tenor en la ciudad de Latacunga, a los 22 días del mes de marzo del 2022.

Mery Karina Díaz Soatunce

**LA CEDENTE**

Ing. Ph.D. Cristian Tinajero Jiménez

**LA CESIONARIA**



## **AVAL DE LA TUTORA DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN**

**En calidad de Tutor del Proyecto de Investigación con el título:**

**“TRAZABILIDAD MICROBIOLÓGICA EN SITIOS POCO MONITOREADOS Y CONTAMINADOS CON ARSÉNICO PROVENIENTE DE FUENTES NATURALES ENTRE LOS 3500 Y 3600 m.s.n.m. EN LA PARROQUIA DE TOACASO”**, de Caceres Zumbay Jenifer Elizabeth y Díaz Soatunce Mery Karina, de la carrera de Ingeniería Ambiental, considero que el presente trabajo investigativo es merecedor del Aval de aprobación al cumplir las normas, técnicas y formatos previstos, así como también han incorporado las observaciones y recomendaciones propuestas en la Pre defensa.

Latacunga, 22 de marzo del 2022

PhD. Mercy Lucila Ilbay Yupa

**DOCENTE TUTOR**

CC: 0604147900

## **AVAL DE LOS LECTORES DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN**

En calidad de Tribunal de Lectores, aprobamos el presente Informe de Investigación de acuerdo a las disposiciones reglamentarias emitidas por la Universidad Técnica de Cotopaxi; y, por la Facultad de Ciencias Agropecuarias y Recursos Naturales; por cuanto, las postulantes: Caceres Zumbay Jenifer Elizabeth y Díaz Soatunce Mery Karina, con el título del Proyecto de Investigación: "TRAZABILIDAD MICROBIOLÓGICA EN SITIOS POCO MONITOREADOS Y CONTAMINADOS CON ARSÉNICO PROVENIENTE DE FUENTES NATURALES ENTRE LOS 3500 Y 3600 m.s.n.m. EN LA PARROQUIA DE TOACASO" han considerado las recomendaciones emitidas oportunamente y reúne los méritos suficientes para ser sometido al acto de sustentación del trabajo de titulación.

Por lo antes expuesto, se autoriza realizar los empastados correspondientes, según la normativa institucional.

Latacunga, 22 de marzo del 2022

Lector 1 (Presidente)

Ing. M.Sc. José Luis Agreda Oña

CC: 04013322101

Lector 2

Ing. M.Sc. Joseline Luisa Ruiz Depablos

CC: 1758739062

Lector 3

Ing. M.Sc. Oscar Rene Daza Guerra

CC: 0400689790

## **AGRADECIMIENTO**

Agradezco primeramente a Dios por haberme dado la valentía necesaria para no rendirme ante las adversidades que se han presentado en el camino.

A mis padres por ser mi motivo y fuente de inspiración para nunca rendirme, por su apoyo incondicional y por verme inculcado buenos principios y valores ante la sociedad.

Y de manera especial a mi abuela materna (María Zumbay) porque nunca a me ha dejado sola ante ningún problema gracias a ella y a sus sabios consejos es que sigo aquí luchando por seguir adelante en mi carrera.

Caceres Zumbay Jenifer Elizabeth

## **AGRADECIMIENTO**

Agradezco primeramente a Dios por darme salud y vida y guiarme mi camino durante toda la trayectoria de mi carrera. A mi madre y mi hermano por su apoyo incondicional, por haberme inculcado valores y principios, por estar ahí ayudándome a sobrellevar todos los obstáculos que se presentaron y sobre todo por sus consejos que me han servido de motivación para seguir adelante.

Díaz Soatunce Mery Karina

## **DEDICATORIA**

Dedico este trabajo de investigación a Dios por haberme dado salud y vida para llegar a este momento tan importante de mi vida como al de toda mi familia puesto que han sido quienes han guiado mi vida y mi camino hacia mis sueños, ellos han procurado que nunca me dé por vencida y que siempre luche por mis grandes anhelos. Agradezco a mis padres por todo el esfuerzo y empeño realizado con su apoyo moral y económico durante todo este periodo académico, esfuerzo que hoy en día se pueda ver reflejado mediante una meta más cumplida.

Caceres Zumbay Jenifer Elizabeth

## **DEDICATORIA**

A Dios por haberme permitido llegar con salud y vida a este momento tan importante de mi vida. A mi madre y en especial a mi hermano Henry Díaz por haberme dado toda su confianza y creído en mí, por su apoyo incondicional tanto económico como moral, por los valores y principio que me ha inculcado, por todo su esfuerzo y trabajo durante estos años para darme una buena educación y por permitirme cumplir una meta más en vida.

Díaz Soatunce Mery Karina

**UNIVERSIDAD TÉCNICA DE COTOPAXI**  
**FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS Y RECURSOS NATURALES**

**TÍTULO:** TRAZABILIDAD MICROBIOLÓGICA EN SITIOS POCO MONITOREADOS Y CONTAMINADOS CON ARSÉNICO PROVENIENTE DE FUENTES NATURALES ENTRE LOS 3500 Y 3600 M.S.N.M. EN LA PARROQUIA DE TOACASO

**AUTORES:** Caceres Zumbay Jenifer Elizabeth  
Díaz Soatunce Mery Karina

**RESUMEN**

El agua contaminada con Arsénico al ser usada como fuente de riego y de consumo humano genera enfermedades como el cáncer, eczemas de piel, leucemia, daños al sistema neurológico, entre otros. La parroquia de Toacaso ubicada en la provincia de Cotopaxi, presenta contaminación del agua por arsénico, proveniente de forma natural del nevado Iliniza, recurso que al ser utilizado dentro de la agricultura ha provocado la acumulación de este metaloide en los cultivos. Debido a esta problemática la presente investigación se llevó a cabo en dos fases: de campo y laboratorio, ya que, los objetivos establecidos son: 1) Realizar la caracterización biofísica de la zona de estudio a una altitud de 3500 – 3600 m.s.n.m., mediante la delimitación y corte del área de estudio misma que será procesada con el software del Sistema de Información Geográfico (Qgis 2.18) adjunto de información secundaria o bibliográfica ; 2) Determinar la concentración de arsénico y calidad de agua presente en el recurso hídrico en la Quebrada Talahuachana, mediante análisis realizados en dos épocas (lluviosa y seca) a través del Laboratorio Nacional de Calidad de Aguas y Sedimentos (LANCAS) cuyos resultados de los parámetros analizados como pH, Arsénico, Manganeso, Sulfatos, Oxígeno Disuelto y Coliformes fecales serán comparados con la normativa TULSMA 2017 e INEN 1108:2020 para uso de riego y de consumo humano; 3) Identificar la trazabilidad microbiológica presentes en la zona de estudio, realizando el muestreo, siembra, aislamiento y observación microbiana de las muestras de agua en el laboratorio de la Universidad Técnica de Cotopaxi (CAREN). Los resultados de esta investigación determinaron que las condiciones de formación volcánica, pendientes y sus precipitaciones anuales de 1272 (mm) son los factores que provocan la presencia de Arsénico geogénico en su recurso hídrico, además que los resultados emitidos establecen que según las normativas TULSMA la calidad de agua es apta para riego, sin embargo esto no ocurrió dentro de la normativa INEN debido a que la concentración de arsénico sobrepasa los LMP para consumo humano, finalmente en el aislamiento de conjuntos bacterianos se obtuvo la presencia de bacterias cuya fermentación pertenecen a lactosas positivas (+) y negativas (-), mismas que podrían ayudar a degradar el arsénico, ya sea, mediante su metabolización o detoxificación de forma eficiente y ecológica.

**Palabras clave:** arsénico, crecimiento microbiano, lactosa, tinción de Gram y biofísica.

**TECHNICAL UNIVERSITY OF COTOPAXI**  
**FACULTY OF AGRICULTURAL SCIENCE AND NATURAL RESOURCES**

**TITLE: “MICROBIOLOGICAL TRACEABILITY IN POORLY MONITORED AND ARSENIC-CONTAMINATED SITES FROM NATURAL SOURCES BETWEEN 3500 AND 3600 M.A.S.L IN THE PARISH OF TOACASO”**

AUTHORS: Cáceres Zumbay Jenifer Elizabeth  
Díaz Soatunce Mery Karina

**ABSTRACT**

Arsenic-contaminated water when used as a source of irrigation and human consumption, it generates diseases such as cancer, skin eczema, leukemia, and damage to the neurological system, among others. The parish of Toacaso, located in the province of Cotopaxi, has arsenic contamination in its water, which comes naturally from the Iliniza snow-capped mountain, a resource that, when used in agriculture, has caused the accumulation of this metalloid in crops. Due to this problem, the present research was carried out in two phases: field and laboratory, since the established objectives are: 1) To carry out the biophysical characterization of the study area at an altitude of 3500 - 3600 m.a.s.l., through the delimitation and cutting of the study area, which will be processed with the Geographic Information System software (Qgis 2.18) attachment to secondary or bibliographic information; 2) Determine the concentration of arsenic and water quality present in the water resource in the 'Quebrada Talahuachana', through analyses carried out in two seasons (rainy and dry) through the National Laboratory of Water and Sediment Quality (LANCAS) whose results of the analyzed parameters such as pH, Arsenic, Manganese, Sulfates, Dissolved Oxygen and Fecal Coliforms will be compared with the TULSMA 2017 and INEN 1108: 2020 regulations for irrigation and human consumption use; 3) Identify the microbiological traceability present in the study area, performing sampling, seeding, isolation and microbial observation of water samples in the laboratory of the Technical University of Cotopaxi (CAREN). The results of this research determined that the conditions of volcanic formation, slopes, and its annual rainfall of 1272 (mm) are the factors that cause the presence of geogenic arsenic in its water resources. In addition, the results issued establish that according to the TULSMA regulations the water quality is suitable for irrigation, However, it did not occur within the INEN standards because the concentration of arsenic exceeds the LMP for human consumption. Finally, in the isolation of bacterial assemblages, the presence of bacteria whose fermentation belongs to positive (+) and negative (-) lactose was obtained, which could help degrade arsenic, either through its metabolization or detoxification in an efficient and ecological way.

**Keywords:** arsenic, microbial growth, lactose, Gram staining, and biophysics.



## ÍNDICE DE CONTENIDOS

DECLARACIÓN DE AUTORÍA.....	ii
CONTRATO DE CESIÓN NO EXCLUSIVA DE DERECHOS DE AUTOR .....	iii
CONTRATO DE CESIÓN NO EXCLUSIVA DE DERECHOS DE AUTOR .....	vi
AVAL DE LA TUTORA DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN.....	ix
AVAL DE LOS LECTORES DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN.....	x
AGRADECIMIENTO .....	xi
AGRADECIMIENTO .....	xii
DEDICATORIA.....	xiii
DEDICATORIA.....	xiv
RESUMEN.....	xv
ABSTRACT .....	xvi
ÍNDICE DE CONTENIDOS.....	xvii
ÍNDICE DE TABLAS.....	xxiii
ÍNDICE DE FIGURAS.....	xxiv
1. INFORMACIÓN GENERAL.....	1
2. INTRODUCCIÓN.....	2
3. JUSTIFICACIÓN DEL PROYECTO.....	3
4. BENEFICIARIOS DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN .....	3
5. PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN.....	4
6. OBJETIVOS.....	4
6.1. Objetivo General.....	4
6.2. Objetivo Específico .....	4
7. ACTIVIDADES Y SISTEMA DE TAREAS EN RELACIÓN A LOS OBJETIVOS PLANTEADOS.....	5
8. FUNDAMENTACIÓN CIENTÍFICO TÉCNICA .....	6
8.1. AGUA.....	6

8.2. EL AGUA COMO FUENTE DE SUMINISTRO .....	6
8.3. PARÁMETROS FISICOQUÍMICOS .....	7
8.3.1. pH .....	7
8.3.2. OxígenoDisuelto .....	7
8.3.3. Coliformesfecales.....	8
8.3.4. Sulfatos .....	8
8.3.5. Manganeseo .....	8
8.4. CONTAMINACIÓN DEL AGUA.....	8
8.4.1. Fuentes de contaminación.....	9
8.5. METALES PESADOS .....	10
8.5.1. Arsénico.....	10
8.6. CONTAMINACIÓN POR ARSÉNICO .....	12
8.6.1. Arsénico en el agua .....	12
8.6.2. Toxicocinética del Arsénico.....	12
8.7. MICROBIOLOGÍA.....	13
8.7.1. Morfología bacteriana .....	13
8.8. TRAZABILIDAD MICROBIANA .....	14
8.9. MICROORGANISMOS PRESENTES EN EL AGUA .....	14
8.9.1. Enterococcus .....	14
8.9.2. Escherichia coli .....	15
8.9.3. Streptococcus .....	15
8.9.4. Pseudomonas .....	15
8.10. MARCO LEGAL .....	16
8.10.1. CONSTITUCIÓN DE LA REPUBLICA DEL ECUADOR 2008 .....	16
8.10.2. AGUA POTABLE N-INEN 1108-6 MARZO 2020 .....	20
8.10.3. TEXTO UNIFICADO DE LEGISLACION SECUNDARIA DE MEDIO AMBIENTE .....	23
8.10.4. ORDENANZA PARA LA DESCONTAMINACIÓN Y PROTECCIÓN DE LOS RÍOS Y AFLUENTES HÍDRICOS DEL CANTÓN LATACUNGA.....	25

8.10.5. ORDENANZA MUNICIPAL PARA EL SERVICIO DE AGUA POTABLE EN EL CANTÓN LATACUNGA.....	26
9. VALIDACIÓN DE LAS PREGUNTAS CIENTÍFICAS O HIPÓTESIS. ....	26
10. METODOLOGÍAS Y DISEÑO EXPERIMENTAL .....	26
10.1. UBICACIÓN DEL ÁREA DE ESTUDIO .....	27
10.2. CARACTERIZACIÓN BIOFÍSICA .....	27
10.3. TIPOS DE INVESTIGACIÓN .....	28
10.3.1. Investigación Exploratoria.....	28
10.3.2. Investigación bibliográfica .....	28
10.4. MÉTODOS.....	28
10.4.1. Método Inductivo.....	28
10.5. HERRAMIENTA PARA LA DIGITALIZACIÓN DE LOS MAPAS .....	28
10.5.1. QGIS 2.18. ....	29
10.6. MÉTODOS PARA ANÁLISIS DE AGUA.....	29
10.7. METODOLOGÍA DE TRAZABILIDAD MICROBIANA.....	30
10.7.1. Materiales.....	30
10.7.2. Preparación del medio de cultivo .....	31
10.7.3. Disolución de los sustratos para medios de cultivo .....	31
10.7.4. Distribución del medio de cultivo en las cajas Petri.....	31
10.7.5. Siembra de microorganismos en el medio de cultivo .....	32
10.7.6. Observación del crecimiento microbiano .....	32
10.7.7. Aislamiento de Bacterias.....	32
10.7.8. Técnica de aislamiento mediante el método de estría.....	32
10.7.9. Siembra por estrías .....	33
10.7.10. Tinción de gram .....	33
10.7.11. Identificación bacteriana .....	34
11. ANALISIS Y DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS.....	35
11.1. CARACTERIZACIÓN BIOFÍSICA DEL PISO ALTITUDINAL ENTRE LOS 3500 Y 3600 m.s.n.m..	35

11.1.1. CLIMA.....	35
10.1.2. PRECIPITACIÓN .....	36
10.1.3. TEMPERATURA.....	38
10.1.4. VIENTOS .....	39
10.1.5. PENDIENTE.....	40
10.1.6. GEOLOGÍA.....	41
10.1.7. SUELOS .....	42
10.1.8. EROSIÓN.....	43
10.1.9. USO ACTUAL, CAPACIDAD DE USO Y CONFLICTOS DE USO .....	44
10.1.10. CAPACIDAD DE USO DEL SUELO .....	45
10.1.11. VULNERABILIDAD FÍSICA.....	45
11.2. ANÁLISIS DE CALIDAD DE AGUA DEL PRIMER MUESTREO DE LA QUEBRADA TALAHUACHANA A UNA ALTITUD DE 3540 m.s.n.m.....	46
11.3. ANÁLISIS DE CALIDAD DE AGUA DEL SEGUNDO MUESTREO DE LA QUEBRADA TALAHUACHANA A UNA ALTITUD DE 3540 m.s.n.m.....	49
11.4. OBSERVACIÓN MICROBIANA PRESENTES EN EL AGUA DE LA QUEBRADA TALAHUACHANA .....	50
11.4.1. Aislamiento en medios de cultivos con agar nutritivo .....	52
11.4.2. Aislamiento en medios de cultivo con Agar MacConkey.....	53
11.4.3. Tinción de gram .....	54
11.4.4. Observación microbiana.....	55
12. IMPACTOS (TÉCNICOS, SOCIALES, AMBIENTALES O ECONÓMICOS) .....	58
12.1. Social .....	58
12.2. Económico .....	59
12.3. Ambiental .....	59
13. PRESUPUESTO.....	59
14. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	61
14.1. CONCLUSIONES.....	61

14.2. RECOMENDACIONES.....	62
15. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	63
16. ANEXOS.....	69
Anexo 1: Punto de muestreo .....	69
Anexo 2: Toma de muestreo de agua en un balde.....	69
Anexo 3: Llenar los envases con el agua del balde.....	69
Anexo 4: Colocación de los preservantes en las muestras. ....	69
Anexo 5: Envases sellados con preservantes y etiquetados. ....	70
Anexo 6: Conservación de las muestras dentro de un cooler.....	70
Anexo 7: Los resultados obtenidos de los parámetros de analizados de agua. ....	70
Anexo 8: Agar Nutritivo y agar MacConkey .....	71
Anexo 9: Guantes de látex, cajas Petri, agua destilada y papel aluminio. ....	71
Anexo 10: Matraces de 500 ml. ....	71
Anexo 11: Embudos de vidrio y espátula. ....	71
Anexo 12: Probetas de 500 ml.....	72
Anexo 13: Balanza y vidrio de reloj .....	72
Anexo 14: Medición de agua destilada en la probeta. ....	72
Anexo 15: Pesar los gramos de Agar Nutritivo. ....	72
Anexo 16: Colocar el Agar Nutritivo en el matraz. ....	73
Anexo 17: Verter el agua en la matraz con agar Nutritivo.....	73
Anexo 18: Colocar la mezcla en el autoclave para esterilizar. ....	73
Anexo 19: Verter la mezcla de agar en las cajas Petri y dejar que se evaporicen. ....	73
Anexo 20: Colocación de la muestra de agua en el medio de cultivo. ....	74
Anexo 21: Esparcir la muestra con un aza previamente esterilizado.....	74
Anexo 22: Etiquetado y sellado de la caja Petri con papel Parafilm. ....	74
Anexo 23: Colocación de las cajas sembradas en la incubadora. ....	74
Anexo 24: Crecimiento bacteriano con colonias microbianas de la M1. ....	75
Anexo 25: Crecimiento bacteriano con colonias microbianas de la M2. ....	75

Anexo 26: Preparación de medios de cultivos con agar nutritivo y agar MacConkey. ....	75
Anexo 27: Tomar con una aza una muestra de las colonias seleccionadas. ....	75
Anexo 28: Siembra de microorganismos aplicando la técnica de estrías.....	76
Anexo 29: Codificación y sellado de las cajas Petri con papel Parafilm. ....	76
Anexo 30: Llevar las cajas sembradas a incubación. ....	76
Anexo 31: Crecimiento microbiano en agar nutritivo de la M1 en agar nutritivo.....	76
Anexo 32: Crecimiento microbiano en agar nutritivo de la M2 en agar nutritivo.....	77
Anexo 33: Crecimiento microbiano en agar nutritivo de la M1 en agar MacConkey. ....	77
Anexo 34: Crecimiento microbiano en agar nutritivo de la M2 en agar MacConkey.....	77
Anexo 35: Safranina, azul de metileno y lugol. ....	78
Anexo 36: Alcohol y agua destilada. ....	78
Anexo 37: Portaobjetos, cubreobjetos y mechero.....	78
Anexo 38: Aceite de inmersión. ....	78
Anexo 39: Colocación de una gota de agua destilada sobre el portaobjeto. ....	79
Anexo 40: Esterilizar el mechero. ....	79
Anexo 41: Tomar la muestra de la caja Petri con un asa. ....	79
Anexo 42: Colocar la muestra dentro de la gota de agua destilada y dispersarla.....	79
Anexo 43: Fijación de la muestra con la ayuda del mechero.....	80
Anexo 44: Colocar el azul de metileno sobre el portaobjeto, esperar un minuto y lavarlo. ....	80
Anexo 45: Colocar el lugol durante un minuto y luego lavarlo. ....	80
Anexo 46: Colocar alcohol y después de 30 segundos retirar con agua destilada. ....	80
Anexo 47: Colocar la safranina, después de 1 minuto retirar con agua.....	81
Anexo 48: Placas con Tinción de gram de la M1. ....	81
Anexo 48: Placas con Tinción de gram de la M2. ....	81
Anexo 49: Observación de microorganismos mediante un microscopio. ....	82
Anexo 50: Identificación microbiano con microscopio 100x de la M1.....	82
Anexo 51: Identificación microbiano con microscopio 100x de la M2.....	82
AVAL DE TRADUCCIÓN.....	83

## ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Beneficiarios del Proyecto. ....	3
Tabla 2. Requisitos físicos y químicos del agua para consumo humano .....	22
Tabla 3. Requisitos microbiológicos del agua para consumo humano .....	23
Tabla 4: Criterios de calidad de aguas para riego agrícola .....	24
Tabla 5: Llenado de envases para la Evaluación de las muestras.....	29
Tabla 6: Descripción de características de las bacterias según MacFaddin.....	35
Tabla 7. Precipitación promedio actual .....	36
Tabla 8: Precipitación promedio anual .....	37
Tabla 9: Comparación de los resultados obtenidos del agua en el laboratorio LANCAS en el mes de enero (época seca) con los LMP de agua de riego según la normativa TULSMA y consumo humano según el INEN1108:2020 .....	46
Tabla 10: Estabilidad y predominio de especies arsenicales según rangos de pH en el medio acuático .....	47
Tabla 11: Comparación de los resultados obtenidos del agua en el laboratorio LANCAS en el mes de marzo (época lluviosa) con los LMP de agua de riego según la normativa TULSMA y consumo humano.....	49
Tabla 12. Presupuesto para la elaboración del proyecto. ....	59

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1:</b> Mapa de ubicación de sitio de muestreo Quebrada Talahuachana .....	27
<b>Figura 2:</b> Características microscópicas para bacterias según MacFaddin .....	34
<b>Figura 3:</b> Mapa de los tipos de climas de la Quebrada Talahuachana.....	35
<b>Figura 4:</b> Mapa de precipitación de la Quebrada Talahuachana.....	37
<b>Figura 6:</b> Mapa de temperatura de la Quebrada Talahuachana .....	39
<b>Figura 7:</b> Mapa de pendiente de la Quebrada Talahuachana .....	40
<b>Figura 8:</b> Mapa de Geología de la Quebrada Talahuachana .....	41
<b>Figura 9:</b> Mapa de Suelos de la Quebrada Talahuachana .....	42
<b>Figura 10:</b> Mapa de Erosión de la Quebrada Talahuachana .....	44
<b>Figura 11:</b> Mapa de Uso de suelo de la Quebrada Talahuachana .....	45
<b>Figura 11:</b> Muestra Madre (M1).....	51
<b>Figura 12:</b> Muestra madre (M2).....	51
<b>Figura 13:</b> Crecimiento microbiano en agar nutritivo de la M1 .....	52
<b>Figura 14:</b> Crecimiento microbiano en agar nutritivo de la M2 .....	52
<b>Figura 15:</b> Crecimiento microbiano en agar MacConkey de la M1 .....	53
<b>Figura 16:</b> Crecimiento microbiano en agar MacConkey de la M2 .....	54
<b>Figura 17:</b> Placas con Tinción de gram de la M1.....	54
<b>Figura 18:</b> Placas con Tinción de gram de la M2.....	55
<b>Figura 19:</b> Identificación microbiano con microscopio 100x de la M1 .....	55
<b>Figura 20:</b> Identificación microbiano con microscopio 100x de la M2 .....	57



## **1. INFORMACIÓN GENERAL**

### **Título del Proyecto:**

Trazabilidad microbiológica en sitios poco monitoreados y contaminados con arsénico proveniente de fuentes naturales entre los 3500 y 3600 m.s.n.m. en la parroquia de Toacaso.

### **Lugar de ejecución:**

Quebrada Talahuachana, Parroquia de Toacaso, Cantón Latacunga, Provincia de Cotopaxi.

### **Institución, unidad académica y carrera que auspicia**

Universidad Técnica de Cotopaxi, Facultad de Ciencias Agropecuarias y Recursos Naturales; carrera de Ingeniería Ambiental.

### **Nombres de equipo de investigación:**

**Tutor:** Ing. Ph.D Mercy Lucila Ilbay Yupa

**Estudiante:** Caceres Zumbay Jenifer Elizabeth

Díaz Soatunce Mery Karina

**LECTOR 1:** Ing. M.Sc AGREDA OÑA JOSE LUIS

**LECTOR 2:** Ing. M.Sc RUIZ DEPABLOS JOSELINE LUISA

**LECTOR 3:** Ing. M.Sc DAZA GUERRA OSCAR RENE

### **Área de Conocimiento:**

Ciencias Naturales. Medio Ambiente, Ciencias Ambientales.

### **Línea de investigación:**

Análisis, conservación y aprovechamiento de la biodiversidad local.

### **Línea de Vinculación de la Facultad:**

Protección del medio ambiente y desastres naturales.

## 2. INTRODUCCIÓN

Bernal (2014) establece que los metales pesados son elementos propios de la naturaleza de peso molecular alto, la acumulación de estos elementos produce efectos nocivos en el ecosistema y que puede afectar a la salud humana. Ali (2020) dice que en América Latina el incremento de la concentración de arsénico (As) en las fuentes de agua es considerable debido a factores naturales de origen geológico. Es así como se genera un impacto ambiental que limita el uso de dicho recurso natural factor que impide el desarrollo socioeconómico y sostenible del lugar y del país.

Eduardo (2020) describe que el As es un elemento químico natural y ubicuo que se encuentra en el ecosistema en diferentes formas, se lo identifica como “metaloides” con características intermedias entre metales y no metales. Se ubica como vigésimo elemento en la corteza terrestre, el décimo cuarto en el agua de mar y el décimo segundo en el cuerpo humano, sus formas inorgánicas en el cuerpo son arsenito  $As(III)$  y arseniato  $As(V)$ , estas son consideradas las más tóxicas en comparación a las formas orgánicas.

La contaminación actual por arsénico en el agua es un problema que ha crecido especialmente en zonas de escaso desarrollo urbano. La Organización Mundial de la Salud (2018) establece que la exposición a corto o largo plazo ya sea en bajas concentraciones de As causa diversas enfermedades como: eczema de la piel, hiperqueratosis de palmas, verrugas, leucemia, insuficiencia renal aguda, daños al sistema neurológico, entre otras.

La quebrada Talahuachana se ubica en la parroquia de Toacaso, área de estudio que se ubica en un ambiente tectónico con compleja geología de rocas ígneas y sedimentarias del Cuaternario aluvial y volcánico, factores que predisponen a la contaminación del medio ambiente natural y del agua que consume la población contaminada por As. Hossain (2006) establece que el agua es la vía principal de entrada en la cadena alimentaria humana a través de ingesta y el consumo de alimentos de origen vegetal (verduras, hortalizas) y animal (carnes, leche) que han sido producidos con agua contaminada esto promueve la acumulación del metaloide en el cuerpo humano afectando a la salud de los habitantes del lugar como fuera del mismo, ya que sus productos son comercializados dentro del mercado agropecuario.

Debido a esto, en la presente investigación se ha realizado un análisis bacteriológico que apunta a la búsqueda de microorganismos que habiten en el recurso hídrico de la quebrada, estas bacterias en otros estudios de investigación podrían resultar benéficas para la reducción o remoción de As en cualquier tipo de afluente natural contaminado con este mineral.

### 3. JUSTIFICACIÓN DEL PROYECTO

Considerando el crecimiento poblacional y que la actividad agrícola en la parroquia de Toacaso representa uno de los mayores ingresos económicos del sector a con llevado la generación de mayor producción agropecuaria requiriendo mayor disponibilidad de agua. Sin embargo, este recurso tiende a ser cada vez más escasa, es por ello que la población tiende a utilizar el agua directa de los afluentes de los Ilinizas sin ningún estudio ni tratamiento previo a su uso, en la actualidad se han convertido en una de las problemáticas de mayor interés debido a que sus cultivos representan un nivel de presencia de Arsénico provocando daños a la salud humana, animal y ambiental.

El arsénico está presente en la corteza terrestre de forma natural (orgánica) y distribuida en todo el medio ambiente. En su forma inorgánica es muy tóxico actualmente la población presenta una exposición prolongada al arsénico inorgánico esto se debe a diferentes causas tales como el consumo de agua contaminada y la preparación de comidas con productos regados con agua rica en arsénico causando intoxicaciones crónicas, lesiones cutáneas y hasta cáncer de piel.

Por consiguiente, en esta investigación se ha propuesto determinar el origen, la cantidad de concentración de As y qué sistema bacteriano se desarrolla en el recurso hídrico de la Quebrada Talahuachana contaminada con este mineral, este proceso permitirá que dichos conjuntos bacterianos sean utilizados en medios de Biorremediación ayudando a mejorar la calidad del agua, suelo y la de la salud de los habitantes de la parroquia.

### 4. BENEFICIARIOS DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

**Tabla 1.** Beneficiarios del Proyecto.

BENEFICIARIOS DIRETOS	BENEFICIARIOS INDIRECTOS
<b>Población de la Provincia de Cotopaxi</b>	<b>Estudiantes de la Carrera de Ingeniería Ambiental</b>
<b>Hombres: 4200</b>	Hombres: 201
<b>Mujeres: 4434</b>	Mujeres: 321
<b>Total: 8634</b>	Total: 522

**Fuente:** (INEC, 2012)

(Universidad Técnica de Cotopaxi, 2020)

## **5. PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN**

Considerando que hasta la actualidad no se ha conocido públicamente sobre ningún estudio relacionado con la investigación sobre el área de estudio perteneciente a la microcuenca de influencia de la Quebrada Talahuachana que se asienta en la parroquia de Toacaso, se utilizó como base bibliográfica los archivos del Plan de Desarrollo y Ordenamiento Territorial (PDOT). Referente al enfoque local en el área de estudio ubicada a 3540 m.s.n.m. presenta la problemática de presencia de arsénico geogénico en el agua, este recurso es utilizado como sistema de riego y consumo humano, mismo que presenta concentraciones altas de Arsénico (As) según los resultados emitidos por el laboratorio LANCAS, sobrepasando los límites máximos permisibles para consumo humano según el INEN: 1108:2020 provocando una afectación a la salud humana pues dicho recurso al ser utilizado como medio de riego en los cultivos genera la acumulación del metaloide en los productos de consumo humano provocando afectaciones a corto o largo plazo.

## **6. OBJETIVOS**

### **6.1. Objetivo General**

Determinar la trazabilidad microbiológica en sitios poco monitoreados y contaminados con arsénico proveniente de fuentes naturales entre los 3500 y 3600 m.s.n.m. en la parroquia de Toacaso.

### **6.2. Objetivo Específico**

- Realizar la caracterización biofísica de la zona de estudio a una altitud entre 3500 – 3600 m.s.n.m.
- Determinar la concentración de arsénico y calidad de agua presente en el recurso hídrico de la Quebrada Talahuachana.
- Establecer la trazabilidad microbiológica en concentraciones de arsénico presentes en el agua a una elevación de 3540 m.s.n.m.

## 7. ACTIVIDADES Y SISTEMA DE TAREAS EN RELACIÓN A LOS OBJETIVOS PLANTEADOS

Objetivos	Actividades	Metodología	Resultado
O.1. Realizar la caracterización biofísica de la zona de estudio a una altitud entre 3500 – 3600 m.s.n.m.	Identificación de la zona de estudio. Elaboración de mapas mediante archivos correspondientes al Sistema de Información Geográfica.	Recolección y análisis de información biofísica de la Quebrada Talahuachana. Procesamiento de información del Sistema de Información Geográfico mediante el software Qgis 2.18.	Obtención de las principales características biofísica de la zona de muestreo.
O.2. Determinar la concentración de arsénico y parámetros fisicoquímicos presentes en el recurso hídrico de la Quebrada Talahuachana.	Recolección de muestras de agua en la zona de estudio.	Toma de muestras de agua en dos épocas (Lluviosa y Seca) Análisis de agua realizado en el laboratorio acreditado (LANCAS). Análisis de la Normativa TULSMA 2017 e INEN: 1108:2020 en relación a los Límites Máximos Permisibles del agua en riego y consumo humano.	Determinación de la concentración de arsénico y parámetros fisicoquímicos presentes en el recurso hídrico. Determinación de los Límites Máximos Permisibles de agua para consumo humano y riego.
O.3. Establecer la trazabilidad microbiológica en concentraciones de arsénico en el agua a una elevación de 3540 m.s.n.m.	Toma de muestra de agua. Elaboración de medios de cultivo. Siembra de microorganismos.	Cultivo de los microorganismos. Aislamiento de microorganismos aplicando la técnica de estrías. Tinción de gram para la visualización de bacterias en el microscopio a través del lente 100x.	Identificación de posibles bacterias que se han desarrollado en los medios de cultivos y que existen en la zona a través de los procesos de coloración.

Elaborado por: Morella Real, 2020.

## **8. FUNDAMENTACIÓN CIENTÍFICO TÉCNICA**

### **8.1. AGUA**

El agua es considerada como fuente o recurso natural, ya que es vital y esencial para el desarrollo de la vida. Se podría decir que casi todo en el planeta depende de este recurso, debido a que la superficie del planeta está cubierta de un 70 % de agua, en los mares, ríos y océanos del planeta se encuentra la mayor biodiversidad de multitud de especies y hasta nosotros mismos, como seres humanos, estamos compuestos de este medio aproximadamente de un 60%. (Pascual E, 2019).

El agua tiene muchos usos y en cada uno se requiere de una calidad particular. El aprovisionamiento de agua para uso doméstico es el más exigente según los términos dentro de la calidad y seguridad de suministro (Fernández A, 2012). La calidad de agua buena, regular o mala determinara las consecuencias directas en la salud humana, situación que con lleva a que se trate que el agua para consumo humano o agua potable sea de buena calidad fin de evitar malestares en la población según lo establecido por la Organización Mundial de la Salud (OMS) (Fernández A, 2012).

### **8.2. EL AGUA COMO FUENTE DE SUMINISTRO**

Las aguas superficiales son frecuentemente una fuente de abastecimiento, ya sea para suministro público, riego, agrícola, actividades industriales y pecuarias, entre otros. Desde este punto de vista la calidad de agua es una exigencia. La regulación de este recurso se puede modificar mediante la calidad química y biológica que controle el posible deterioro de los atributos estéticos y de conservación de la vida acuática o eutrofización (AMBIENTUM, 2016).

Los cursos superficiales ofrecen un medio de transporte propiciado en el desarrollo de asentamientos urbanos. Debido a la obtención de alimentos por medio de riego agrícola y la ganadería han sido factores favorables para el desarrollo urbano con recursos de agua superficial (AMBIENTUM, 2016).

### **8.3. PARÁMETROS FISICOQUÍMICOS**

Según Samboni et al, (2007) menciona que los parámetros fisicoquímicos son útiles para obtener información sobre las propiedades físicas y químicas del agua, sin aportar información de su influencia en la vida acuática ya que dicha información es establecida por los métodos biológicos, sin embargo estos no señalan sobre el contaminante o la contaminación responsable, por lo que muchos investigadores proponen que para una evaluación del recurso hídrico se tomen en cuenta la utilización de ambos medios de información, es decir, utilizar los parámetros fisicoquímicos y métodos biológicos.

#### **8.3.1. pH**

El pH o potencial de hidrogeno es un parámetro que ayuda a determinar la presencia o grado de alcalinidad o acidez presente en una disolución. Normalmente el pH se mide en una escala de 1 a 14, donde el uno sería el resultado más ácido, el catorce el valor más alcalino y el siete sería el valor neutro dentro de la escala. Para realizar la medición se utiliza el pHmetro, ya que es un potenciómetro que mide el potencial de hidrogeno entre dos electrodos, uno es un cloruro de plata y el otro suele ser de vidrio mismo que es sensible a los hidrogeniones (Aznar A, 2000).

Los reactivos de pH se los puede encontrar en tiras o en gotas. Donde al utilizar dichas gotas en la muestra líquida esta tenderá a tornar un color con el cual se podrá determinar si es ácido, alcalino o neutro, es importante determinar el tipo de potencial hidrogeno dentro de los procesos de alimentos, agricultura, entre otras industrias a fin de evitar problemas de salud en los consumidores.

#### **8.3.2. Oxígeno Disuelto**

Almachi & Guachi (2020) explica que el oxígeno disuelto (OD) es la cantidad de oxígeno gaseoso disuelto en el agua, además es un indicador de suma importancia dentro de la calidad de agua, ya que su presencia y concentración es fundamental para la vida de peces, plantas, algas y otros organismos; por eso, los valores normales varían entre 7 y 8 mg/l, ya que, a mayor concentración, es más probable que el entorno sea más sano y estable, ya que permite mantener la diversidad de organismos.

Además, este parámetro es el responsable de producir dos fenómenos indispensables, la respiración de los seres vivos y la descomposición de la materia orgánica cuando muere. Para dicha descomposición es necesario el oxígeno ya que las bacterias y hongos necesitan este elemento para degradar los desechos de los seres vivos.

### 8.3.3. Coliformes fecales

Almachi & Guachi (2020) Plantea que los coliformes fecales son una subdivisión de los coliformes totales, la *Escherichia coli* y ciertas especies de *Klebsiella* son las primeras enterobacterias en aparecer, ya que se las puede tomar en cuenta como indicadores de contaminación fecal, debido a que casi en su totalidad son resultantes de las heces de animales homeotermos.

Aunque frecuentemente el origen es fecal también pueden provenir de aguas enriquecidas, efluentes industriales, materia vegetal y suelo en descomposición. Cuando estas bacterias se encuentran presentes en el agua, es un indicador que el agua está contaminada con heces fecales o por aguas servidas (aguas negras).

### 8.3.4. Sulfatos

Los sulfatos son muy abundantes en la naturaleza y su presencia en el agua varía en algunas centenas de miligramos por litro (Bolaños et al, 2017). Estos pueden derivar de la oxidación de la pirita y otras formas inorgánicas reducidas del azufre durante la meteorización, la mineralización del azufre orgánico contenido en el suelo, lixiviados de minerales de sulfato presente en aguas de lluvia y aguas geotérmicas (Tulcán M, 2020).

### 8.3.5. Manganeseo

El manganeseo es un elemento químico metálico bastante reactivo que se encuentra en forma natural en diversos tipos de rocas, en la naturaleza este se combina con otros elementos como oxígeno, azufre o cloro. Con el agua a temperatura ambiente forma hidrogeno e hidróxido de manganeseo (II),  $Mn(OH)_2$ . Su concentración en el agua por lo general es inferior a la del fierro. La ingesta de este metal en pequeñas cantidades en alimentos o agua es necesaria para mantener una buena salud, sin embargo a niveles excesivos puede generar daños cerebrales (Laprida N, 2017).

Guachi & Almachi (2020) menciona que “El manganeseo en altas concentraciones en el cuerpo humano genera alteraciones emocionales y mentales, motricidad más descoordinada y lenta, más conocida como manganismo, síntomas parecidos al Parkinson”.

## 8.4. CONTAMINACIÓN DEL AGUA

A nivel mundial mucha gente muere a consecuencia de ingerir agua de mala calidad o contaminada, esta situación se agudiza especialmente dentro de los contextos de exclusión social, pobreza y marginamiento, (IAGUA, 2022).



La contaminación del agua se debe a la presencia de componentes químicos o de otra naturaleza en una densidad mayor a su estado natural, de manera que no incluya las condiciones para el mantenimiento que se le traspasa destinado en su estado inicial o estado natural. La alteración con respecto a la calidad de agua en fuentes naturales se da referencia a sustancias como los conjuntos microbianos, los metales y sedimentos factores que hacen que el consumo de este recurso produzca efectos dañinos a la salud y el medio natural, (IAGUA, 2022).

La OMS define al agua contaminada como aquel medio que ha sufrido cambios dentro de su composición química hasta llegar a un nivel invalido para el consumo humano. Convirtiéndola en tóxica, ya que no se puede usar para consumo ni para otras actividades esenciales como la agricultura, entre otras. Esta sería una fuente de insalubridad que causa muertes y enfermedades como la cólera, la disentería, la fiebre tifoidea y la poliomiélitis a nivel mundial. Los principales contaminantes del agua son las bacterias, virus, parásitos, fertilizantes, fármacos, fosfatos, plásticos, desechos fecales. Sin embargo, estos elementos no siempre generan una coloración en el agua, por lo que muchas veces se podría considerar que el agua es buena por la invisibilidad de la contaminación, por esta razón es necesario recurrir a un análisis químico de muestras de agua y de organismos acuáticos para conocer el estado de calidad de agua (IBERDROLA, 2022).

Para determinar la calidad microbiológica o presencia de coliformes en el agua se tiende a realizar análisis microbiológicos (estudio de microorganismos indicadores de polución fecal, existencia de *Escherichia coli* o el diagnóstico de densidad de patógenos) (OXFAM, 2016).

#### **8.4.1. Fuentes de contaminación**

Las principales causas de contaminación hídrica tienen su origen en:

**Origen domestico:** Las aguas domesticas provienen de núcleos urbanos y contienen sustancias procedentes de la actividad humana (alimentos, deyecciones, basura, productos de limpieza, entre otros. (IAGUA, 2022).

**Origen agrícola – ganadero:** Son resultado del riego y de otras labores como actividades de limpieza ganadera factor que aporta grandes cantidades de estiércol y orina, es decir, demasiada materia orgánica, nutrientes y microorganismos (IAGUA, 2022).

**Origen pluvial:** al llover el agua arrastra toda materia que encuentra a su paso y que puede darse como resultado de los casos anteriores. En agua dentro de las ciudades por lo general arrastran aceites, materia orgánica y diferentes contaminantes de la atmósfera a diferencia del campo aquí se arrastra pesticidas, abono, materia orgánica, heces, etc., (IAGUA, 2022).

**Origen fluvial:** En rutas de navegación los vertidos de petróleo, accidentes provocan daños ecológicos (IAGUA, 2022).

**Aumento de temperaturas:** El calentamiento global juega un importante papel dentro de la contaminación del agua debido a que las fuentes de agua disminuyen su cantidad de oxígeno, lo cual hace que su composición se vea alterada (OXFAM, 2016).

## **8.5. METALES PESADOS**

Navarrete (2016) plantea que los metales pesados se encuentran en la biósfera, distribuidos por la corteza terrestre en pequeñas cantidades, por diferentes factores pueden acrecentar su concentración en ciertas zonas, ya sea por ciertas condiciones ambientales o por las intervenciones humanas los metales pueden presentarse en el medio de diferentes formas químicas.

Según lo que plantea Navarrete (2016) debido a las diversas razones los metales pesados se dispersan por toda la corteza presentándose en diferentes formas químicas, proceso que puede interferir en el ciclo de la cadena trófica. Las altas concentraciones de metales pesados producen contaminación ambiental afectando negativamente a la salud y bienestar de los seres vivos además degradan los recursos naturales, se cataloga como metales pesados al plomo, cromo, zinc, cadmio, plata, arsénico, mercurio y cobre. Por otro lado los metales pesados pueden ser útiles como micronutrientes para la vida de los organismos vivos, pero cuando estos sobrepasan una cierta concentración se convierten en tóxicos (Navarrete, 2016).

### **8.5.1. Arsénico**

#### **Origen**

El arsénico (As) es un elemento y un mineral que se encuentra distribuido ampliamente en la corteza terrestre y en cantidades más reducidas entre rocas y suelos, en la hidrosfera y la biósfera, es un componente que persiste en el ecosistema y no se deteriora, ya que su origen es principalmente geogénico, su movilización de un entorno a otro se da a través de procesos naturales combinados (meteorización, actividades biológicas, emisiones volcánicas) lo que puede provocar un cambio en su forma (Lillo J, 2022).

El agua o el viento pueden mover este componente presente en rocas o suelos erosionados. Además muchos compuestos orgánicos se fijan en el suelo y solo son desplazados un poco cuando se filtra el agua (Lillo J, 2022).

La geología de los suelos determina el contenido de arsénico además de las actividades volcánicas ya que introducen este componente a la atmósfera en forma de gases estos regresan a la tierra en forma de polvo o precipitación. Es movilizadado por desintegración y lixiviación de rocas y procesos geoquímicos naturales, siendo el agua subterránea y superficial el recurso más afectado (Alarcón et al., 2013).

Lillo (2022) plantea que el As es considerablemente tóxico para el organismo humano y representa una amenaza importante para la salud pública cuando se encuentra en aguas naturales y contaminadas debido a que este componente no solo es dañino y letal en concentraciones de exposición alta sino también en bajas concentración y a corto plazo tiene efectos negativos y crónicos para la salud como cáncer, lesiones cutáneas, enfermedades cardiovasculares, neurotoxicidad y diabetes. Esta exposición puede deberse a diversas causas, como el consumo de agua contaminada, riego de cultivos alimentario y el uso para la preparación de alimentos, etc.

#### **Efectos del arsénico al ambiente**

Los problemas ambientales por As son consecuencia de procesos naturales y antropogénicos, las causas naturales se deben a las actividades volcánicas, reacciones de degradación por la acción de la atmósfera, actividad biológica (Izquierdo & Verástegui, 2017). Cuando los procedimientos de las actividades volcánicas emiten arsénico a la atmósfera, el arsénico se une a partículas que en el viento transporta y que vuelven a caer al suelo. Los microbios presentes en suelos y sedimentos emiten y transforman el arsénico otros compuestos que vuelven a fijarse en el suelo. Las diversas especies de microorganismos juegan un importante papel ya que a pesar de la toxicidad del compuesto estos tienen la capacidad de transformarlo en su forma reducida de arsenito mediante su metabolismo o en su forma oxidada de arseniato a través de reacciones óxido- reducción mediadas por enzimas, metilación, quelación, exclusión e inmovilización (Izquierdo & Verástegui, 2017).

## **8.6. CONTAMINACIÓN POR ARSÉNICO**

### **8.6.1. Arsénico en el agua**

Una de las sustancias líquidas más importantes es el agua que a través de esta el arsénico entra en el cuerpo humano. El arsénico puede estar disponible en el agua en estados de oxidación (+5, +3, 0, -3) y puede coexistir en el entorno con otros metales como (Fe, Cu, Ni, Zn, entre otros) y minerales de sulfuro u óxido (Mondal et al., 2006)

La presencia del arsénico en el agua por disolución natural de mineral de depósitos geológicos, la descarga de los efluentes industriales y la sedimentación atmosférica. En aguas superficiales con alto contenido de oxígeno, la especie más común es el pentavalente o arsenato (As V). Bajo condiciones de reducción, generalmente en los sedimentos de los lagos o aguas subterráneas, predomina el arsénico trivalente o arsenito, (As III) (Cabrera et al., 2010)

### **8.6.2. Toxicocinética del Arsénico**

Se considera al As, como el contaminante del agua por ser tóxico produce eventualmente agudo como resultado de la ingestión de aproximadamente 100 mg del elemento. El envenenamiento crónico ocurre con la ingestión continua de pequeñas cantidades de As, durante un periodo largo (Stanley M, 2007). Su forma inorgánica es una sustancia carcinogénica para el ser humano, siendo incluido por el Centro Internacional de Investigaciones sobre el Cáncer (IARC) en el grupo I (Marín R, 2019).

El As puede ingresar a los organismos por tracto gastrointestinal, aparato respiratorio y la vía dérmica que presenta un 2% de absorción, donde el organismo experimenta un proceso de bio - transformación, su forma metilada es acumulada en la piel y en el sistema renal. La ingestión de este provoca irritación en la membrana gástrica, contracción involuntaria de muchos músculos, alteraciones cardíacas graves e incluso la muerte del individuo (Marín R, 2019).

Para los seres humanos y especies animales el proceso de absorción de compuestos arsenicales por medio de tracto gastrointestinal es elevado en un (95%) cuando se administran en solución acuosa, la absorción se da por vía respiratoria esto depende del tamaño de partículas inhaladas, solubilidad y forma química presente. En vías superiores se ubican las partículas de mayor tamaño las cuales son transportadas por los cilios y se depositan en el tracto gastrointestinal, en el cual se absorben en base a la solubilidad, partículas menores a 7  $\mu m$  presentan un índice de absorción de 75-85 % (Albores et al., 2015).

## 8.7. MICROBIOLOGÍA

La microbiología es la rama que estudia seres vivos de tamaño microscópico como células aisladas o asociadas, así como el estudio de virus (microscópicas no celulares). En general, los microorganismos a diferencia de los macroorganismos estos son capaces de llevar a cabo procesos de crecimiento, generación de energía y reproducción, independientemente de otras células ya sean del mismo tipo o diferentes (Apella & Araujo, 2019).

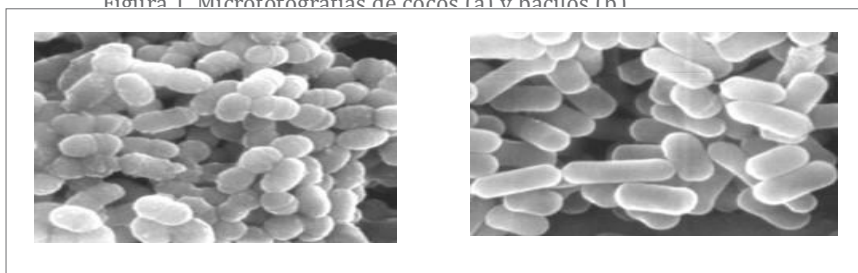
Dentro de microbiología el estudio de células se puede dividir en dos grandes grupos: eucariotas y procariotas. Las eucariotas constituyen la unidad estructural de protozoarios, hongos y algas, estas son organismos unicelulares o multicelulares que en su interior poseen estructuras limitadas por membranas llamadas organelas (núcleo, mitocondrias y cloroplastos presentes sólo en células capaces de realizar fotosíntesis). Las células procariotas son las bacterias, cuya estructura interna es sencilla, es decir, presenta ausencia de membrana nuclear (Apella & Araujo, 2019).

### 8.7.1. Morfología bacteriana

Las bacterias son microorganismos unicelulares de reproducción binaria o bipartición. Presentan un tamaño menor al de la célula eucariota típica (por ej. *Escherichia coli*  $0,5 \times 2 \mu\text{m}$ ). Sin embargo, existe un amplio rango de tamaños según las especies que puede variar desde  $0,2 \mu\text{m}$  de diámetro como en el caso del mico plasmas hasta  $40 \mu\text{m}$  como en la *Beggiatoa gigantea*.

La célula bacteriana presenta una morfología que se determina mediante la rigidez de la pared celular. Por lo general las bacterias presentan distintas formas como: esférica, bastón alargado o espiral (figura 1). Las bacterias de forma esférica se denominan cocos (redondeados, ovoides o elípticos); las de forma de bastón alargado se denominan bacilos (cilíndricos, fusiformes, etc.), las de forma de bastón curvado se denominan espirilos y aquellas bacterias cuya imagen proyectada sobre el plano tienen forma de coma, se llaman vibrios. Otras formas que pueden presentar las bacterias son filamentosas (ramificada o no), anillos y también estructuras con prolongaciones (Apella & Araujo, 2019).

Figura 1. Microfotografías de cocos (a) y bacilos (b)



## **8.8. TRAZABILIDAD MICROBIANA**

Según la Norma ISO 9000- 2015 define a la trazabilidad como la serie de procedimientos que permiten seguir el proceso evolutivo de un producto, sus componentes o información asociada en cada una de sus etapas hasta el punto de destino y viceversa , sin embargo, trasladar el concepto de trazabilidad hacia la microbiología resulta dificultoso porque no existe una unidad de referencia establecida y el medido en estudio es la unidad celular o microorganismo es decir, aquel que se le asignará el valor a las propiedades. Dicha trazabilidad consiste en asociar sistemáticamente un flujo de información a un flujo físico permitiendo relacionar en un momento dado la información requerida relativa a lotes o grupos de productos determinados.

Entonces mediante esta conceptualización se podría establecer que dentro de la microbiología la trazabilidad puede ser adaptada previamente a la aplicación de conjuntos bacterianos y a los distintos procesos que esta conlleva, ya que en el caso de los microorganismos se puede incluir atributos cualitativos tales como características fenotípicas o secuencia de genes o fragmentos de genes.

## **8.9. MICROORGANISMOS PRESENTES EN EL AGUA**

Los microorganismos generan una especiación del arsénico, ya que estos tienden a transformar el componente sin importar el grado de toxicidad puesto que estas tienden a generar diferentes mecanismos que les permiten utilizar el arsénico en su metabolismo, ya sea en la forma de arsenito o en la forma oxidada de arseniato mediante reacciones oxidación – reducción transformación enzimática, metilación, quelación, exclusión e inmovilización (Airam Rangel, 2015).

Los microorganismos que se presentan en el agua pueden ser:

### **8.9.1. *Enterococcus***

Los enterococos son un subgrupo de los estreptococos fecales con morfología cocoide, Gram positivo, catalasa negativa, anaerobios facultativos, cuya temperatura de crecimiento oscila entre 10 y 45 °C, siendo el óptimo a 35 °C. Resisten temperaturas de 60 °C durante 30 minutos (Bermúdez et al, 2017).

*Enterococcus*, genéricamente denominados enterococos intestinales, son bacterias cocáceas Gram positivas, anaerobias facultativas. No forman esporos y son relativamente tolerantes al cloruro de sodio y a niveles de pH alcalinos. Tienden a unirse por parejas o formando cadenas cortas. Dentro de este género se incluyen las especies *Enterococcus faecalis*, *Enterococcus faecium*, *Enterococcus durans* y *Enterococcus irae*. La mayoría de las especies de enterococos no se multiplican en los ambientes acuático (Maldonado M, 2012).

#### **8.9.2. *Escherichia coli***

Esta bacteria pertenece a la familia *Enterobacteriaceae* y posee enzimas  $\beta$ -galactosidasa y  $\beta$ -glucuronidasa. Crece a 44-45°C o algunas a 37°C en medios tensoactivos, fermenta la lactosa y el manitol con producción de ácido y gas, e indol a partir del triptófano. *E. coli* es un indicador aceptado a nivel internacional como el más preciso, está presente en heces humanas y de animales. Estos microorganismos se encuentran en drenajes, aguas residuales (ordinarias y especiales) y suelos susceptibles a contaminación, los cuales pueden transmitir microorganismos patógenos infectivos para el ser humano (Caviedes et al, 2015).

#### **8.9.3. *Streptococcus***

Son cocos gram positivas dispuestos en cadenas, con colonias blancas de 1-2mm de diámetro con una marcada zona de beta hemolisis, anaerobios facultativos, inmóviles no formadores de esporas, capsulados, son catalasa negativa, rango de temperatura de crecimiento es de 25-45°C (optimo 37°C con dióxido de carbono). Los estreptococos son Gram positivos; sin embargo, a medida que envejece un cultivo y mueren las bacterias, pierden su gram positividad y pueden tener un aspecto gram-negativo; en el caso de algunos estreptococos, esto puede ocurrir después de la incubación durante la noche (Navarro et al, 2014).

#### **8.9.4. *Pseudomonas***

Las especies del género *Pseudomonas* son miembros importantes de las comunidades microbianas naturales. La capacidad de estos organismos para reaccionar a los cambios ambientales está relacionada con su capacidad para intercambiar material genético (Avendaño Y 2. , 2012).

Las *Pseudomonas aeruginosa* según Imbago & Oña (2019) nos menciona que estas bacterias presentan una morfología de bastón, en disposición individual o en pares, tienen un diámetro de 3 a 4  $\mu\text{m}$ , en ocasiones se encuentran formando cadenas cortas, miden aproximadamente 1.5 a 5  $\mu\text{m}$  de largo, presentan un diámetro de 0.5 a 1  $\mu\text{m}$ . Son móviles porque poseen uno o más flagelos polares.

Son especies de bacterias Gram-negativas, aeróbicas, con motilidad unipolar. Están conformadas por una sola célula en forma de bastón razón por la cual reciben nombre de bacilos. Se encuentran frecuentemente en fuentes de agua natural, aguas residuales y suelos, son responsables de la degradación de compuestos xenobióticos en el ambiente por que poseen dos mecanismos de degradación el hidrolítico y oxidante. El mecanismo oxidante dado por la enzima hidroxilasa es de carácter inducible transforma los contaminantes que presentan peculiaridades de metaloides o metales en metabolitos de menor toxicidad (Imbago & Oña, 2019).

## **8.10. MARCO LEGAL**

### **8.10.1. CONSTITUCIÓN DE LA REPUBLICA DEL ECUADOR 2008**

La constitución de la república del Ecuador (2008) establece los derechos y obligaciones que las y los ciudadanos deben cumplir para el cuidado, protección y uso del recurso hídrico.

#### **TITULO I.**

#### **ELEMENTOS CONSTITUTIVOS DEL ESTADO**

##### **Capítulo primero.**

##### **Principios fundamentales**

**Art. 3.-** Son deberes primordiales del Estado:

1. Garantizar sin discriminación alguna el efectivo goce de los derechos establecidos en la Constitución y en los instrumentos internacionales, en particular la educación, salud la alimentación, la seguridad social y el agua para sus habitantes.
2. Proteger el patrimonio natural y cultural del país.

#### **TITULO II.**

#### **DERECHOS.**

##### **Capítulo segundo.**

##### **Derechos del buen vivir. Sección primera Agua y alimentación.**

**Art. 12.-** El derecho humano al es fundamental e irrenunciable. El agua constituye patrimonio nacional estratégico de uso público, inalienable, imprescriptible, inembargable y esencial para la vida.



**Art. 13.-** Las personas y colectividades tienen derecho al acceso seguro y permanente a alimentos sanos, suficientes y nutritivos; preferentemente producidos a nivel local y en correspondencia con sus diversas identidades y tradiciones culturales.

**Art. 14.-** Se reconoce el derecho de la población a vivir en un ambiente sano y ecológicamente equilibrado, que garantice la sostenibilidad y el buen vivir, Sumak Kawsay.

Se declara de interés público la preservación del ambiente, la conservación de los ecosistemas, la biodiversidad y la integridad del patrimonio genético del país, la prevención del daño ambiental y la recuperación de los espacios naturales degradados.

**Art. 32.-** La salud es un derecho que garantiza el Estado, cuya realización se vincula al ejercicio de otros derechos, entre ellos el derecho del agua, la alimentación, la educación, la cultura física, el trabajo, la seguridad social, los ambientes sanos y otros que sustentan el buen vivir.

El Estado garantizará este derecho mediante políticas económicas, sociales, culturales, educativas y ambientales.

**Art. 264.-** Los gobiernos municipales tendrán las siguientes competencias exclusivas sin perjuicio de otras que determinan la ley.

- Prestar los servicios públicos de agua potable, alcantarillado, depuración de aguas residuales, manejo de desechos sólidos, actividades de saneamiento ambiental y aquellos que establezca la ley.

**Art. 276.-** El régimen de desarrollo tendrá los siguientes objetivos:

4. Recuperar y conservar la naturaleza y mantener un ambiente sano y sustentable que garantice que las personas y colectividades el acceso equitativo, permanente y de calidad de agua, aire y suelo, y a los beneficios de los recursos del subsuelo y del patrimonio natural.

**Art. 282.-** El Estado regulará el uso y manejo del agua de riego para la producción de los alimentos, bajo los principios de equidad, eficiencia y sostenibilidad ambiental.

**Art. 318.-** La gestión del agua será exclusivamente público o comunitario. El servicio público de saneamiento, el abastecimiento de agua potable y el riego serán prestados únicamente por personas jurídicas estatales o comunitarias.

La Asamblea Nacional (2014) establece el proyecto de la **Ley Orgánica de Recursos Hídricos Usos y Aprovechamiento del Agua** con el fin de establecer la sustentabilidad de los ecosistemas y el consumo humano sean prioritarios en el uso y aprovechamiento del agua.

**TITULO I.****DISPOSICIONES PRELIMINARES.****CAPITULO I.****DE LOS PRINCIPIOS**

**Art. 3.-** Objeto de la Ley. El objeto de la presente Ley es garantizar el derecho humano al agua, así como regular y controlar la autorización, gestión, preservación, conservación, restauración, de los recursos hídricos, uso y aprovechamiento del agua, la gestión integral y su recuperación, en sus distintas fases, formas y estados físicos, a fin de garantizar el *sumak kawsay* o buen vivir y los derechos de la naturaleza establecidos en la Constitución.

**Art. 8.-** Gestión integrada de los recursos hídricos. Se entiende por cuenca hidrográfica la unidad territorial delimitada por la línea divisoria de sus aguas que drenan superficialmente hacia un cauce común, incluyen en este espacio poblaciones, infraestructura, áreas de conservación, protección y zonas productivas.

**TITULO II.****RECURSOS HIDRICOS.****CAPITULO I.****Definición, infraestructura y clasificación de los recursos hídricos.**

**Art. 10.-** Dominio hídrico público. El dominio hídrico público está constituido por los siguientes elementos naturales:

- a) Los ríos, lagos, lagunas, humedales, nevados, glaciares y caídas naturales;
- b) El agua subterránea;
- c) Los acuíferos a los efectos de protección y disposición de los recursos hídricos;
- d) Las fuentes de agua, entendiéndose por tales las nacientes de los ríos y de sus afluentes, manantial o naciente natural en el que brota a la superficie el agua subterránea o aquella que se recoge en su inicio de la esorrentía;
- e) La conformación geomorfológica de las cuencas hidrográficas, y de sus desembocaduras;

**Art. 12.-** Protección, recuperación y conservación de fuentes. El Estado, los sistemas comunitarios, juntas de agua potable y juntas de riego, los consumidores y usuarios, son corresponsables protección, recuperación y conservación de las fuentes de agua y del manejo de páramos, así como la participación en el uso y administración de las fuentes de aguas que se hallen en sus tierras, sin perjuicio de las competencias generales de la Autoridad Única del Agua de acuerdo con lo previsto en la Constitución y en esta Ley.

La Autoridad Única del Agua, los Gobiernos Autónomos Descentralizados, los usuarios, las comunas, pueblos, nacionalidades y los propietarios de predios donde se encuentren fuentes de agua, serán responsables de su manejo sustentable e integrado, así como de la protección y conservación de dichas fuentes, de conformidad con las normas de la presente Ley y las normas técnicas que dicte la Autoridad Única del Agua, en coordinación con la Autoridad Ambiental Nacional y las prácticas ancestrales.

La Asamblea Nacional (2020) establece el **Código Orgánico De Salud** con el fin de permitir el ejercicio del derecho a la salud de todas las personas, comunidades y de todos los ciudadanos permitiendo así el Buen Vivir en todo el territorio nacional.

## **CAPÍTULO I.**

### **PROMOCIÓN DE ALIMENTACIÓN SALUDABLE**

**Art.118.-** Vinculación intersectorial para la promoción de alimentación saludable. - La Autoridad Sanitaria Nacional establecerá vínculos permanentes con el ente encargado de la regulación y control del agua y la autoridad agraria nacional, a fin de que se vigile la calidad del agua para asegurar la inocuidad en la producción de alimentos y se promueva la recuperación de semillas de alimentos de alto nivel nutricional, respectivamente.

**Art. 145.-** Es responsabilidad de los productores, expendedores y demás agentes que intervienen durante el ciclo producción consumo, cumplir con las normas establecidas en esta Ley y demás disposiciones vigentes para asegurar la calidad e inocuidad de los alimentos para consumo humano.

El Ministerio De Medio Ambiente (2018) en su **Texto Unificado De Legislación Secundaria De Medio Ambiente** permite conocer las políticas básicas ambientales del Ecuador que permitan tener un principio fundamental hacia el compromiso de la sociedad para promover el desarrollo de la sustentabilidad.

**LIBRO I.****DE LA AUTORIDAD AMBIENTAL.****TITULO I.****De la Misión, Visión y Objetivos del Ministerio del Ambiente**

**Art. 1.-** MISION DEL MINISTERIO DEL AMBIENTE: Se establece como misión institucional la siguiente: Ejercer en forma eficaz y eficiente el rol de autoridad ambiental nacional, rectora de la gestión ambiental del Ecuador, garantizando un ambiente sano y ecológicamente equilibrado.

**TITULO I.****DISPOSICIONES PRELIMINARES****Art. 3.-** Glosario

- a) Cuerpo de agua. - Es todo río, lago, laguna, aguas subterráneas, cauce, depósito de agua, corriente, zona marina, estuario.
- b) Cuerpo hídrico. - Son todos los cuerpos de agua superficiales y subterráneos como quebradas, acequias, ríos, lagos, lagunas, humedales, pantanos, caídas naturales.
- c) Contaminación. - La presencia en el medio ambiente de uno o más contaminantes o la combinación de ellos, en concentraciones tales y con un tiempo de permanencia tal, que causen en estas condiciones negativas para la vida humana, la salud y el bienestar del hombre, la flora, la fauna, los ecosistemas o que produzcan en el hábitat de los seres vivos, el aire, el agua, los suelos, los paisajes o los recursos naturales en general, un deterioro importante.

**8.10.2. AGUA POTABLE N-INEN 1108-6 MARZO 2020****REQUISITOS****1. OBJETO Y CAMPO DE APLICACIÓN**

Esta norma establece los requisitos del agua para consumo humano y aplica al agua proveniente de sistemas de abastecimiento, suministrada a través de sistemas de distribución. De esta norma se excluyen las aguas minerales naturales, las aguas purificadas envasadas y aguas purificadas de uso farmacéutico.

## 2. REFERENCIAS NORMATIVAS

Los siguientes documentos, en su totalidad o en parte, son indispensables para la aplicación de este documento. Para referencias fechadas, solamente aplica la edición citada. Para referencias sin fecha, aplica la última edición (incluyendo cualquier enmienda).

ISO 5667-5, Water quality –Sampling –Part 5: Guidance on sampling of drinking water from treatment works and piped distribution systems

NTE INEN-ISO 5667-1, Calidad del agua – Muestreo - Parte 1: Guía para el diseño de los programas de muestreo y técnicas de muestreo.

NTE INEN-ISO 5667-3, Calidad del agua – Muestreo - Parte 3: Conservación y manipulación de las muestras de agua

NTE INEN-ISO 19458, Calidad del agua - Muestreo para el análisis microbiológico NTE INEN 52, Reglas para redondear números

EPA 1623, Cryptosporidium and Giardia in Water by Filtration/IMS/FA

Standard Methods 2120, Color

Standard Methods 2130, Turbidity

Standard Methods 3111, Metals by flame atomic absorption spectrometry

Standard Methods 3112, Metals by cold-vapor atomic absorption spectrometry

Standard Methods 3113, Metals by electrothermal atomic absorption spectrometry

Standard Methods 3114, Arsenic and selenium by hydride generation/atomic absorption spectrometry

Standard Methods 4500-Cl<sup>-</sup>, Chloride

Standard Methods 4500-F<sup>-</sup>, Fluoride

Standard Methods 4500-NO<sub>2</sub><sup>-</sup>, Nitrogen (Nitrite)

Standard Methods 4500-NO<sub>3</sub><sup>-</sup>, Nitrogen (Nitrate)

Standard Methods 9221, Multiple-tube fermentation technique for members of the coliform group

Standard Methods 9222, Membrane filter technique for members of the coliform group

## 3. TÉRMINOS Y DEFINICIONES

Para los efectos de esta norma, se adoptan las siguientes definiciones:

### 3.1. Agua para consumo humano

“Agua utilizada para beber, preparar y cocinar alimentos u otros usos domésticos, independiente del origen y suministro, con características físicas, químicas y microbiológicas que garanticen su inocuidad y aceptabilidad para el consumo humano” (INEN, 2020).

NOTA: Él agua para consumo inocua se conoce también como “agua potable”.

### 3.2. Sistema de abastecimiento

“Sistema, que incluye la infraestructura hidráulica y trabajos auxiliares, construido para el funcionamiento de la captación, conducción, tratamiento, almacenamiento y sistema de distribución del agua para consumo humano” (INEN, 2010).

### 3.3. Sistemas de distribución

“Comprenden la infraestructura hidráulica y trabajos auxiliares construidos desde el almacenamiento hasta la acometida domiciliaria” (INEN, 2020).

NOTA: Otras alternativas de distribución son camiones cisternas (tanqueros) y depósitos móviles.

### 3.4. Límite permitido

“Valor de un requisito fijado dentro del ámbito del conocimiento científico y tecnológico del momento, que no ocasiona ningún riesgo significativo para la salud humana” (INEN, 2020).

## 4. REQUISITOS

4.1 El agua para consumo humano debe presentar un sabor y olor aceptables.

4.2 El agua para consumo humano debe cumplir los requisitos físicos y químicos indicados en la Tabla 2.

**Tabla 2.** Requisitos físicos y químicos del agua para consumo humano

PARÁMETRO	UNIDAD	LÍMITE PERMITIDO	MÉTODO DE ENSAYO
ARSÉNICO	mg/L	0,01	Standard Methods 3114
CADMIO	mg/L	0,003	Standard Methods 3113
COLOR LIBRE RESIDUAL	mg/L	0,3 a 1,5	Standard Methods 4500 Cl <sup>-</sup>
COBRE	mg/L	2,0	Standard Methods 3111
COLOR APARENTE	Pt-Co	15	Standard Methods 2120
CROMO (CROMO TOTAL)	mg/L	0,05	Standard Methods 3113
FLUORURO	mg/L	1,5	Standard Methods 4599-F <sup>-</sup>
MERCURIO	mg/L	0,006	Standard Methods 3112
NITRATOS (COMO NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> )	mg/L	50,0	Standard Methods 4500-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>
NITRITOS (COMO NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> )	mg/L	3,0	Standard Methods 4500-NO <sub>2</sub> <sup>-</sup>
PLOMO	mg/L	0,01	Standard Methods 3113
TURBIEDAD <sup>a</sup>	NTU	5	Standard Methods 2130

FUENTE: INEN 1108, 2020

4.3 El agua para consumo humano debe cumplir los requisitos microbiológicos indicados en la Tabla 3.

**Tabla 3.** Requisitos microbiológicos del agua para consumo humano

PARÁMETRO	UNIDAD	LÍMITE PERMITIDO	MÉTODO DE ENSAYO
<b>COLIFORMES</b>	Número/100ml	Ausencia	Standard Methods 9221 <sup>b</sup>
<b>FECALES</b>			Standard Methods 9222 <sup>c</sup>
<b>CRYPTOSPORIDIUM</b>	Número de ooquistes/L	Ausencia	EPA 1623
<b>GIARDIA</b>	Número de quistes/L	Ausencia	EPA 1623

FUENTE: INEN 1108, 2020

### 8.10.3. TEXTO UNIFICADO DE LEGISLACION SECUNDARIA DE MEDIO AMBIENTE

#### PARAGRAFO I

#### DEL AGUA

**Art. 209.-** De la calidad del agua. - Son las características físicas, químicas y biológicas que establecen la composición del agua y la hacen apta para satisfacer la salud, el bienestar de la población y el equilibrio ecológico. La evaluación y control de la calidad de agua, se la realizará con procedimientos analíticos, muestreos y monitoreos de descargas, vertidos y cuerpos receptores; dichos lineamientos se encuentran detallados en el Anexo I. En cualquier caso, la Autoridad Ambiental Competente, podrá disponer al Sujeto de Control responsable de las descargas y vertidos, que realice muestreos de sus descargas, así como del cuerpo de agua receptor. Toda actividad antrópica deberá realizar las acciones preventivas necesarias para no alterar y asegurar la calidad y cantidad de agua de las cuencas hídricas, la alteración de la composición físico-química y biológica de fuentes de agua por efecto de descargas y vertidos líquidos o disposición de desechos en general u otras acciones negativas sobre sus componentes, conllevará las sanciones que correspondan a cada caso.

### Criterios de calidad de aguas de uso agrícola o de riego

Se entiende por agua de uso agrícola aquella empleada para la irrigación de cultivos y otras actividades conexas o complementarias que establezcan los organismos competentes. Se prohíbe el uso de aguas servidas para riego, exceptuándose las aguas servidas tratadas y que cumplan con los niveles de calidad establecidos en la TABLA 4. Los criterios de calidad admisibles para las aguas destinadas a uso agrícola se presentan en la TABLA 4.

**Tabla 4:** Criterios de calidad de aguas para riego agrícola

PARAMETRO	EXPRESADO COMO	UNIDAD	CRITERIO DE CALIDAD
<b>ACEITES Y GRASAS</b>	Película Visible		<b>AUSENCIA</b>
<b>ALUMINIO</b>	Al	mg/l	<b>5,0</b>
<b>ARSÉNICO</b>	As	mg/l	<b>0,1</b>
<b>BERILIO</b>	Be	mg/l	<b>0,1</b>
<b>BORO</b>	B	mg/l	<b>0,75</b>
<b>CADMIO</b>	Cd	mg/l	<b>0,05</b>
<b>CINC</b>	Zn	mg/l	<b>2,0</b>
<b>COBALTO</b>	Co	mg/l	<b>0,01</b>
<b>COBRE</b>	Cu	mg/l	<b>0,2</b>
<b>COLIFORMES FECALES</b>	NMP	NMP/100ml	<b>1000</b>
<b>CROMO</b>	<u>Cr</u> +6	mg/l	<b>0,1</b>
<b>FLÚOR</b>	F	mg/l	<b>1,0</b>
<b>HIERRO</b>	Fe	mg/l	<b>5,0</b>
<b>HUEVOS DE PARÁSITOS</b>			<b>AUSENCIA</b>
<b>LITIO</b>	Li	mg/l	<b>2,5</b>
<b>MATERIA FLOTANTE</b>	Visible		<b>AUSENCIA</b>
<b>MERCURIO</b>	Hg	mg/l	<b>0,001</b>
<b>MANGANESO</b>	Mn	mg/ l	<b>0, 2</b>
<b>MOLIBDENO</b>	Mo	mg/l	<b>0,01</b>
<b>NÍQUEL</b>	Ni	mg/l	<b>0,2</b>
<b>NITRITOS</b>	NO <sub>2</sub>	mg/l	<b>0,5</b>
<b>OXÍGENO DISUELTO</b>	OD	mg/l	<b>3</b>
<b>PH</b>	Ph		<b>6-9</b>
<b>PLOMO</b>	Pb	mg/l	<b>5,0</b>



<b>SELENIO</b>	Se	mg/l	<b>0,02</b>
<b>SULFATOS</b>	SO <sub>4</sub> < 2	mg/l	<b>250</b>
<b>VANADIO</b>	V	<b>MG/L</b>	<b>0,1</b>

FUENTE: TULSMA, 2017

#### **8.10.4. ORDENANZA PARA LA DESCONTAMINACIÓN Y PROTECCIÓN DE LOS RÍOS Y AFLUENTES HÍDRICOS DEL CANTÓN LATACUNGA**

##### **CAPITULO I.**

##### **OBJETIVO Y AMBITO DE LA APLICACIÓN**

**Art.1-** La presente ordenanza tiene por objeto establecer acciones para la descontaminación, protección, recuperación y revalorización de los ríos Cutuchi, Pumacunchi, Cunuyacu, Yanayacu y demás afluentes superficiales o subterráneos dentro del cantón Latacunga.

**Art.2-** El ámbito de aplicación de la presente ordenanza será a nivel cantonal, y estarán sujetos a la misma todas las personas naturales y jurídicas, públicos o privados asentadas domiciliados y/o que ejerzan presten o realicen cualquier tipo de actividad económica y/o comercial dentro del territorio cantonal de Latacunga, ya sea de manera permanente, temporal o eventual.

##### **CAPITULO III.**

##### **DE LAS OBLIGACIONES DE LOS CIUDADNOS Y ENTIDADES LOCALES**

**Art.4.-** Con el fin de proteger los derechos ambientales individuales o colectivos, todas las obras, proyectos de tipo público y privado, a nivel de servicios e industrial deben aplicar buenas prácticas ambientales e implementar plantas de tratamiento de aguas negras, residuales, descargas industriales, domésticas y otras que alteren las condiciones físico, químicas y biológicas del agua y atenten su calidad.

##### **CAPITULO IV.**

##### **DE LAS PROHIBICIONES**

**Art.7.** Prohibase a todos los sujetos productivos públicos y privados del cantón Latacunga:

Depositar los desechos sólidos o de cualquier otro tipo en los Ríos: Cutuchi, Pumacunchi, Cunuyacu, Yanayacu y demás afluentes superficiales y subterráneos del Cantón Latacunga y sus márgenes en basurero; para evitar su contaminación sancionándose estas transgresiones.

## **8.10.5. ORDENANZA MUNICIPAL PARA EL SERVICIO DE AGUA POTABLE EN EL CANTÓN LATACUNGA.**

### **CAPITULO I.**

#### **DEL USO DEL AGUA POTABLE**

**Art.1.** Se declara de uso público el agua potable del cantón Latacunga, Facultando su aprovechamiento a las personas naturales o jurídicas de derecho público o privado, con sujeción a la presente Ordenanza.

**Art.2.** El uso del agua se concederá para servicios: residencial o doméstico, comercial, industrial y oficial o público, de acuerdo a las normas pertinentes.

### **9. VALIDACIÓN DE LAS PREGUNTAS CIENTÍFICAS O HIPÓTESIS.**

¿Es posible determinar la trazabilidad microbiológica en un sitio poco monitoreado y contaminado con arsénico en fuentes naturales en la Quebrada Talahuachana entre los 3500 y 3600 m.s.n.m.?

Este trabajo de investigación nos permitió establecer que, si se puede determinar la trazabilidad microbiológica en lugares poco monitoreados debido a que los distintos procesos de muestro, crecimiento microbiano, aislamiento e identificación han permitido determinar las posibles bacterias que podrían ayudar a degradar la presencia de arsénico en un recurso hídrico.

### **10. METODOLOGÍAS Y DISEÑO EXPERIMENTAL**

La determinación de conjuntos bacterianos y la contaminación de arsénico presentes en sitios poco monitoreados de fuentes naturales se realizó a partir de un enfoque cualitativo y cuantitativo que se desarrolló en tres etapas:

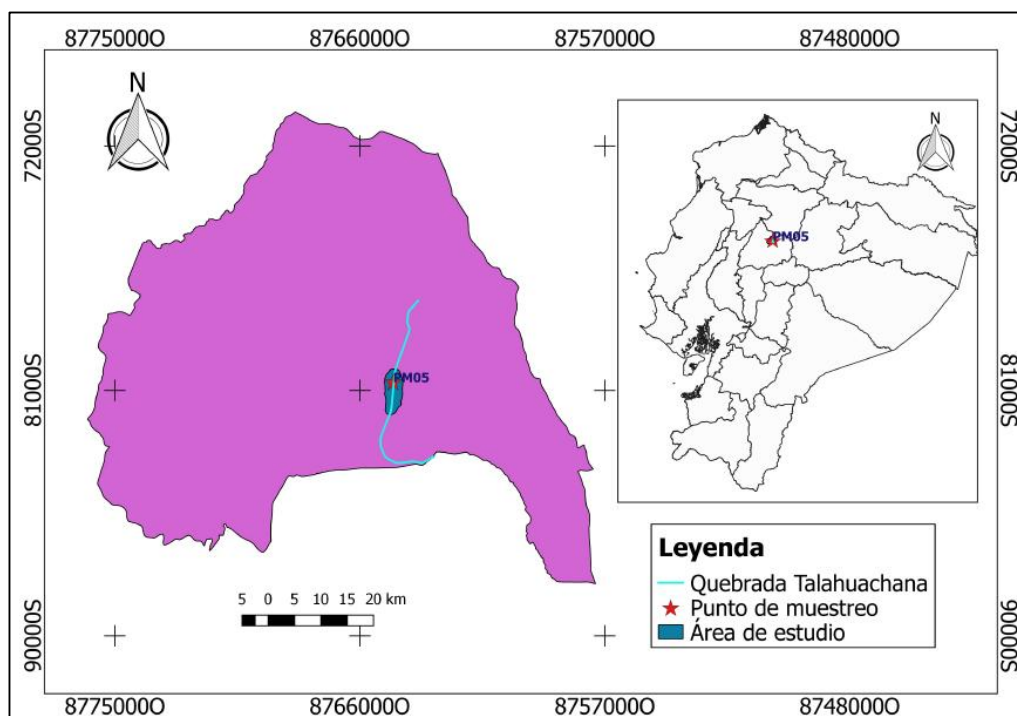
- Caracterización e identificación de la zona de estudio mediante la utilización de la herramienta de Sistema de Información Geográfica (QGIS 2.18.), para determinar el área de estudio, delimitada y cortada de acuerdo al piso altitudinal entre los 3500 y 3600 m.s.n.m.
- Trabajo en campo para la recolección de muestras de agua en la Quebrada Talahuachana, se utilizó la metodología establecida por el laboratorio Nacional de Calidad de Agua y Sedimentos (LANCAS) perteneciente al Instituto Nacional de Meteorología e Hidrología (INAMHI).
- Establecer la trazabilidad microbiológica en concentraciones de arsénico presente en el agua, proceso realizado en el laboratorio de la Universidad Técnica de Cotopaxi en la Facultad de CAREN.

### 10.1. UBICACIÓN DEL ÁREA DE ESTUDIO

La Quebrada Talahuachana está ubicada en la parroquia Toacaso perteneciente a la provincia de Cotopaxi este territorio se ubica en la parte Noroccidente del cantón Latacunga, en la falda de los Ilinizas. Teniendo como límites al norte: Las faldas del Iliniza Norte, desde el río Zarapullo y parte de la Parroquia Pastocalle; al Sur: La parroquia Canchagua (cantón Saquisilí) y parroquia Guaytacama (cantón Latacunga); al Este: la Parroquia Tanicuchi y al Oeste: el cantón Sigchos.

La parte baja de la parroquia Toacaso se ubica entre las coordenadas de latitud S  $0^{\circ} 43'30.23328''$  y Latitud Norte  $78^{\circ} 44'7.09296''$  misma que cuenta con una altura de 3540 metros sobre el nivel del mar.

**Figura 1:** Mapa de ubicación de sitio de muestreo Quebrada Talahuachana



**Fuente:** Sistema Nacional de Información (SIN); QGIS 2.18.

**Elaborado por:** Caceres J. & Díaz M., 2022.

### 10.2. CARACTERIZACIÓN BIOFÍSICA

Para la caracterización biofísica del área de estudio se utilizó la herramienta QGIS 2.18. del Sistema de Información Geográfico, el cual para su delimitación y corte de la Quebrada Talahuachana se realizó de acuerdo al piso altitudinal que va desde los 3500 a 3600 m.s.n.m., y a las coordenadas de nuestro punto de muestreo, luego se procedió a realizar mapas de ubicación, clima, precipitación, temperatura, pendiente, erosión, geología, suelos y uso de suelo, estos shapes fueron tomados de la

plataforma del Sistema Nacional de Información y finalmente, se describió a cada uno de los mapas de acuerdo a su información obtenida.

### **10.3. TIPOS DE INVESTIGACIÓN**

#### **10.3.1. Investigación Exploratoria.**

La investigación exploratoria ayudó en la búsqueda de información proveniente de la plataforma del Sistema Nacional de Información que se encuentra enfocada en el área de estudio y su caracterización.

#### **10.3.2. Investigación bibliográfica**

La investigación teórica permitió la recopilación de datos de registros geográficos, libros y PDOT. Donde dicha información será útil para desarrollar el trabajo de investigación, ya que se encuentra específicamente centrado en los efectos que podría ocasionar la presencia de arsénico en el recurso hídrico dentro de la cadena trófica al ser utilizado como medio de riego y consumo humano.

### **10.4. MÉTODOS**

#### **10.4.1. Método Inductivo**

La presente investigación se realizó con la finalidad de conocer los conjuntos bacterianos presentes en las aguas contaminadas por arsénico (As) natural. En esta investigación se analizó las bandas de las comunidades bacterianas capaces de desarrollarse y crecer en aguas con presencia de As. Además, para analizar el desarrollo, crecimiento y estructura de las comunidades se utilizó técnicas como la tinción de Gram, técnica sencilla que se basa en el uso de un colorante que permite observar las bacterias mejor que bajo el microscopio.

### **10.5. HERRAMIENTA PARA LA DIGITALIZACIÓN DE LOS MAPAS**

Para este proyecto de investigación se utilizó una herramienta tecnológica, la cual nos facilitado a delimitar nuestra área de estudio, así como sus características biofísicas.

### 10.5.1. QGIS 2.18.

Para la digitalización de mapas del lugar se utilizó el programa Sistema de Información Geográfica (QGIS 2.18) software que requiere de información archivada en la plataforma del Sistema Nacional de Información, ya que esta al contener SHAPES o archivos de Información Geográfica permite la obtención de mapas mismos que fueron recortados de acuerdo a los pisos altitudinales desde 3500 a 3600 m.s.n.m con esto se determinó la ubicación, erosión del suelo, hidrología, geología y más información referente a la zonificación del lugar de estudio.

### 10.6. MÉTODOS PARA ANÁLISIS DE AGUA

Para la toma de muestras de agua se aplicó la metodología establecida en el laboratorio acreditado por el Servicio de Acreditación Ecuatoriano (SAE) y los requerimientos establecidos en la Norma NTE INEN 2169, NTE INEN 2176 e ISO/IEC 17025: 2006: donde los parámetros evaluados son:

**Tabla 5:** Llenado de envases para la Evaluación de las muestras

PARAMÉTROS	Envase	Preservante	INSTRUCCIONES PARA LA TOMA Y PRESERVACIÓN DE MUESTRAS
Oxígeno disuelto	300 ml Vidrio	1mL de Sulfato Manganoso 1mL Alkali Yoduro 2mL de ácido Sulfúrico concentrado	Llenar al mismo tiempo dos Winkler de 300mL de muestra. Poner a cada Winkler: Vial 1, Vial 2 y Vial 3. Nota: Poner con cuidado cada Vial, tapar y eliminar el exceso en el winkler. Mantener con hielo las muestras hasta llegar al laboratorio.
pH, sulfatos	100 ml plástico	No aplica	Tomar 1000 mL de muestra en un envase de plástico. Mantener con hielo las muestras hasta llegar al laboratorio.
Arsénico, manganeso	250 ml plástico	5 gotas de ácido nítrico libre de trazas	Para el análisis de ARSÉNICO tome la muestra en el envase de 250 mL, deje un pequeño espacio (el cuello del envase) para preservar la muestra con ácido nítrico concentrado libre de trazas. Poner 5 gotas de ácido nítrico concentrado a la muestra, colocar la contratapa e inmediatamente tapar el frasco. Invierta el frasco tres veces para homogenizar la muestra,

Coliformes fecales	100 mL	No aplica	rotular y mantener con hielo hasta llegar al laboratorio.
	estéril de plástico.		Abrir el frasco de 100 mL debajo del agua y llenar el frasco dejando un espacio de aire. Tapar el frasco y mantener con hielo las muestras hasta llegar al laboratorio. Tiempo de entrega máx. 24 horas

---

**Fuente:** LANCAS, 2022

## **10.7. METODOLOGÍA DE TRAZABILIDAD MICROBIANA**

Para determinar los tipos de bacterias que presenta el agua de la quebrada Talahuachana se utilizó diferentes medios sólidos de cultivos, ya que el Agar nutritivo permite cultivar todo tipo de bacteria, es decir el crecimiento bacteriano se produce en la superficie lo que permite distinguir las colonias más pequeñas del medio, mientras que el agar MacConkey es un medio de cultivo selectivo y diferencial para generar el aislamiento de las bacterias.

### **10.7.1. Materiales**

Los materiales utilizados dentro del laboratorio para elaborar medios de cultivo con Agar nutritivo y Agar MacConkey, a fin de obtener microorganismos presentes en el agua de la Quebrada Talahuachana son:

- Autoclave
- Cabina de flujo laminar
- Varilla de agitación
- Balanza
- Matraz de 500 ml
- Un gotero
- Vaso de precipitación
- Alcohol antiséptico
- Agua destilada
- Cajas Petri
- Incubadora
- Asa

- Espátula
- Probeta
- Cinta parafilm
- Mechero

#### **10.7.2. Preparación del medio de cultivo**

Se debe suspender 2,8 gr del polvo de agar Nutritivo en 100ml de agua purificada o agua destilada. Mezclar y dejar reposar 5 minutos. Calentar agitando frecuentemente y hervir aproximadamente 1 o 2 minutos hasta generar su disolución total. El volumen del sustrato a utilizar se calculó considerando un volumen aproximado para 3 cajas Petri.

Suspender 5,15 gr del polvo de agar MacConkey en 100 ml de agua purificada reposar 5 minutos. Calentar con agitación frecuente y llevar a ebullición durante 1 minuto o 2 hasta disolver completamente y distribuir en el matraz. El volumen del sustrato a utilizar se calculó considerando un volumen aproximado para 3 cajas Petri.

#### **10.7.3. Disolución de los sustratos para medios de cultivo**

Una vez preparada la mezcla entre el sustrato (agar) y agua destilada, los matraces con cada mezcla correspondiente deberán ser sellados con papel aluminio y colocados en la autoclave para esterilizarlos a una temperatura de 121°C por 15 minutos, luego dejar enfriar a 45°C hasta que la temperatura del envase sea soportable para el dorso de la mano y distribuir en los recipientes apropiados.

#### **10.7.4. Distribución del medio de cultivo en las cajas Petri**

Este procedimiento requiere de la utilización de la cabina de flujo laminar donde se colocarán todos los materiales e instrumentos a utilizar a fin de evitar la contaminación de la muestra y de los recipientes. Para verter el agar líquido la caja debe estar abierta con un ángulo aproximado de 45°, una vez que la caja contenga la disolución se coloca la tapa sobre la misma hasta la mitad para eliminar el vapor de agua.

#### **10.7.5. Siembra de microorganismos en el medio de cultivo**

En este proceso se utilizó la cabina laminar para evitar la introducción de algún microorganismo fuera de la muestra, para ello es necesario un vaso de precipitación que contenga alcohol, con un gotero esterilizado tomar la muestra de agua y colocar una gota dentro de la caja Petri, luego encender el mechero para esterilizar el asa instrumento que servirá para esparcir la muestra dentro del medio de cultivo con agar nutritivo, una vez terminado la siembra sellar la caja Petri con Parafilm y finalmente, incubar a 37°C por 24 horas

#### **10.7.6. Observación del crecimiento microbiano**

Para determinar el crecimiento microbiano se utilizó el instrumento “cuenta colonias”, ya que este permite observar la cantidad de conjuntos bacterianos y otras características como su forma, tamaño y color desarrollados en el medio de cultivo.

#### **10.7.7. Aislamiento de Bacterias**

Se generó la separación de 3 tipos diferentes determinados de microorganismos del resto de microorganismos que le acompañan a las cajas madres crecidos en medios de cultivos con agar Nutritivo estos han sido separados aplicando la siembra por estrías sobre el medio de cultivo sólido de agar Nutritivo y posteriormente en el medio de cultivo con agar MacConkey dispuestos en 3 cajas Petri a fin de generar la comprobación de la pigmentación de cada conjunto bacteriano.

#### **10.7.8. Técnica de aislamiento mediante el método de estría.**

Se trata de una técnica simple y rápida de agotamiento progresivo y continuo del inóculo sobre un medio sólido, generalmente contenido en una placa Petri. El objeto es obtener a partir de un elevado número de bacterias, un número reducido de ellas distribuidas individualmente a lo largo de la superficie de la placa. Al incubar esta, cada una de las bacterias originará una colonia. Las colonias individuales constituyen cada una un cultivo puro (Sanz, 2011).



Mediante esta técnica se obtienen colonias aisladas a partir de una muestra que contenga un elevado número de bacterias. Existen distintos tipos de trazados para lograr una buena separación entre las bacterias sembradas, en este caso se utilizó el agotamiento de ansa que consta en flamear el ansa, se enfría y después de rozar la siembra realizada previamente, se realizan estrías en dos placas en forma consecutiva sin recargar el ansa (FBIOYF, 2020).

#### **10.7.9. Siembra por estrías**

A partir del crecimiento microbiano en el medio de cultivo, se deberá esterilizar el asa flameándola en un mechero hasta conseguir un rojo vivo o incandescente, luego dejar enfriar el asa durante un minuto aproximadamente. Tomar una pequeña porción de muestra de la colonia seleccionada y transferir el inóculo a un nuevo medio de cultivo, formando estrías muy juntas sobre la superficie girando en dirección a las manecillas del reloj hasta formas tres fases de estriado, esto permitirá reducir la concentración de microorganismos. Repitiendo este proceso varias veces se logra obtener células individuales. Las cajas se incuban invertidas en un lugar adecuado, permitiendo que las células aisladas experimenten un número de colonias visibles.

#### **10.7.10. Tinción de gram**

La tinción de gram es una técnica diferencial que permite distinguir bacterias Gram positivas y Gram negativas mediante el grado de permeabilidad de las paredes celulares al disolvente aplicado durante la tinción. La tinción de Gram es de color púrpura. Cuando la tinción se combina con la bacteria en una muestra, las bacterias pueden seguir de color púrpura o volverse rosadas o rojas. Si se mantienen púrpura, son gram positivas. Si se vuelven rosadas o rojas, son gram negativas (MedlinePlus, 2021). Para realizar la tinción de Gram se utilizó la metodología de (Murcia C, 2022) que se detalla a continuación:

Primero hay que realizar un frotis del microorganismo, para ello hay que añadir una gota pequeña de agua destilada sobre el portaobjetos, luego esterilizar el asa a fin de sustraer una pequeña cantidad de la colonia, esta se coloca en el portaobjeto y se dispersa dentro de la gota de agua.

Con la ayuda del mechero se debe fijar la muestra por calor realizando movimientos circulares por encima de la llama del mechero constantemente levantar la muestra para que no se queme, realizar este proceso hasta que la muestra quede totalmente seca y fijada.

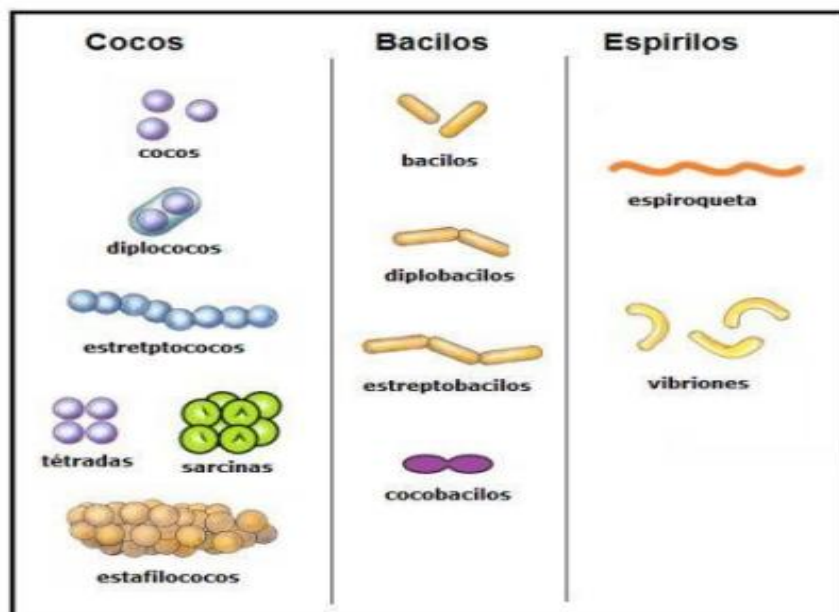
Aplicar a las bacterias fijadas cristal violeta (azul de metileno) durante un minuto, luego procedemos a lavar con el agua destilada, una vez lavada añadir lugol durante un minuto y volver a lavar, a continuación, añadir alcohol y dejar actuar durante 15 segundos, una vez transcurrido ese tiempo lavar la muestra con el agua destilada. Y finalmente, añadir safranina durante un minuto, ya transcurrido ese minuto aclarar la muestra con agua destilada y esperar a que se seque para realizar la identificación en un microscopio a 100x.

#### 10.7.11. Identificación bacteriana

- **Identificación microscópica**

En la microscopía se tuvo en cuenta los siguientes criterios la cual está constituida por Forma, Agrupación y Tinción de Gram (Vargas M, 2018).

**Figura 2:** Características microscópicas para bacterias según MacFaddin



- **Identificaciones macroscópicas**

En la caracterización macroscópica se seleccionó el método según MacFaddin en el 2006. La sección macroscópica consistió en observar las colonias que se desarrollan sobre la superficie del medio presentando una morfología con características comunes y particulares según los grupos bacterianos (Vargas M, 2018). Por lo tanto, se tuvo en cuenta los siguientes criterios:

**Tabla 6:** Descripción de características de las bacterias según MacFaddin

Criterio	Descripción
Tamaño	Grande, mediana, pequeña y puntiforme
Forma de crecimiento	Borde
Elevación de la colonia	No elevada: plana, Elevada: convexa, umbilicada, mamelonada y papilar
Consistencia	Blanda, dura, mucoide
Aspecto	Brillante u opaco, mate o translúcida

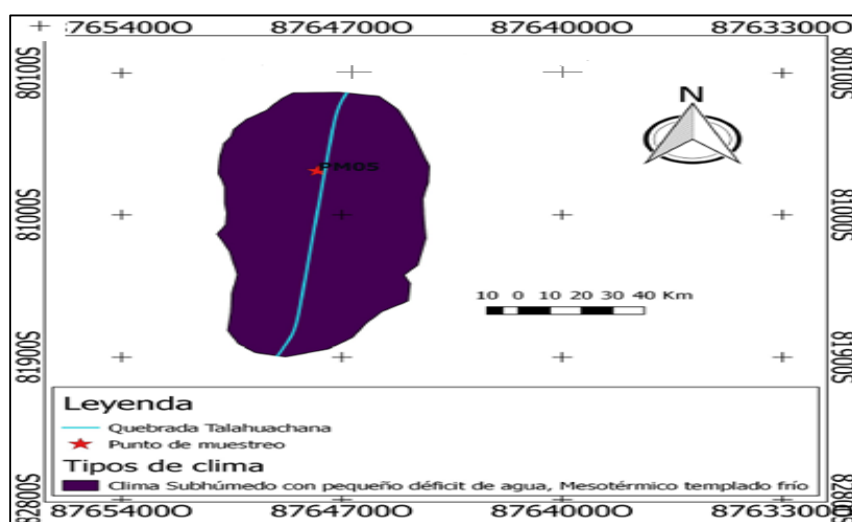
## 11. ANALISIS Y DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS.

### 11.1. CARACTERIZACIÓN BIOFÍSICA DEL PISO ALTITUDINAL ENTRE LOS 3500 Y 3600 m.s.n.m.

#### 11.1.1. CLIMA

En nuestra zona de estudio de la Quebrada Talahuachana según la figura 3 se puede evidenciar que existe un Clima Subhúmedo con pequeño déficit de agua, Mesotérmico templado frío, esto se debe a que se encuentra a una altitud de entre los 3500 a 3600 m.s.n.m., además está cerca del volcán los Ilinizas.

**Figura 3:** Mapa de los tipos de climas de la Quebrada Talahuachana



**Fuente:** Sistema Nacional de Información (SIN); QGIS 2.18.

**Elaborado por:** Caceres J. & Díaz M., 2022.

Sin embargo, Meza et al, (2015) nos menciona que los sedimentos son el sustrato o material geológico desagregado, que se encuentra en el fondo de esteros, ríos, lagunas y mar. Los sedimentos son sustrato de vida en donde se acumula por lo general varias sustancias de diferente naturaleza a veces de manera natural, por acción del clima. Además, la sedimentación se acumula debido a los materiales transportados por un agente geológico. La deposición se produce en unas condiciones ambientales de las que queda una impronta en el registro sedimentario. La sedimentación puede ocurrir después de un recorrido realizado por un agente de transporte, en cuyo caso se habla de sedimentación alóctona (Meza et al., 2015). Como los procesos mencionados dependen del clima, en un punto cualquiera del río, el material que viene de aguas arriba puede seguir siendo arrastrado por la corriente y cuando no hay suficiente capacidad de transporte este se acumula dando lugar a los llamados depósitos de sedimentos (Meza et al., 2015)

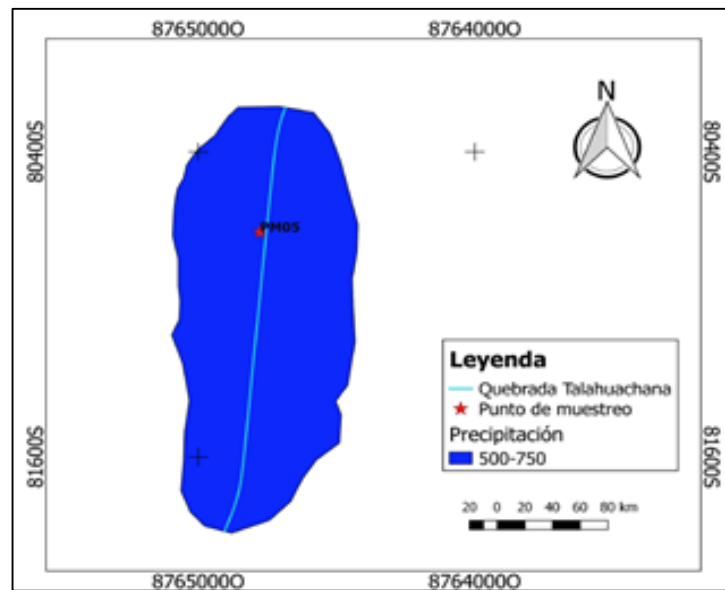
### 10.1.2. PRECIPITACIÓN

Dentro de esta zona de estudio se encuentra zonas definidas y divididas por la cordillera occidental lo que produce que la precipitación en los valles andinos o Toacaso la precipitación tenga un promedio de 625 mililitros anuales como se observa en la **Figura 4**.

Además, en nuestra zona de estudio presenta zonas que se encuentran en el flanco occidental de la cordillera, que se dirige hacia el trópico del Ecuador, por el cual presenta precipitaciones que va desde los 500 hasta los 750 mililitros anuales. Estas precipitaciones se deben a la presencia de los vientos calientes provenientes del trópico y sobre todo a la presencia de la niebla, misma que se condensa para la producción de precipitaciones del lugar.

**Tabla 7.** Precipitación promedio actual

PRECIPITACIÓN ANUAL (mm)					
AÑOS	1997	1998	1999	2000	2001
PROMEDIO ANUAL	728,85	744,4	1086,3	904,9	574

**Figura 4:** Mapa de precipitación de la Quebrada Talahuachana

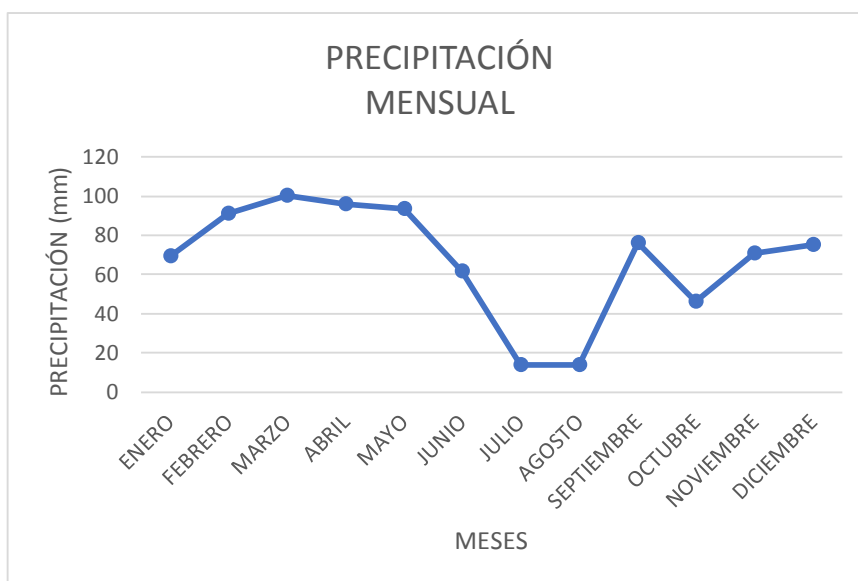
**Fuente:** Sistema Nacional de Información (SIN); QGIS 2.18.

**Elaborado por:** Caceres J. & Díaz M., 2022.

Datos mensuales de precipitación correspondientes a la estación de Toacaso (M0373) debido a que esta red de estación meteorológica se encuentra dentro de nuestra zona de estudio, en el cual se tomó en cuenta desde los años 1997 al 2001.

**Tabla 8:** Precipitación promedio anual

PRECIPITACIÓN ANUAL (mm)					
MESES/AÑOS	1997	1998	1999	2000	2001
ENERO	107,3	40,1	89,2	44,1	67,4
FEBRERO	75,5	62,9	158	121,8	37,5
MARZO	84,9	80,3	141,3	97,3	97,7
ABRIL	56,6	118	101,8	160,6	43,4
MAYO	45,2	90,8	129,3	158	43,4
JUNIO	30,9	30,1	113,9	91,1	41,8
JULIO	3,6	27,2	22,6	3,5	11,8
AGOSTO	0	40,4	19,6	7,9	1,9
SEPTIEMBRE	37,6	49,1	120,8	98,1	74,9
OCTUBRE	75,1	96,6	39,8	13,9	4,4
NOVIEMBRE	165	75,5	25,7	35,7	52,4
DICIEMBRE	47,2	33,4	124,3	72,9	97,6
<b>PROMEDIO ANUAL</b>	<b>60,7</b>	<b>62,0</b>	<b>90,5</b>	<b>75,4</b>	<b>47,9</b>

**Figura 5.** Promedio mensual de precipitación

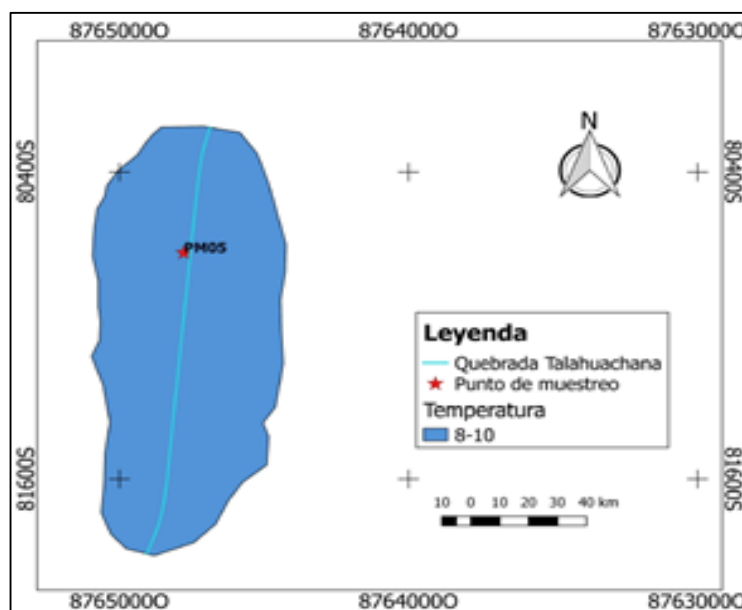
**Fuente:** Excel, 2016

Mediante este diagrama se puede establecer que según nuestro periodo de recolección de muestras se encuentran dentro de los rangos mensuales de enero y marzo, ya que según el último año de los datos anuales promedios de precipitación del 2001 la parroquia de Toacaso presenta 67,4 mm en el mes de enero, donde los sedimentos tiende a tener una mayor concentración de sustratos y para marzo de 97,7 mm factor que influye en el arrastre de sedimentos desde la parte alta hasta llegar a la parte baja del sector, esto permite identificar que para la época seca se considerara al mes de enero y época lluviosa al mes de marzo.

### 10.1.3. TEMPERATURA

Con respecto a la temperatura esta oscila entre los 8°C y 10°C. Donde las formaciones bioclimáticas para Toacaso le corresponde a la Ecuatorial de alta montaña y nival que se observan en la **Figura 6**. Permitiendo establecer que para la zona de estudio presenta una temperatura promedio de 9°C.

**Figura 6:** Mapa de temperatura de la Quebrada Talahuachana



**Fuente:** Sistema Nacional de Información (SIN); QGIS 2.18.

**Elaborado por:** Caceres J. & Díaz M., 2022.

El arsénico es liberado a la atmósfera como consecuencia de procesos naturales de alta temperatura tales como: erupción volcánica, quema de vegetación y combustión de carbón. Ha sido estimado que 60% del flujo atmosférico de arsénico es de origen natural siendo la acción volcánica una de las principales fuentes. El arsénico proveniente de estos procesos es liberado, en el material particulado, en la forma de trióxido de arsénico. Esas partículas son dispersadas por el viento y retornan a la tierra por deposición seca o húmeda (Galetovic & Nilda, 2009).

#### 10.1.4. VIENTOS

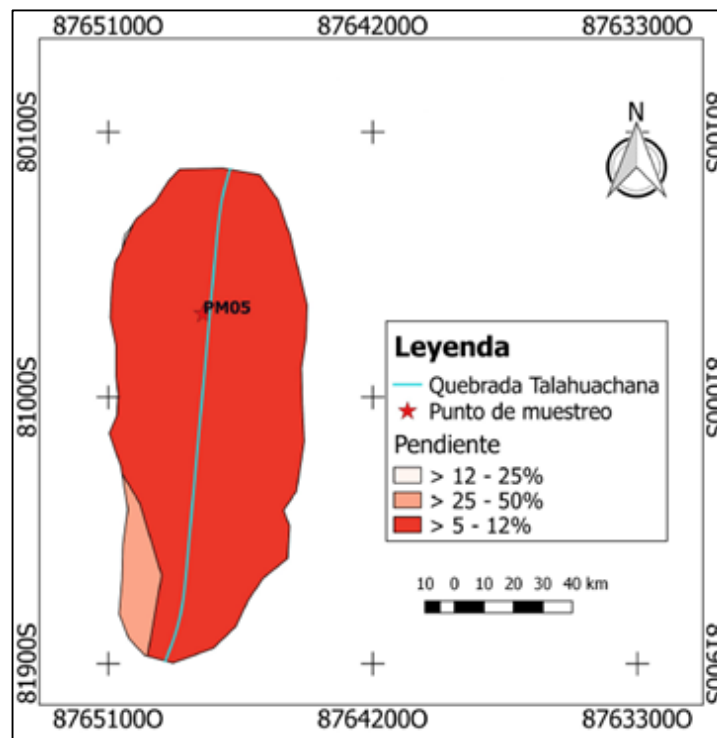
La característica principal de los vientos es que mensualmente sus valores máximos se presentan en los meses de agosto y septiembre. Al existir fuertes vientos el arsénico se presenta en diferentes formas y parte del arsénico puede ser transportado de un medio a otro en el entorno, lo que puede provocar un cambio en su forma. El viento o el agua pueden mover el arsénico presente en las rocas o suelos erosionados. Muchos compuestos orgánicos se fijan en el suelo y solo se mueven un poco cuando el agua se filtra a través del suelo. Cuando procedimientos industriales o actividades volcánicas emiten arsénico a la atmósfera, el arsénico se une a partículas que el viento transporta y que vuelven a caer al suelo (GreenFacts, 2022).

Asimismo, los microbios presentes en suelos y sedimentos también emiten a la atmósfera sustancias que contienen arsénico. Estos se transforman más tarde en otros compuestos de arsénico que vuelven a fijarse en el suelo. El transporte y la distribución del arsénico en el medio ambiente son complejos, debido a las numerosas formas químicas en las que puede estar presente y a que existe un ciclo continuo de diferentes formas de arsénico a través del aire, el suelo y el agua (GreenFacts, 2022).

#### 10.1.5. PENDIENTE

La pendiente de la zona de estudio tiene una fisiografía con pendientes suaves a ligeramente inclinados que va desde los 5 al 12%, ligeramente ondulado (micro relieve) de 12 a 25% y moderadamente ondulado de 25 a 50%, y por el cual quien tiene mayor predominancia es la zona de suave a ligeramente inclinado esto ocupa un 99,90 % de nuestra zona de estudio.

**Figura 7:** Mapa de pendiente de la Quebrada Talahuachana



**Fuente:** Sistema Nacional de Información (SIN); QGIS 2.18.

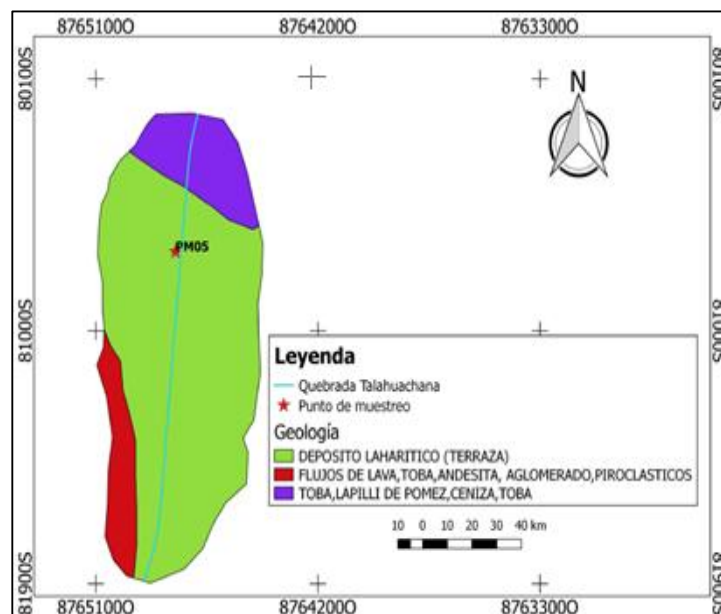
**Elaborado por:** Caceres J. & Díaz M., 2022.



### 10.1.6. GEOLOGÍA

Las formaciones geológicas de nuestra zona de estudio está comprendida por depósitos laháríticos (Terrazas), flujos de lava, toba, andesita, aglomerado, piroclásticos, lapilli de pómez y ceniza. Sin embargo, lo que se encuentra junto a nuestro punto de muestreo son los depósitos laháríticos como se observa en la Figura 8, esta formación se debe a las avalanchas fangosas de material piroclástico removido por aguas lluvias o de otra procedencia.

**Figura 8:** Mapa de Geología de la Quebrada Talahuachana



**Fuente:** Sistema Nacional de Información (SIN); QGIS 2.18.

**Elaborado por:** Caceres J. & Díaz M., 2022.

Lillo J, (2022) señala que la mayor parte de los acuíferos con contenidos altos de arsénico tienen un origen ligado a procesos geoquímicos naturales. La ocurrencia de concentraciones altas de arsénico de origen natural afecta a grandes áreas. Los numerosos casos de “contaminación” natural de aguas subterráneas por arsénico que existen en el mundo están relacionados con ambientes geológicos muy diferentes: meta sedimentos con filones mineralizados, formaciones volcánicas, formaciones vulcano-sedimentarias, distritos mineros, sistemas hidrotermales actuales, cuencas aluviales terciarias y cuaternarias, etc.

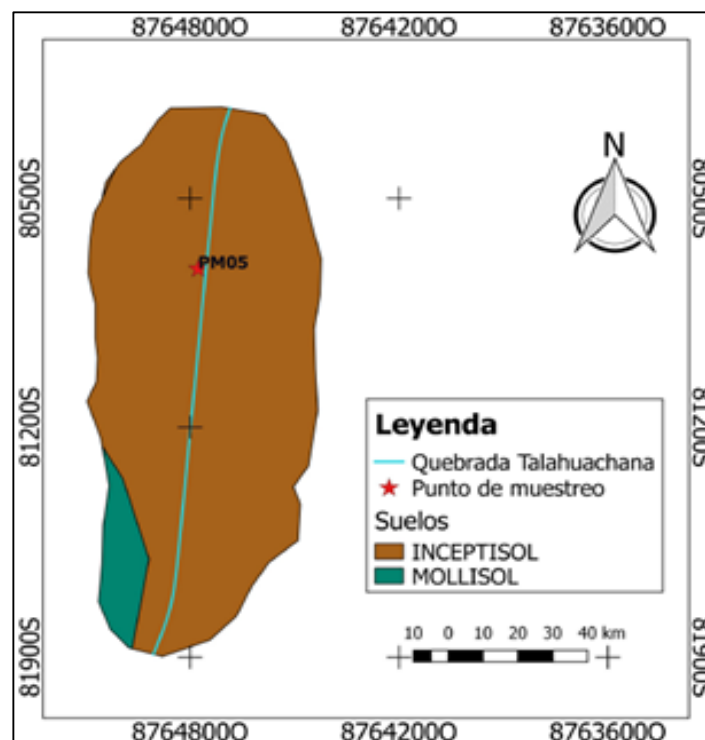
Según Lillo J, (2022) nos indica que existe contaminación de arsénico en aguas si es de origen natural afecta a grandes áreas y está ligado a los procesos geológicos que existen en el ambiente.

### 10.1.7. SUELOS

Alrededor de nuestro punto de muestreo, existen dos tipos de suelo: suelos Inceptisoles y Mollisoles. Los suelos Inceptisoles son el resultado de depósitos fluviónicos como residuales y están formados por materiales líticos de naturaleza volcánica y sedimentaria, son de textura media a moderadamente pesada; su fertilidad es alta a moderadamente alta.

Los suelos Mollisoles son suelos superficiales a moderadamente profundos son el resultado de materiales volcánicos y sedimentarios, tiene horizontes oscurecidos. Presenta topografía entre ligeramente inclinada a extremadamente empinada. Para la zona de estudio presenta el 56% de suelos Inceptisol, un 44% de suelos Mollisol siendo el Inceptisol el tipo de suelo que presenta nuestra zona de estudio (Figura 9).

**Figura 9:** Mapa de Suelos de la Quebrada Talahuachana



**Fuente:** Sistema Nacional de Información (SIN); QGIS 2.18.

**Elaborado por:** Caceres J. & Díaz M., 2022.

En cuanto a las concentraciones promedio que normalmente encontramos de arsénico en el agua, tanto superficial como subterránea, en ríos y acuíferos que no han sido contaminados por efluentes de minería u otras actividades antropogénicas, éstas son usualmente menores a 0.01 mg

As/l; mientras que, en sitios cercanos a minas o lugares contaminados por minerales arsenicales, las concentraciones fluctúan entre 0.2 y 1 mg As/l como valor promedio. Eso no significa que no se hayan encontrado concentraciones muy superiores en determinados puntos. También se ha observado que las concentraciones de As en el suelo son mayores en zonas agrícolas tratadas con plaguicidas arsenicales. Sucede lo mismo en el aire, en el que las concentraciones de arsénico también son mayores alrededor de áreas industriales emisoras de As (Alarcón et al., 2013).

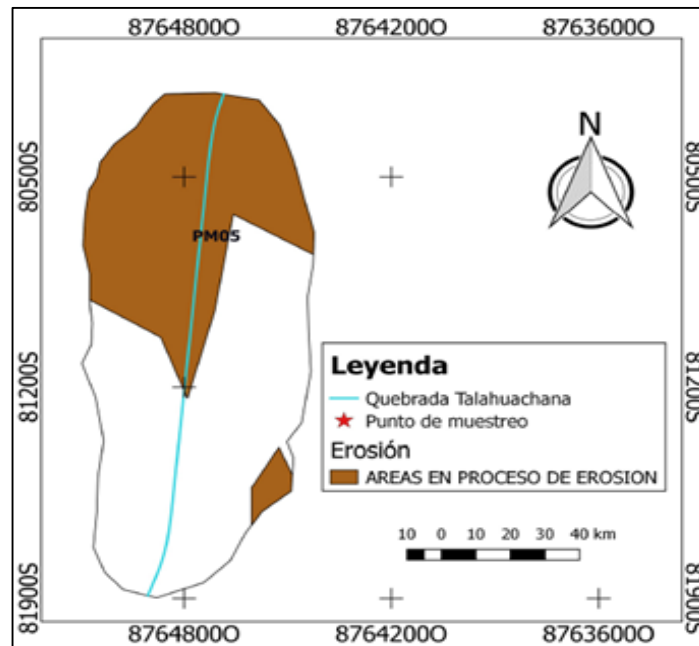
Alarcón et al, (2013) menciona que la contaminación que encontramos en el aire y en los suelos, no está retenida, sino que puede ser fácilmente arrastrada por la lluvia y así llegar fácilmente hasta los ríos y Arsénico en el Agua, identificación y mitigación acabar contaminando también las aguas que pueden ser consumidas por humanos, plantas y otros animales. De modo que cuanto más se utilice As en la industria, más aumentamos la probabilidad de contaminación de las aguas y así las posibilidades de que alguna población acabe consumiendo aguas contaminadas. Arsénico en el Agua, identificación y mitigación.

Alarcón et al, (2013) nos explica que el arsénico de origen natural no puede estar retenida ni en el suelo ni en la atmósfera, ya que con la lluvia puede ser arrastrada hasta los ríos y esta agua contaminada con arsénico pueden ser utilizadas para consumo humano, plantas y otros seres vivos.

#### **10.1.8. EROSIÓN**

La erosión en la zona de estudio se debe principalmente por la ausencia de la cobertura vegetal, el uso de la maquinaria agrícola que juegan a favor de las pendientes usadas para la producción agropecuaria, se suma a ello la presencia de fuertes vientos. Aproximadamente el 37,04% del territorio se encuentra en proceso de erosión como se muestra en la Figura 10.

**Figura 10:** Mapa de Erosión de la Quebrada Talahuachana



**Fuente:** Sistema Nacional de Información (SIN); QGIS 2.18.

**Elaborado por:** Caceres J. & Díaz M., 2022.

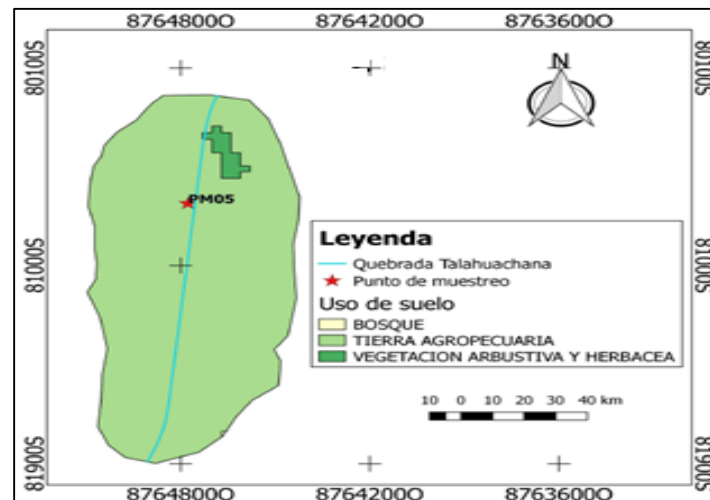
#### 10.1.9. USO ACTUAL, CAPACIDAD DE USO Y CONFLICTOS DE USO

En zona de estudio presenta distintos ecosistemas de páramos; bosques, tierras agropecuarias y vegetación arbustiva y herbácea, en estos espacios naturales se localizan también relictos de bosque nativo, pequeño en proporción, pero significativamente importante para el ecosistema.

Las áreas de cobertura vegetal han sufrido una reducción significativa entre el año 1991 a la actual, se ha reducido un 50% del páramo y bosque nativo. Para el año 1991, una franja importante de páramo formaba a manera de un corredor biológico entre la reserva Ecológica los Ilinizas y los páramos de Wingopana.

Los estudios consultados indican que las principales variables que influyen en el uso del suelo son los cultivos de ciclo corto, como producto de la intervención humana; los cultivos agrícolas predominantes son papa, habas, melloco y maíz. Siendo estos los principales factores que modifican la naturaleza de formación del suelo.

**Figura 11:** Mapa de Uso de suelo de la Quebrada Talahuachana



**Fuente:** Sistema Nacional de Información (SIN); QGIS 2.18.

**Elaborado por:** Caceres J. & Díaz M., 2022.

#### 10.1.10. CAPACIDAD DE USO DEL SUELO

El conocimiento de la capacidad de uso del suelo del área de estudio es fundamental ya que este está basado en sus condiciones o características mismas que permitan conservar esta capacidad, evitar su degradación y obtener así el máximo rendimiento en la producción. El área de estudio presenta que los usos actuales del suelo son de fines agropecuarios aproximadamente del 12,3% de la superficie total mientras que el área arbustiva y herbácea se da en un mayor porcentaje del 50,5 %, además la presencia de plantaciones forestales en un 6,5 %, área de paramo en un 5,9%, pese a que el mayor porcentaje de la zona sea de áreas arbustivas en esta también existe lugares sin cobertura vegetal de un 3,5 % del área total.

#### 10.1.11. VULNERABILIDAD FÍSICA

El área de estudio presenta vulnerabilidad, ya que su superficie puede ser cubierta por heladas, además su demografía poblacional ha ido creciendo de forma desordenada, provocando que la cobertura vegetal sea utilizada para la construcción de viviendas y siembra de cultivos. La vulnerabilidad del medio ambiente incrementa en el sector, ya que se podría ver amenazada por riesgos volcánicos y deslizamientos por el uso inadecuado de los suelos como fines agropecuarios teniendo como consecuencia el aumento de inundaciones en la parte baja.

**11.2. ANÁLISIS DE CALIDAD DE AGUA DEL PRIMER MUESTREO DE LA QUEBRADA  
TALAHUACHANA A UNA ALTITUD DE 3540 m.s.n.m.**

**Tabla 9:** Comparación de los resultados obtenidos del agua en el laboratorio LANCAS en el mes de enero (época seca) con los LMP de agua de riego según la normativa TULSMA y consumo humano según el INEN1108:2020

PÁRAMETROS	UNIDADES	VALOR DE LABORATORIO	AGUA DE RIEGO (TULSMA)	LIMITES MÁXIMOS PERMISIBLES		
				SI CUMPLE O NO CUMPLE	AGUA DE CONSUMO HUMANO (INEN)	SI CUMPLE O NO CUMPLE
<b>Potencial de Hidrógeno (pH)</b>	UpH	7,88	6-9	SI CUMPLE	6,5-8,0	SI CUMPLE
<b>Coliformes fecales</b>	NMP/100ml	330,0	1000	SI CUMPLE	Ausencia	NO CUMPLE
<b>Oxígeno disuelto</b>	mg/L	7,86 <sup>(1)</sup>	3	NO CUMPLE	N/A	NO CUMPLE
<b>Sulfatos</b>	mg/L	38,02	250	SI CUMPLE	N/A	NO CUMPLE
<b>Manganeso (Mn)</b>	mg/L	0,315	0,2	NO CUMPLE	N/A	NO CUMPLE
<b>Arsénico (As)</b>	mg/l	0,065	0,1	SI CUMPLE	0,01	NO CUMPLE

Elaborado por: Caceres & Díaz, 2022

**Nota:**

"<sup>(a)</sup> Los valores reportados se encuentran fuera del alcance de Acreditación del SAE".

"<sup>(1)</sup> Los resultados de ensayo podrían estar afectados por condiciones de recepción de la muestra".

**Potencial de Hidrógeno (pH):** Los resultados emitidos por el laboratorio de la muestra de agua es de 7,88 UpH permitiendo establecer que este parámetro si cumple con la normativa TULSMA (tabla 9) ya que el rango es de 6 a 9 UpH, por lo tanto, se podría considerar que el agua es básica según la escala de pH.

En este caso de estudio, el pH juega un papel importante, ya que el estado de oxidación del arsénico, y por tanto su movilidad, están controlados fundamentalmente por las condiciones redox (potencial redox, Eh) y el pH. Agreda et al, (2005) nos indica que en la tabla 10 se muestra las formas químicas de As (trivalentes y pentavalentes), que podrían prevalecer dependiendo del pH del medio.

**Tabla 10:** Estabilidad y predominio de especies arsenicales según rangos de pH en el medio acuático

Ph	0-9	10-12	13	14
As (III)	Ácido arsenioso ( $H_3AsO_3$ )	Ácido arsénico $H_2AsO_3$	Ácido trioxoarsénico $HAsO_3^-$	Metaarsenito $AsO_3^-$
PH	0-2	3-6	7-11	12-14
As (V)	Ácido tetraoxoarsénico $H_3AsO_4$	Ácido ortoarsénico $H_2AsO_4^-$	Ácido arsenioso $H_3AsO_3^{-2}$	Metaarseniato $AsO_4^{-2}$

**Fuente:** Agreda (2005)

**Coliformes fecales:** el resultado obtenido en el laboratorio es de 330 NMP/100ml lo que ha permitido establecer que este parámetro si se encuentra dentro de los LMP según la normativa TULSMA (tabla7). Por lo tanto, el uso del agua no sería un problema para la población, ya que no tiene altas concentraciones de contaminación fecal.

Mora et al, (2012) establece que "La presencia de Coliformes totales y fecales, sugiere la infiltración de aguas negras lo que podría incrementar los niveles de arsénico disuelto".

**Oxígeno disuelto:** el resultado de la muestra es de 7,86 mg/L sobrepasando los LMP según la normativa TULSMA (tabla9), sin embargo, según Peral & Doménech, (2006) dice que esta alta concentración no es perjudicial, ya que entre mayor sea la concentración de oxígeno disuelto será más favorable para las especies, entonces este ecosistema acuático es sano y estable para mantener la diversidad de organismos.

Los estados de oxidación más estables para el As cuando se encuentra en agua son (V) y (III). Cuando el agua superficial (ríos y lagos) contiene arsénico, este se encuentra como As (V), debido al oxígeno disuelto; en el caso del agua subterránea la cantidad de oxígeno disuelto es reducida, por lo tanto el arsénico se presenta como As (III) (Alarcón et al, 2013).

**Sulfatos:** el resultado emitido del análisis es de 38,02 mg/l, es decir, que, si cumple con los LMP de la normativa TULSMA (tabla9), de modo que este factor no sería un riesgo para la salud de la población.

“La remoción de As es influenciado por la presencia de elevadas concentraciones de aniones como sulfato, cloruro o nitrato que actúan compitiendo por los sitios de adsorción”. Graciela (2016)

**Manganeso:** este parámetro dentro de la normativa TULSMA donde su LMP es 0,2 mg/l, sin embargo, el resultado del análisis es de 0,315 mg/L concluyendo que este no cumple con la normativa, ya que, al presentar altas concentraciones este podría provocar obturaciones y el caudal de los emisores disminuirá en función al grado de taponamiento.

Tanto arsenito como arsenato son adsorbidos en la superficie de una gran variedad de materiales presentes en el medio como son óxidos de metales, sobre todo de hierro, manganeso y aluminio. En condiciones reductoras, parece que una de las primeras reacciones en tener lugar, es el paso de arsenato (As (V)) adsorbido en condiciones oxidantes a arsenito (As (III)), que está adsorbido más débilmente en la superficie de los óxidos y oxihidróxidos de Fe y Mn, Lilo (2022).

**Arsénico:** de acuerdo con el TULSMA si se encuentra dentro de los LMP para agua de riego y según el INEN sus LMP para agua de consumo humano es de 0,01 mg/L y que comparando con el resultado del análisis es de 0,065 mg/L, permitiendo establecer que el agua no es apta para su uso, debido a que esta podría representar un riesgo para la salud poblacional.



**11.3. ANÁLISIS DE CALIDAD DE AGUA DEL SEGUNDO MUESTREO DE LA QUEBRADA  
TALAHUACHANA A UNA ALTITUD DE 3540 m.s.n.m.**

**Tabla 11:** Comparación de los resultados obtenidos del agua en el laboratorio LANCAS en el mes de marzo (época lluviosa) con los LMP de agua de riego según la normativa TULSMA y consumo humano la normativa INEN.

		LIMITES MÁXIMOS PERMISIBLES					
PARÁMETROS	UNIDADES	VALOR	DEL	AGUA	DE	AGUA	DE
		LABORATORIO	RIEGO	(TULSMA)	SI	CONSUMO	SI
					CUMPLE	HUMANO	CUMPLE
					O NO	(INEN)	O NO
					CUMPLE		CUMPLE
<b>Potencial de Hidrógeno (pH)</b>	UpH	7	6-9		Si Cumple	6,5-8,0	Si Cumple
<b>Coliformes fecales</b>	NMP/100ml	79,0	1000		Si Cumple	Ausencia	No cumple
<b>Oxígeno disuelto</b>	mg/L	6,51	3		No Cumple	N/A	No cumple
<b>Sulfatos</b>	mg/L	15,39	250		Si Cumple	N/A	No cumple
<b>Manganeso (Mn)</b>	mg/L	0,262	0,2		No cumple	N/A	No cumple
<b>Arsénico (As)</b>	mg/l	0,943195 <sup>(a)</sup>	0,1		No cumple	0,01	No cumple

Elaborado por: Caceres & Díaz, 2022

**NOTA:** <sup>(a)</sup> Los valores reportados se encuentran fuera del alcance de Acreditación del SAE”

**Potencial de Hidrógeno (pH):** Los resultados emitidos por el laboratorio de la muestra de agua es de 7 UpH permitiendo establecer que este parámetro si cumple con la normativa TULSMA e INEN, ya que el rango permitido es de 6 a 9 UpH (tabla 11), por lo tanto, el agua es básica según la escala de pH.

**Coliformes fecales:** el resultado obtenido en el laboratorio es de 79 NMP/100ml lo que ha permitido establecer que este parámetro si se encuentra dentro de los LMP según la normativa TULSMA (tabla 11). Por lo tanto, el uso del agua como sistema de riego no sería un problema para la población ya que no tiene altas concentraciones de contaminación fecal.

**Oxígeno disuelto:** el resultado de la muestra es de 6,51 mg/L sobrepasando los LMP según la normativa TULSMA (tabla 11), sin embargo, esta alta concentración no es perjudicial, ya que entre mayor presencia de oxígeno disuelto en el agua será más favorable para el crecimiento de organismos.

**Sulfatos:** el resultado emitido del análisis es de 15,39 mg/l, es decir, que, si cumple con los LMP de la normativa TULSMA (tabla11), de modo que este factor no sería un riesgo para la salud poblacional.

**Manganeso:** este parámetro dentro de la normativa TULSMA donde su LMP es 0,2 mg/l, sin embargo, el resultado del análisis es de 0,262 mg/L concluyendo que este no cumple con la normativa, ya que, presenta una concentración que podría generar daños u obstrucciones en los sistemas de riego.

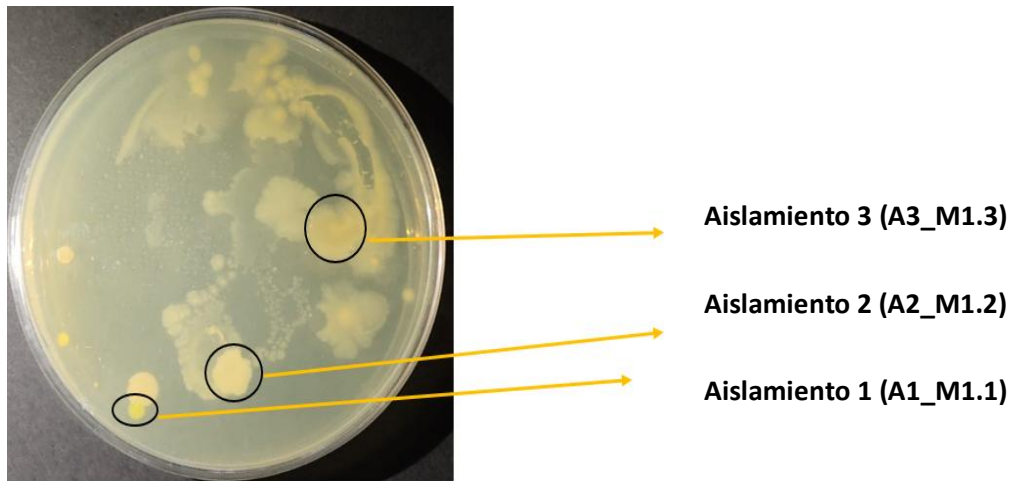
**Arsénico:** de acuerdo con la norma TULSMA e INEN sus LMP para agua de riego es de 0,1 mg/L y de consumo humano es de 0,01 mg/L que comparando con el resultado del análisis es de 0,94 mg/L, permitiendo establecer que el agua no es apta para su uso, debido a que esta podría representar un riesgo para la salud poblacional.

#### **11.4. OBSERVACIÓN MICROBIANA PRESENTES EN EL AGUA DE LA QUEBRADA TALAHUACHANA**

En el medio de cultivo con la muestra de agua obtenida de la quebrada Talahuachana se observó la formación de conjuntos microbianos cuya característica física como el color que fue el principal medio de identificación macroscópica y microscópica, para ello se utilizó la metodología establecida en la tabla 6.

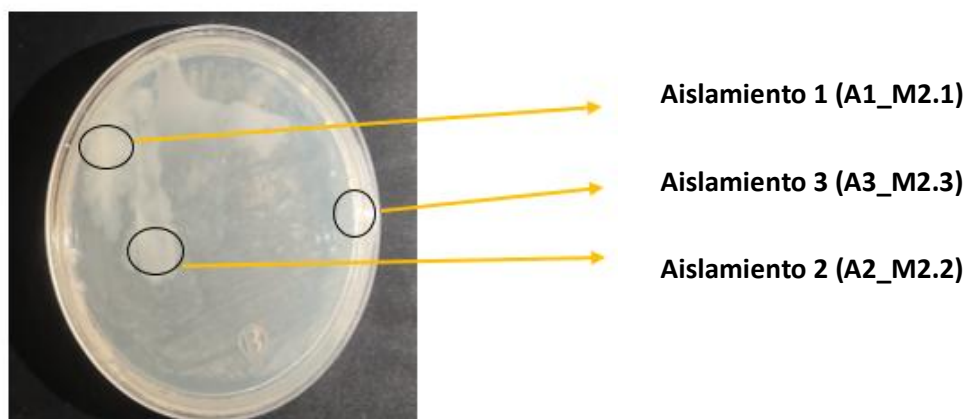
Este proceso parte desde la muestra madre (M1) y (M2), previamente cultivada, estas por ser las primeras muestras presentó una alta concentración de crecimiento microbiano, por ende, se generó un primer aislamiento de la M1 y M2, en la que se aisló tres colonias bacterianas de cada muestra madre en agar nutritivo respectivamente de codificación a, b y c.

**Figura 11:** Muestra Madre (M1)



En la figura 11 se muestra el crecimiento bacteriano del primer muestreo realizado en el mes de enero, en el cual se presenta tres colonias diferenciadas por su color.

**Figura 12:** Muestra madre (M2)

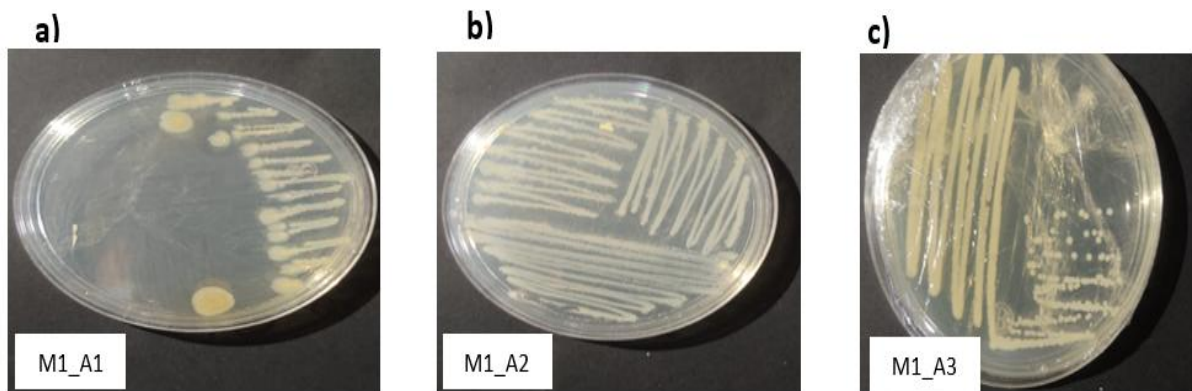


En la figura 12 se muestra el crecimiento bacteriano del segundo muestreo realizado en el mes de marzo, en el cual se presenta tres colonias diferenciadas por su color.

#### 11.4.1. Aislamiento en medios de cultivos con agar nutritivo

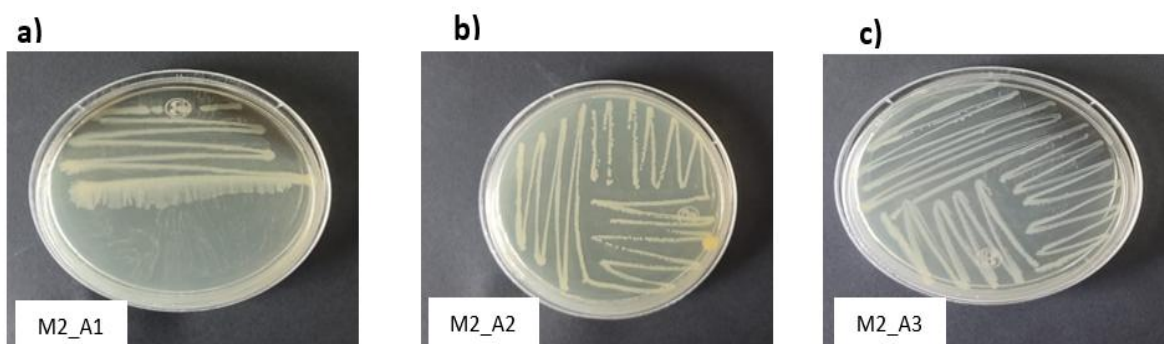
Una vez crecido las colonias en las dos muestras madres se observó que en cada uno de ellas tienen tres grupos de colonias diferenciadas por su color, para su desarrollo individual de microorganismos se realizó un aislamiento en medios de cultivo de agar Nutritivo aplicando la técnica de estrías, el cual se dejó incubar por un tiempo de 24 horas, ya pasado el tiempo establecido se pudo apreciar su crecimiento como se muestra en la Figura 11 y 12.

**Figura 13:** Crecimiento microbiano en agar nutritivo de la M1



En la Figura 13 se observa los distintos crecimientos bacterianos; 1) Muestra (a) presenta características macroscópicas: de color amarillo, redondas de tamaño mediano, además de colonias semicirculares; 2) Muestra (b) se observa características macroscópicas: de color crema, redondas de tamaño pequeño, además de colonias semicirculares y en la Muestra (c) tiene características macroscópicas: de color amarillo, redondas de tamaño mediano, además de colonias circulares.

**Figura 14:** Crecimiento microbiano en agar nutritivo de la M2

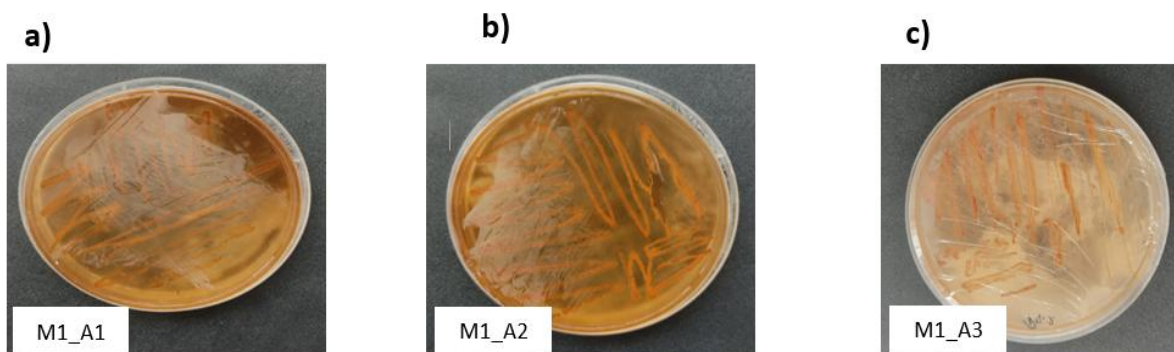


En la Figura 14 se observa los distintos crecimientos bacterianos; en la muestra (a) presenta características macroscópicas: de color crema, redondas de tamaño mediano, además de colonias semicirculares; en la muestra (b) se observa características macroscópicas: de color amarillo, redondas de tamaño pequeño, además de colonias circulares y en la muestra (c) tiene características macroscópicas: de color crema, redondas de tamaño pequeño y colonias circulares.

#### 11.4.2. Aislamiento en medios de cultivo con Agar MacConkey

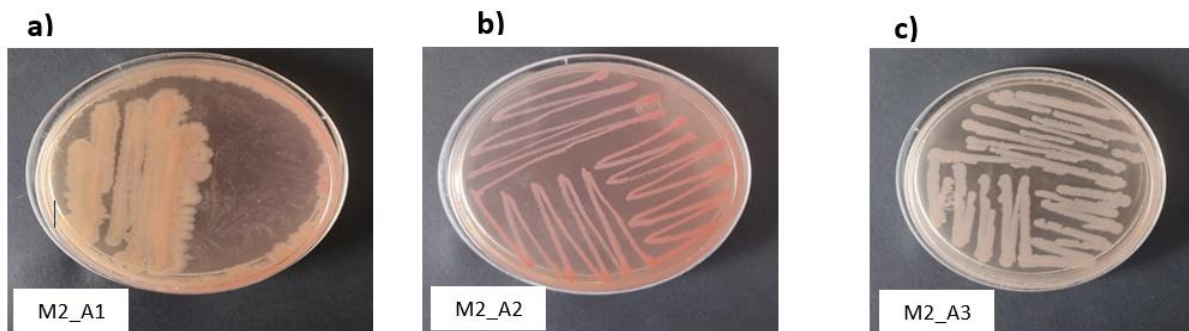
Luego del desarrollo de los microorganismos en medios de cultivo con agar Nutritivo, se aisló a un nuevo medio de cultivo con agar MacConkey, ya que, según Castillo L, (2012) plantea que mediante este medio se puede evaluar la capacidad de un microorganismo a desarrollar en concentraciones moderadas de sales biliares. Las sales y el cristal violeta inhiben considerablemente la flora gram positiva. La lactosa junto con el indicador de pH rojo neutro, sirven para comprobación de la degradación de dicho azúcar. Sembrar la placa con un cultivo de 18 a 24 horas. Incubar a 35 °C. Las colonias lactosa negativas son incoloras y las lactosas positivas son rojas con un halo turbio debido al descenso de pH provocado por los ácidos biliares.

**Figura 15:** Crecimiento microbiano en agar MacConkey de la M1



En la figura 15 se muestra el crecimiento microbiano en agar MacConkey donde; en la muestra (a) presenta características macroscópicas: pigmentación amarilla, lactosa negativa (-), en la muestra (b) se observa características macroscópicas: pigmentación amarilla, lactosa positiva (-) y en la muestra (c) tiene características macroscópicas: pigmentación roja, lactosa positiva (+).

**Figura 16:** Crecimiento microbiano en agar MacConkey de la M2

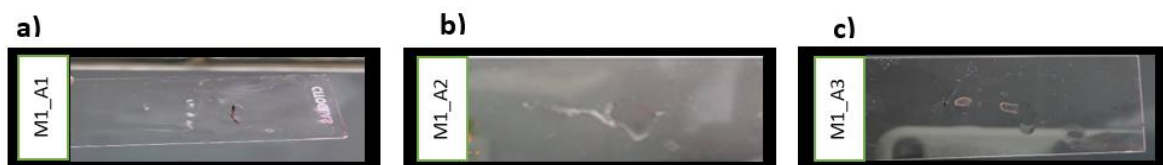


En la figura 16 se muestra el crecimiento microbiano en agar MacConkey donde; la muestra (a) presenta características macroscópicas: pigmentación rosada, en la muestra (b) se observa características macroscópicas: pigmentación roja, y en la muestra (c) tiene características macroscópicas: pigmentación rosado pálido y ninguna presenta fermentación.

#### 11.4.3. Tinción de gram

Para la identificación de microorganismos que se encuentra en el agua de la Quebrada Talahuachana que crecieron se aplicó el método de Tinción de Gram, ya que, (Presscott et al, 2002) menciona que mediante un tratamiento con colorantes determinados, genera una diferenciación de dos grupos: Gram positivos y Gram negativos. El fundamento de este protocolo, es que ciertas bacterias retienen un colorante complejo (Azul de Metileno o Cristal Violeta) cuando son expuestas a disolventes orgánicos como la Acetona o el Alcohol. El complejo es formado entre el yodo (Lugol) y un colorante de anilina. Los tejidos no retienen este complejo y necesitan de una tinción de contraste, con un tinte rojo para la visualización. Las bacterias que retienen el complejo son llamadas Gram-positivas y aquellas que no lo retienen son llamadas Gram-negativas. Este proceso se lleva a cabo en los portaobjetos como se puede observar en la Figura 17.

**Figura 17:** Placas con Tinción de gram de la M1



En la figura 17 se puede observar en los portaobjetos la tinción de gram de los tres aislamientos de medios de cultivos con agar MacConkey, posteriormente son llevados para su identificación microscópica.

**Figura 18:** Placas con Tinción de gram de la M2

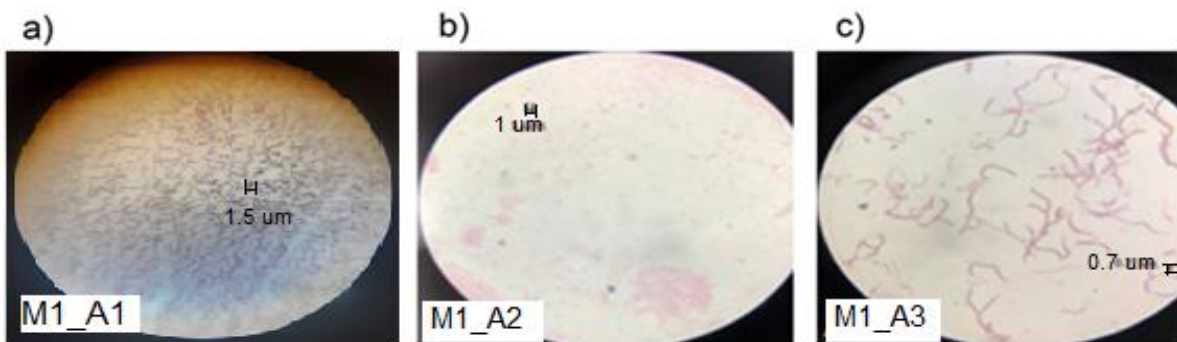


En la figura 18 se puede observar en los portaobjetos la tinción de gram de los tres aislamientos, que luego estos fueron llevados al microscopio para su respectiva identificación.

#### 11.4.4. Observación microbiana

Una vez realizado la tinción de gram sobre los portaobjetos la muestra final es llevada a los microscopios a una visualización de 100x, en donde se procedió a la identificación microbiano según su morfología.

**Figura 19:** Identificación microbiano con microscopio 100x de la M1



En la identificación microbiano de la figura 19 se puede observar que; En la muestra (a).- mediante la identificación microscópica presenta una composición morfológica de forma redondeada (enterococos) que tiene una medida aproximada de 1.5 micras y que posiblemente se podría considerar como una enterobacterias, además posiblemente se trate de una bacteria de genero *Enterococcus*, integran varias especies de suma importancia para el hombre como son: *E. faecalis*, *E. faecium*, *E. durans*, *E. avium*, *E. casseliflavus*, *E. gallinarium*, entre otras (Tapia & Vargas, 2021).

Microbiológicamente, los *Enterococcus*, son cocos Gram positivos, catalasa negativa, anaerobios facultativos, es decir, no producen gas a partir de la fermentación, tienen una temperatura óptima de crecimiento entre 30 y 35°C (Tapia & Vargas, 2021).

Las cepas de este género utilizan un “sistema de feromonas sexuales” que les posibilita realizar conjugación plasmídica de manera más eficiente. Esta particularidad permite a los enterococos responder y adaptarse rápidamente a nichos ecológicos adversos y competitivos, con condiciones de pH, temperatura y salinidad extremas, bajo presión antimicrobiana y con elevada concentración de moléculas biácidas como desinfectantes, antisépticos y metales pesados (mercurio, arsénico, cadmio y cobre) (Schell C, 2018).

En la muestra (b) mediante la identificación microscópica presenta una composición morfológica de forma redondeada (cocos) que tiene una medida aproximada de 1 micras y que posiblemente se podría considerar como una enterobacteria, ya que su color rojo neutro se deberá a la fermentación de la lactosa (Coliformes), además, posiblemente sea una bacteria *Escherichia*. Están presentes en grandes cantidades en las heces de animales de sangre caliente y del ser humano. Su presencia en aguas o alimentos sirve de indicador indirecto de contaminación fecal y del riesgo de transmisión de enfermedades infecciosas intestinales. La presencia de los coliformes termorresistentes y en especial la de *E.coli*, indica contaminación fecal reciente (Mora & Mata, 2003).

Entre los mecanismos de resistencia dependientes del metal, el más conocido involucra la unión o secuestro del metal por metalotioneínas o proteínas similares. Las proteínas similares a las metalotioneínas han sido aisladas de especies como *Escherichia coli*. Algunos microorganismos también usan sistemas de flujo de salida del metal que son codificados en plásmidos. Estos mecanismos bombean hacia afuera los iones tóxicos que han entrado a la célula, ya sea vía transporte activo o difusión. El arsénico, cromo y cadmio son los tres metales más comúnmente asociados con la resistencia por flujo de salida, sin embargo, los mecanismos de resistencia pueden variar dependiendo de la especie (Avendaño Y, 2012).

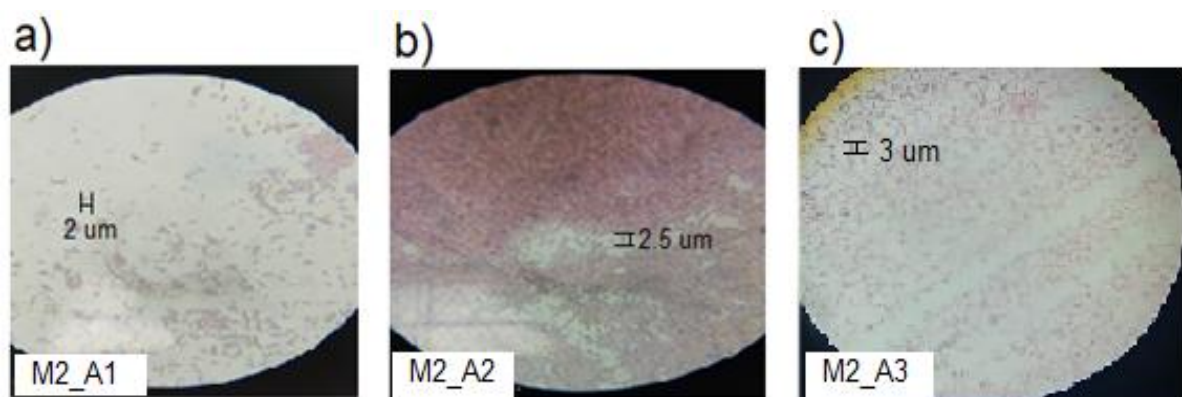


Campos et al, (2007) menciona que “la reducción microbiana de arsénico ha sido reportada en numerosos géneros incluyendo *Escherichia* como bacterias reductoras de sulfatos”, ya que estos microorganismos han desarrollado diversos mecanismos para sobrevivir a la toxicidad del arsénico, entre ellos se puede mencionar las transformaciones del arsénico entre el arsenito (As(III)) y arseniato (As(V)). Además, “las bacterias que se encuentran en ambientes con altas concentraciones de arsénico, tolerando y utilizando al arsénico para su metabolismo permite como consecuencia su remoción y con ello la destoxificación del ambiente contaminado de forma saludable” (Choque A, 2020).

En la muestra (c) mediante la identificación microscópica, donde presenta una composición morfológica de estreptococos que tiene una medida aproximada de 0.7 micras, su coloración es roja Gram negativa (-), tiene un color rojo neutro esto se deberá a la fermentación de la lactosa, además, posiblemente pertenezca al género *Streptococcus* que “incluye varias especies de importancia médicas como el *Streptococo pyogenes*, el *viridans*, el *faecalis*, el *pneumoniae* y *agalactie*” (López Z, 2013).

Los *Streptococcus* tiene la habilidad de exportar el metal al exterior de la célula microbiana. Es claramente un mecanismo de desintoxicación específico y dependiente de la presencia del metal, ya que su activación es inducida por éste. Estos sistemas de expulsión son dependientes de energía y codificados por plásmidos, la resistencia a metales en procariontes es mediada principalmente por plásmidos y es altamente específica a un metal en particular, el caso más conocido y estudiado es la reducción del arsénico con la posterior expulsión celular del metal (Bautista D, 2008).

**Figura 20:** Identificación microbiana con microscopio 100x de la M2



En la figura 20 de la M2 se observa que en la muestra a, b y c tiene su morfología en forma de bacilos de coloración roja, es decir, que son gram negativos (-), el (a) mide aproximadamente 2 micras, el (b) mide aproximadamente 2.5 micras y el (c) mide aproximadamente 3 micras y posiblemente pertenezcan a las bacterias de genero *Pseudomonas* estas bacterias según Rodarte L, (2017) “son capaces de crecer en altas concentraciones de arsénico”. Las *Pseudomonas* son una especie de bacteria calcificante, que resiste el arsénico y lo transforma a través de un proceso de oxidación. Los investigadores aprovecharon estas propiedades para crear un estanque o biorreactor donde las *Pseudomonas* quedan inmovilizadas en un soporte inerte. Al entrar el agua contaminada, las bacterias transforman el arsenito As(III) en arseniato o As(V). Al mismo tiempo, las bacterias hidrolizan urea, lo que cambia el pH en el reactor, haciendo que el carbonato de calcio —un compuesto naturalmente presente en el agua— se transforme en calcita (Leighon P, 2018).

Este biomineral luego absorbe el arseniato del agua y precipita como cristales de calcita. Además, una de las especies que más se presenta en el agua son las *Pseudomonas aeruginosa* esta bacteria “puede remover arsénico total y tolerarlo en altas concentraciones y crece en un rango de 5 a 8 de pH y de 10 a 41°C de temperatura” (Pellizzari et al, 2015). Estas especies de microorganismos degradan al arsénico de forma natural mediante diferentes mecanismos que incluyen reacciones enzimáticas de oxidación-reducción, metilación, quelación, exclusión e inmovilización. La comprensión del metabolismo a nivel molecular y genético del arsénico es muy importante para el desarrollo de técnicas eficientes en la Biorremediación del arsénico, lo que representará la eliminación de metales pesados de una forma amigable con el ambiente (Grados & Randy, 2018).

## **12. IMPACTOS (TÉCNICOS, SOCIALES, AMBIENTALES O ECONÓMICOS)**

### **11.1. Social**

La investigación realizada es de impacto positivo, ya que, servirá para que los habitantes de la parroquia se informen sobre la calidad de agua que están utilizando como medio de consumo y de regadío en sus cultivos, esta información se dará a conocer con la finalidad de evitar enfermedades futuras dentro de los pobladores, y que mediante nuevas investigaciones las autoridades competentes tomen medidas preventivas de remediación o Biorremediación dentro del recurso hídrico.

### 11.2. Económico

Producto del análisis básico de calidad de agua permitió establecer que el agua de la Quebrada Talahuachana no es apta para uso de riego dentro de la agricultura, esto se vería afectado dentro de la cadena alimenticia, ya que al sobrepasar los LMP esto sería un riesgo para la salud y, por lo tanto, la población no podría utilizar este recurso y sus productos no sería de buena calidad y, por ende, no podrían ser vendidos.

### 11.3. Ambiental

La presencia de arsénico en el agua de la Quebrada Talahuachana puede ocasionar problemas ambientales tanto a la salud poblacional como a las especies acuáticas que se encuentran dentro de este ecosistema, este es un motivo para que las autoridades competentes busquen estrategias para la remediación o Biorremediación del recurso hídrico para que posteriormente pueda ser usado como de riego y agua de consumo humano.

## 13. PRESUPUESTO

Para el estudio del agua de la Quebrada Talahuachana se utilizó un presupuesto aproximado de \$631.99 mismo que ayudo a obtener resultados de calidad de agua y de la determinación de posibles bacterias que podrían ayudar a reducir la presencia de arsénico dentro de este recurso hídrico.

**Tabla 12.** Presupuesto para la elaboración del proyecto.

Recursos	Descripción	Cantidad	Unidades	Valor unitario (usd)	Valor total (usd)
<b>Tecnológico</b>	Internet	4	Meses	21.00	84.00
				Subtotal	84.00
<b>Material de oficina</b>	Papel bon	2	Paquetes	3.00	6.00
	Anillados	3	Paquetes	5.00	15.00
	Impresiones	480	Hojas	0.20	96.00
	Empastados	1	Unidad	20.00	20.00
	CD	1	Unidad	3.50	3.50
				Subtotal	140.50
<b>Equipos de protección</b>	Botas	2	Pares	9.00	18.00
	Mascarillas	20	Unidades	0.25	5.00

	Guantes látex	12	Pares	1.25	15.00
	Mandil	2	Unidades	12.00	24.00
				Subtotal	59.50
<b>Laboratorio</b>	pH	2	Parámetro	4.92	9.84
	Arsénico	2	Parámetro	13.58	27.16
	Manganeso	2	Parámetro	14.09	28.18
	Sulfatos	2	Parámetro	7.59	15.18
	Oxígeno disuelto	2	Parámetro	7.00	14.00
	Coliformes fecales	2	Parámetro	16.09	32.18
	Agar	100	Gramos	25.00	25.00
	Cajas Petri	20	Unidades	0.25	5.00
	Porta y cubre objetos	20	Unidades	0.25	5.00
	Alcohol	1	Galón	3.50	3.50
	Agua destilada	2	Litros	1.00	2.00
	Lugol	1	Unidad	6.50	6.50
	Azul de metileno	1	Unidad	6.00	6.00
	Safranina	1	Unidad	10.00	10.00
	Aceite de inmersión	1	Onza	18.00	18.00
				Subtotal	207.54
<b>Otros materiales</b>	Transporte	4	Días	10.00	40.00
	Alimentación	4	Días	5.00	20.00
	Balde	1	Unidad	3.00	3.00
	Hielo	2	Fundas	2.50	5.00
	Cooler	1	Unidad	15.00	15.00
				Subtotal	83.00

<b>Subtotal</b>	574.54
<b>10% de imprevistos</b>	57.454
<b>Total</b>	631.99

Elaborado por: Caceres J. & Díaz M., 2022.

## 14. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

### 14.1. CONCLUSIONES

- Se determinó que en este sitio de muestreo se ha caracterizado por tener una temperatura que oscila entre los 8° a 10°C una precipitación que va desde los 500 a los 750 mm, en esta zona tiene un dominio fisiográfico con pendientes suaves a ligeramente inclinados que va desde los 5 al 12%, su formación geológica es de depósitos laharíticos y los tipos suelos que predominan en esta zona de estudio son Inceptisoles y Mollisoles, es decir, que estos suelos son aptos para la agricultura, y por ende, debido a esta actividad los suelos que existen allí están en proceso de erosión mismo que influyen en la aparición del metaloide arsénico natural.
- Los resultados analizados en el laboratorio de las muestras recolectadas en los meses de enero y marzo establecen que según la Normativa TULSMA de los límites máximos permisibles (LMP) para agua de riego en los dos muestreos presentan que el oxígeno disuelto, manganeso y arsénico sobrepasan los LMP, sin embargo la alta concentración de OD no es una problemática dentro del recurso hídrico, ya que según estudios previos establecen que entre mayor presencia de este es favorable para la vida acuática, el problema para la población se vería dentro del Manganeso y arsénico por sus altas concentraciones. Además, el Arsénico en los dos estudios sobrepasa los LMP según lo establece el INEN1108:2020 siendo el principal elemento problemático para la salud de la población en general por su alta concentración dentro del medio, es decir, que esta agua no es apta ni para riego ni consumo humano.
- Se determinó que las colonias aisladas de microorganismos posiblemente se podrían tratar de unas enterobacterias, ya que su forma se comprende de enterococos, cocos, estreptococos y bacilos, mismas que pueden ser utilizadas como degradación del arsénico, ya que estas bacterias lo utilizan para su metabolismo y como resultado ayuda a la remoción y destoxificación del ambiente contaminado de forma saludable.

#### **14.2. RECOMENDACIONES**

- Se recomienda que los recipientes que contengan las muestras deban ser protegidos y sellados de manera correcta para que no se contaminen hasta llegar al laboratorio, ya que, estas deben ser conservadas a fin de prevenir cambios en su contenido.
- Los materiales dentro del laboratorio deben ser esterilizados antes de ser usados para evitar la contaminación de las muestras y el cultivo de otro microorganismo fuera del mismo.
- Se recomienda la continuación de esta investigación en cuanto se refiere a la identificación de microorganismos mediante su estructura molecular de ADN y ARN, con el fin de determinar con exactitud que bacterias se encuentran dentro del medio contaminado por arsénico.

## 15. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.

- Agreda et al, 2. *Evaluación diagnóstica del contenido de arsénico en las fuentes de abastecimiento de agua potable del Estado Carabobo, Venezuela.*
- Airam Rangel, e. *Impacto del arsénico en el ambiente y su transformación por microorganismos.* Terra Latinoam, Chapingo.
- Alarcon , L. R. (2011). *MANUAL DE PRÁCTICAS.* Obtenido de LABORATORIO DE MICROBIOLOGIA BASICA: <https://bivir.uacj.mx/Reserva/Documentos/rva2011297.pdf>
- Alarcón et al, 2. *FLUOR Y ARSÉNICO EN AGUA DE CONSUMO HUMANO: RETOS Y PERSPECTIVAS.*
- Alarcón et al. (2013). *Arsénico en Agua.* México: Centro de Investigación en Materiales Avanzados.
- Albores et al. (2015). *Arsénico y fluoruro en agua: riesgos y perspectivas desde la sociedad civil y la academia en México* (2 ed.). México: UNAM.
- AMBIENTUM, s. *Usos del agua.*
- Apella, M., & Araujo, P. (2019). *Microbiología de agua. Conceptos básicos.* Dignos de su arte.
- Araujo, M. C. *Microbiología de agua.* Argentina.
- Asamblea Constituyente. (2008). *Constitución de la República del Ecuador.* Quito: Registro Oficial 449.
- Avendaño Y. *“BIORREDUCCIÓN DE Cr(VI) A Cr(III) POR BACTERIAS RESISTENTES A CROMO AISLADAS DEL RÍO LERMA”.*
- Avendaño Y, 2. *“BIORREDUCCIÓN DE Cr(VI) A Cr(III) POR BACTERIAS RESISTENTES A CROMO AISLADAS DEL RÍO LERMA” [TESIS DE MAESTRA EN CIENCIAS DEL AGUA].*
- Aznar A. *DETERMINACIÓN DE LOS PARÁMETROS FÍSICO-QUÍMICOS DE CALIDAD DE LAS AGUAS.* Instituto Tecnológico de Química y Materiales “Álvaro Alonso Barba”, Madrid.
- Aznar, A., & Barba, Á. (s.f.). *DETERMINACIÓN DE LOS PARÁMETROS FÍSICO-QUÍMICOS DE CALIDAD DE LAS AGUAS.* . Obtenido de Universidad Carlos III. Avd. de la Universidad 30. 28911-Leganés. Madrid: <http://ocw.uc3m.es/ingenieria-quimica/ingenieria-ambiental/otros-recursos-1/OR-F-001.pdf>
- Bautista D, 2. *BIOADSORCIÓN DE METALES PESADOS MEDIANTE EL USO DE BIOMASA BACTERIANA AISLADA DE JALES MINEROS.*

- Bermúdez et al, 2. *Herramienta metodológica para la vigilancia de la calidad de agua de mar en playas de uso recreativo de Costa Rica [TESIS DE LICENCIATURA]*.
- Bernal, M. C. Arsénico en agua. *CENTRO DE INVESTIGACIÓN EN MATERIALES AVANZADOS*.
- Bolaños et al, 2. (2017). *Determinación de nitritos, nitratos, sulfatos y fosfatos en agua potable como indicadores de contaminación ocasionada por el hombre, en dos cantones de Alajuela (Costa Rica)*. Alajuela- Costa Rica: SCIELO.
- Botto Lia, e. *ARSÉNICO EN AGUA*.
- Cabrera at el. (2010). *ARSÉNICO EN EL AGUA*. *GALILEO*, 128-134.
- Cáceres, A. (2015). *Eficacia de los consorcios bacterianos y fúngicos nativos en la remoción de metales pesados por biolixiviación de los sedimentos de la laguna de colta del cantón colta*. Riobamba.
- Campos at el. *AISLAMIENTO DE BACTERIAS RESISTENTES A ARSENICO DESDE MUESTRAS DE ROCAS VOLCANICAS DE LA QUEBRADA CAMARONES, REGION PARINACOTA. CHILE*.
- Castillo L, 2. *IDENTIFICACION DE BACILOS GRAM NEGATIVO NO FERMENTADORES PARA APLICACIÓN EN CELDAS DE COMBUSTIBLE MICROBIANAS Y EN BIOREMEDIACION [Tesis de Maestría en Ciencias en Energía Renovables]*.
- Caviedes et al, 2. *Tratamientos para la Remoción de Metales Pesados Comúnmente Presentes en Aguas Residuales Industriales*.
- Cernicharo at el. *Color del agua, parámetro indicador de calidad*.
- Choque A, 2. *BIORREMEDIACIÓN BACTERIANA DEL ARSÉNICO: MECANISMOS DE ÓXIDO REDUCCIÓN*.
- Coral B. *EVALUACIÓN DE LA INFLUENCIA DE LOS PROCESOS NATURALES Y LAS ACTIVIDADES HUMANAS EN LA CALIDAD DEL AGUA DEL RÍO PARIA, DISTRITO DE INDEPENDENCIA -HUARAZ - 2013-2014. [Tesis de Ingeniería en Gestión Ambiental]*.
- Dante at el. *Arsénico total no deseado ante valores referenciales de ph en agua superficial, cuenca hidrográfica sama, Región Tacna-Perú*. Perú.
- EPA. *La escala de pH*.
- FBIOYF. (2020). *SIEMBRA, AISLAMIENTO E IDENTIFICACIÓN DE MICROORGANISMOS*. Obtenido de [https://www.fbioyf.unr.edu.ar/evirtual/pluginfile.php/202403/mod\\_resource/content/1/2020TP2%20BIOQ%20Y%20LCTA.pdf](https://www.fbioyf.unr.edu.ar/evirtual/pluginfile.php/202403/mod_resource/content/1/2020TP2%20BIOQ%20Y%20LCTA.pdf)
- Fernández A. *El agua: un recurso esencial*.



FIODM. *ESTUDIO DE LA CALIDAD DE FUENTES UTILIZADAS PARA CONSUMO HUMANO Y PLAN DE MITIGACIÓN POR CONTAMINACIÓN POR USO DOMÉSTICO Y AGROQUÍMICOS EN APURÍMAC Y CUSCO.*

Galetovic & Nilda. *Arsénico en el agua de bebida: un problema de salud pública.*

Grados & Randy, 2. *CAPACIDAD DE REMOCIÓN DE ARSÉNICO POR PSEUDOMONAS AERUGINOSA A DIFERENTE TIEMPO Y CONCENTRACIÓN, EN AGUAS CONTAMINADAS DEL RÍO GRANDE - HUAMACHUCO [TESIS DE INGENIERO AMBIENTAL].*

GreenFacts, 2. *Arsénico.*

Guachi & Almachi. *“EVALUACIÓN DE LA CALIDAD DEL AGUA EN SECTORES PRODUCTORES DE BRÓCOLI (Brassica oleracea), EN LA PARROQUIA GUAYTACAMA, DEL CANTÓN LATACUNGA, PROVINCIA DE COTOPAXI, PERIODO 2019 – 2020” [Tesis de Ingeniero en Medio Ambiente].*

Gualdrón L. *EVALUACIÓN DE LA CALIDAD DE AGUA DE RÍOS DE COLOMBIA USANDO PARÁMETROS FÍSICOQUÍMICOS Y BIOLÓGICOS.*

IAGUA. (2022). *www.igua.es*. Obtenido de *www.igua.es*: <https://www.igua.es/respuestas/que-es-contaminacion-agua>

IBERDROLA. (2022). *www.iberdrola.com*. Obtenido de *www.iberdrola.com*: <https://www.iberdrola.com/sostenibilidad/contaminacion-del-agua#:~:text=Los%20principales%20contaminantes%20del%20agua,resulte%20invisible%20en%20muchas%20ocasiones.>

*IDENTIFICACION DE BACILOS GRAM NEGATIVO NO FERMENTADORES PARA APLICACIÓN EN CELDAS DE COMBUSTIBLE MICROBIANAS Y EN BIOREMEDIACION .*

Imbago & Oña, 2. *BIORREMEDIACIÓN DE AGUA CONTAMINADA CON ARSÉNICO PROVENIENTE DE LA PARROQUIA TOACASO, MEDIANTE EL USO DE Pleurotus ostreatus, Trichoderma harzianum y Pseudomonas aeruginosa [TESIS DE BIOTECNOLOGÍA DE LOS RECURSOS NATURALES].*

INEC. (2012). *Proyecciones y estudios demográficos*. Recuperado el 16 de Julio de 2020, de Sistema Nacional de Información: <https://sni.gob.ec/proyecciones-y-estudios-demograficos>

INEN. (2010). *Modelo de gestión de las Mipymes. Norma 2537:2010*. Quito: INEN.

INEN, 2. *Agua Potable N-INEN 1108-6 marzo 2020*. Quito.

ISO 9000. *Trazabilidad en calidad ISO 9000:2015 - Gestión de calidad.*

Izquierdo & Verástegui, 2. (2017). *CONCENTRACIÓN DE METALES PESADOS (As, Cd, Cr, Hg y Pb) EN EL AGUA DE LA CUENCA BAJA DEL RÍO JEQUETEPEQUE, EN RELACIÓN A LOS ESTÁNDARES DE CALIDAD DEL AGUA - CATEGORÍA 3, CAJAMARCA - 2016. [TESIS DE INGENIERÍA AMBIENTAL Y DE PREVENCIÓN DE RIESGOS]*. UNIVERSIDAD PRIVADA ANTONIO GUILLERMO URRELO.

Laprida N. *Manganeso*.

Leighton P, 2. *Chile: con bacterias eliminan todo el arsénico del agua*.

Lillo J. (2022). *Peligros geoquímicos: arsénico de origen natural en las aguas*.

López. (2007). *Arreglo estructural de un consorcio microbiano de interés alimentario en la producción del vinagre*. México: IIX Congreso Nacional de Microscopía.

López at el. *Las tinciones básicas en el laboratorio de microbiología*.

López Z. *TEMA II: BACTERIOLOGÍA*.

Madruga at el. *Metodología para la Toma de Muestra de Microorganismos Altamente Patógenos en Las Matrices Ambientales Aire, Agua y Suelo/Sedimento*.

Maldonado M, 2. *Investigación de la inactivación de Clostridium perfringens y Enterococcus sp. en aguas mediante procesos convencionales y avanzados de oxidación*.

Marín R, 2. (2019). *Fisicoquímica y microbiología de los medios acuáticos tratamiento (Vol. 2)*. Madrid - España: Diaz D Santos.

MedlinePlus. *Tinción de Gram*.

Meza et al. *Diagnóstico Socioambiental de la zona de estudio Tenguel*. Quito.

Mondal at el. (2006). Laboratory based approaches for arsenic remediation from contaminated water: Recent developments. *Journal of Hazardous Materials*, 464-479.

Mora & Mata. *“Conceptos básicos de aguas para consumo humano y disposición de aguas residuales”*.

Mora et al, 2. *PRESENCIA DE ARSÉNICO Y COLIFORMES EN AGUA POTABLE DEL MUNICIPIO DE TECUALA, NAYARIT, MÉXICO*.

Murcia C. *Tinción de Gram*.

Navarrete, V. (2016). *Análisis de metales en el medio ambiente* . Obtenido de [http://proyectos2.iingen.unam.mx/Proyectos\\_2005\\_2006/07/7.1.3.pdf](http://proyectos2.iingen.unam.mx/Proyectos_2005_2006/07/7.1.3.pdf)

- Navarro et al, 2. *Los estreptococos son grampositivos; sin embargo, a medida que Desarrollo Infantil "Arlen Siu" de la UNAN- Managua en las edades de 1 a 5 años, en el periodo Septiembre-Diciembre de 2014. [Tesis de licenciatura en Bioanálisis clínico].*
- Navoni de Petri, e. a. *Health risk for the vulnerable population exposed to arsenic in the province of Buenos Aires, Argentina.*
- Ochoa, D., & Montoya, A. (2010). *Consortios microbianos: una metáfora biológica aplicada a la asociatividad empresarial en cadenas productivas agropecuarias* (Vol. XVIII).
- OMS. *Buenas prácticas de la OMS para laboratorios de microbiología farmacéutica.*
- OXFAM. (Septiembre de 2016). *blog.oxfamintermon.org*. Obtenido de [blog.oxfamintermon.org: https://blog.oxfamintermon.org/cuales-son-las-principales-causas-de-la-contaminacion-del-agua/](https://blog.oxfamintermon.org/cuales-son-las-principales-causas-de-la-contaminacion-del-agua/)
- Pascual E. *EL AGUA COMO RECURSO NATURAL.*
- Pauta at el. *Evaluación de la calidad del agua de los ríos de la ciudad de Cuenca, Ecuador.*
- Pellizzari et al, 2. *DEGRADACIÓN DE ARSÉNICO POR Pseudomonas aeruginosa PARA BIOREMEDIACIÓN DE AGUA. ESTUDIO PRELIMINAR.*
- Peral & Doménech, 2. *Química ambiental de sistemas terrestres.*
- Pírez, M. C. *MORFOLOGIA Y ESTRUCTURA BACTERIANA.*
- Presscott at el. *Microbiology. McGraw-Hill.*
- Rodarte L. *Bioprospección de microorganismos con resistencia a metales de sitios contaminados con arsénico [Tesis de Maestría en Ciencias Ambientales].*
- Salas, M. D. (2020). *CAPÍTULO 3.- TINCIONES.* Obtenido de [http://www.bibliotecagbs.com/archivos/033\\_036\\_CAP3\\_GBS.pdf](http://www.bibliotecagbs.com/archivos/033_036_CAP3_GBS.pdf)
- salud, O. M. *Arsénico.*
- Samboni et al, 2. *Revisión de parámetros fisicoquímicos como indicadores de calidad y contaminación del agua.*
- Sanz Cervera, S. A. (2011). *Prácticas de Microbiología.* ISBN.
- Sanz, C. S. (2011). *Prácticas de microbiología.* España: ISBN.

- Schell C, 2. *CARACTERIZACION FENOTIPICA Y GENOTIPICA DE CEPAS DE ENTEROCOCCUS SPP. AISLADAS DE LIQUIDOS OBTENIDOS POR PUNCION PROVENIENTES DE INFECCIONES INVASIVAS HUMANAS [Tesis de Posgrado en Ciencias Médicas].*
- Singh R, e. Arsenic contamination, consequences and remediation techniques: A review. *Ecotoxicology and Environmental Safety.*
- Stanley M, 2. (2007). *Introducción a la Química Ambiental* (Vols. 13-15). México: Reverté UNAM.
- Tapia & Vargas. *“ESTUDIO DE LA EFICIENCIA DE INACTIVACIÓN Y REACTIVACIÓN MEDIANTE RADIACIÓN ULTRAVIOLETA EN BACTERIAS Escherichia coli Y Enterococcus sp. NATURALES, CONTENIDAS EN AGUA RESIDUAL”.*
- Tulcán M, 2. (2020). *“Clasificación De La Calidad De Agua De La Región De Atacapi Utilizando Análisis Multivariado, En El Periodo 2019 – 2020”.* LATACUNGA - ECUADOR.
- Universidad Técnica de Cotopaxi. (2020). Latacunga, Cotopaxi, Ecuador.
- Vargas M. *CARACTERIZACIÓN DE LA DIVERSIDAD MICROBIANA CULTIVABLE, ASOCIADA AL RESIDUO LIGNOCELULOSICO DEL PROCESO DE BENEFICIO DE LA HOJA FIQUE (Furcraea andina) EN MOGOTES, SANTANDER [Trabajo de grado de microbiólogo industrial].*

## 16. ANEXOS.

## ❖ Muestreo para análisis de calidad de agua de riego

<p><b>Anexo 1:</b> Punto de muestreo</p>	<p><b>Anexo 2:</b> Toma de muestreo de agua en un balde.</p>
	
<p><b>Anexo 3:</b> Llenar los envases con el agua del balde.</p>	<p><b>Anexo 4:</b> Colocación de los preservantes en las muestras.</p>
	




**Anexo 5:** Envases sellados con preservantes y etiquetados.



**Anexo 6:** Conservación de las muestras dentro de un cooler.



**Anexo 7:** Los resultados obtenidos de los parámetros de analizados de agua.

 <b>INAMHI</b> <small>INSTITUTO NACIONAL DE METEOROLOGÍA, SISMOLOGÍA Y CLIMATOLOGÍA</small> <small>LANCÁS</small> Laboratorio Nacional de Calidad de Aguas y Sedimentos		<b>INFORME DE RESULTADOS</b>		
RC38-06		N°. 22-024 Pág. 2 de 3		
Párametros	Método Interno LANCAS	Método de Referencia	Unidades	Valor
pH	PE01	Standard Methods Ed 23, 2017. 4500 H <sup>+</sup> B	UpH	7,88
Arsénico	PE04	Standard Methods Ed 23, 2017. 3114 B Modificado	ug/L	65,126
Manganeso	PE30	Standard Methods Ed 23, 2017. 3111 B	mg/L	0,315
Sulfatos	PE45	HACH No 8051 12/99 7 ed	mg/L	38,02
Oxígeno Disuelto	PE46	Standard Methods Ed 23, 2017. 4500-O C	mg/L	7,86 <sup>(1)</sup>
Coliformes fecales	PEMI02	Standard Methods Ed 23, 2017. 9221 E 1 Modificado	NMP/100 ml	330,0
<b>REFERENCIAS Y OBSERVACIONES:</b>				
<sup>(02)</sup> Los valores reportados se encuentran fuera del alcance de Acreditación del SAE" <sup>(1)</sup> Los resultados de ensayo podrían estar afectados por condiciones de recepción de la muestra"				
 Autorizado por: Dra. Jeaneth Cartagena Coordinador de Laboratorio  <b>INAMHI</b> <small>INSTITUTO NACIONAL DE METEOROLOGÍA, SISMOLOGÍA Y CLIMATOLOGÍA</small> <b>LABORATORIO NACIONAL DE CALIDAD DE AGUA Y SEDIMENTOS - LANCÁS</b>				



## ❖ Medios de cultivo

Materiales	
<p><b>Anexo 8:</b> Agar Nutritivo y agar MacConkey</p>	<p><b>Anexo 9:</b> Guantes de látex, cajas Petri, agua destilada y papel aluminio.</p>
	
<p><b>Anexo 10:</b> Matraces de 500 ml.</p>	<p><b>Anexo 11:</b> Embudos de vidrio y espátula.</p>
	

**Anexo 12:** Probetas de 500 ml.**Anexo 13:** Balanza y vidrio de reloj**Preparación del medio de cultivo****Anexo 14:** Medición de agua destilada en la probeta.**Anexo 15:** Pesar los gramos de Agar Nutritivo.



**Anexo 16:** Colocar el Agar Nutritivo en el matraz.



**Anexo 17:** Verter el agua en la matraz con agar Nutritivo.



**Anexo 18:** Colocar la mezcla en el autoclave para esterilizar.



**Anexo 19:** Verter la mezcla de agar en las cajas Petri y dejar que se evaporicen.



**Siembra de microorganismos en el medio de cultivo**

**Anexo 20:** Colocación de la muestra de agua en el medio de cultivo.



**Anexo 21:** Esparcir la muestra con un aza previamente esterilizado.



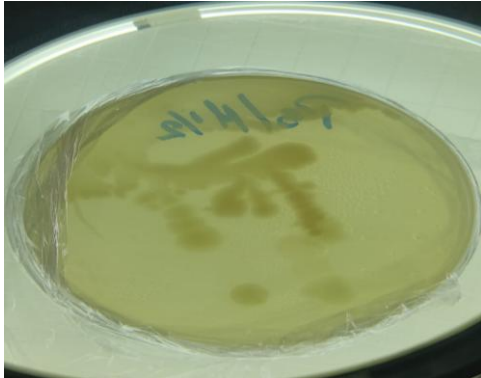
**Anexo 22:** Etiquetado y sellado de la caja Petri con papel Parafilm.



**Anexo 23:** Colocación de las cajas sembradas en la incubadora.



**Anexo 24:** Crecimiento bacteriano con colonias microbianas de la M1.



**Anexo 25:** Crecimiento bacteriano con colonias microbianas de la M2.

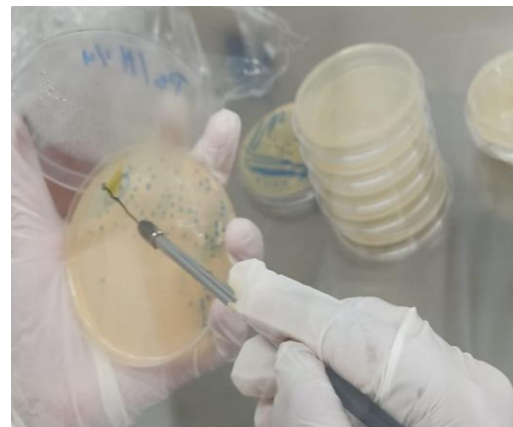


### Aislamiento de microorganismos

**Anexo 26:** Preparación de medios de cultivos con agar nutritivo y agar MacConkey.



**Anexo 27:** Tomar con una aza una muestra de las colonias seleccionadas.



**Anexo 28:** Siembra de microorganismos aplicando la técnica de estrías.



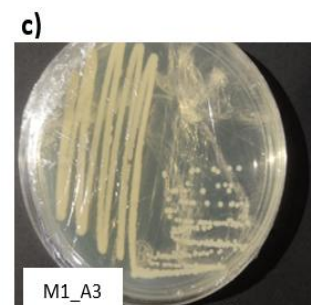
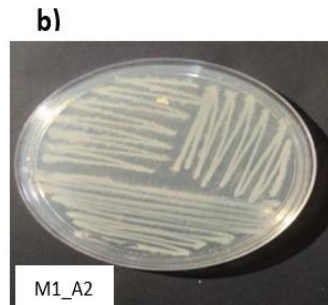
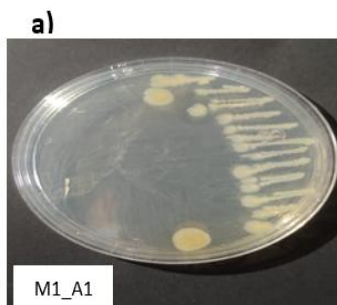
**Anexo 29:** Codificación y sellado de las cajas Petri con papel Parafilm.



**Anexo 30:** Llevar las cajas sembradas a incubación.

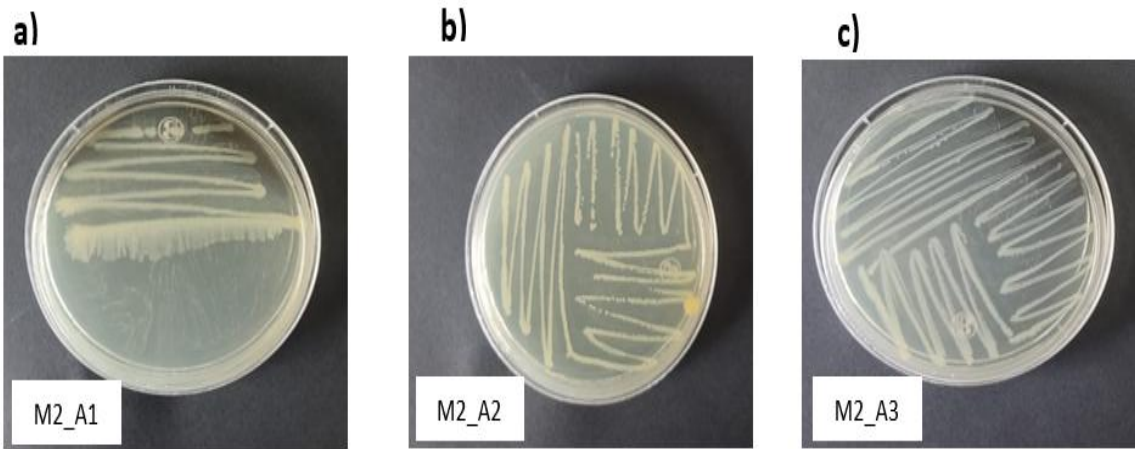


**Anexo 31:** Crecimiento microbiano en agar nutritivo de la M1 en agar nutritivo.

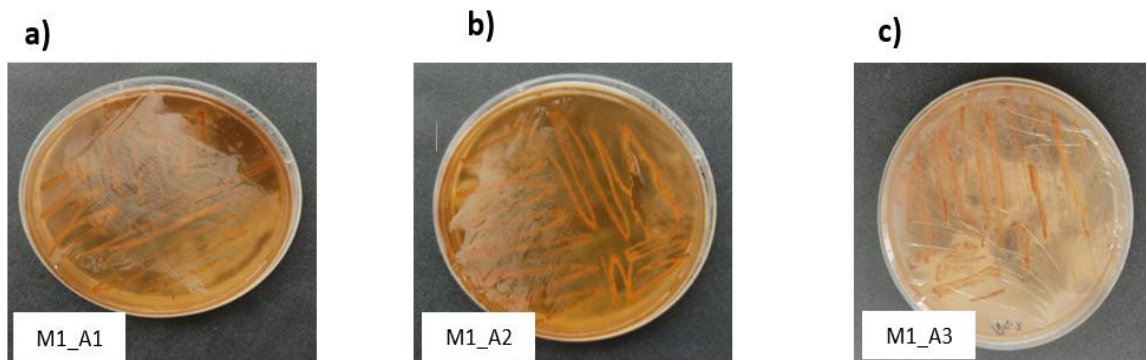




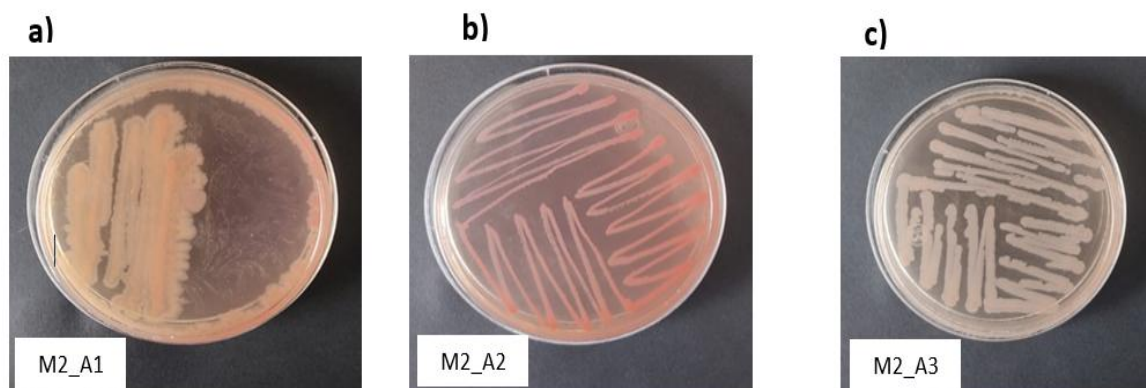
**Anexo 32:** Crecimiento microbiano en agar nutritivo de la M2 en agar nutritivo.

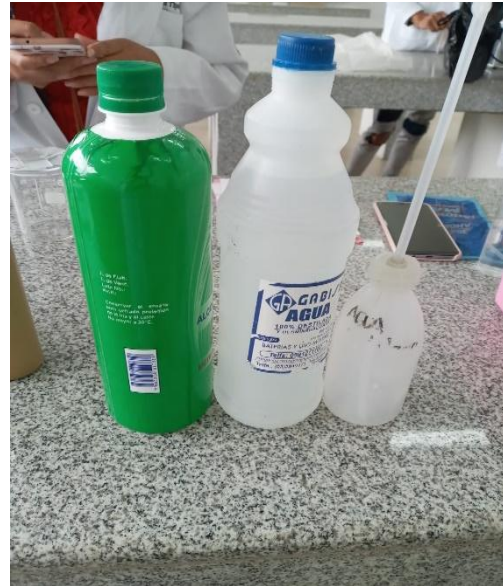


**Anexo 33:** Crecimiento microbiano en agar nutritivo de la M1 en agar MacConkey.



**Anexo 34:** Crecimiento microbiano en agar nutritivo de la M2 en agar MacConkey.



**Tinción de Gram****Materiales****Anexo 35:** Safranina, azul de metileno y lugol.**Anexo 36:** Alcohol y agua destilada.**Anexo 37:** Portaobjetos, cubreobjetos y mechero.**Anexo 38:** Aceite de inmersión.



## Procedimiento

**Anexo 39:** Colocación de una gota de agua destilada sobre el portaobjeto.



**Anexo 40:** Esterilizar el mechero.



**Anexo 41:** Tomar la muestra de la caja Petri con un asa.



**Anexo 42:** Colocar la muestra dentro de la gota de agua destilada y dispersarla.



**Anexo 43:** Fijación de la muestra con la ayuda del mechero.



**Anexo 44:** Colocar el azul de metileno sobre el portaobjeto, esperar un minuto y lavar.



**Anexo 45:** Colocar el lugol durante un minuto y luego lavar.



**Anexo 46:** Colocar alcohol y después de 30 segundos retirar con agua destilada.



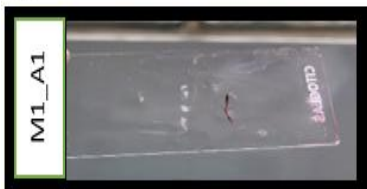


**Anexo 47:** Colocar la safranina, después de 1 minuto retirar con agua.

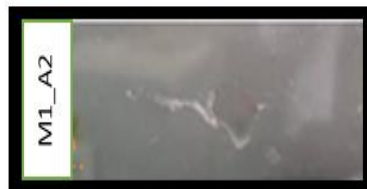


**Anexo 48:** Placas con Tinción de gram de la M1.

a)



b)



c)



**Anexo 48:** Placas con Tinción de gram de la M2.

a)



b)



c)

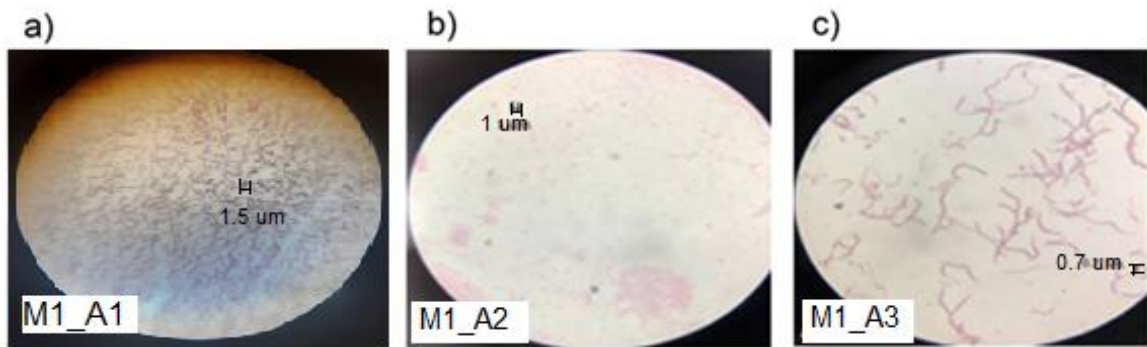


**Identificación de microorganismos**

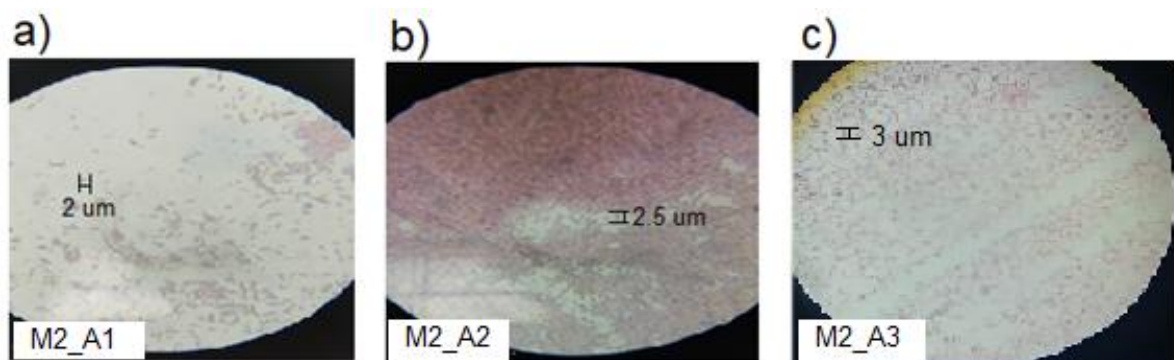
**Anexo 49:** Observación de microorganismos mediante un microscopio.



**Anexo 50:** Identificación microbiano con microscopio 100x de la M1.



**Anexo 51:** Identificación microbiano con microscopio 100x de la M2.



## AVAL DE TRADUCCIÓN



CENTRO  
DE IDIOMAS

### *AVAL DE TRADUCCIÓN*

En calidad de Docente del Idioma Inglés del Centro de Idiomas de la Universidad Técnica de Cotopaxi; en forma legal CERTIFICO que:

La traducción del resumen al idioma Inglés del proyecto de investigación cuyo título versa: **"TRAZABILIDAD MICROBIOLÓGICA EN SITIOS POCO MONITOREADOS Y CONTAMINADOS CON ARSÉNICO PROVENIENTE DE FUENTES NATURALES ENTRE LOS 3500 Y 3600 m.s.n.m. EN LA PARROQUIA DE TOACASO"** presentado por: Cáceres Zumbay Jenifer Elizabeth y Díaz Sontance Mery Karina, egresadas de la Carrera de: Ingeniería Ambiental, perteneciente a la Facultad de Ciencias Agropecuarias y Recursos Naturales, lo realizaron bajo mi supervisión y cumple con una correcta estructura gramatical del Idioma.

Es todo cuanto puedo certificar en honor a la verdad y autorizo a las peticionarias hacer uso del presente aval para los fines académicos legales.

Latacunga, 08 de Abril del 2022

Atentamente,



Mg. Patricia Marcela Chacón Porras  
DOCENTE CENTRO DE IDIOMAS-UTC  
C.C: 0502211196

