



**UNIVERSIDAD TÉCNICA DE COTOPAXI**  
**FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS Y RECURSOS**  
**NATURALES**  
**CARRERA DE INGENIERÍA AMBIENTAL**

**PROYECTO DE INVESTIGACIÓN**

**Título:**

---

**“TRAZABILIDAD MICROBIOLÓGICA DE ENTEROBACTERIAS PRESENTES  
EN SITIOS POCO MONITOREADOS Y CONTAMINADOS CON ARSÉNICO  
PROVENIENTES DE FUENTES NATURALES A 3747 MSNM EN LA PARROQUIA  
DE TOACASO”**

---

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

**Autoras:**

Moposita Toapanta Esthela Mireya  
Tipantiza Yánez Estefanía Daniela

**Tutora:**

Ilbay Yupa Mercy Lucila Ph.D.

**LATACUNGA- ECUADOR**


**Marzo 2022**

## DECLARACIÓN DE AUTORIA


Moposita Toapanta Esthela Mireya, con cédula de ciudadanía No. 18500955512; y Tipantiza Yánez Estefanía Daniela, con cedula de ciudadanía No. 0550055669; declaramos ser autoras del presente proyecto de investigación: **“Trazabilidad microbiológica de enterobacterias presentes en sitios poco monitoreados y contaminados con arsénico provenientes de fuentes naturales a 3747 msnm 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 posible 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, 16 de marzo del 2022

  
Esthela Mireya Moposita Toapanta  
Estudiante  
CC: 1850095512

  
Estefanía Daniela Tipantiza Yánez  
Estudiante  
CC: 0550055669

  
Ing. Ph.D. Mercy Lucila Ilbay Yupa  
Docente Tutora  
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 **MOPOSITA TOAPANTA ESTHELA MIREYA**, identificada con cédula de ciudadanía **1850095512** 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, 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 de enterobacterias presentes en sitios poco monitoreados y contaminados con arsénico provenientes de fuentes naturales a 3747 msnm 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

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

Tema: “Trazabilidad microbiológica de enterobacterias presentes en sitios poco monitoreados y contaminados con arsénico provenientes de fuentes naturales a 3747 msnm 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 16 días del mes de marzo del 2022.

Esthela Mireya Moposita Toapanta

Ing. Ph.D. Cristian Tinajero Jiménez

**LA CEDENTE**

**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 **TIPANTIZA YANEZ ESTEFANIA DANIELA**, identificado con cédula de ciudadanía **0550055669** 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, 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 de enterobacterias presentes en sitios poco monitoreados y contaminados con arsénico provenientes de fuentes naturales a 3747 msnm 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

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

Tema: “Trazabilidad microbiológica de enterobacterias presentes en sitios poco monitoreados y contaminados con arsénico provenientes de fuentes naturales a 3747 msnm 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 16 días del mes de marzo del 2022.

Estefanía Daniela Tipantiza Yáñez

**LA CEDENTE**

Ing. Ph.D. Cristian Tinajero Jiménez

**LA CESIONARIA**



## AVAL DEL TUTOR DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

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

**“TRAZABILIDAD MICROBIOLÓGICA DE ENTEROBACTERIAS PRESENTES EN SITIOS POCO MONITOREADOS Y CONTAMINADOS CON ARSÉNICO PROVENIENTES DE FUENTES NATURALES A 3747 MSNM EN LA PARROQUIA DE TOACASO”**, de **Moposita Toapanta Esthela Mireya** y **Tipantiza Yánez Estefanía Daniela**, 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, 16 de marzo del 2022

  
Ph.D. Mercy Lucila Ilbay Yupa

**DOCENTE TUTOR**

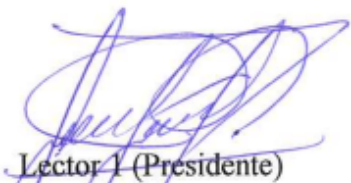
CC: 0604147900

## **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, la postulante: Moposita Toapanta Esthela Mireya y Tipantiza Yánez Estefanía Daniela, con el título de Proyecto de Investigación: **“TRAZABILIDAD MICROBIOLÓGICA DE ENTEROBACTERIAS PRESENTES EN SITIOS POCO MONITOREADOS Y CONTAMINADOS CON ARSÉNICO PROVENIENTES DE FUENTES NATURALES A 3747 MSNM 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 los empastados correspondientes, según la normativa institucional.

Latacunga, 16 de marzo del 2022



Lector 1 (Presidente)

Ing. Mg. Jaime Rene Lema Pillalaza

CC: 1713759932



Lector 2

Ing. Mg. José Antonio Andrade Valencia

CC: 0502524481



Lector 3

Ing. Ph.D. Eliana Amparito Boada Cahueñas

CC: 1719312892

## **AGRADECIMIENTO**

Primero queremos hacer énfasis en la fortaleza que nos brinda el ser supremo, dicen que la mejor herencia que nos pueden dejar nuestros padres son los estudios, sin embargo, no creemos que sea el único legado del cual particularmente estamos muy agradecidas a todas las personas que hicieron posible esta investigación y que de alguna manera estuvieron con nosotras en los momentos difíciles, alegres y tristes a nuestros padres hermanos y familiares. Al igual expresar un sincero agradecimiento a nuestra tutora Ph.D. Mercy Ilbay, quien con su conocimiento y apoyo supo guiarnos para la elaboración de esta investigación.

Esthela Mireya Moposita Toapanta  
Estefanía Daniela Tipantiza Yáñez

## **DEDICATORIA**

Dedico este trabajo principalmente a Dios por haberme dado la vida y permitirme el haber llegado a esta etapa de formación profesional. A mis padres Mercedes y Hugo, mi hermana Nicole, que fueron pilares fundamentales para lograr con éxito mi formación. A mi madre que, con su cariño, comprensión, dedicación, amor y el apoyo incondicional me enseñó que en la vida hay que obrar bien, con respeto, responsabilidad y humildad que me han permitido alcanzar una meta con éxito.

Esthela Mireya Moposita Toapanta

## **DEDICATORIA**

Dedico este trabajo primeramente a Dios por haberme dado la vida y permitirme el haber llegado a esta etapa de mi formación profesional. A mis padres María y Mariano, que siempre estuvieron apoyándome en cada decisión que he tomado con respecto a mi formación profesional, de la misma manera al cariño, comprensión que supieron brindarme, les dedico este trabajo ya que mi impulsaron a seguir cuando estaba a punto de rendirme ellos supieron levantarme para continuar.

A mis hermanos por el apoyo que siempre me brindaron día a día en el transcurso de mi formación profesional.

Estefanía Daniela Tipantiza Yáñez

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

**TÍTULO:** “TRAZABILIDAD MICROBIOLÓGICA DE ENTEROBACTERIAS PRESENTES EN SITIOS POCO MONITOREADOS Y CONTAMINADOS CON ARSÉNICO PROVENIENTES DE FUENTES NATURALES A 3747 MSNM EN LA PARROQUIA DE TOACASO”

**AUTORAS:** Moposita Toapanta Esthela Mireya  
Tipantiza Yánez Estefania Daniela

**RESUMEN**

La parroquia de Toacaso ubicada en la provincia de Cotopaxi, presenta una elevada contaminación del agua con arsénico, de origen natural del Iliniza. El desarrollo del presente proyecto de investigación se centra en establecer la trazabilidad microbiológica de enterobacterias en sitios poco monitoreados y contaminados con arsénico a una altitud de 3700 a 3800 msnm en la parroquia de Toacaso. Durante esta investigación se realizó la caracterización biofísica de clima, precipitación, temperatura, pendiente, hidrogeología, cobertura vegetal, agroecología, textura, taxonomía y erosión del suelo. En base a los análisis físico, químico y microbiológicos de pH, oxígeno disuelto, sulfatos, manganeso, arsénico y coliformes se realizó una comparación con el Acuerdo Ministerial 097 A y con la Normativa NTE INEN 1108. Para la relación de enterobacterias con arsénico se realizó una toma de muestra, medios de cultivo y tinción de Gram para su identificación. Los resultados evidenciaron que los factores físicos ayudan a que en esta zona se mueva el arsénico, debido a su formación geológica de origen volcánico y cangahua, con pendientes de 15 – 25 moderadamente ondulada y > 70 Montañosa. Los análisis de laboratorio comparados con el Acuerdo Ministerial 097 A, indican que los parámetros se encuentran dentro de los límites máximos permisibles, de uso agrícola o de riego y para consumo humano. Sin embargo, la Norma INEN señala que el arsénico sobrepasa los límites establecidos para agua de consumo humano. Por último, la relación que existe entre enterobacterias y arsénico, dan como posible resultado *Escherichia* ya que al realizar el cultivo microbiano y tinción de Gram se logra observar bacilos Gram negativos. Concluyendo que la contaminación de arsénico es de origen natural, el cual sobrepasa los límites máximos permisibles en la Normativa NTE INEN 1108, por tanto, las enterobacterias pueden soportar concentraciones de arsénico presentes en el agua de la quebrada Talahuachana.

**Palabras clave:** Arsénico, Enterobacterias, Geología, Trazabilidad microbiológica

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

**THEME:** "MICROBIOLOGICAL TRACEABILITY OF ENTEROBACTERIA PRESENT IN POORLY MONITORED ARSENIC-CONTAMINATED SITES FROM NATURAL SOURCES AT 3747 MSNM IN THE PARISH OF TOACASO"

**AUTHORS:** Moposita Toapanta Esthela Mireya  
Tipantiza Yánez Estefanía Daniela

**ABSTRACT**

Toacaso is located in Cotopaxi province which has a high-water contamination with arsenic of natural origin from the Iliniza. The Development of this research Project is focused on establishing the microbiological traceability of enterobacteria in poorly monitored sites contaminated with arsenic at an altitude of 3700 to 3800 meters above sea level in Toacaso. During this research biophysical characterization of climate precipitation, temperature, slope, hydrogeology vegetation cover, agroecology, texture, taxonomy and soil erosion was carried out. Based on the physical, chemical and microbiological analyses of pH, dissolved oxygen, sulfates, manganese, arsenic and coliforms, a comparison was made with Ministerial Agreement 097 A and NTE INEN 1108. For the relationship of enterobacteria with arsenic, a sample was taken, culture media and Gram staining were used for their identification. The results showed that physical factors help arsenic to move in this area, due to its geological formation of volcanic and cangahua origin, with slopes of 15 – 25 moderately undulating and > 70 Mountainous. Laboratory analyses compared to Ministerial Agreement 095 A indicate that the parameters are within the maximum permissible limits for agricultural or irrigation use and for human consumption. However, the INEN Standard indicates that arsenic exceeds the limits established for water for human consumption. Finally, the relationship that exists between enterobacteriaceae and arsenic, gives as a possible result Escherichia, since the microbial culture and Gram staining shows Gram negative bacilli. The conclusion is that the arsenic contamination is of natural origin which exceeds the maximum permissible limits in the NTE INEN 1108 Standard, therefore the enterobacteria can support arsenic concentrations presented in the water of the Talahuachana stream.

**Keywords:** Arsenic, Enterobacteriaceae, Geology, Microbiological Traceability

## ÍNDICE DE CONTENIDOS

DECLARACIÓN DE AUTORIA.....	<b>¡Error! Marcador no definido.</b>
CONTRATO DE CESIÓN NO EXCLUSIVA DE DERECHOS DE AUTOR .....	iii
AVAL DE LA TUTORA DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN ..	<b>¡Error! Marcador no definido.</b>
AVAL DE LOS LECTORES DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN ..	<b>¡Error! Marcador no definido.</b>
AGRADECIMIENTO .....	xi
DEDICATORIA .....	xii
RESUMEN .....	xiv
ABSTRACT.....	xv
ÍNDICE DE CONTENIDOS .....	xvi
ÍNDICE DE TABLAS .....	xx
ÍNDICE DE FIGURAS.....	xxi
ÍNDICE DE GRÁFICOS .....	xxi
ÍNDICE DE ANEXOS .....	xxii
1. INFORMACIÓN GENERAL.....	1
2. RESUMEN DEL PROYECTO.....	2
3. JUSTIFICACIÓN DEL PROYECTO .....	3
4. BENEFICIARIOS DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN .....	4
5. PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN .....	4
6. OBJETIVOS .....	5
6.2. Objetivo General.....	5
6.3. Objetivo Específico.....	5
7. ACTIVIDADES Y SISTEMA DE TAREAS EN RELACIÓN A LOS OBJETIVOS PLANTEADOS .....	6
8. FUNDAMENTACIÓN CIENTÍFICO TÉCNICA .....	7
8.1. Recurso hídrico .....	7
8.1.1. Importancia del recurso hídrico .....	7
8.1.2. Calidad .....	7
8.1.3. Contaminación en un cuerpo de agua .....	8
8.1.4. Fuentes de contaminación.....	8



8.2. Metales Pesados .....	9
8.3. Contaminación de arsénico en el agua .....	9
8.3.1. Arsénico .....	9
8.3.2. Arsénico en el agua .....	10
8.3.3. Origen del arsénico por contaminación natural y antropogénica.....	10
8.3.4. Efectos del arsénico en el ambiente .....	10
8.3.5. Toxicocinética del Arsénico .....	10
8.4. Parámetros Fisicoquímicos .....	11
8.4.1. pH.....	11
8.4.2. Oxígeno Disuelto .....	11
8.4.3. Temperatura .....	11
8.4.4. Sulfatos .....	11
8.4.5. Manganeseo .....	12
8.5. Parámetros Microbiológicos .....	12
8.5.1. Coliformes fecales .....	12
8.6. Trazabilidad .....	12
8.7. Microorganismos presentes en el agua .....	13
8.7.1. Bacterias.....	13
8.7.2. Clasificación de las bacterias .....	13
8.8. Medios de cultivo.....	14
8.8.1. Medios de cultivo utilizados .....	14
8.9. Tinción de Gram .....	16
8.10. Pisos altitudinales.....	16
9. MARCO LEGAL.....	18
9.1. Constitución de la república del Ecuador .....	18
9.1.1. Título I: Elementos constitutivos del estado.....	18
9.1.2. Título II: Derechos .....	18
9.1.3. Título V: Organización territorial del estado .....	19
9.1.4. Título VII: Régimen del buen vivir .....	19
9.2. Ley orgánica de recursos hídricos usos y aprovechamiento del agua .....	19
9.2.1. Título I: Disposiciones preliminares .....	20
9.2.2. Título II: Recursos hídricos .....	20
9.2.3. Título III: Derechos, garantías y obligaciones .....	21
9.3. Ley orgánica de salud .....	21

9.3.1. Título único.....	21
9.4. Acuerdo ministerial 097 A.....	22
9.5. Norma Técnica Ecuatoriana INEN 1108 .....	26
9.6. Ordenanza para la descontaminación, y protección de los ríos y afluentes hídricos del cantón Latacunga .....	27
10. VALIDACIÓN DE LA PREGUNTA CIENTÍFICA. ....	28
11. METODOLOGÍAS Y DISEÑO EXPERIMENTAL.....	29
11.1. Metodología .....	29
11.1.1. Tipos de Investigación .....	29
11.1.2. Métodos.....	29
11.2. Fase Documental.....	29
11.2.1. Determinación del área de estudio .....	29
11.2.2. Caracterización biofísica.....	30
11.3. Fase de campo .....	31
11.3.1. Muestreo .....	31
11.3.2. Técnicas .....	31
11.3.3. Comparación con la Normativa Ecuatoriana .....	32
11.4. Fase de laboratorio .....	32
11.4.1. Metodología para el cultivo de microorganismos.....	32
11.4.2. Materiales de laboratorio .....	32
11.5. Muestreo de agua para cultivo y siembra de microorganismos .....	33
11.5.1. Preparación de los medios de cultivo.....	33
11.5.2. Técnica de cultivo por extensión en agar MacConkey .....	34
11.5.3. Técnica de cultivo por estrías agar nutritivo.....	34
11.5.4. Purificación de colonias .....	34
11.5.5. Incubación.....	34
11.6. Tinción de Gram.....	35
12. ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS. ....	36
12.1. Reconocimiento de la zona de estudio .....	36
12.2. Muestras realizadas en los meses de enero y marzo .....	36
12.3. Caracterización biofísica del piso altitudinal entre los 3700 a 3800 msnm.....	37
12.3.1. Clima.....	37
12.3.2. Precipitación .....	38
12.3.3. Temperatura .....	40

12.3.4. Pendiente.....	41
12.3.5. Hidrogeología .....	42
12.3.6. Textura de suelo.....	43
12.3.7. Taxonomía de suelo .....	44
12.3.8. Erosión de suelo.....	45
12.3.9. Cobertura vegetal.....	46
12.1.10 Agroecología.....	47
12.4. Concentración de arsénico y calidad de agua.....	48
12.4.1. Concentración de arsénico y calidad de agua para uso doméstico .....	48
12.4.2. Concentración de arsénico y calidad de agua para uso de riego.....	49
12.5. Crecimiento de microorganismos mes de enero .....	50
12.5.1. Crecimiento y observación de colonias de Enterobacterias.....	50
12.5.2. Aislamiento y siembra por estrías.....	51
12.5.3. Tinción de Gram .....	51
12.6. Crecimiento de microorganismos mes de marzo .....	53
12.6.1. Cultivo de colonias en agar nutritivo por inmersión.....	54
12.6.2. Tinción de Gram .....	55
13. IMPACTOS SOCIALES Y AMBIENTALES .....	56
14. PRESUPUESTO.....	57
15. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES .....	59
15.1. Conclusiones .....	59
15.2. Recomendaciones.....	60
16. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	61
17. ANEXOS .....	68

## ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1.</b> Beneficiarios del Proyecto .....	4
<b>Tabla 2.</b> Objetivos y actividades .....	6
<b>Tabla 3.</b> Fórmula en g/L de Agar MacConkey .....	15
<b>Tabla 4.</b> Formula en g/l de Agar Nutritivo.....	15
<b>Tabla 5.</b> Diferencias entre bacterias Gram positivas y Gram negativas. ....	16
<b>Tabla 6.</b> Criterios de calidad de fuentes de agua para consumo humano y doméstico .....	24
<b>Tabla 7.</b> Criterios de calidad de agua para uso agrícola o de riego.....	25
<b>Tabla 8:</b> Características físicas, sustancias inorgánicas y radiactivas .....	26
<b>Tabla 9.</b> Análisis de parámetros físico, químicos y microbiológicos para consumo humano.....	48
<b>Tabla 10.</b> Análisis de parámetro físico, químico y microbiológicos para uso de riego .....	49
<b>Tabla 11.</b> Presupuesto para la elaboración del proyecto .....	57

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Área de estudio .....	30
<b>Figura 2.</b> Reconocimiento de la zona.....	36
<b>Figura 3.</b> Día del muestreo.....	36
<b>Figura 4.</b> Clasificación del tipo de clima .....	37
<b>Figura 5.</b> Rangos de precipitación .....	38
<b>Figura 6.</b> Rangos de temperatura .....	40
<b>Figura 7.</b> Tipos de pendiente.....	41
<b>Figura 8.</b> Clasificación Hidrogeológica .....	42
<b>Figura 9.</b> Tipo de textura de suelo .....	43
<b>Figura 10.</b> Clasificación taxonómica .....	44
<b>Figura 11.</b> Susceptibilidad de erosión del suelo .....	45
<b>Figura 12.</b> Cobertura del suelo.....	46
<b>Figura 13.</b> Clasificación Agroecología .....	47
<b>Figura 14.</b> Muestra Madre .....	50
<b>Figura 15.</b> Cultivo de colonias aisladas de Agar MacConkey y cultivadas en Agar Nutritivo, concentración 3% .....	51
<b>Figura 16.</b> Placas de tinción de Gram .....	51
<b>Figura 17.</b> Tinción Gram de bacterias observadas al microscopio en lente S100X. Frotis de colonias A1 y A2, posiblemente bacilos Gram (-). Escala 5µm.....	52
<b>Figura 18.</b> Cultivo de agar MacConkey al 3%.....	53
<b>Figura 19.</b> Cultivo de colonias en Agar Nutritivo al 3% .....	54
<b>Figura 20.</b> Placas de tinción de Gram .....	55
<b>Figura 21.</b> Tinción Gram de bacterias observadas al microscopio en lente S100X. Frotis de colonias A1 y A2, posiblemente bacilos Gram (-). Escala 5µm.....	55

## ÍNDICE DE GRÁFICOS

<b>Gráfico 1.</b> Precipitación periodo 2000 - 2013.....	39
--	----

## ÍNDICE DE ANEXOS

<b>Anexo 1.</b> Reconocimiento del área de Estudio .....	68
<b>Anexo 2.</b> Toma de muestra .....	68
<b>Anexo 3.</b> Muestra de agua correctamente etiquetada y envasada. ....	68
<b>Anexo 4.</b> Traslado de muestras al laboratorio LANCAS .....	2
<b>Anexo 5.</b> Presupuesto de los parámetros a muestrear Laboratorio LANCAS.....	70
<b>Anexo 6.</b> Resultados obtenidos del Laboratorio LANCAS.....	71
<b>Anexo 7.</b> Preparación del medio de cultivo.....	72
<b>Anexo 8.</b> Esterilización y purificación del Agar .....	72
<b>Anexo 9.</b> Vertido del Agar en las cajas Petri.....	72
<b>Anexo 10.</b> Aplicación de la muestra de agua en el Agar.....	72
<b>Anexo 11.</b> Identificación de las muestras .....	73
<b>Anexo 12.</b> Medicion de pH.....	73
<b>Anexo 13.</b> Tinción de Gram .....	73
<b>Anexo 14.</b> Resultados obtenidos del segundo muestreo.....	74
<b>Anexo 15.</b> Aval de traducción .....	75

## **1. INFORMACIÓN GENERAL**

### **Título del Proyecto:**

“Trazabilidad microbiológica de enterobacterias presentes en sitios poco monitoreados y contaminados con arsénico provenientes de fuentes naturales a 3747 msnm en la parroquia de Toacaso”

### **Lugar de ejecución:**

Quebrada Talahuachana, Parroquia 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 en Medio Ambiente.

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

Tutor: Ilbay Yupa Mercy Lucila Ph.D.

Estudiantes: Moposita Toapanta Esthela Mireya y Tipantiza Yáñez Estefania Daniela

LECTOR 1: Mg, Jaime Lema

LECTOR 2: Mg. José Andrade

LECTOR 3: Eliana Boada Ph.D.

### **Área de Conocimiento:**

Ciencias Naturales. Medio Ambiente, Ciencias Ambientales.

### **Línea de investigación:**

Análisis, conservación y aprovechamiento de la biodiversidad local.

### **Sub-línea de Investigación de la Carrera:**

Manejo y conservación del recurso hídrico

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

Gestión de Recursos Naturales, Biodiversidad, Biotecnología y Genética, para el desarrollo humano y social

## 2. RESUMEN DEL PROYECTO

La parroquia de Toacaso ubicada en la provincia de Cotopaxi, presenta una elevada contaminación del agua con arsénico, de origen natural del Iliniza. El desarrollo del presente proyecto de investigación se centra en establecer la trazabilidad microbiológica de enterobacterias en sitios poco monitoreados y contaminados con arsénico a una altitud de 3700 a 3800 msnm en la parroquia de Toacaso. Durante esta investigación se realizó la caracterización biofísica de clima, precipitación, temperatura, pendiente, hidrogeología, cobertura vegetal, agroecología, textura, taxonomía y erosión del suelo. En base a los análisis físico, químico y microbiológicos de pH, oxígeno disuelto, sulfatos, manganeso, arsénico y coliformes se realizó una comparación con el Acuerdo Ministerial 097 A y con la Normativa ITN INEN 1108. Para la relación de enterobacterias con arsénico se realizó una toma de muestra, medios de cultivo y tinción de Gram para su identificación. Los resultados evidenciaron que los factores físicos ayudan a que en esta zona se mueva el arsénico, debido a su formación geológica de origen volcánico y cangahua, con pendientes de 15 – 25 moderadamente ondulada y > 70 Montañosa. Los análisis de laboratorio comparados con el Acuerdo Ministerial 097 A, indican que los parámetros se encuentran dentro de los límites máximos permisibles, de uso agrícola o de riego y para consumo humano. Sin embargo, la Norma INEN señala que el arsénico sobrepasa los límites establecidos para agua de consumo humano. Por último, la relación que existe entre enterobacterias y arsénico, dan como posible resultado *Escherichia* ya que al realizar el cultivo microbiano y tinción de Gram se logra observar bacilos Gram negativos. Concluyendo que la contaminación de arsénico es de origen natural, el cual sobrepasa los límites máximos permisibles en la Normativa NTI INEN 1108, por tanto, las enterobacterias pueden soportar concentraciones de arsénico presentes en el agua de la quebrada Talahuachana.

**Palabras clave:** Arsénico, Enterobacterias, Geología, Trazabilidad microbiológica



### 3. JUSTIFICACIÓN DEL PROYECTO

El agua es el elemento más abundante en el planeta, fundamental para los procesos biológicos que hacen posible toda forma de vida, por lo que actualmente la contaminación del recurso hídrico es una de las más grandes preocupaciones mundiales puesto que, sin agua de buena calidad es imposible garantizar el bienestar de los seres vivos (Campaña & Moreno, 2020).

En América Latina se ha observado un considerable incremento de la concentración de arsénico (As) en las fuentes de agua, causado por factores naturales de origen geológico. Es así que se genera un impacto ambiental que limita el uso de dicho recurso natural, impidiendo el desarrollo socioeconómico y sostenible (Climate Change, 2013). Además, la exposición prolongada de arsénico en agua de consumo en seres humanos ha generado daños crónicos a la salud, convirtiéndose en un problema global (Rangel & Montañez, 2015). La parroquia de Toacaso ubicada en la provincia de Cotopaxi, presenta una elevada contaminación del agua con arsénico, proveniente de forma natural de los Ilinizas, llegando a concentraciones de 0.70 ppm, lo que ha causado la acumulación del metaloide en los cultivos y enfermedades como el cáncer en sus habitantes. Actualmente existe preocupación por los habitantes debido a la alta presencia de arsénico en el agua proveniente de fuentes naturales de los Ilinizas (Imbago & Oña, 2019).

La presente investigación tiene como fin caracterizar la zona entre los 3700 a 3800 msnm que se encuentra en la cordillera occidental entre las provincias de Pichincha y Cotopaxi, por tanto, pertenece a la unidad fisiográfica “Páramos del Norte de la cordillera Occidental Ecuatoriana”(Beltrán et al., 2019), para conocer qué factores han influido en la formación y movilización del arsénico, por lo cual el análisis físico, químicos y microbiológicos se realizará en el mes de enero, (donde la precipitación disminuye y se reduce el arrastre de sedimentos y minerales) y marzo (donde la precipitación y el arrastre de sedimentos aumenta).

La trazabilidad microbiológica, es una técnica utilizada para el aislamiento de colonias bacterianas, ayudando a la posible identificación de enterobacterias presentes en la quebrada Talahuachana, que son resistentes a concentraciones de arsénico.

#### 4. BENEFICIARIOS DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

Los beneficiarios del proyecto de investigación son la población aledaña a la quebrada Talahuachana y los estudiantes de la carrera de Ingeniería Ambiental de la Universidad.

**Tabla 1.** Beneficiarios del Proyecto

BENEFICIARIOS DIRECTOS		BENEFICIARIOS INDIRECTOS	
Población de la Parroquia de Toacaso		Estudiantes de Ing. Ambiental	
Hombres:	4200	Hombres:	201
Mujeres:	4434	Mujeres:	301
<b>Total:</b>	8634	<b>Total:</b>	502

**Fuente:** (INEC, 2012)

#### 5. PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN

El arsénico es un elemento altamente tóxico, siendo así que fue clasificado por la *International Agency for Research on Cancer (IARC)* como un elemento tóxico en su forma inorgánica que preocupa su presencia en el agua de consumo humano y de riego. Su disposición mayor y más común es en ambientes naturales debido a rocas volcánicas, depósitos minerales hidrotermales y las aguas geotermales, que asociadas hacen que la contaminación del agua por este metal sea un problema para la población y el ambiente (*International Agency for Research, 2002*).

En Ecuador se han realizado estudios a largo de varios ríos y acuíferos que muestran la presencia de arsénico en sus aguas, suelos y sedimentos de origen volcánico, presentan una contaminación natural de este metaloide. Según un estudio en la Laguna de Papallacta las aguas geotérmicas de las provincias del Carchi, Imbabura, Pichincha, Cotopaxi y Tungurahua mostraron niveles de 0.113 a 0.844 mg As/L, sobrepasando los límites máximos permisibles 0.01mg/L, estipulados por el instituto Ecuatoriano de Normalización (Bundschuh et al., 2009). Además, en las poblaciones de Tumbaco y Guayllabamba las cuales toman agua para su consumo a partir de acuíferos contaminados con arsénico se detectó la presencia de toxicidad aguda (consumo a largo plazo de concentraciones bajas de arsénico en el agua) y

crónica (alta concentraciones en tiempos cortos), por medio de 1549 pruebas clínicas las cuales determinaron que el 32% de la población evaluada presentó niveles de arsénico por encima del parámetro del laboratorio (García, 2012).

En la provincia de Cotopaxi en el mes de noviembre del 2018 la Secretaria Nacional del Agua (SENAGUA) conjuntamente con el GAD Provincial de Cotopaxi, la Universidad Politécnica Nacional y la Universidad Técnica de Cotopaxi, realizaron estudios e informaron que se detectó la presencia de arsénico en el Suroccidente de la provincia de Cotopaxi específicamente en las vertientes del complejo volcánico. Los Ilinizas con altas concentraciones sobrepasando las normas internacionales ( $> 0.01$  ppm), presentando problemas ambientales y en la calidad de vida de las poblaciones que utilizan el recurso hídrico tanto para consumo humano como para regadío (Tovar & Zapata, 2019).

## **6. OBJETIVOS**

### **6.2. Objetivo General**

Establecer la trazabilidad microbiológica de enterobacterias en sitios poco monitoreados y contaminados con arsénico proveniente de fuentes naturales a 3747 msnm en la parroquia de Toacaso.

### **6.3. Objetivo Específico**

- Realizar una caracterización biofísica del piso altitudinal de los 3700 a 3800 msnm.
- Determinar la concentración de arsénico y calidad de agua en la quebrada Talahuachana.
- Establecer la relación entre la presencia de enterobacterias con altas concentraciones de arsénico a una elevación de 3747 msnm.

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

Descripción de actividades a desarrollar en los objetivos con su respectiva metodología y resultados. Tabla 2

**Tabla 2.** Objetivos y actividades

<b>Objetivos</b>	<b>Actividades</b>	<b>Metodología</b>	<b>Resultado</b>
O.1.- Realizar una caracterización biofísica del piso altitudinal de los 3700 a 380 msnm.	Identificación del área de estudio, georreferenciación y elaboración de la caracterización biofísica de la zona de estudio.	Realización de análisis de modelamiento y resultados cartográficos con herramientas informáticas SIG.	Elaboración de los mapas (Mediante un Software de Sistema de Información QGIS 2.18.22).
O.2.- Determinar la concentración de arsénico y la calidad de agua en la quebrada Talahuachana.	Realizar el muestreo de agua en los meses de enero y marzo. Evaluar los parámetros fisicoquímicos y microbiológicos.	Los parámetros fueron evaluados por medio de: electrometría para pH, espectrometría de absorción atómica de llama para arsénico y manganeso; volumetría para oxígeno disuelto, espectrofotometría en sulfatos y microbiológicas para coliformes fecales.	Comparación con la normativa ambiental vigente (AM 097 A y NTE INEN 1108)
O.3.- Establecer la relación entre la presencia de enterobacterias con altas concentraciones de arsénico a una elevación de 3747 msnm.	Elaborar medios de cultivo, aislar colonias, sembrar por estrías, realizar la tinción de Gram, observar al microscopio S100 X.	Reconocimiento de bacterias en el laboratorio por medio de tinción de Gram.	Identificación de tipos de enterobacterias

**Elaborado por:** Moposita Esthela & Tipantiza Estefanía.

## **8. FUNDAMENTACIÓN CIENTÍFICO TÉCNICA**

### **8.1. Recurso hídrico**

El agua es uno de los recursos naturales más importantes para la vida, ya que cubre el 70% de la superficie terrestre, está presente en océanos, lagos, ríos, en el aire y en el suelo. Es la fuente y sustento de la vida (Fernández, 2012).

El agua es un componente esencial de nuestra economía y es necesaria para crear y mantener el empleo en todos los sectores de la economía: en los sectores primarios (por ejemplo, en la agricultura, la ganadería, la pesca continental, la acuicultura, la minería y la extracción de otros recursos naturales); en los sectores secundarios (por ejemplo, la industria pesada, la transformación de productos, la producción de electricidad y combustibles) y en el sector de servicios (por ejemplo, el turismo y el ocio) (UNESCO, 2016).

#### **8.1.1. Importancia del recurso hídrico**

El agua es vital para el desarrollo de la vida del ser humano, de las plantas y de los animales; es por ello que la generación de conocimientos y la gestión adecuada del recurso hídrico, contribuyen al mejoramiento de la calidad de vida humana, es bien sabido que la calidad de agua es uno de los aspectos más importantes que afectan las condiciones de la vida de una población (Luna & Madreño, 2016).

#### **8.1.2. Calidad**

En cuanto a calidad tiene que ver con aquellas condiciones que deben darse en el agua para mantener un ecosistema equilibrado. Por otro lado, se define como un conjunto de las características físicas, químicas y biológicas de tal manera que cumple con los criterios de aceptación para los diversos usos o actividades a los que se destina, es decir, el agua para consumo humano no tiene las mismas cualidades que el agua destinada para riego (Sánchez, 2015).

Por eso es importante mantener la calidad del agua dulce para el suministro de agua potable, la producción de alimentos y el uso de reactivos. La presencia de agentes infecciosos, productos químicos tóxicos y radiaciones pueden afectar la calidad del agua. Además, la gestión sostenible del agua y el acceso a un suministro seguro, fiable y asequible de agua y servicios de saneamiento adecuados mejorando el nivel de vida, expanden las economías

locales y promueven las creaciones de puestos de trabajo dignos, la gestión sostenible del agua es también un motor esencial para el crecimiento verde y el desarrollo sostenible (UNESCO, 2016).

### **8.1.3. Contaminación en un cuerpo de agua**

La contaminación del agua se define como la acumulación de sustancias tóxicas y derrames de fluidos en un sistema hídrico. La contaminación del agua puede causar daño a la salud y al medio ambiente, puede alterar la calidad del agua, sustancias o parámetros físicos, químicos y biológicos, que caracteriza a un curso de agua, al ser excedidos causan o pueden causar daño a la salud y al ambiente (Galarza et al., 2016). Dicha alteración a la composición natural del agua es causada generalmente por el hombre y por la falta de tratamiento de las aguas residuales provenientes de los sectores agrícolas, industriales, municipales y domésticos.

Si bien el recurso hídrico es capaz de regenerarse por sí mismo a liberación desenfrenada de contaminantes al agua superan su capacidad para absorber y neutralizar esta carga contaminante. Por esta razón estas masas de agua han perdido sus condiciones naturales de apariencia física, deteriorándose al punto de poner en riesgo la biodiversidad de su ecosistema (H. Rodríguez, 2017).

### **8.1.4. Fuentes de contaminación**

La contaminación de las aguas es un complejo fenómeno social, económico y ambiental que constituye uno de los más serios obstáculos para el Buen Vivir. El deterioro de la calidad del agua es notorio, las actividades industriales y las aguas servidas que se arrojan desde las ciudades sin ningún tratamiento son las mayores fuentes de contaminación del recurso hídrico (Campaña & Nieto, 2011).

#### **8.1.4.1. Origen de las fuentes de contaminación**

**Origen doméstico:** Las aguas domésticas son las que provienen de núcleos urbanos y contienen sustancias procedentes de la actividad humana (alimentos, deyecciones, basura, productos de limpieza, jabones, etc.) (Zarza, 2021).

**Origen agrícola – ganadero:** Son resultado del riego y de otras labores como las actividades de limpieza ganadera, que puedan aportar al agua grandes cantidades de estiércol y orines, es decir, mucha materia orgánica, nutrientes y microorganismos (Zarza, 2021).

**Origen industrial:** proceden de restos de agua utilizada como medio de transporte de sustancias y calor en lavado y enjuague, en las transformaciones químicas, como disolvente y subproducto de procesos físicos de filtración o destilación (Zarza, 2021).

**Origen pluvial:** En las ciudades esta agua arrastra aceites, materia orgánica y diferentes contaminantes de la atmósfera, en el campo arrastran pesticidas, abonos, etc. En la industria las aguas pluviales arrastran las sustancias que han caído sobre el terreno, pudiendo presentar un gran problema si son sustancias tóxicas. Además, si existe acumulación de residuos en zonas no preparadas para ello, los lixiviados de los residuos serán arrastrados (Nizama, 2014).

## **8.2. Metales Pesados**

La contaminación por metales pesados tiene una alta persistencia en el ambiente porque no puede degradarse biológica o químicamente en la naturaleza. Por otro lado, puede permanecer por largos periodos de tiempo y estar disponibles para los organismos, presentando un serio problema de contaminación (Calva & Torres, 2003).

## **8.3. Contaminación de arsénico en el agua**

### **8.3.1. Arsénico**

El arsénico es un elemento abundante, se encuentra distribuido con una gran cantidad de minerales. En el agua pueden encontrarse como arsenito ( $AsSO_4^{3-}$ ,  $As^{5+}$ ) o arsenato ( $AsSO_2^{1-}$ ,  $As^{3+}$ ). La toxicidad del arsénico depende de su estado de oxidación, los arsenicales trivalente son más tóxicos que los pentavalente. Además, la toxicidad aumenta si el arsénico se une a los grupos sulfhídrico de las proteínas (Bolaños, 2016).

El arsénico se encuentra en la atmósfera, suelos, en aguas naturales y en los organismos vivos. Se moviliza en el medio ambiente a través de los niveles tróficos gracias a la combinación química con otros elementos utilizados para producir actividad biológica. Su origen se debe principalmente a las emisiones volcánicas, así como al desarrollo de actividades antrópicas (Bolaños, 2016).

### **8.3.2. Arsénico en el agua**

El arsénico puede estar disponible en el agua en estados de oxidación variable (+5, +3, 0, -3). La presencia del arsénico en el agua se debe a la disolución natural de los minerales de depósitos geológicos, en aguas superficiales con un alto contenido de oxígeno, la especie más común es el pentavalente o arsenato (As + 5), en condiciones reductoras. Generalmente en los sedimentos de los lagos y aguas subterráneas predomina el arsénico trivalente o arsenito (As + 3) (Campaña & Moreno, 2020).

### **8.3.3. Origen del arsénico por contaminación natural y antropogénica**

El arsénico aparece de forma natural en los suelos como consecuencia de la alteración climatológica a la que está expuesta la roca madre. Aunque puede aparecer en depósitos ígneos, las mayores concentraciones se encuentran en sedimentos arcillosos. La capacidad que presenta un suelo para absorber cualquier elemento va a depender de su textura y de su porosidad, así como de la presencia de coloides que pueden interferir en la adsorción del arsénico. Los suelos formados por fracciones de limo y arena van a tener una capacidad de adsorción muy reducida debido a la baja área superficial que presentan estas fracciones, por el contrario, si son suelos arcillosos la adsorción será muy elevada (Fernández, 2015).

### **8.3.4. Efectos del arsénico en el ambiente**

El arsénico puede penetrar en el aire, agua y suelo a través de tormentas de polvo y agua de escorrentías, por lo que la contaminación por arsénico está muy extendida debido a su fácil dispersión, cuando hay mayor presencia geológica natural de arsénico, se puede encontrar altos niveles en aguas subterráneas (Bolaños, 2016).

### **8.3.5. Toxicocinética del Arsénico**

En aguas superficiales y subterráneas el arsénico se encuentra respectivamente en forma de arsenato (As + 5) y arsenito (As + 3) respectivamente. El arsénico en estas aguas es captado para el abastecimiento de poblaciones y por ende uno de los usos más comunes es el consumo humano, denotando antes una concentración elevada de dichas especies químicas, una serie de efectos adversos en la salud, asociados principalmente al contacto prolongado provocando un envenenamiento progresivo que da pie a la enfermedad conocida como hidroarsenicismo crónico (Bolaños, 2016).



## **8.4. Parámetros Fisicoquímicos**

La calidad de diferentes tipos de agua se ha valorado a partir de variables físicas, químicas y biológicas, evaluadas individualmente o en forma grupal (Samboni et al., 2007). Los parámetros físicos dan a conocer el olor, el sabor, la apariencia y aceptabilidad del agua de una manera general. En cambio, los análisis químicos constituyen uno de los principales requisitos para caracterizar el agua entre los contaminantes químicos, que generan inquietud son los que tienen propiedades tóxicas acumulativas, como los metales pesados y las sustancias carcinógenas (Pradillo, 2016).

### **8.4.1. pH**

En química, el pH es una escala numérica utilizada para especificar la acidez o alcalinidad de una solución acuosa. Es el logaritmo negativo en base 10 de la actividad del ion hidrógeno. Las soluciones con un pH menor a 7 son ácidas, por lo contrario, las soluciones con un pH mayor a 7 son alcalinas o básicas. El agua pura tiene un pH de 7, lo que se refiere a que es neutral, es decir, ni ácida ni alcalina (Vásquez & Rojas, 2016).

### **8.4.2. Oxígeno Disuelto**

El oxígeno disuelto en el agua, normalmente se expresa en ppm (partes por millón), la solubilidad del oxígeno en el agua depende de la temperatura; a mayor temperatura menos oxígeno se disuelve. El oxígeno disuelto es un indicador del balance fotosintético y la respiración y por lo tanto de la carga orgánica del sistema de agua. Su concentración depende, además de la temperatura, de la presión y concentración salina (Peña, 2007).

### **8.4.3. Temperatura**

La temperatura es un parámetro termodinámico del estado de un sistema que caracteriza el calor o transferencia de energía. La temperatura del agua influirá en la cantidad de oxígeno presente en el agua ya que a mayor temperatura se acelerará el proceso fotosintético, así como la remoción de materia orgánica (Gámez, 2020).

### **8.4.4. Sulfatos**

Pueden derivar de la oxidación de la piritita y otras formas inorgánicas reducidas del azufre durante la meteorización, la mineralización del azufre orgánico contenido en el suelo,

lixiviación de minerales de sulfato, el sulfato presente en las aguas de lluvia y aguas geotérmicas (Tulcán, 2020).

#### **8.4.5. Manganeso**

El manganeso es un metal que se encuentra en forma natural en diversos tipos de rocas. El manganeso puro es de color plateado, pero no se encuentra en esta forma en la naturaleza. Se combina con otras sustancias tales como oxígeno, azufre o cloro. En el agua, tiende a adherirse a partículas o a depositarse en el sedimento. La forma química del manganeso y el tipo de suelo determinan la rapidez con que se moviliza a través del suelo y la cantidad que es retenida en el suelo (ATSDR, 2012).

### **8.5. Parámetros Microbiológicos**

#### **8.5.1. Coliformes fecales**

Los coliformes fecales soportan temperaturas hasta de 45°C, comprenden un grupo muy reducido de microorganismos los cuales son indicadores de calidad, ya que son de origen fecal. Los mismos que están representados por el microorganismo *Escherichia coli*, teniendo en cuenta que se pueden encontrar exclusivamente en las heces de los animales de sangre caliente ya que forman parte de la flora intestinal (Maiquiza & Tonato, 2020).

### **8.6. Trazabilidad**

Según la norma ISO 9000, la trazabilidad es la capacidad de seguir el historial, la aplicación o la ubicación de un objeto. Además, es el resultado de una serie de procedimientos para cumplir con el objetivo y lograr resultados satisfactorios. Puede estar relacionado con el origen de los materiales y partes; buscando los medios adecuados para identificar la historia del proceso (Mastromónaco, 2015).

La trazabilidad es necesaria, cuando se establece el desempeño de los medios para las validaciones de los métodos y kits de ensayos. Para demostrar la trazabilidad, los laboratorios deben utilizar cepas de referencia de microorganismos obtenidas directamente de una colección nacional o internacional reconocida, cuando estas existan.

## **8.7. Microorganismos presentes en el agua**

En los cuerpos de agua de manera natural habitan microorganismos, la mayoría de ellos son benéficos, pero algunos pueden enfermarnos. Los microorganismos más comunes que pueden vivir naturalmente en los cuerpos de agua son virus, bacterias y protozoarios (Castillo, 2021).

### **8.7.1. Bacterias**

Las bacterias son organismos procariotas unicelulares, que se encuentran en casi todas las partes de la Tierra. Son vitales para los ecosistemas del planeta. Algunas especies pueden vivir en condiciones realmente extremas de temperaturas y presión. Las bacterias pueden tener distintas formas, pueden ser esféricas, alargadas o espirales. Existen bacterias perjudiciales, llamadas patogénicas, las cuales causan enfermedades; pero también hay bacterias buenas. Lo más sorprendente sobre las bacterias es que en nuestro cuerpo tenemos 10 veces más células bacterianas que células humanas (Graham, 2021).

### **8.7.2. Clasificación de las bacterias**

#### **8.7.2.1. Enterobacterias**

La familia de las enterobacterias (*Enterobacteriaceae*) incluye múltiples géneros y especies de bacilos Gram negativos, algunos de los cuales son patógenos para el ser humano. Tiene una amplia distribución: en el agua, el suelo, las plantas y la flora intestinal de muchos animales y del hombre. Algunas especies (*Shigella spp.*, *Salmonella*, *Yersinia pestis*) se han adaptado al ser humano y se consideran patógenos primarios, mientras que otras (*Escherichia coli*, *Klebsiella spp.*, *Citrobacter spp.*, *Enterobacter spp.*, *Morganella morganii*, *Proteus spp.*, etc.) forman parte del microbiota normal, pero pueden comportarse como patógenos oportunistas (Fariñas & Martínez, 2013).

#### **8.7.2.2. Bacterias Gram positivas y Gram negativas**

Las bacterias Gram positivas tienen una capa gruesa de peptidoglucano y no tiene una membrana lipídica externa, mientras que las bacterias Gram negativas tienen una capa delgada de peptidoglucano y tienen una membrana lipídica externa (Steward, 2019).

Las bacterias Gram positivas se clasifican por el color que adquieren después de aplicarles un proceso químico denominado tinción de Gram. Las bacterias Gram positivas se tiñen de azul cuando se les aplica dicha tinción. Otras bacterias se tiñen de rojo son las Gram negativas. Las

bacterias Gram positivas y Gram negativas se tiñen de forma distinta porque sus paredes celulares son diferentes (Bush, 2021).

## 8.8. Medios de cultivo

Un medio de cultivo es un conjunto de componentes que crean las condiciones necesarias para el desarrollo de los microorganismos. Están compuestos de macronutrientes, micronutrientes o elementos de traza y factores de crecimiento (Doménech, 2020).

Los medios de cultivo pueden ser clasificados teniendo en cuenta criterios muy diversos. Hasta el momento, no existe una clasificación única; solo algunos autores o casas comerciales coinciden en las clasificaciones más sencillas, basadas, por ejemplo, en el estado físico (sólidos, semisólidos o semilíquidos y líquidos), o en la escala en que se emplean (de laboratorio o industriales) (Rodríguez & Zhurbenko, 2018). A continuación, se exponen algunas de las clasificaciones más difundidas.

Según la promoción del crecimiento de determinados organismos:

**De enriquecimiento:** Por lo general son medios líquidos, pudiendo ser semisólidos en algunos casos, que contiene sustancias que estimulan el crecimiento de los microorganismos y permitiendo el desarrollo de la población microbiana a partir de un número reducido de células de determinados gérmenes que pueden encontrarse en presencia de otros que, hallándose en condiciones favorables, pudieran frenar el desarrollo de los primeros (Rodríguez & Zhurbenko, 2018).

**Selectivos:** En su mayoría son sólidos, contienen sustancias que inhiben el crecimiento de determinados microorganismos, o sea, previene el crecimiento de especies acompañantes indeseables (Rodríguez & Zhurbenko, 2018).

**Electivos:** Toleran el crecimiento de varias especies de microorganismos y a la vez facilitan la identificación de colonias de interés, garantizándoles los nutrientes mínimos necesarios para su desarrollo (Rodríguez & Zhurbenko, 2018).

### 8.8.1. Medios de cultivo utilizados

**Agar MacConkey.** - Es un medio selectivo diferencial utilizado para el aislamiento y diferenciación de bacilos Gram negativos fermentadores y no fermentadores de lactosa. Se utiliza con frecuencia para el aislamiento de coliformes (Rossi, 2021a).

Por fermentación de la lactosa disminuye el pH alrededor de la colonia. Esto produce un viraje del color del indicador de pH (rojo neutro), la absorción en las colonias y precipitación de las sales biliares. Los microorganismos no fermentadores de lactosa producen colonias incoloras (Smith & Conant, 1960).

**Tabla 3.** Fórmula en g/L de Agar MacConkey

Composición	g/L
Peptona de carne	1,5
Peptona de gelatina	17,0
Tripteína	1,5
Lactosa	10,0
Mezcla de sales biliares N°3	1,5
Cloruro de sodio	5,0
Rojo neutro	0,03
Cristal violeta	0,001
Agar	13,5
pH final: $7,1 \pm 0,2$	

**Fuente:** (Rossi, 2021a)

**Agar Nutritivo.** – Es un medio de cultivo sólido no selectivo y no diferencial. En este medio crecen todo tipo de bacterias no exigentes desde el punto de vista nutricional (Gil, 2019).

**Tabla 4.** Fórmula en g/l de Agar Nutritivo

Contenido	g/L
Pluripeptona	5,0
Extracto de carne	3,0
Cloruro de sodio	8,0
Agar	15,0
pH Final: $7,3 \pm 0,2$	

**Fuente:** (Rossi, 2021b)

### 8.9. Tinción de Gram

La tinción de Gram diferencia a las bacterias en dos grandes grupos. Se llama bacterias Gram positivas a aquellas que retiene la tinción azul-violeta, y se denomina bacterias Gram negativas a las que se decoloran y después se tiñeron con safranina. Estas bacterias de tinciones se deben a la estructura de las paredes celulares de ambos tipos de bacterias (Rodríguez & Arenas, 2018).

**Tabla 5.** Diferencias entre bacterias Gram positivas y Gram negativas.

	Bacterias Gram Positivas	Bacterias Gram Negativas
Color con la tinción de Gram	Violeta	Rojo
Pared celular	Gruesa	Delgada
Presencia de lipopolisacáridos en pared celular	Ausente	Presente
Presencia de ácidos lipoteicoicos y teicoicos en pared celular	Presente	Ausente

*Fuente:* (Rodríguez & Arenas, 2018)

### 8.10. Pisos altitudinales

El Ecuador está conformado por 7 pisos altitudinales y están determinados por las diferentes altitudes. En cada piso altitudinal se presentan variaciones determinadas por la precipitación, variaciones que determinan las llamadas “Formaciones Ecológicas”. Una formación ecológica representa por consiguiente las dos condiciones de temperatura o factores más importantes de un clima determinado que son la temperatura y la precipitación (Rodríguez et al., 2020).

#### Piso Cálido

Este piso climático se caracteriza por estar ubicado entre los 0 y 1000 metros, además posee una temperatura relativamente agradable que en promedio oscila en los 25° C en el año. La variación de la temperatura resulta prácticamente nula, por lo que se ha afirmado que en este piso climático existe una sola estación, la cálida. Por otra parte, se desarrollan precipitaciones abundantes y los ecosistemas son muy variados, ejemplos existentes son bosques, sabanas, praderas y selvas. Además, la flora y fauna poseen una gran biodiversidad y son abundantes (Alvear et al., 2016).

**Piso Frío**

Este piso se encuentra ubicado entre los 2500 y los 3400 msnm, su temperatura oscila entre los 8°C a 14°C. Las condiciones ecológicas de este piso son apropiadas para la producción de un cultivo de maíz, papas, habas, entre otros (Alvear et al., 2016).

**Piso Templado**

Este piso climático se encuentra entre los 1000 y 2000 msnm y son zonas catalogadas como de clima templado. En estos pisos la variación de calor es más notable en comparación con el piso térmico cálido, por lo que resulta posible diferenciar con claridad el invierno donde las temperaturas oscilan entre los 16°C y en el verano llegan a ascender a los 23°C. también se destaca la existencia en este piso climático de altos niveles de precipitaciones, donde las lluvias resultan ser más frecuentes en una zonas que en otras a pesar de que tienen la misma altitud y además existe una marcada de influencia de las corrientes de aire (Alvear et al., 2016).

**Páramo**

Comprende todos aquellos lugares que van desde los 3000 hasta los 4200 msnm en las zonas pobladas del país. Su temperatura media varía entre los 0°C a 10 °C en lugares habitados, está caracterizado por tener una vegetación dominante como el pajonal (Alvear et al., 2016).

## **9. MARCO LEGAL**

Para la investigación y desarrollo del presente proyecto de investigación se ha tomado en cuenta la Constitución de la República del Ecuador, Ley orgánica de recursos hídricos usos y aprovechamiento del agua, Ley orgánica de la salud, Acuerdo Ministerial 097 A, Norma Técnica Ecuatoriana INEN 1108.

### **9.1. Constitución de la república del Ecuador**

**Decreto Legislativo 0**

**Registro Oficial 449 de 20-oct.-2008**

**Última modificación: 01-ago.-2018**

#### **9.1.1. Título I: Elementos constitutivos del estado.**

**Capítulo primero:** Principios fundamentales.

**Art. 3.-** Son deberes primordiales del Estado. Por lo tanto, determinamos textualmente en el numeral 7: “Proteger el patrimonio natural y cultural del país”.

#### **9.1.2. Título II: Derechos**

**Capítulo segundo:** Derechos del buen vivir.

**Sección primera:** Agua y alimentación.

“**Art. 12.-** El derecho humano al agua es fundamental e irrenunciable. El agua constituye patrimonio nacional estratégico de uso público, inalienable, imprescriptible, inembargable y esencial para la vida”(Constitución de la República del Ecuador, 2008).

“**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”(Constitución de la República del Ecuador, 2008).

“**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”(Constitución de la República del Ecuador, 2008).

### **9.1.3. Título V: Organización territorial del estado**

#### **Capítulo cuarto: Régimen de competencias**

“**Art. 264.-** Los gobiernos municipales tendrán las siguientes competencias exclusivas sin perjuicio de otras que determine la ley”(Constitución de la República del Ecuador, 2008).

“4. 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”(Constitución de la República del Ecuador, 2008).

### **9.1.4. Título VII: Régimen del buen vivir**

#### **Capítulo segundo: Biodiversidad y recursos naturales**

##### **Sección sexta: Agua**

“**Art. 411.-** El Estado garantizará la conservación, recuperación y manejo integral de los recursos hídricos, cuencas hidrográficas y caudales ecológicos asociados al ciclo hidrológico. Se regulará toda actividad que pueda afectar la calidad y cantidad de agua, y el equilibrio de los ecosistemas, en especial en las fuentes y zonas de recarga hídrica”(Constitución de la República del Ecuador, 2008).

### **9.2. Ley orgánica de recursos hídricos usos y aprovechamiento del agua**

#### **Ley 0**

**Registro Oficial Suplemento 305 de 06-ago.-2014**

### 9.2.1. Título I: Disposiciones preliminares

#### Capítulo I: De los principios

“**Art. 1.-** Naturaleza jurídica. Los recursos hídricos son parte del patrimonio natural del Estado y serán de su competencia exclusiva, la misma que se ejercerá concurrentemente entre el Gobierno Central y los Gobiernos Autónomos Descentralizados, de conformidad con la Ley”(Ley orgánica de recursos hídricos usos y aprovechamiento del agua, 2014).

El agua es patrimonio nacional estratégico de uso público, dominio inalienable, imprescriptible, inembargable y esencial para la vida, elemento vital de la naturaleza y fundamental para garantizar la soberanía alimentaria”(Ley orgánica de recursos hídricos usos y aprovechamiento del agua, 2014).

“**Art. 3.-** 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”(Ley orgánica de recursos hídricos usos y aprovechamiento del agua, 2014).

### 9.2.2. Título II: Recursos hídricos

#### Capítulo I: Definición, infraestructura y clasificación de los recursos hídricos

“**Art. 13.-** Formas de conservación y protección de fuentes de agua. Constituyen formas de conservación y protección de fuentes de agua: las servidumbres de uso público, zonas de protección hídrica y las zonas de restricción. Para la protección de las aguas que circulan por los cauces y de los ecosistemas asociados, se establece una zona de protección hídrica. Cualquier aprovechamiento que se pretenda desarrollar a una distancia del cauce, que se definirá reglamentariamente, deberá ser objeto de autorización por la Autoridad Única del Agua, sin perjuicio de otras autorizaciones que procedan. Las mismas servidumbres de uso público y zonas de protección hídrica existirán en los embalses superficiales. En los acuíferos se delimitaron zonas de restricción en las que se condicionarán las actividades que pueden realizarse en ellas en la forma y con los efectos establecidos en el Reglamento de esta Ley”(Ley orgánica de recursos hídricos usos y aprovechamiento del agua, 2014).

### **9.2.3. Título III: Derechos, garantías y obligaciones**

#### **Capítulo I: Derecho humano al agua**

“**Art. 57.- Definición.** El derecho humano al agua es el derecho de todas las personas a disponer de agua limpia, suficiente, salubre, aceptable, accesible y asequible para el uso personal y doméstico en cantidad, calidad, continuidad y cobertura. Forma parte de este derecho al acceso al saneamiento ambiental que asegure la dignidad humana, evite la contaminación y garantice la calidad de las reservas de agua para consumo humano. El derecho humano al agua es fundamental e irrenunciable”(Ley orgánica de recursos hídricos usos y aprovechamiento del agua, 2014).

### **9.3. Ley orgánica de salud**

#### **Ley 67**

**Registro Oficial Suplemento 423 de 22-dic.-2006**

**Última modificación: 18-dic.-2015**

#### **9.3.1. Título único**

##### **Capítulo I: Del agua para consumo humano**

“**Art. 96.-** Declare de prioridad nacional y de utilidad pública, el agua para consumo humano.

Es obligación del Estado, por medio de las municipalidades, proveer a la población de agua potable de calidad, apta para el consumo humano (Ley orgánica de salud, 2015).

Toda persona natural o jurídica tiene la obligación de proteger los acuíferos, las fuentes y cuencas hidrográficas que sirvan para el abastecimiento de agua para consumo humano. Se prohíbe realizar actividades de cualquier tipo, que pongan en riesgo de contaminación las fuentes de captación de agua. La autoridad sanitaria nacional, en coordinación con otros organismos competentes, tomarán medidas para prevenir, controlar, mitigar, remediar y sancionar la contaminación de las fuentes para consumo humano (Ley orgánica de salud, 2015).

A fin de garantizar la calidad e inocuidad, todo abastecimiento de agua para consumo humano, queda sujeto a la vigilancia de la autoridad sanitaria nacional, a quien corresponde

establecer las normas y reglamentos que permitan asegurar la protección de la salud humana”(Ley orgánica de salud, 2015).

#### **9.4. Acuerdo ministerial 097 A**

**Fecha de suscripción: 2015-07-30**

**Fecha de publicación: 2015-11-04**

**Número de registro: Registro Oficial 387 Año III**

#### **ANEXO 1 DEL LIBRO VI DEL TEXTO UNIFICADO DE LEGISLACIÓN SECUNDARIA DEL MINISTERIO DEL AMBIENTE: NORMA DE CALIDAD AMBIENTAL Y DE DESCARGA DE EFLUENTES AL RECURSO AGUA**

La presente norma técnica ambiental revisada y actualizada es dictada bajo el amparo de la Ley de Gestión Ambiental y del reglamento a la Ley de Gestión Ambiental para la Prevención y Control de la Contaminación Ambiental y se somete a las disposiciones de estos, es de aplicación obligatoria y rige en todo el territorio nacional (Acuerdo Ministerial 097 A, 2015).

La presente norma técnica determina o establece:

1. Los principios básicos y enfoque general para el control de la contaminación del agua;
2. Las definiciones de términos importantes y competencias de los diferentes actores establecidas en la ley;
3. Los criterios de calidad de las aguas para sus distintos usos;
4. Los límites permisibles, disposiciones y prohibiciones para las descargas en cuerpos de aguas o sistemas de alcantarillado.
5. Permisos de descargas.
6. Los parámetros de monitoreo de las descargas o cuerpos de agua y sistemas de alcantarillado de actividades industriales o productivas de servicios públicas o privadas;

7. Método y procedimiento para determinar parámetros físicos, químicos y biológicos con potencial riesgo de contaminación del agua.

### **Objeto**

El objetivo principal de la presente norma es proteger la calidad del recurso agua para salvaguardar y preservar los usos asignados, la integridad de las personas, de los ecosistemas y sus interrelaciones y del ambiente en general (Acuerdo Ministerial 097 A, 2015).

### **Definiciones**

- **Contaminación del agua:** cualquier alteración de las características físicas, químicas o biológicas, en concentraciones tales que la hacen no apta para el uso deseado, o que causa un efecto adverso al ecosistema acuático, seres humanos o al ambiente en general (Acuerdo Ministerial 097 A, 2015).
- **Criterio de la calidad del agua:** concentración numérica o enunciado descriptivo recomendado sobre parámetros físico químicos y biológicos para mantener determinado uso benéfico del agua. Los criterios de calidad para diversos usos del agua son la base para la determinación de los objetivos de la calidad en los tramos de un cuerpo receptor. Esta determinación generalmente demanda un proceso de modelación del cuerpo receptor en donde se consideran las condiciones más críticas de caudales del cuerpo receptor, las cargas futuras de contaminantes y la capacidad de asimilación del recurso hídrico (Acuerdo Ministerial 097 A, 2015).

### **Clasificación**

Criterios de calidad de las aguas para sus distintos usos:

1. Criterios de calidad para aguas destinadas al consumo humano y uso doméstico, previo a su potabilización.
2. Criterios de calidad para la preservación de flora y fauna en aguas dulces frías o cálidas, y en aguas marinas y de estuarios.
3. Criterios de calidad de aguas para riego agrícola.
4. Criterios de calidad para aguas de uso pecuario.
5. Criterios de calidad para aguas con fines recreativos.
6. Criterios de calidad para aguas de uso estético.

### Crterios de calidad para aguas de consumo humano y uso dom3stico

Se entiende por agua para consumo humano y uso dom3stico aquella que es obtenida de cuerpos de agua, superficiales o subterrneas, y que luego de ser tratada ser3 empleada por individuos o comunidades en actividades como:

- a. Bebida y preparaci3n de alimentos para consumo humano,
- b. Satisfacci3n de necesidades dom3sticas, individuales o colectivas, tales como higiene personal y limpieza de elementos, materiales o utensilios.

Esta Norma aplica a la selecci3n de aguas captadas para consumo humano y uso dom3stico, para lo cual se deber3 cumplir con los criterios indicados en la **TABLA 1** (Acuerdo Ministerial 097 A, 2015).

**Tabla 6.** Criterios de calidad de fuentes de agua para consumo humano y dom3stico

<b>TABLA 1: CRITERIOS DE CALIDAD DE FUENTES DE AGUA PARA CONSUMO HUMANO Y DOM3STICO</b>			
<b>PAR3METROS</b>	<b>EXPRESADO COMO</b>	<b>UNIDAD</b>	<b>CRITERIO DE CALIDAD</b>
<b>Aceites y Grasas</b>	Sustancias solubles en hexano	mg/l	0,3
<b>Ars3nico</b>	As	mg/l	0,1
<b>Coliformes Fecales</b>	NMP	NMP/100 ml	1000
<b>Bario</b>	Ba	mg/l	1
<b>Cadmio</b>	Cd	mg/l	0,02
<b>Cianuro</b>	CN <sup>-</sup>	mg/l	0,1
<b>Cobre</b>	Cu	mg/l	2
<b>Color</b>	Color real	Unidades de Platino-Cobalto	75
<b>Cromo hexavalente</b>	Cr +6	mg/l	0,05
<b>Fluoruro</b>	F <sup>-</sup>	mg/l	1,5
<b>Demanda Qu3mica de Ox3geno</b>	DQO	mg/l	<4
<b>Demanda Bioqu3mica de Ox3geno (5 d3as)</b>	DBO <sub>5</sub>	mg/l	<2
<b>Hierro total</b>	Fe	mg/l	1,0
<b>Mercurio</b>	Hg	mg/l	0,006
<b>Nitratos</b>	NO <sub>3</sub>	mg/l	50,0
<b>Nitritos</b>	NO <sub>2</sub>	mg/l	0,2
<b>Potencial Hidr3geno</b>	pH	unidades de pH	6- 9

<b>Plomo</b>	Pb	mg/l	0,01
<b>Selenio</b>	Se	mg/l	0,01
<b>Sulfatos</b>	SO4 - 2	mg/l	500
<b>Hidrocarburos Totales de Petróleo</b>	TPH	mg/l	0,2
<b>Turbiedad</b>	Unidades nefelométricas de turbiedad	UNT	100,0

*Fuente:* (Acuerdo Ministerial 097 A, 2015)

### **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. Los criterios de calidad establecidos los encontramos en la **TABLA 3** (Acuerdo Ministerial 097 A, 2015).

*Tabla 7.* Criterios de calidad de agua para uso agrícola o de riego

<b>TABLA 3: CRITERIOS DE CALIDAD DE AGUAS PARA RIEGO AGRÍCOLA</b>			
<b>PARÁMETRO</b>	<b>EXPRESADO COMO</b>	<b>UNIDAD</b>	<b>CRITERIO DE CALIDAD</b>
<b>Aceites y grasas</b>	Película Visible		Ausencia
<b>Aluminio</b>	Al	mg/l	5,0
<b>Arsénico</b>	As	mg/l	0,1
<b>Berilio</b>	Be	mg/l	0,1
<b>Boro</b>	B	mg/l	0,75
<b>Cadmio</b>	Cd	mg/l	0,05
<b>Cinc</b>	Zn	mg/l	2,0
<b>Cobalto</b>	Co	mg/l	0,01
<b>Cobre</b>	Cu	mg/l	0,2
<b>Coliformes fecales</b>	NMP	NMP/100ml	1000
<b>Cromo</b>	Cr +6	mg/l	0,1
<b>Flúor</b>	F	mg/l	1,0
<b>Hierro</b>	Fe	mg/l	5,0
<b>Huevos de parásitos</b>			Ausencia
<b>Litio</b>	Li	mg/l	2,5
<b>Materia flotante</b>	Visible		Ausencia
<b>Mercurio</b>	Hg	mg/l	0,001
<b>Manganeso</b>	Mn	mg/l	0,2
<b>Molibdeno</b>	Mo	mg/l	0,01

<b>Níquel</b>	Ni	mg/l	0,2
<b>Nitritos</b>	NO <sub>2</sub>	mg/l	0,5
<b>Oxígeno Disuelto</b>	OD	mg/l	3
<b>Ph</b>	pH		6- 9
<b>Plomo</b>	Pb	mg/l	5,0
<b>Selenio</b>	Se	mg/l	0,02
<b>Sulfatos</b>	SO <sub>4</sub> - 2	mg/l	250
<b>Vanadio</b>	V	mg/l	0,1

**Fuente:** (Acuerdo Ministerial 097 A, 2015)

Para determinar los valores y concentraciones de los parámetros determinados en esta Norma Oficial Ecuatoriana, se deberá aplicar los métodos establecidos en el manual “*Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*”, en su más reciente edición. Además, deberán considerarse las siguientes Normas del Instituto Ecuatoriano de Normalización (INEN):

- Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 2169:98. Agua: Calidad del agua, muestreo, manejo y conservación de muestras.
- Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 2176:98. Agua: Calidad del agua, muestreo, técnicas de muestreo.

### 9.5. Norma Técnica Ecuatoriana INEN 1108

#### Quinta revisión

**2014-01**

#### Objeto

Esta norma establece los requisitos que debe cumplir el agua potable para consumo humano. Esta norma se aplica al agua potable de los sistemas de abastecimiento públicos y privados a través de redes de distribución y tanqueros. Los requisitos necesarios se establecen a continuación en la **TABLA 1** (Norma Técnica INEN 1108, 2014).

**Tabla 8:** Características físicas, sustancias inorgánicas y radiactivas

<b>TABLA 1: Características físicas, sustancias inorgánicas y radiactivas</b>		
<b>Parámetro</b>	<b>Unidad</b>	<b>Límite máximo permitido</b>
<b>Características físicas</b>		



Color	Unidades de color aparente (Pt-Co)	15
Turbiedad	NTU	5
Olor	---	no objetable
Sabor	---	no objetable
<b>Inorgánicos</b>		
Antimonio, Sb	mg/l	0,02
Arsénico, As	mg/l	0,01
Bario, Ba	mg/l	0,7
Boro, B	mg/l	2,4
Cadmio, Cd	mg/l	0,003
Cianuros, $CN^-$	mg/l	0,07
Cloro libre residual <sup>1)</sup>	mg/l	0,3 a 1,5
Cobre, Cu	mg/l	2,0
Cromo, Cr (cromo total)	mg/l	0,05
Fluoruros	mg/l	1,5
Mercurio, Hg	mg/l	0,006
Níquel, Ni	mg/l	0,07
Nitratos, $NO_3^-$	mg/l	50
Nitritos, $NO_2^-$	mg/l	3,0
Plomo, Pb	mg/l	0,01
Radiación total $\alpha$ *	Bg/l	0,5
Radiación total $\beta$ **	Bg/l	1,0
Selenio, Se	mg/l	0,04
<p><sup>1)</sup> Es el rango en el que debe estar el cloro libre residual luego de un tiempo mínimo de contacto de 30 minutos.</p> <p>* Corresponde a la radiación emitida por los siguientes radionucleidos:  <math>^{210}Po</math>, <math>^{224}Ra</math>, <math>^{232}Th</math>, <math>^{234}U</math>, <math>^{238}U</math>, <math>^{239}Pu</math>.</p> <p>** Corresponde a la radiación emitida por los siguientes radionucleidos: <math>^{60}Co</math>,  <math>^{89}Sr</math>, <math>^{90}Sr</math>, <math>^{129}I</math>, <math>^{131}I</math>, <math>^{134}Cs</math>, <math>^{137}Cs</math>, <math>^{210}Pb</math>, <math>^{228}Ra</math>.</p>		

**Fuente:** (Norma técnica INEN 1108, 2014)

## 9.6. Ordenanza para la descontaminación, y protección de los ríos y afluentes hídricos del cantón Latacunga

### Capítulo I: Objeto y ámbito de la aplicación

“**Art 1.-** La presente ordenanza tiene como objeto la descontaminación, y protección del río Cutuchi, Pumacunchi, Cunuyacu, Yanayacu y demás afluentes o subterráneos del cantón Latacunga”(GAD Municipal del Cantón Latacunga, 2014).

“**Art. 2.-** El ámbito de aplicación de la presente ordenanza será a nivel cantonal, y estarán sujetos de la misma los sectores, industriales, agroindustriales, agropecuarios, forestal, minero, metalúrgico, papelerero, lácteo, florícola, brocolero y de servicios (lubricadoras, lubri lavadoras, mecánicas, imprentas gráficas, gasolineras, y otros), asentados en el territorio cantonal de Latacunga”(GAD Municipal del Cantón Latacunga, 2014).

### **Capítulo II:** De los principios

“**Art. 3.-** Los fundamentos esenciales de acción sobre los cuales se sustenta esta ordenanza, como lo señala el literal a: Atender las demandas de agua de calidad de la población tanto para consumo humano como para regadío, con coberturas de saneamiento que normen su uso de acuerdo con los intereses cantonales”(GAD Municipal del Cantón Latacunga, 2014).

### **Capítulo III:** De las obligaciones de los ciudadanos 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 industrias deberán aplicar buenas prácticas ambientales e implementar plantas de tratamiento de aguas negras, residuales, descargas industriales, domésticas y otras que alteran las condiciones físico, químicas y biológicas del agua, y atenten su calidad”(GAD Municipal del Cantón Latacunga, 2014).

## **10. VALIDACIÓN DE LA PREGUNTA CIENTÍFICA.**

¿Es posible establecer la trazabilidad microbiológica de enterobacterias en sitios poco monitoreados y contaminados con arsénico proveniente de fuentes naturales en la quebrada Talahuachana entre los 3700 y 3800 msnm?

Si es posible, porque se utilizó una serie de procesos que llevaron al cumplimiento de cada uno de los objetivos planteados, como en la caracterización biofísica de la zona de estudio, además de la determinación de la concentración de arsénico en sitios poco monitoreados

como lo es la quebrada Talahuachana en base a los resultados de los análisis de laboratorio obtenido del muestreo de agua, se pudo determinar la concentración de arsénico con un valor de 0,038 mg/L para el mes de enero, que se encuentra dentro de los límites máximos permisibles establecidos por la Ley. Sin embargo, para el mes de marzo la concentración de arsénico sobrepasó los límites máximos permisibles establecidos con un valor de 1,59 mg/L. Finalmente se estableció la relación entre enterobacterias y arsénico a una elevación de 3747 msnm.

## **11. METODOLOGÍAS Y DISEÑO EXPERIMENTAL**

### **11.1. Metodología**

#### **11.1.1. Tipos de Investigación**

Este estudio ayudó a examinar el tema de investigación con una visión general sobre la realidad del lugar, para otorgar estrategias de conservación a futuro del recurso hídrico. Permitiendo describir las características biofísicas de la quebrada Talahuachana detallando con precisión la problemática y a su vez proporcionando la información mediante mapas de morfología e hidrología de la zona de estudio, se utilizó shapes de: precipitación, textura del suelo, erosión, cobertura vegetal, pendiente, tipo de clima, temperatura, taxonomía del suelo, geología, entre otros.

#### **11.1.2. Métodos**

Mediante la recopilación de datos e información del lugar, permitió conocer el grado de concentración de los parámetros físico, químico y biológicos evaluados, con el cual se analizó y comparó los datos obtenidos con las tablas 1 y 3 del Acuerdo Ministerial 097 A y la tabla 1 de la Norma Técnica INEN 1108.

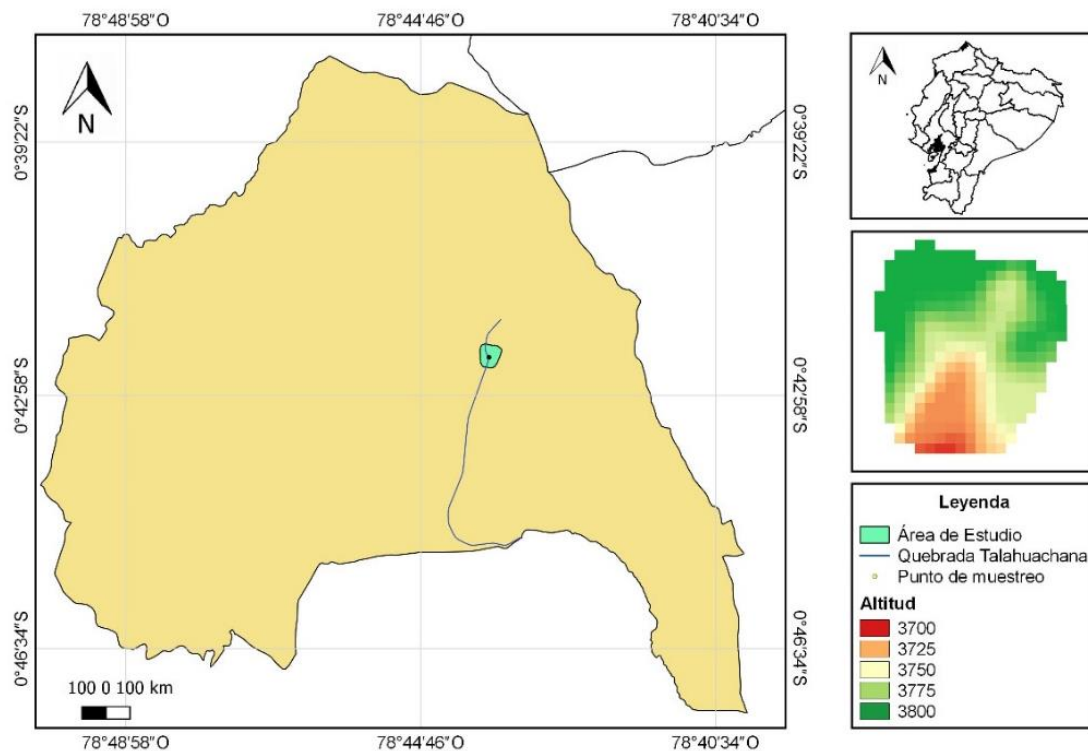
### **11.2. Fase Documental**

#### **11.2.1. Determinación del área de estudio**

Se definió como área de estudio a la quebrada Talahuachana que nace desde las faldas del estratovolcán Iliniza Sur, perteneciente a la microcuenca del río Cutuchi en la parroquia de Toacaso, Cantón Latacunga, Provincia de Cotopaxi. Su ubicación es de -9.921795 de latitud sur y -75.2664 de longitud oeste, con una altitud fluctuante de 3700 a 3800 msnm. Durante esta investigación se desarrolló un mapa base de la zona de estudio con información

proporcionada por el Sistema de Información Geográfica (SNI). Esta información comprendió shapes de información cartográfica que se presenta en la **Figura 1**.

**Figura 1.** Área de estudio



**Elaborado por:** Moposita Esthela & Tipantiza Estefanía

**Fuente:** Herramienta SIG – Qgis 2.18.22.

### 11.2.2. Caracterización biofísica

Para la caracterización biofísica se procedió a una visita de campo a la quebrada Talahuachana, donde se realizó la toma de coordenadas geográficas con la ayuda de un GPS, para delimitar el área de estudio. Continuamente se cargó las coordenadas UTM en el programa Google Earth y la herramienta QGIS 2.18.22 del Sistema de Información Geográfica, tomando en cuenta los pisos altitudinales de 3700 a 3800 msnm considerando los sistemas montañosos al lado oriente y occidental de la quebrada Talahuachana.

Para su corte se tomaron datos en el portal web MAGAP, INAMHI del Sistema Nacional de Información SIN, siendo una herramienta que funciona como una biblioteca virtual, permitiendo encontrar información clara y detallada de nuestra zona de estudio. Para ser procesada en el programa QGIS 2.18.22., se cargó la base de datos obtenida del SIN para la representación gráfica de las diferentes características biofísicas (Clima, Cobertura Vegetal, Uso de Suelo, Pendiente, Taxonomía, Textura, entre otros) e Hidrológicas (Precipitación, temperatura) del área de estudio.

### **11.3. Fase de campo**

#### **11.3.1. Muestreo**

La recolección de la muestra se dio en las coordenadas de -9.921795 de latitud sur y -75.2664 de longitud oeste, a una altura de 3747 msnm, donde se tomó una muestra compuesta en un balde el cual fue distribuido en cinco envases diferentes. El primer envase fue para oxígeno disuelto donde se tomó 300 ml de la muestra compuesta a la cual se colocó tres viales (1 ml de sulfato manganoso, 1 ml de álcali yoduro y 1 ml de ácido sulfúrico), en el segundo y tercer envase se tomó 1000 ml de la muestra para pH y sulfatos respectivamente, para arsénico y manganeso se tomó 250 ml de la muestra, al cual se le colocó 5 gotas de ácido nítrico y por último se tomó 100 ml de muestra para coliformes. Una vez distribuida la muestra y previamente etiquetada en los diferentes envases se procedió a colar en una hielera para su conservación.

La toma de muestra se dio siguiendo la Norma NTE INEN 2169. Agua, calidad del agua, muestreo, técnicas de muestreo y se siguió el protocolo de transporte con la Norma NTE INEN 2176 Agua, calidad del agua, muestreo y conservación de muestras e ISO/IEC 17025:2006.

#### **11.3.2. Técnicas**

Las técnicas utilizadas por el laboratorio LANCAS se encuentra acreditado en la Norma NTE INEN 2169, NTN INEN 2176 e ISO/IEC 17025:2006, para los diferentes parámetros que son: electrometría para pH, espectrometría de absorción atómica de llama para arsénico y manganeso; volumetría para oxígeno disuelto, espectrofotometría en sulfatos y microbiológicas para coliformes fecales.

### **11.3.3. Comparación con la Normativa Ecuatoriana**

Los parámetros de agua analizados fueron comparados con el Acuerdo Ministerial 097 A, tabla 1 para criterios de calidad de fuentes de agua para consumo humano y doméstico; tabla 3, criterios de calidad de agua para riego agrícola y con la Normativa Técnica Ecuatoriana NTE INEN 1108, tabla 1 características físicas, sustancias inorgánicas y radioactivas.

## **11.4. Fase de laboratorio**

### **11.4.1. Metodología para el cultivo de microorganismos**

Los microorganismos como otros seres vivos son susceptibles a los cambios de condiciones ambientales y a medida en el que se han podido adaptar a estos cambios, se han distribuido en una gran diversidad de hábitat incluyendo ciertas condiciones extremas sobre todo de tipo físico y químico.

### **11.4.2. Materiales de laboratorio**

#### **Material de vidrio o plástico**

Entre ellos: vasos de precipitación (100ml), embudos, probetas (500 ml), cajas Petri, Matraz (250ml), varilla de vidrio, porta y cubreobjetos, cámaras de recuento, balanza, espátula.

Material de siembra

Constituidos principalmente por asas en NICROM, goteros, agua destilada (1 litro), alcohol antiséptico, mechero de bunsen.

#### **Materiales para la esterilización**

Autoclave (calor húmedo), mechero (esterilización por calentamiento directo), alcohol antiséptico.

#### **Materiales para la incubación**

Incubadora, papel Parafilm.

#### **Material óptico**

Microscopio: lente 100 x

#### **Reactivos**

Agar MacConkey, Agar Nutritivo, Azul de metileno al 1%, Safranina al 1%, Lugol, y aceite de inmersión.

### **11.5. Muestreo de agua para cultivo y siembra de microorganismos**

La muestra recolectada fue obtenida de la quebrada Talahuachana perteneciente a la parroquia de Toacaso, la misma que fue recolectada en una botella de 1200 ml. Las muestras fueron sometidas a cadena de frío de 4 – 5 °C, hasta llegar a los laboratorios de la carrera de ingeniería ambiental.

#### **11.5.1. Preparación de los medios de cultivo**

##### **11.5.1.1. Agar MacConkey**

Para la obtención del medio de cultivo en agar MacConkey se pesó 3 gramos, el cual se disolvió en 0,06 L de agua destilada en él matraz, realizando mediante movimientos de vaivén y rotación hasta lograr una mezcla homogénea. Una vez disuelto el medio se procedió a colocarlo en la autoclave para esterilizar a una temperatura de 121°C durante 15 minutos.

Cálculos empleados

$$50 \text{ g} \rightarrow 1 \text{ L}$$

$$? \rightarrow 0,06 \text{ L}$$

$$x = \frac{0,06 \text{ L} * 50 \text{ g}}{1 \text{ L}}$$

$$x = 3 \text{ g}$$

##### **11.5.1.2. Agar nutritivo**

Para la elaboración del medio de cultivo en agar Nutritivo se pesó 3.72 gramos, el cual se disolvió en 0,12 L de agua destilada en él matraz, realizando movimientos hasta lograr una mezcla homogénea. Una vez disuelto el medio se procedió a colocarlo en la autoclave para esterilizar a una temperatura de 121°C durante 15 minutos.

Cálculos empleados

$$31 \text{ g} \rightarrow 1 \text{ L}$$

$$? \rightarrow 0,12 \text{ L}$$

$$x = \frac{0,12 L * 31 g}{1 L}$$

$$x = 3.72 g$$

### **11.5.2. Técnica de cultivo por extensión en agar MacConkey**

Con ayuda de un gotero se colocó 1ml de la muestra de agua en la parte superior del cultivo, con la ayuda del asa NICROM se procedió a realizar la siembra por extensión, la misma que se esparció uniformemente por toda la superficie del medio de cultivo. Esto permitió que dé lugar al crecimiento de colonias y el recuento de la población microbiana existente en el medio de cultivo.

### **11.5.3. Técnica de cultivo por estrías agar nutritivo**

Una vez obtenido el crecimiento de colonias en agar MacConkey se llevó a cabo la identificación de 3 colonias microbianas (A1, A2 y A3), considerando el color, tamaño, distribución y forma, las mismas que servirán para el cultivo en agar nutritivo (Ávila et al., 2014).

Una vez ya seleccionadas las colonias se procede a la siembra por el método de estrías, la mezcla es colocada en el cultivo y con la ayuda del asa se va formando estrías o líneas por toda la superficie, siguiendo un patrón definido. Después de sembrar el primer sector, el asa de siembra es esterilizada y se obtiene un inóculo para el segundo sector a partir del primer sector. Se sigue un proceso similar para sembrar el tercer sector, excepto que el inóculo procede del segundo sector. Se trata de un proceso de dilución (Ávila et al., 2014)

### **11.5.4. Purificación de colonias**

Se obtiene una pequeña cantidad de masa bacteriana de una colonia separada en el aislamiento. Con ello se inóculo un nuevo medio de cultivo haciendo estrías muy juntas. La incubación en condiciones adecuadas proporciona un cultivo puro. Puede repetirse el proceso con cada tipo de colonia (Baquero et al., 2006).

### **11.5.5. Incubación**

Para la incubación se utilizó una incubadora, para alcanzar y mantener las temperaturas de los medios de cultivo de 25 a 37 ° C por 72 horas. Tras la incubación en condiciones adecuadas, cada célula viable origina una colonia visible resultado de sucesivas divisiones celulares.



Cada colonia bacteriana tiene características determinadas a su forma, borde, elevación, tamaño, consistencia (Murillo & Pullupaxi, 2019).

### **11.6. Tinción de Gram**

En la realización de la tinción de Gram lo primordial es realizar un frotis de la colonia de microorganismos para lo cual es necesario colocar una gota de agua destilada en el portaobjetos, después con el asa NICROM esterilizada se saca una cantidad mínima de la colonia que se encuentra en la caja Petri, colocando dentro de la gota de agua mientras se realiza movimientos circulares para que la biomasa se mezcle con el agua (Rodríguez & Arenas, 2018).

Después se debe fijar la mezcla por calor, por lo tanto, es necesario utilizar el mechero, pasar el portaobjetos por encima de la llama realizando movimientos en zigzag o circulares, levantando constantemente la muestra evitando que se queme, quedando totalmente seca y por lo tanto fija en el portaobjetos (P. Rodríguez & Arenas, 2018).

Para la tinción de Gram cada muestra se tiñó con azul de metileno al 1% por un minuto y lavar con agua destilada para eliminar el exceso de colorante, cubrir con Lugol 5%, que actúa como mordiente, dejarlo por un minuto y lavar con agua, se decoloró con el alcohol antiséptico por 30 segundos después se lavó con agua, se tiñó con safranina al 1% por 1 minuto, se lavó con agua para eliminar el exceso de colorante y se secó al ambiente para observar en el microscopio.

## 12. ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS.

### 12.1. Reconocimiento de la zona de estudio

En el mes de diciembre se realizó una salida de campo para el reconocimiento del área de estudio que se encuentra ubicado a una altura de 3747 msnm, cuenta con una vegetación arbustiva y herbácea, presenta temperaturas que oscilan entre los 6-8 °C. El agua presentaba un color amarillento. **Ver figura 2.**

*Figura 2.* Reconocimiento de la zona

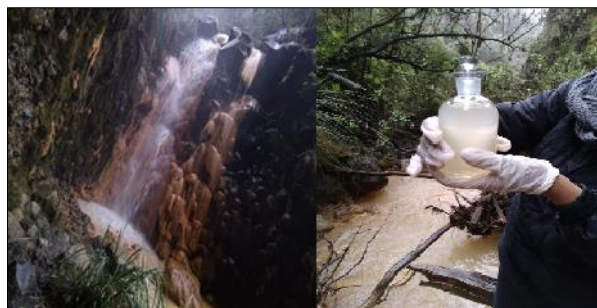


*Elaborado por:* Moposita Esthela & Tipantiza Estefanía

### 12.2. Muestreros realizados en los meses de enero y marzo

La recolección de muestras se realizó en el mes de enero, en la cual las condiciones climáticas del lugar variaron encontrando la presencia de neblina y llovizna, en la quebrada. En cambio, el muestreo realizado en el mes de marzo las condiciones climáticas del lugar fueron diferentes, encontrando un clima cálido y despejado. **Ver Figura 3.**

*Figura 3.* Día del muestreo



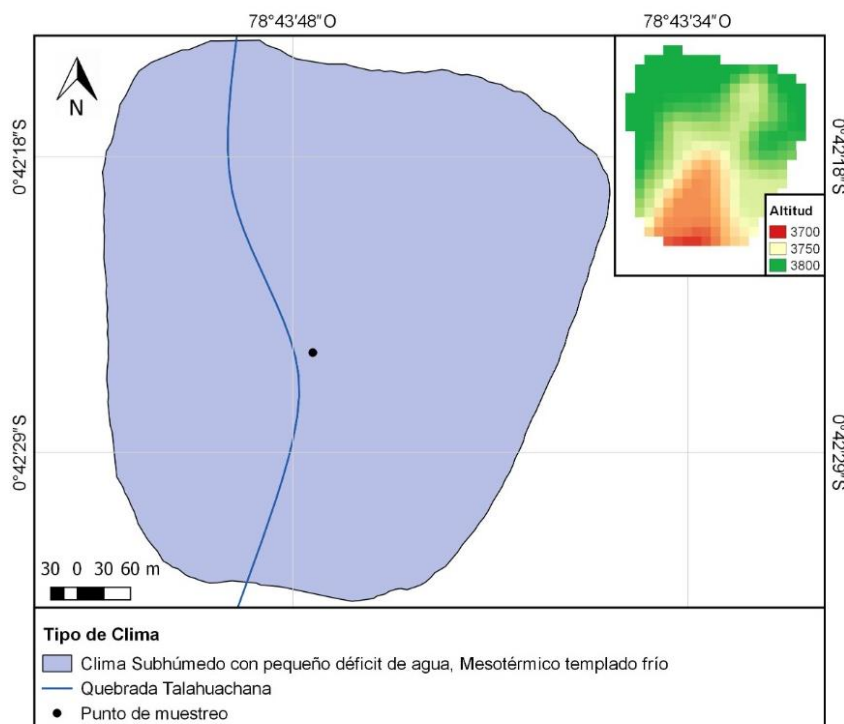
*Elaborado por:* Moposita Esthela & Tipantiza Estefanía

### 12.3. Caracterización biofísica del piso altitudinal entre los 3700 a 3800 msnm.

#### 12.3.1. Clima

La zona de estudio presenta un tipo de clima denominado subhúmedo con pequeño déficit de agua, Mesotérmico templado frío, debido a que la parroquia presenta pocas variantes principalmente determinadas por la altitud, la influencia de los vientos cálidos del trópico y la proximidad al nevado los Ilinizas. **Ver Figura 4**

**Figura 4.** Clasificación del tipo de clima



**Elaborado por:** Moposita Esthela & Tipantiza Estefanía

**Fuente:** INAMHI, 2003

Gillispie et al., (2015), menciona que el clima cumple un papel fundamental en la atmósfera, debido a que el arsénico puede ser distribuido en el aire, agua y suelo a través de tormentas de polvo y aguas de escorrentías, por lo que la contaminación por arsénico está, muy extendida debido a su fácil dispersión.

En áreas de clima árido, el aumento de la concentración de arsénico en las aguas superficiales se ve favorecido por procesos de evaporación, que además provocan un aumento en la

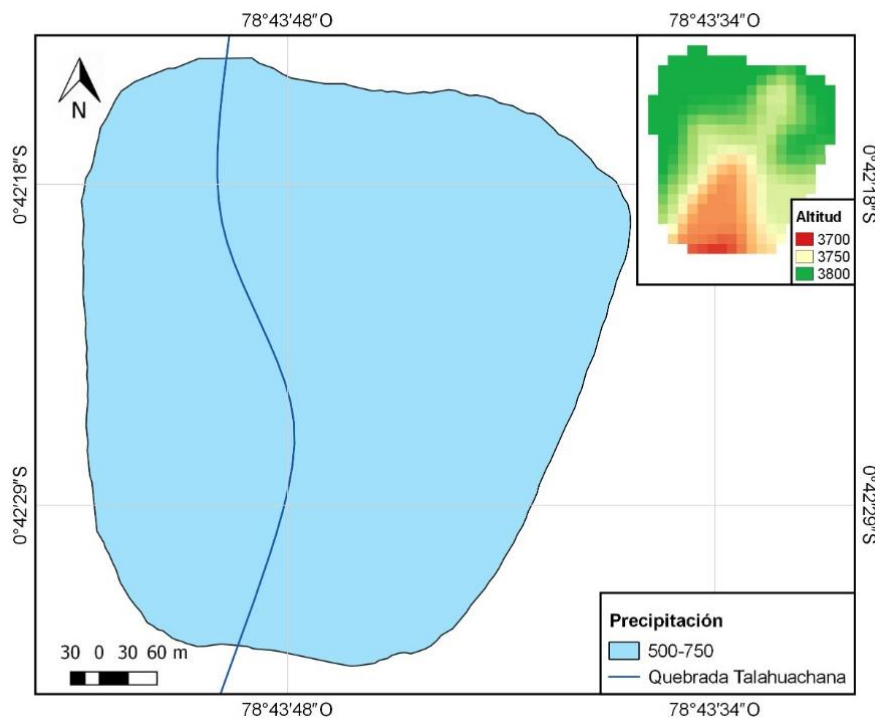
salinidad y pH de las aguas, y los climas fríos tiende a obtener un color amarillento, esto es debido a la condensación de vapor a temperaturas muy bajas (Alarcón et al., 2013).

El viento es un agente que también produce la movilización o migración en forma particular de los metales pesados que se encuentran en la superficie del suelo. En este caso, los factores que gobiernan el proceso son la naturaleza de las partículas que transporta y la intensidad del viento (R. Luna & Rodríguez, 2016).

### 12.3.2. Precipitación

Hay dos regímenes de precipitación la que está en dirección a los valles andinos con 500 a 750 milímetros anuales y la que se está influenciando por vientos calientes tropicales con 700 a 1000 milímetros anuales. En la zona de muestreo la precipitación va de 500 a 750 mm predominando en toda el área. **Ver Figura 5**

**Figura 5.** Rangos de precipitación



**Elaborado por:** Moposita Esthela & Tipantiza Estefanía

**Fuente:** INAMHI, 2003

La lluvia cumple un papel importante en la limpieza de la atmósfera ya que a través de este proceso se remueve la mayor cantidad de iones presentes en la misma. Siendo capaz de empujar todas las partículas contaminantes hacia el agua y suelo (Doria, 2017).

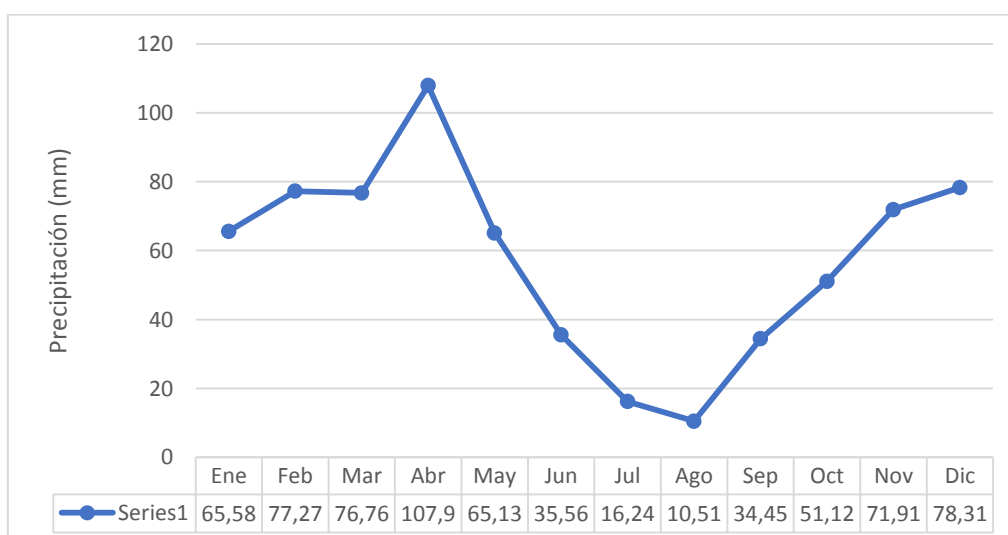
Zafra et al., (2015), han considerado el aporte de metales pesados (As) desde la fracción sólida de la escorrentía superficial, es decir, de los sedimentos acumulados en tiempo seco sobre las superficies viales; los cuales fueron probablemente removidos y transportados por la escorrentía durante los periodos de aumento de la precipitación.

Fernández, (2012) menciona que la movilidad en agua es la menos agresiva, las disoluciones acuosas disuelven principalmente la fracción de arsénico más biodisponible, aquella que puede ser movilizadada hacia la capa freática por infiltración, es decir, puede informar sobre la fracción intercambiable del arsénico (fracción que puede participar en los procesos de equilibrio entre la fase sólida y solución del suelo).

### **Análisis de los datos de precipitación de la estación meteorológica M1066**

Mediante la información recopilada de los anuarios meteorológicos del INAMHI del periodo 2000 - 2013 de la estación M1066 (COTOPILALO CONVENIO INAMHI-CESA), se pudo determinar la concentración de precipitación, que existe entre el mes de diciembre y enero, observando un declive de 12,73 mm, el cual influye directamente con la recolección de la muestra debido a que no existe arrastre de sedimentos, influyendo en los resultados evaluados. En cambio, para el mes de marzo la precipitación aumento 11,18 mm el cual puede influir en el segundo análisis ya que existe mayor arrastre de sedimentos. **Ver gráfico 1**

**Gráfico 1.** Precipitación periodo 2000 - 2013

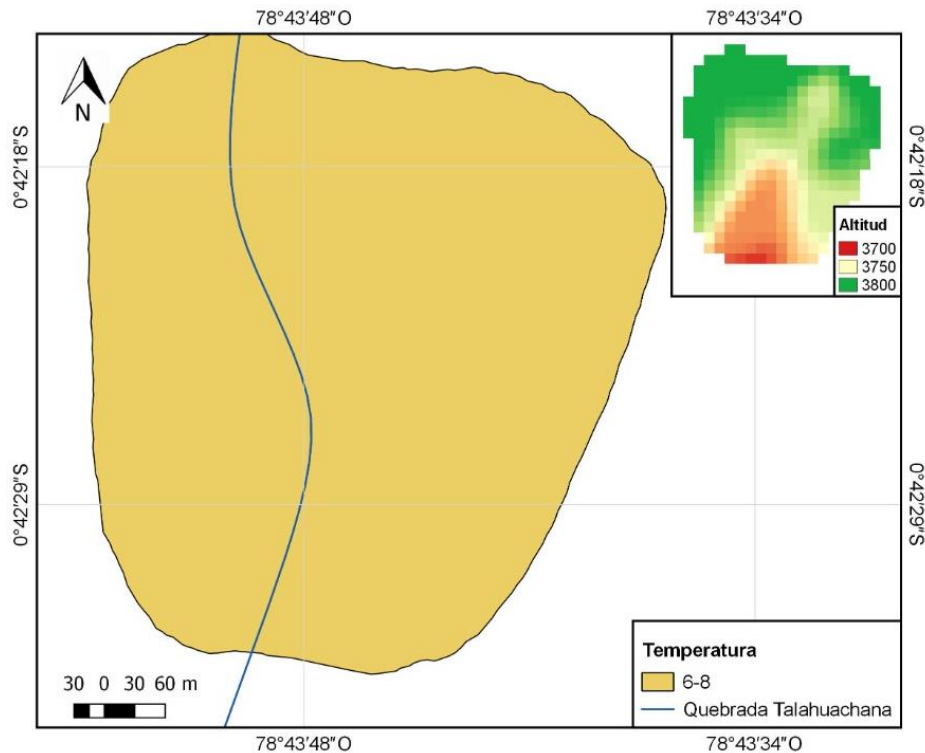


**Elaborado por:** Moposita Esthela & Tipantiza Estefanía

### 12.3.3. Temperatura

El área de estudio presenta temperaturas que oscilan entre los 6 - 8°C. En general las temperaturas oscilan entre los 6 ° C a 12° C. Dentro de la clasificación de formaciones bioclimáticas, el área de Toacaso le corresponde a la Ecuatorial de alta montaña y nivel detallado en la **Figura 6**.

**Figura 6.** Rangos de temperatura



**Elaborado por:** Moposita Esthela & Tipantiza Estefanía

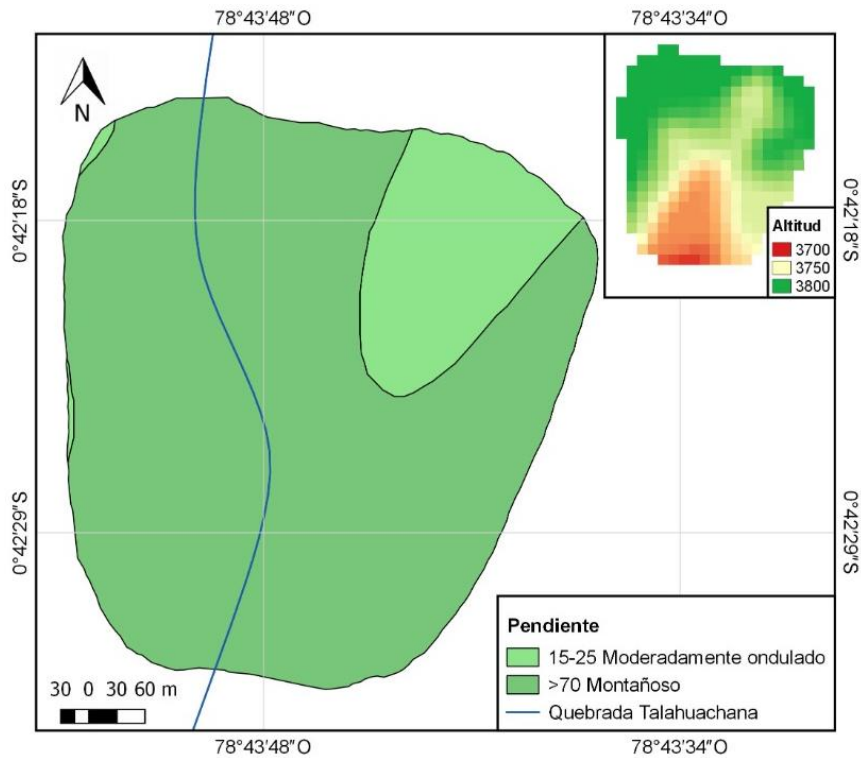
**Fuente:** INAMHI, 2003

El arsénico es un elemento que resiste a temperaturas frías que oscilan de 4 °C a 10°C, este metal se bioacumula contaminando el agua con arsénico. Las altas concentraciones de arsénico pueden registrar condiciones oxidantes y un pH alto (Ahmad et al., 2018)

### 12.3.4. Pendiente

El área de estudio presenta dos tipos diferentes de pendientes, la misma que esta detallada en la **Figura 7**. Encontrándose distribuidas de la siguiente manera, la pendiente de 15 – 25 Moderadamente ondulado con un 15% y Montañoso con un 85% que presenta mayor inclinación debido a que se encuentra en las faldas del estratovolcán Iliniza Sur.

**Figura 7.** Tipos de pendiente



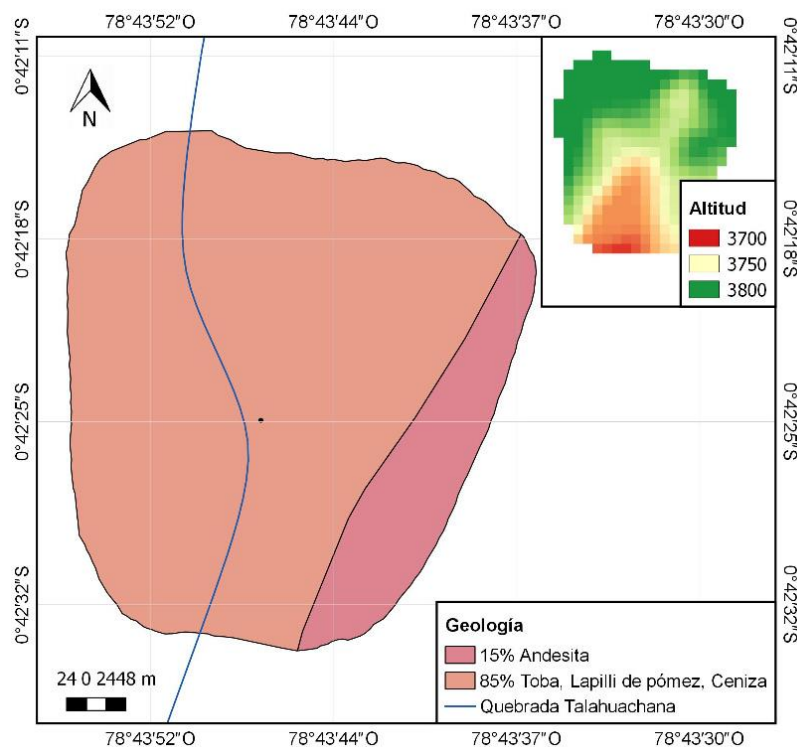
**Elaborado por:** Moposita Esthela & Tipantiza Estefanía

**Fuente:** MAGAP, 2016

### 12.3.5. Hidrogeología

En la **Figura 8** se puede apreciar que el área de estudio presenta una litología con un 15% de Andesita, roca magnética muy común en los Andes, su formación es de origen Volcánico y tiene una permeabilidad baja, el 85% restante está formada de Toba, Lapilli de pómez, Ceniza, de origen Cangahua, presentando una permeabilidad baja de tipo porosidad intergranular.

**Figura 8.** Clasificación Hidrogeológica



**Elaborado por:** Moposita Esthela & Tipantiza Estefanía

**Fuente:** MAGAP, 2016

Castelo, (2015), menciona que debido a que el Ecuador se encuentra localizado en el cinturón de fuego del pacífico, el arsénico que está presente en aguas, suelos, sedimentos es de origen volcánico. Los niveles elevados de arsénico en aguas subterráneas se deben principalmente a la existencia de depósitos naturales. Acuíferos que se encuentran cercanos a zonas con alta actividad volcánica, siendo capaces de acarrear altos niveles de arsénico, ya que el agua al tener contacto con las rocas ígneas arrastra la mayor parte de minerales contenido en ellas.

Alarcón et al., (2013), señala que el arsénico es movilizado al ambiente a través de una combinación de reacciones que incluyen tanto procesos naturales (meteorización, actividad

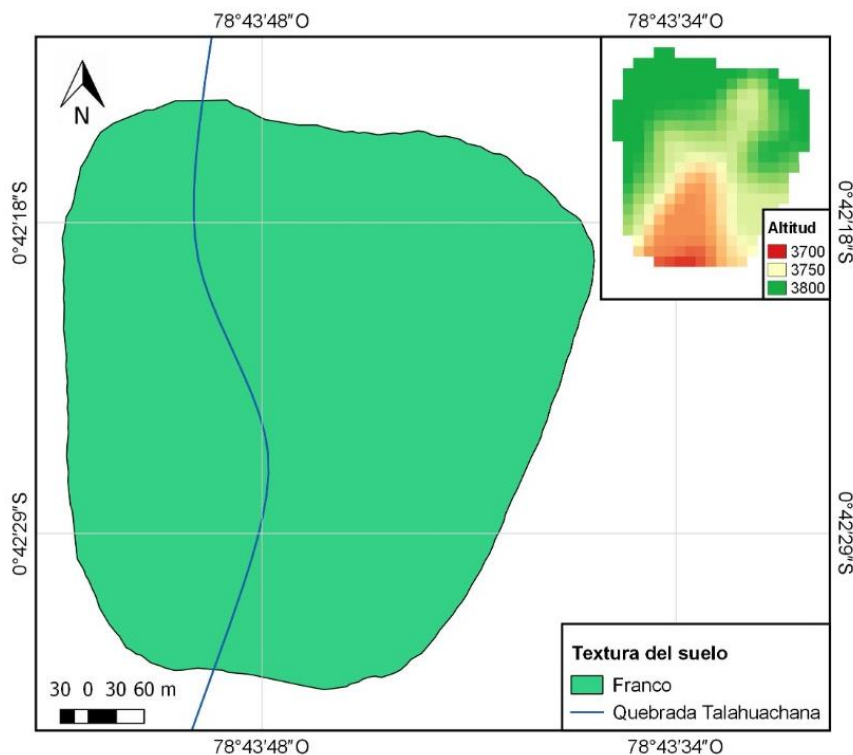


biológica, emisiones volcánicas), así como procesos antropogénicos (actividad minera, combustibles fósiles, pesticidas, herbicidas, desecantes, conservantes de madera aditivos de alimentos de ganado, semiconductores, pigmentos, entre otros).

### 12.3.6. Textura de suelo

En el área de estudio existe un solo tipo de textura que comprende específicamente a suelos franco, es un suelo que tiene una mezcla relativamente uniforme. Es blando o fiable que se desmenuza fácilmente, además es bastante suave y ligeramente plástico. **Ver Figura 9**

**Figura 9.** Tipo de textura de suelo



**Elaborado por:** Moposita Esthela & Tipantiza Estefanía

**Fuente:** MAGAP, 2016

Jiménez & Ramos, (2019), señala que el arsénico presenta mayor movilidad en suelos con partículas grandes, por ejemplo, en suelos de arena fina existe mayor movilidad que en suelos arcillosos (hasta 5 veces mayor). Sin embargo, cuando las partículas son muy grandes (arena gruesa o grava) la biodisponibilidad presenta una correlación negativa.

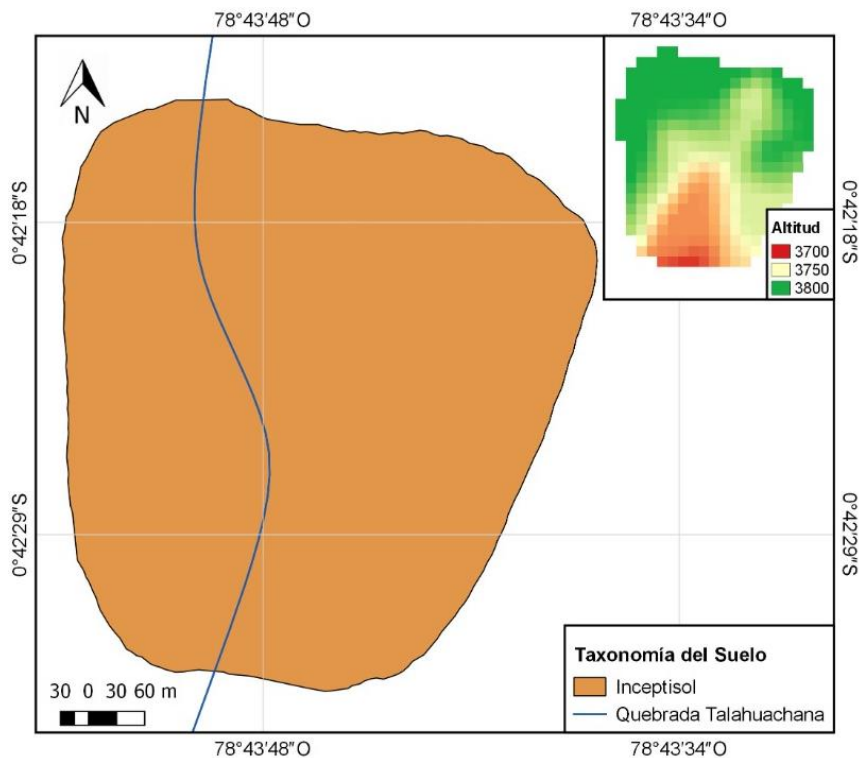
Moreno, (2018) menciona que puede aludir que las concentraciones de arsénico están relacionada a la textura con la actividad química del suelo, la capacidad de infiltración y

retención de líquidos en su estructura corresponde a suelos que no poseen una buena capacidad de infiltración de líquidos debido a su textura franco.

### 12.3.7. Taxonomía de suelo

En la **Figura 10** de la clasificación taxonómica del suelo presenta un solo tipo de suelo Inceptisol con características poco definidas, no presentan intemperación extrema. Suelos de bajas temperaturas, pero de igual manera se desarrollan en climas húmedos (fríos y cálidos). Presentan alto contenido de materia orgánica y tienen una baja tasa de descomposición de materia orgánica debido a las bajas temperaturas, pero en climas cálidos la tasa de descomposición es mayor. Son suelos volcánicos para los trópicos ocupan las laderas más escarpadas desarrollándose en rocas recientemente expuestas.

**Figura 10.** Clasificación taxonómica



**Elaborado por:** Moposita Esthela & Tipantiza Estefanía

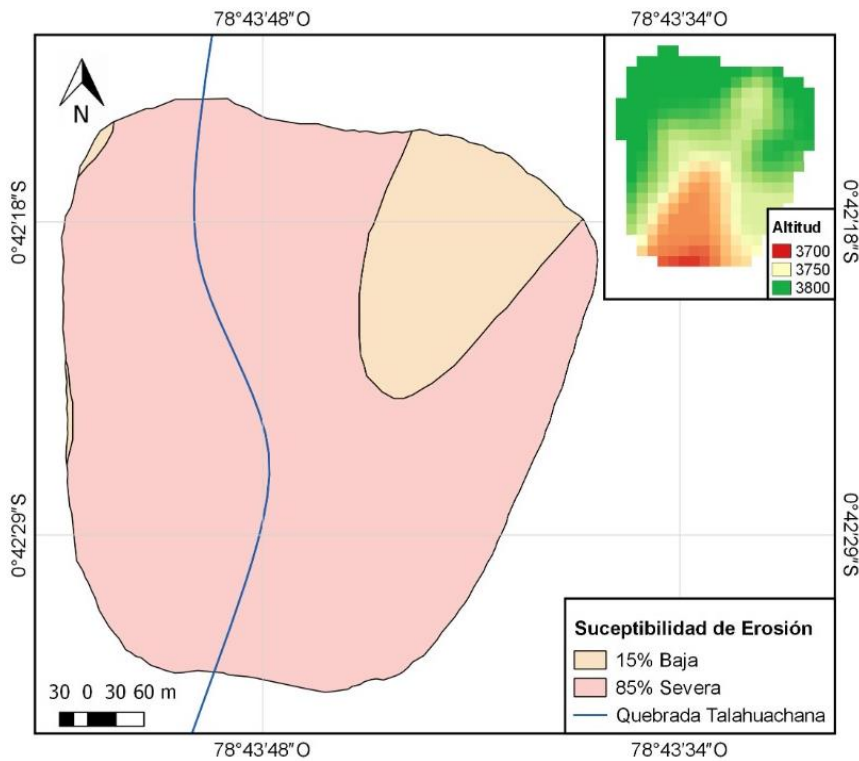
**Fuente:** MAGAP, 2016

Los Inceptisoles del área evaluada son suelos derivados tanto de depósitos fluviónicos residuales y están formados por materiales líticos de naturaleza volcánica y sedimentarias. Son superficiales y moderadamente profundos y de topografía plana a quebrada (Estrella & Yépez, 2017).

### 12.3.8. Erosión de suelo

La erosión está dada especialmente por la ausencia de cobertura vegetal, el uso de la maquinaria agrícola que harán a favor de la pendiente y las fuertes pendientes usadas para la producción agropecuaria. El 15% del área de estudio presenta un proceso de erosión baja y el 85% alcanza un proceso de erosión severa en la quebrada Talahuachana. **Ver Figura 11**

**Figura 11.** Susceptibilidad de erosión del suelo



**Elaborado por:** Moposita Esthela & Tipantiza Estefanía

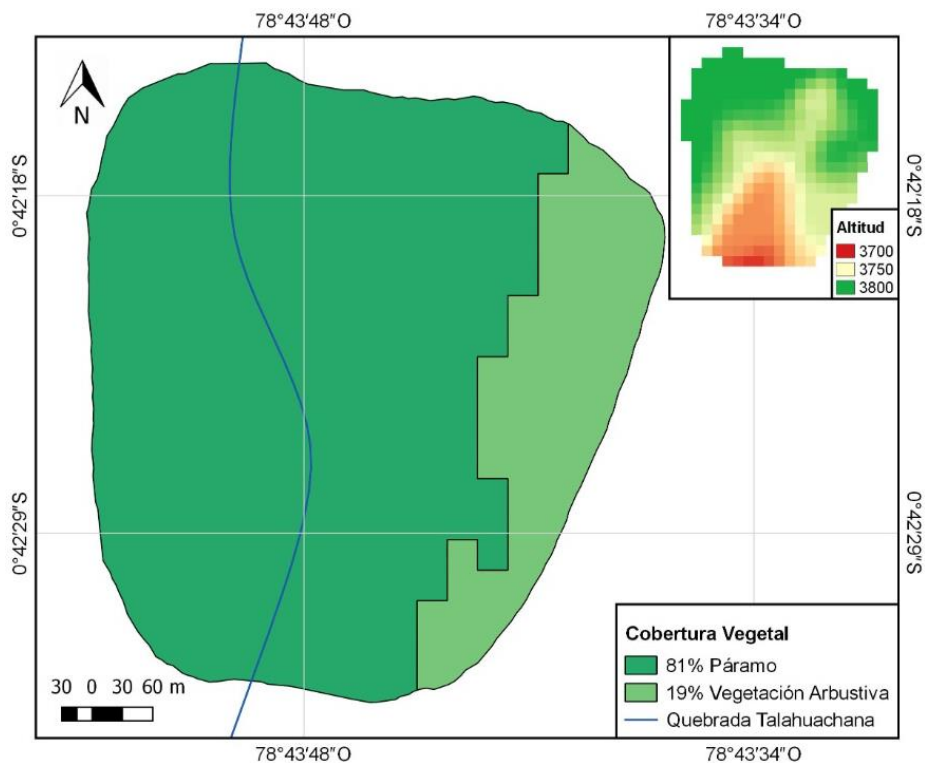
**Fuente:** MAGAP, 2016

En los suelos se determina el contenido de arsénico, en la actividad volcánica se introduce el arsénico en la atmósfera en forma de gases, que regresan a la tierra en forma de polvo o precipitación. La contribución anual del arsénico en el suelo es pequeña, pero agregando una cantidad significativa a la columna sedimentaria durante tiempos geológicos, la abundancia de arsénico en la corteza continental de la tierra (E. Campaña & Moreno, 2020)

### 12.3.9. Cobertura vegetal

En el área de estudio se ha identificado varios ecosistemas de páramos; páramo herbáceo, páramo seco, páramo arbustivo y páramo de almohadilla, en estos espacios naturales se localizan también relictos de bosque nativo, pequeño en proporción, pero significativamente importante para el ecosistema. La formación boscosa corresponde a la clasificación del Bosque Montano Alto Siempre Verde. Se considera que el área de estudio el 81% corresponde a páramo y el 19% se encuentra ocupada por vegetación arbustiva y herbácea como se observa en la **Figura 12**.

**Figura 12.** Cobertura del suelo



**Elaborado por:** Moposita Esthela & Tipantiza Estefanía

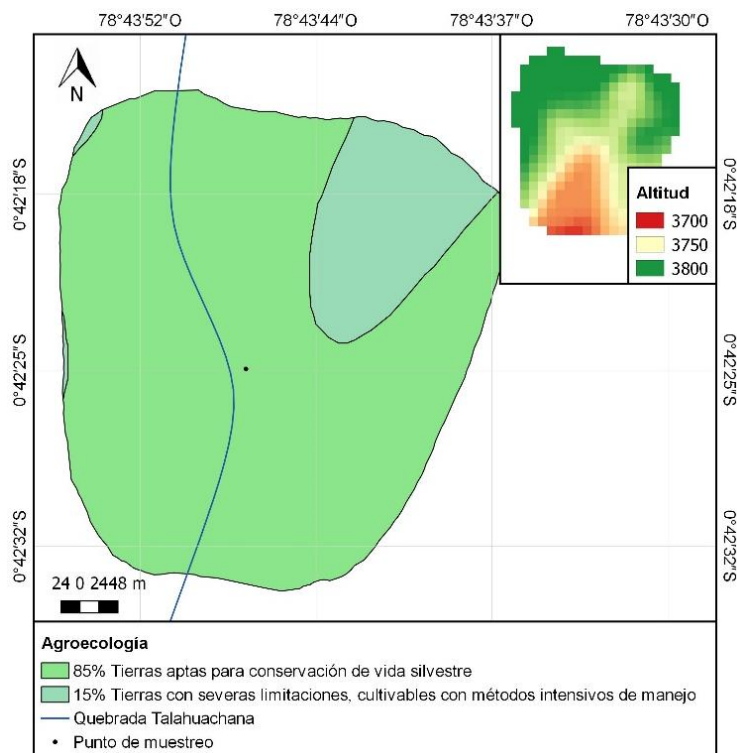
**Fuente:** MAGAP, 2016

Las plantas se hallan expuestas al arsénico presente tanto en el agua de riego como en el suelo. Las formas inorgánicas son absorbidas a través de diferentes transportadores y son transformadas y movilizadas a otros tejidos de la planta, el arsénico afecta el crecimiento y la germinación de las plantas (M. Rodríguez et al., 2016)

### 12.1.10 Agroecología

En la zona de estudio existe la presencia de dos tipos de agroecología, las mismas que se encuentran dispersas en la zona, permitiéndonos identificar de tal manera el porcentaje y el respectivo uso teniendo con mayor porcentaje tierras aptas para conservación de vida silvestre con un 85%, seguido por tierras con severas limitaciones, cultivos con métodos intensivos de manejo con un 15%. **Ver Figura 13**

**Figura 13.** Clasificación Agroecología



**Elaborado por:** Moposita Esthela & Tipantiza Estefanía

**Fuente:** MAGAP, 2016

## 12.4. Concentración de arsénico y calidad de agua

### 12.4.1. Concentración de arsénico y calidad de agua para uso doméstico

Al realizar la comparación de los resultados obtenidos en el laboratorio LANCAS para el mes de enero, con el Acuerdo Ministerial 097 A, para la calidad de agua destinada para consumo humano, los parámetros físicos, químico y microbiológicos se encuentran dentro de los límites máximos permisibles (LMP). Pero en comparación con la Norma Técnica Ecuatoriana (NTE) INEN 1108, el arsénico supera el rango establecido, por lo que el agua no es apta para consumo.

Los resultados de segundo muestreo realizado en el mes de marzo, señalan que 6 de 7 parámetros se encuentran dentro de los LMP al compararlos con el Acuerdo Ministerial 097 A y la NTE INEN 1108. Sin embargo, el arsénico supera los LMP establecidos por la ley.

Al comparar los resultados obtenidos del mes de enero y marzo podemos observar que las concentraciones de arsénico varían, esto podría deberse a que en el mes de enero la precipitación disminuyó evitando que los sedimentos sean arrastrados, en cambio, en el mes de marzo fue distinto debido a que la precipitación aumentó provocando que los sedimentos sean arrastrados con mayor facilidad.

**Tabla 9.** Análisis de parámetros físico, químicos y microbiológicos para consumo humano

Parámetros	Expresado como	Unidades	Resultados Muestreo 1	Resultados Muestreo 2	LMP en el AM 097 A	Límite permitido INEN
Temperatura	T	°C	7	8	-	-
<b>Arsénico</b>	<b>As</b>	<b>mg/L</b>	<b>0.038357</b>	<b>1,593570</b>	<b>0.1</b>	<b>0.01</b>
Coliformes fecales	NMP	NMP/100mL	2,0	2,0	1000	-
Manganeso	Mn	mg/L	0,694	0,526	-	s-
Oxígeno Disuelto	OD	mg/L	6,46	7,90	-	-
Ph	pH	-	7,64	7,7	6 – 9	6,5 – 8,5
Sulfatos	$SO_4^{-2}$	mg/L	62,04	46,15	500	

**Elaborado por:** Moposita Esthela & Tipantiza Estefanía

### 12.4.2. Concentración de arsénico y calidad de agua para uso de riego

Una vez obtenido los resultados del análisis físico, químico y microbiológico realizado a la muestra de agua obtenida de la quebrada Talahuachana, se procedió a realizar la respectiva comparación con la tabla 3 del Acuerdo Ministerial 097 A, que establece los LMP para uso de agua destinada para riego; podemos concluir que los parámetros de: pH, sulfatos, oxígeno disuelto y coliformes fecales, se encuentran dentro de los LMP establecidos por la Ley, sin embargo los parámetros de arsénico y manganeso sobrepasan los LMP. **Ver Tabla 10**

**Tabla 10.** Análisis de parámetro físico, químico y microbiológicos para uso de riego

Parámetros	Expresado como	Unidades	Resultados Muestreo 1	Resultados Muestreo 2	LMP (AM 097 A)
Temperatura	T	°C	7	8	-
<b>Arsénico</b>	<b>As</b>	<b>mg/L</b>	<b>0.038357</b>	<b>1,593570</b>	<b>0,1</b>
Coliformes fecales	NMP	NMP/100ml	2,0	2,0	1000
<b>Manganeso</b>	<b>Mn</b>	<b>mg/L</b>	<b>0,694</b>	<b>0,526</b>	<b>0,2</b>
Oxígeno Disuelto	OD	mg/L	6,46	7,90	3
pH	pH	-	7,64	7,7	6 – 9
Sulfatos	$SO_4^{-2}$	mg/L	62,04	46,15	2500

*Elaborado por:* Moposita Esthela & Tipantiza Estefanía

#### Manganeso

De acuerdo al análisis realizado se obtuvo que el manganeso supera los LMP, establecidos en el Acuerdo Ministerial 097 A, con 0,694 mg/L.

La presencia de manganeso reduce la biodisponibilidad de arsénico. Esto se debe a que el arsénico presenta afinidad por los óxidos de estos elementos, con los cuales forman complejos, estas reacciones reducen la movilidad del arsénico en el suelo (Jiménez & Ramos, 2019)

#### Oxígeno disuelto

Peña, (2007), menciona que la cantidad de oxígeno disuelto en el agua tiene un gran impacto en el desarrollo de la vida y de muchos procesos que ocurren en el medio acuático. Los organismos vivos necesitan oxígeno para mantener su metabolismo, y si su captación se

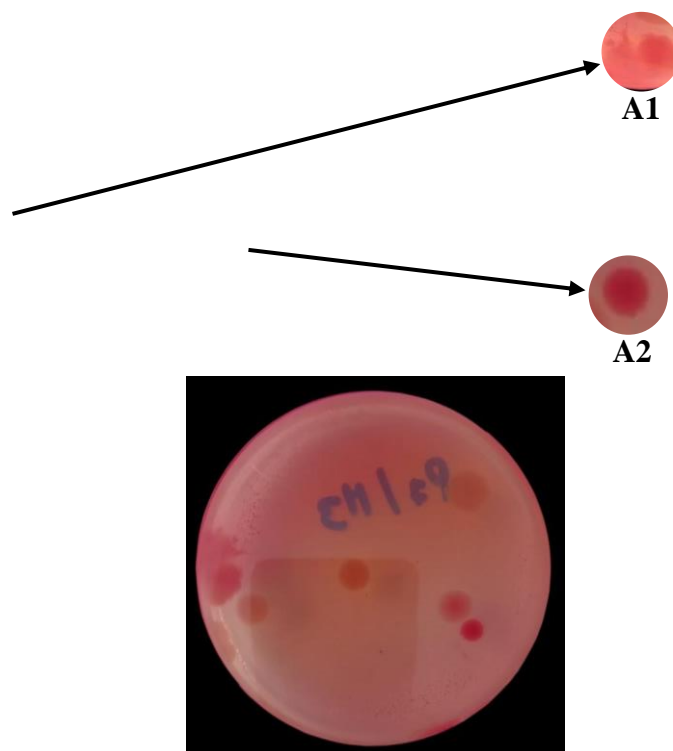
realiza a través de la respiración, por lo tanto, cuando existen niveles muy bajos de Oxígeno disuelto, puede ser un indicio de que existen altas concentraciones bacterianas.

## 12.5. Crecimiento de microorganismos mes de enero

### 12.5.1. Crecimiento y observación de colonias de Enterobacterias

Para la preparación de la muestra madre se utilizó como medio de cultivo el Agar MacConkey al 3%. La muestra de agua utilizada fue recolectada el 11 de febrero de 2022 a las 10:57 am, la cual fue trasladada a los Laboratorios de la Universidad Técnica de Cotopaxi, carrera de Ingeniería Ambiental, donde se realizó la siembra siendo las 16:40 pm, una vez hecha la siembra se dejó en incubación durante 3 días. Finalmente se realizó la identificación de las colonias (A1, A2 y A3).

*Figura 14.* Muestra Madre



*Elaborado por:* Moposita Esthela & Tipantiza Estefanía

En la muestra madre se observó el crecimiento de colonias de bacterias, de las cuales se escogieron dos colonias (A1 y A2), las mismas que fueron escogidas para realizar el aislamiento en Agar nutritivo, estas colonias presentan características circulares, con una

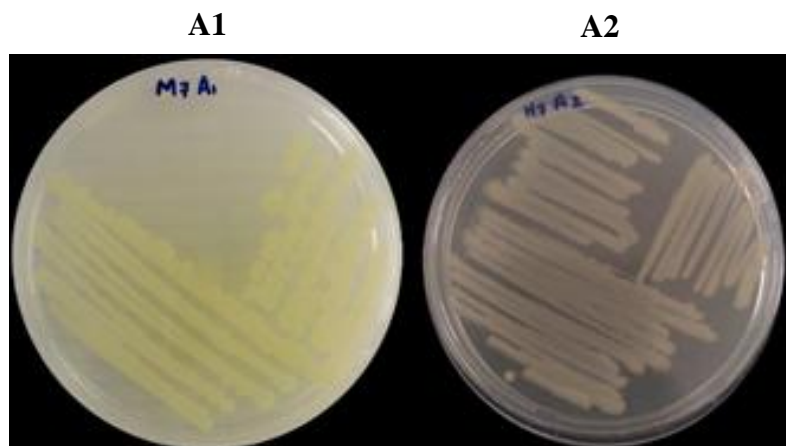


elevación convexa y color rojizo con un halo turbio y se observa la fermentación de la lactosa en ácido láctico.

### 12.5.2. Aislamiento y siembra por estrías

Una vez identificadas las colonias (A1 y A2) de la muestra madre se realizó un nuevo medio de cultivo utilizando Agar Nutritivo al 3%. El 18 de febrero del 2022 a las 11:40 am se realizó el aislamiento de colonias (A1 y A2) utilizando la técnica de siembra por estrías la cual nos permite aislar las bacterias que dan lugar a colonias separadas. Una vez finalizado este proceso se dejó en incubación por 3 días.

**Figura 15.** Cultivo de colonias aisladas de Agar MacConkey y cultivadas en Agar Nutritivo, concentración 3%



**Elaborado por:** Moposita Esthela & Tipantiza Estefanía

Con el método de cultivo por estrías empleado para aislar las colonias (A1 y A2), podemos observar la abundancia en el crecimiento de los microorganismos, ya que se realizó en el Agar Nutritivo, el cual presenta las principales fuentes de desarrollo bacteriano (carbono, nitrógeno, vitaminas, entre otros), para un crecimiento exponencial. Las colonias presentaron un color amarillento.

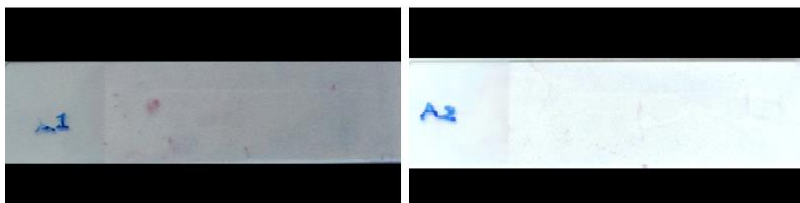
### 12.5.3. Tinción de Gram

Para la identificación de enterobacterias presentes en nuestro medio de cultivo, se realizó la tinción diferencial de Gram en dos diferentes placas (A1 y A2).

**Figura 16.** Placas de tinción de Gram

**A1**

**A2**

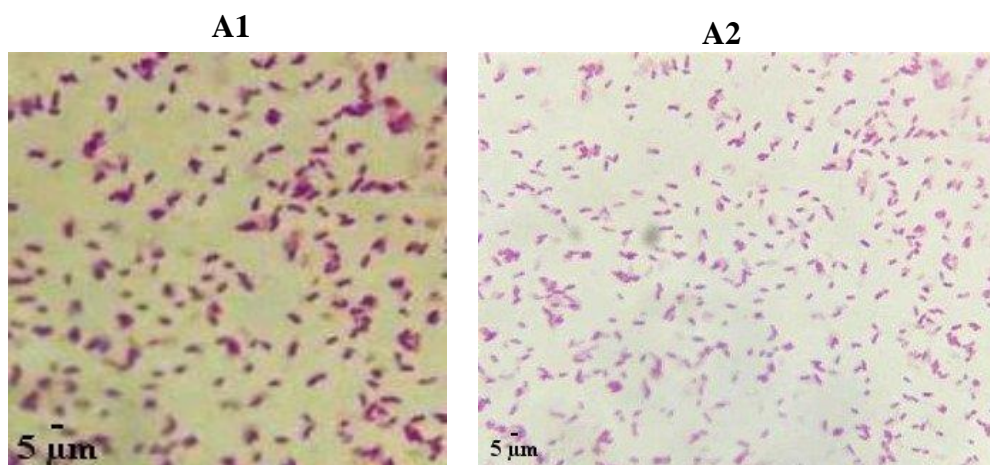


**Elaborado por:** Moposita Esthela & Tipantiza Estefanía

La figura 17, representa en detalle la observación al microscopio de las placas de tinción de Gram obtenidas a partir de un inóculo de los cultivos en agar nutritivo al 3% de concentración de las colonias A1 y A2 respectivamente. Una vez realizada la tinción de Gram, se procedió a identificar qué tipo de enterobacteria creció en nuestro medio de cultivo, con ayuda de un microscopio óptico (lente S100 x).

En la imagen A1 visualizada en el microscopio (lente S100 x), se observa un conjunto de bacterias pintadas de color rojizo, en cambio en imagen A2 existen microorganismos teñidos de color rosado, siendo estas colonias bacterias de tipo Gram negativo debido a su respuesta frente a la tinción de Gram. Además, se distingue la forma de las bacterias, las cuales corresponden al tipo bacilos y según la escala micrométrica dichas bacterias miden aproximadamente entre 2 a 3  $\mu\text{m}$ .

**Figura 17.** Tinción Gram de bacterias observadas al microscopio en lente S100X. Frotis de colonias A1 y A2, posiblemente bacilos Gram (-). Escala 5  $\mu\text{m}$



**Elaborado por:** Moposita Esthela & Tipantiza Estefanía

Se obtuvo como posible resultado colonias de *Escherichia*, en la muestra madre realizada se evidenció el crecimiento de colonias de color rojizo y rosadas, con un halo turbio, distinguiendo la fermentación de la lactosa en ácido láctico. Con la tinción de Gram se

observa la presencia de bacterias bacilos Gram negativos (figura 18), con una medida de 2 a 3  $\mu\text{m}$  aproximadamente.

Dicha suposición es probable porque: “La cepa de *E. coli* células DH5a tiene poca susceptibilidad al arsénico” (Matsuda et al., 2016), además “*E. coli* tiene una capacidad significativamente mayor para acumular especies de arsénico inorgánico y arsénico orgánico en el agua con alta selectividad y afinidad (Yang et al., 2013).

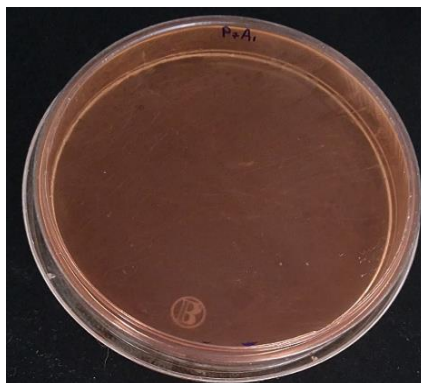
Saltikov & Olson, (2002) mencionan que “Se han aislado bacterias que son resistentes a concentraciones letales de arsénico (arsenito de sodio superior a 5 mM). Pero se sabe poco sobre la genética involucrada en la resistencia al arsénico, en bacterias ambientales. Se han detectado plásmidos en algunas bacterias que exhiben altos niveles de resistencia al arsenato, arsenito y antimonio. Además, el loci *Asr* también se han encontrado en cromosomas de *Pseudomonas aeruginosa* y *E. coli*”

Por lo tanto, los autores nombrados afirmaron que las enterobacterias específicamente la *Escherichia* son resistentes a hábitats con concentraciones altas arsénico como en el caso de nuestra área de estudio que se presenta 0.038357 mg/L, y las colonias que obtuvimos en los resultados tienen mayor probabilidad de ser cepas de *Escherichia*.

#### 12.6. Crecimiento de microorganismos mes de marzo

Para la preparación de la muestra se utilizó como medio de cultivo el Agar MacConkey al 3%. La muestra de agua utilizada fue recolectada el 16 de marzo de 2022 a las 10:30 am, la cual fue trasladada a los Laboratorios de la Universidad Técnica de Cotopaxi, carrera de Ingeniería Ambiental, donde se realizó la siembra, una vez hecha la siembra se dejó en incubación durante 3 días.

**Figura 18.** Cultivo de agar MacConkey al 3%



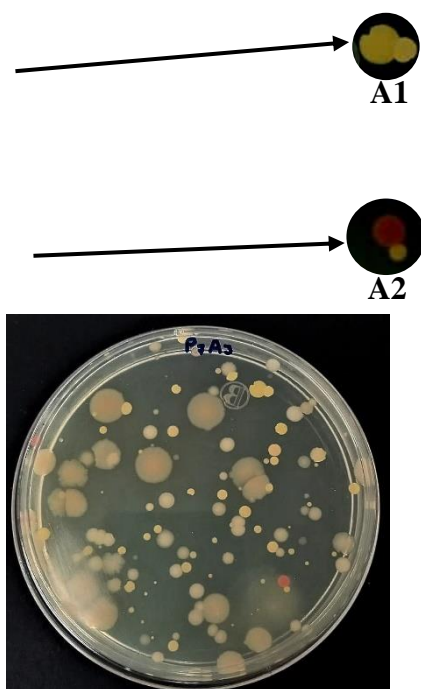
*Elaborado por:* Moposita Esthela & Tipantiza Estefanía

En la siembra realizada en agar MacConkey, no existió el crecimiento de enterobacterias, esto puede deberse a que se muestreo en la época lluviosa donde la precipitación aumento en referencia con el mes de enero (65.58 mm) que si se observó el crecimiento de enterobacterias.

### 12.6.1. Cultivo de colonias en agar nutritivo por inmersión

Debido a que no existió el crecimiento de enterobacterias en agar MacConkey, se realizó un nuevo medio de cultivo en agar nutritivo al 3% de concentración. El método de siembra utilizado fue de inmersión, dando como resultado la presencia de colonias de color rosa, amarillo y beige como se observa en la figura 19.

*Figura 19.* Cultivo de colonias en Agar Nutritivo al 3%



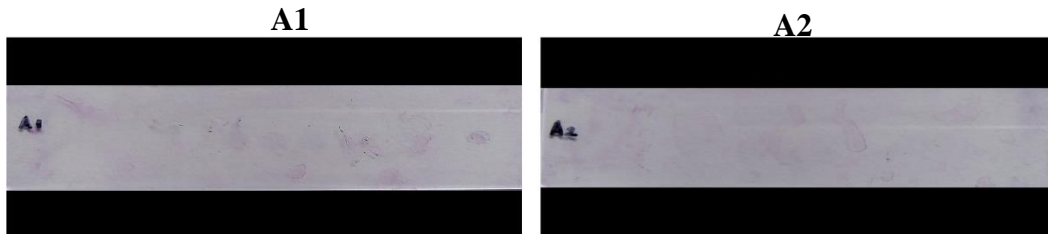
*Elaborado por:* Moposita Esthela & Tipantiza Estefanía

Las colonias A1 y A2, fueron escogidas debido a sus características. La colonia A1 es de tamaño pequeño con una forma irregular y bordes ondulados, con una pigmentación de color amarillo y una elevación convexa. En cambio, la colonia A2, presenta las mismas características que la colonia A1, a diferencia de que esta colonia es de color rosa.

### 12.6.2. Tinción de Gram

Para la identificación de los microorganismos presentes en nuestro medio de cultivo, se realizó la tinción diferencial de Gram en dos diferentes placas (A1 y A2).

**Figura 20.** Placas de tinción de Gram

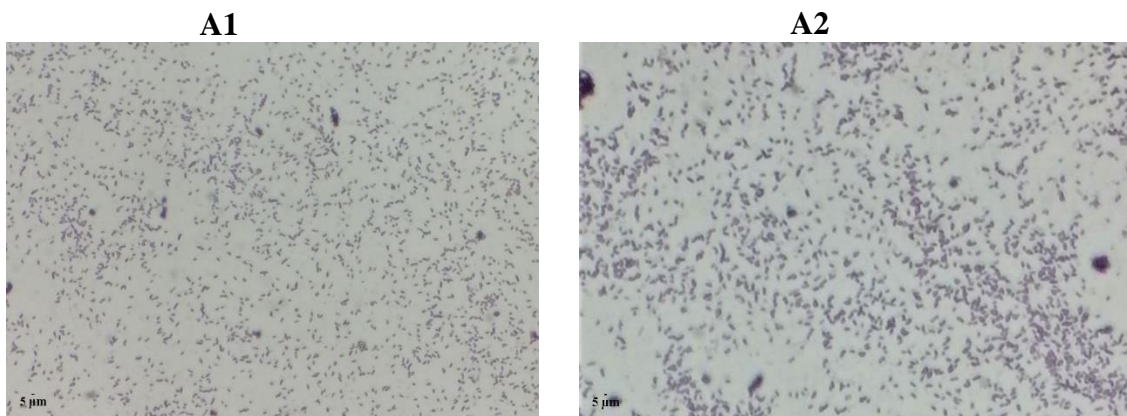


**Elaborado por:** Moposita Esthela & Tipantiza Estefanía

La figura 21, representa en detalle la observación al microscopio de las placas de tinción de Gram obtenidas a partir de un inóculo del cultivo en agar nutritivo al 3% de concentración. Una vez realizada la tinción de Gram, se procedió a identificar qué tipo de microorganismo creció en nuestro medio de cultivo, con ayuda de un microscopio óptico (lente S100 x).

En las imágenes A1y A2 visualizada en el microscopio (lente S100 x), se observa un conjunto de bacterias teñidos de color rosado, siendo estas colonias bacterias de tipo Gram negativo debido a su respuesta frente a la tinción de Gram. Además, se distingue la forma de las bacterias, las cuales corresponden al tipo bacilos y según la escala micrométrica dichas bacterias miden aproximadamente entre 1,5 a 3,8  $\mu\text{m}$ .

**Figura 21.** Tinción Gram de bacterias observadas al microscopio en lente S100X. Frotis de colonias A1 y A2, posiblemente bacilos Gram (-). Escala 5 $\mu\text{m}$



**Elaborado por:** Moposita Esthela & Tipantiza Estefanía

Se obtuvo como posible resultado colonias de *Pseudomonas*, ya que se evidencio el crecimiento de colonias de color rosado y amarillo con halo turbio. Con la tinción de Gram se observa la presencia de bacterias de bacilos Gram negativos (figura 22), con una medida aproximada de 1,5 a 3,8  $\mu\text{m}$  aproximadamente.

Tarik et al. (2019), menciana que “La alta resistencia al arsénico que ofrece la bacteria (*Pseudomona aeruginosa*), debe ser aprovechada con fines de biorremediación.”

La remoción de arsénico del agua a condiciones naturales es mucho menor, lo que según Pellizzari et al. (2015), podría deberse a la presencia de otros microorganismos en el agua, como microalgas, que impiden que las *Pseudomonas aeruginosa*, presentes se desarrollen adecuadamente, debido a la competitividad que puede haber entre ellas por los nutrientes, interfiriendo una con la otra en su actividad metabólica y en su supervivencia.

Por lo tanto, los autores nombrados afirmaron que las enterobacterias específicamente la *Pseudomona* es resistentes a hábitats con concentraciones altas de arsénico como en el caso de nuestra área de estudio que se presenta 1,59 mg/L para el mes de marzo, por lo tanto, las colonias que obtuvimos en los resultados tienen mayor probabilidad de ser cepas de *Pseudomonas*.

Es recomendable aislar esta bacteria debido a que se encuentra en ecosistemas de alta montaña, ya que puede ser utilizada como agente de biorremediación.

### **13. IMPACTOS SOCIALES Y AMBIENTALES**

#### **Impacto ambiental**

Por medio de esta investigación se mide la concentración que existe de arsénico, pH, sulfatos, manganeso y oxígeno disuelto, en la quebrada Talahuachana el cual permite ver la calidad de agua si es apta para riego o consumo humano. El presente trabajo investigativo favorece a que los beneficiarios conozcan la calidad y grado de contaminación del agua esto permitirá socializar con los involucrados y buscar posibles alternativas para la remoción de arsénico entre las cuales tenemos la biorremediación microbiana que es una alternativa amigable con el ambiente.

#### **Impactos sociales**

El recurso hídrico es fundamental para el desarrollo de la vida del ser humano, plantas y animales, es por esto que la generación de conocimientos y el manejo racional del recurso hídrico contribuye al mejoramiento de la calidad de vida del hombre. Con el mejoramiento de la calidad de agua, las personas podrán consumir y expender productos agrícolas de calidad, sin riesgo de contraer enfermedades por el consumo de alimentos con altas concentraciones de arsénico; así mejorando el comercio y la plusvalía en la zona, que por ende los ingresos económicos de las personas aumentarían ayudando a mejorar su estilo de vida.

#### 14. PRESUPUESTO

La elaboración de nuestro proyecto tuvo un presupuesto de \$532, mismo que se encuentra detallado en la tabla 11.

**Tabla 11.** Presupuesto para la elaboración del proyecto

Recursos	PRESUPUESTO PARA LA ELABORACIÓN DEL PROYECTO				
	Descripción	Cantidad	Unidades	Valor unitario	Valor total
Material de oficina	Papel Bond	2	Paquetes	3.00	6.00
	Impresiones	240	Unidades	0.10	24.00
	Anillado	4	Unidades	1.10	8.40
				Subtotal	38.40
Equipo de protección	Mascarillas	10	Unidades	0.25	2.50
	Mallas para el cabello	5	Unidades	0.20	1.00
	Mandil	2	Unidades	20.00	40.00
	Guantes látex	6	Pares	0.75	4.50
	Botas	2	Pares	9.00	18.00
				Subtotal	66.00
Laboratorio	pH	1	Parámetro	4.92	4.92
	Arsénico	1	Parámetro	13.58	13.58
	Manganeso	1	Parámetro	14.09	14.09
	Sulfatos	1	Parámetro	7.59	7.59

	Oxígeno disuelto	1	Parámetro	7.00	7.00
	Coliformes fecales	1	Parámetro	16.09	16.09
	Agar Nutritivo	2	Onza	9.00	18.00
	Agar MacConkey	2	Onza	14.00	28.00
	Cajas Petri	2	Unidades	3.50	7.00
	Porta y Cubreobjetos		Unidades	2.80	5.60
	Alcohol	1	Unidad	4.80	4.80
	Agua destilada	5	Unidades	1.50	7.50
	Lugol	1	Unidad	24.00	24.00
	Safranina	1	Unidad	24.00	24.00
	Azul de metileno	1	Unidad	12.00	12.00
	Verde Malaquita	1	Unidad	3.40	3.40
				Subtotal	197.57
Otros	Transporte salida de campo	4		30.00	120.00
	Transporte de muestras laboratorio LANCAS	2		10.00	20.00
	Transporte para la compra de reactivos	6		5.00	30.00
	Transporte al Laboratorio de la UTC	15		2.50	37.50
	Alimentación	22		2.50	55.00
				Subtotal	262.50
				<b>TOTAL</b>	<b>532.07</b>

*Elaborado por:* Moposita Esthela & Tipantiza Estefanía.



## 15. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

### 15.1. Conclusiones

- La caracterización biofísica de la quebrada Talahuachana entre los 3700 a 3800 msnm, presenta una formación geológica del 15% de origen volcánico y 85% de cangahua con una permeabilidad baja, el mismo que cuenta con una pendiente moderadamente ondulada y montañosa, debido a que cuenta con suelos de textura franco arcilloso, con un mínimo de arrastre del arsénico y minerales hacia las comunidades aledañas a la quebrada.
- La concentración de arsénico a los 3747 msnm es de 0.038 mg/L, para el mes de enero el cual al ser comparado con la tabla 1 del Acuerdo Ministerial 097A, de agua para consumo humano se encuentra dentro de los LMP. Pero según la NTE INEN 1108 la concentración de arsénico obtenido sobrepasa los LMP siendo perjudicial para el ser humano. Por otra parte, al comparar los resultados con la tabla 3 del Acuerdo Ministerial 097A, de agua para uso agrícola o de riego, el arsénico no sobrepasa los LMP. Sin embargo, el manganeso sobrepasa los LMP establecidos en la norma, debido a esto el arsénico reduce su biodisponibilidad en el agua. Para el mes de marzo la concentración de arsénico aumento debido al incremento de la escorrentía de la quebrada con un valor de 1,59 mg/L, al realizar la comparación con el Acuerdo Ministerial 097 A y NTE INEN 1108 sobrepasa los LMP. Concluyendo que el agua proveniente de la quebrada Talahuachana no es apta para el consumo humano, ni para uso agrícola o riego.

- La relación entre enterobacterias y arsénico para el mes de enero, dan como posible resultado *Escherichia* ya que al realizar el cultivo microbiano se logró apreciar una colonia rojiza con halo que fermenta la lactosa, con la tinción de Gram se observó bacilos Gram negativos de aproximadamente 2 a 3  $\mu\text{m}$ , logrando distinguir que las enterobacterias pueden soportar el arsénico presente en el agua de la quebrada Talahuachana. Sin embargo, para el mes de marzo se logró identificar la posible presencia de *Pseudomonas* ya que al realizar el cultivo microbiano se logró apreciar colonias rosas. Siendo beneficiosa para una posible implementación de una biotecnología para la remoción de arsénico.

## **15.2. Recomendaciones**

- Se recomienda realizar el muestreo de arsénico, tanto en época seca como lluviosa, ya que la influencia de la precipitación podría alterar la concentración del compuesto en la quebrada Talahuachana.
- Se recomienda socializar a las poblaciones aledañas a la quebrada Talahuachana, los resultados obtenidos de los parámetros físico, químicos y microbiológicos analizados.
- Para futuras investigaciones se recomienda realizar nuevos ensayos de evaluación de enterobacterias en especial del género *Escherichia* como microorganismo de remoción de arsénico del agua.

## 16. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Acuerdo Ministerial 097 A. (2015). *Acuerdo Ministerial 097 A*.

Ahmad, A., Khan, M., & Haque, M. (2018). Arsenic contamination in groundwater in Bangladesh: implications and challenges for healthcare policy. *Risk Management and Healthcare Policy, Volume 11*, 251–261. <https://doi.org/10.2147/RMHP.S153188>

Alarcón, M., Leal, L., & Martín, I. (2013). *Arsénico en Agua Presencia, cuantificación analítica y mitigación*. [www.indautor.sep.gob.mx](http://www.indautor.sep.gob.mx)

Alvear, A., Sánchez, H., Tapia, E., & Ordoñez, G. (2016). Agreed Statements of the Workshop-Seminar: “Sustainable Architecture” A Bioclimatic Strategies Approach: The Ecuadorian Case. *Estoa, 005(009)*, 133–149. <https://doi.org/10.18537/est.v005.n009.11>

ATSDR. (2012). *ToxFAQs™ sobre el manganeso*. [https://www.atsdr.cdc.gov/es/toxfaqs/es\\_tfacts151.pdf](https://www.atsdr.cdc.gov/es/toxfaqs/es_tfacts151.pdf)

Ávila, I., Correón, Y., Aguilar, R., López José, & Valencia, E. (2014). *Manual de Prácticas de Microbiología*. U. M. S. N .H. Facultad de Biología. [http://bios.biologia.umich.mx/obligatorias/botanica/man\\_microbiologia\\_25septiembre2014.pdf](http://bios.biologia.umich.mx/obligatorias/botanica/man_microbiologia_25septiembre2014.pdf)

Baquero, E., Mojica, M., & Piragauta, M. (2006). *Aislamiento, purificación y selección de bacterias como candidatos para ser utilizadas en procesos de biorremediación de Mancozeb (ethylenbiscliothio carbamate) utilizado en cultivos depapa*. 157–171. <https://revistas.udistrital.edu.co/index.php/revcie/article/view/342/511>

- Beltrán, K., Salgado, S., Cuesta, F., León, S., Romoleroux, K., Ortiz, E., Cádenas, A., & Velástegui, A. (2019). Distribución espacial, sistemas ecológicos y caracterización florística de los páramos en el Ecuador. *EcoCiencia*.
- Bolaños, J. (2016). Determinación de arsénico en agua potable del cantón del Grecia. *InterSedes*, 17(35), 1–11. <https://www.redalyc.org/pdf/666/66646380001.pdf>
- Bundschuh, J., Cumbal, L., Birkle, P., & Bhattacharya, P. (2009). Occurrence, health effects and remediation of arsenic in groundwaters of Latin America. *ResearchGate*. [https://www.researchgate.net/publication/231167255\\_Natural\\_Arsenic\\_in\\_Groundwater\\_of\\_Latin\\_America\\_-\\_Occurrence\\_health\\_impact\\_and\\_remediation](https://www.researchgate.net/publication/231167255_Natural_Arsenic_in_Groundwater_of_Latin_America_-_Occurrence_health_impact_and_remediation)
- Bush, L. (2021). *Introducción a las bacterias grampositivas*. <https://www.msdmanuals.com/es-ec/hogar/infecciones/infecciones-bacterianas-bacterias-grampositivas/introducci%C3%B3n-a-las-bacterias-grampositivas>
- Calva, L., & Torres, M. (2003). *Metales pesados y sus efectos en organismos*. UAM-I. <http://www2.izt.uam.mx/newpage/contactos/anterior/n51ne/metales.pdf>
- Campaña, A., & Nieto, C. (2011). *Contaminación de las aguas y políticas para enfrentarla*. <https://www.camaren.org/documents/contaminacion.pdf>
- Campaña, E., & Moreno, E. (2020). “Evaluación del sistema islas flotantes artificiales (IFA) en el tratamiento de aguas contaminadas por arsénico en la captación del proyecto de riego Chilla Grande”. <http://repositorio.utc.edu.ec/bitstream/27000/6775/1/PC-000919.pdf>
- Castelo, M. (2015). *Determinación de Arsénico y Mercurio en agua de consumo del cantón Rumiñahui por Espectrofotometría de Absorción Atómica*. <http://repositorio.puce.edu.ec/handle/22000/8658>
- Castillo, N. (2021, March 22). *Microorganismos en el agua ¿Debemos preocuparnos?* <http://ciencia.unam.mx/leer/1098/microorganismos-en-el-agua-debemos-preocuparnos>
- Climate Change. (2013). Summary for Policymakers. In Intergovernmental Panel on Climate Change (Ed.), *Climate Change 2013 - The Physical Science Basis* (pp. 1–30). Cambridge University Press. <https://doi.org/10.1017/CBO9781107415324.004>
- Constitución de la República del Ecuador. (2008). *Constitución de la República del Ecuador*.

- Doménech, A. (2020). *Medios de cultivo*.  
<https://www.uib.cat/depart/dba/microbiologia/seminarios/1%20Medios%20de%20cultivo.pdf>
- Doria, C. (2017). Metales pesados (Cd, Cu, V, Pb) en agua lluvia de la zona de mayor influencia de la mina de carbón en La Guajira, Colombia. *Revista Colombiana de Química*, 46(2), 37. <https://doi.org/10.15446/rev.colomb.quim.v46n2.60533>
- Estrella, J., & Yépez, K. (2017). *Determinación de la concentración de arsénico total en cultivos de arroz en la provincia de El Oro y su relación con propiedades físicas y químicas del suelo, agua y planta*.  
<http://repositorio.espe.edu.ec/xmlui/handle/21000/12612>
- Fariñas, M., & Martínez, L. (2013). Infecciones causadas por bacterias gramnegativas multirresistentes: enterobacterias, *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii* y otros bacilos gramnegativos no fermentadores. *Elsevier*, 402–409.  
[https://seimc.org/contenidos/documentoscientificos/eimc/seimc\\_eimc\\_v31n06p402a409.pdf](https://seimc.org/contenidos/documentoscientificos/eimc/seimc_eimc_v31n06p402a409.pdf)
- Fernández, A. (2012). El agua: un recurso esencial. *Química Viva*, 11(3), 147–170.  
<https://www.redalyc.org/pdf/863/86325090002.pdf>
- Fernández, B. (2015). *Ecotoxicología del arsénico: movilización en suelos y aguas, relevancia clínica y métodos de eliminación*.  
<http://147.96.70.122/Web/TFG/TFG/Memoria/FERN%C3%81NDEZ%20SANZ,%20B EATRIZ.pdf>
- Fernández, I. (2012). “*Factores que afectan a la movilidad del arsénico en los suelos. Propuesta de protocolo de actuación para valorar la contaminación de suelos por arsénico.*”
- GAD Municipal del Cantón Latacunga. (2014). *Ordenanza para la descontaminación y protección de los ríos y afluentes hídricos del cantón Latacunga*.
- Galarza, E., Alegre, M., & Merzthal, G. (2016). *Aprende a prevenir los efectos del Mercurio*.  
<https://repositoriodigital.minam.gob.pe/handle/123456789/95>
- Gámez, R. (2020). ¿Qué es la Temperatura? In *Boletín de la coordinación de física y química*. [http://www.dcb.unam.mx/Publicaciones/Naturalis/bfyq\\_35.pdf](http://www.dcb.unam.mx/Publicaciones/Naturalis/bfyq_35.pdf)

- García, A. (2012). *Sistematización de experiencias del: “grupo pro agua sin arsénico” en la problemática de contaminación del agua con arsénico en la parroquia de Tumbaco*. <https://dspace.ups.edu.ec/bitstream/123456789/3365/1/QT03080.pdf.pdf>
- Gil, M. (2019, January 3). *Agar nutritivo: fundamento, preparación y usos*. <https://www.lifeder.com/agar-nutriente/>
- Gillispie, E., Sowers, T., Duckworth, O., & Polizzotto, M. (2015). Soil Pollution Due to Irrigation with Arsenic-Contaminated Groundwater: Current State of Science. *Current Pollution Reports*, 1(1), 1–12. <https://doi.org/10.1007/s40726-015-0001-5>
- Graham, B. (2021). *Bacteria*. National Human Genome. <https://www.genome.gov/es/genetics-glossary/Bacteria>
- Imbago, C., & Oña, E. (2019). *Biorremediación de agua contaminada con arsénico proveniente de la parroquia Toacaso, mediante el uso de Pleurotus ostreatus, Trichoderma harzianum y Pseudomonas aeruginosa*. <https://dspace.ups.edu.ec/bitstream/123456789/17415/1/UPS-QT13961.pdf>
- INEC. (2012). *Proyecciones y estudios demográficos*. <https://sni.gob.ec/proyecciones-y-estudios-demograficos>
- International Agency for Research. (2002). *Some traditional herbal medicines, some mycotoxins, naphthalene and styrene*. <https://monographs.iarc.who.int/wp-content/uploads/2018/06/mono82.pdf>
- Jiménez, E., & Ramos, B. (2019). “*Evaluación de la eficiencia fitorremediadora de Lupinus pubescens, Plantago major y Scirpus californicus en suelos contaminados con arsénico*”: <https://dspace.ups.edu.ec/bitstream/123456789/17488/1/UPS-QT13975.pdf>
- Ley orgánica de recursos hídricos usos y aprovechamiento del agua. (2014). *Ley orgánica de recursos hídricos usos y aprovechamiento del agua*. [www.lexis.com.ec](http://www.lexis.com.ec)
- Ley orgánica de salud. (2015). *Ley orgánica de salud*. [www.lexis.com.ec](http://www.lexis.com.ec)
- Luna, R., & Rodríguez, V. (2016). *Determinación de las concentraciones de cadmio y plomo en papa (Solanum tuberosum) cosechada en las cuencas de los ríos Mashcón y Chonta – Cajamarca*.

- Luna, S., & Madreño, S. (2016). Importancia del componente social en el manejo del recurso hídrico, río el encano, humedal Ramsar la cocha (Nariño, Colombia). *Luna Azul*, 200–2016. <http://www.scielo.org.co/pdf/luaz/n42/n42a13.pdf>
- Maiquiza, K., & Tonato, G. (2020). “*Identificación de diatomeas epiliticas asociadas a la calidad del agua en el río yanayacu, sector San Juan, cantón Salcedo, provincia de Cotopaxi, 2020.*” <http://repositorio.utc.edu.ec/bitstream/27000/7103/1/PC-001038.pdf>
- Mastromónaco, G. (2015). *Criterios para asegurar la trazabilidad y calidad de los cultivos microbianos de referencia.* <http://www.unsam.edu.ar/institutos/incalin/repositorio/Maestria/GladysMastromonaco.pdf>
- Matsuda, M., Kuribayashi, T., Yamamoto, S., Millar, B. C., & Moore, J. E. (2016). Transformation and characterization of an arsenic gene operon from urease-positive thermophilic *Campylobacter* (UPTC) in *Escherichia coli*. *Folia Microbiologica*, 61(1), 57–62. <https://doi.org/10.1007/s12223-015-0405-z>
- Moreno, E. (2018). *Evaluación de la presencia de arsénico en arroz sin cáscara producido en Ecuador.* [http://repositorio.ute.edu.ec/bitstream/123456789/18471/1/70572\\_1.pdf](http://repositorio.ute.edu.ec/bitstream/123456789/18471/1/70572_1.pdf)
- Murillo, E., & Pullupaxi, L. (2019). “*Aislamiento e identificación de microorganismos fermentadores de una bebida ancestral fermentada (chicha) a partir de chonta (Bactris gasipaes H.B.K.)*.” <http://repositorio.utc.edu.ec/bitstream/27000/6145/6/PC-000741.pdf>
- Nizama, M. (2014). “*Evaluación del grado de contaminación del sector urbano del río Chira por aguas residuales de la ciudad de Sullana, provincia Sullana, departamento de Piura.*” <https://repositorio.unp.edu.pe/bitstream/handle/UNP/1616/PMIASI-NIZ-ELI-2014.pdf>
- Norma Técnica INEN 1108. (2014). *Norma Técnica INEN 1108.*
- Norma técnica INEN 1108. (2014). *Norma técnica INEN 1108.*
- Pellizzari, E., Marinich, L., Flores, S., & Giménez, C. (2015). *Degradación de arsénico por Pseudomonas aeruginosa para bioremediación de agua.* [http://www.exeedu.com/publishing.cl/av\\_cienc\\_ing/1](http://www.exeedu.com/publishing.cl/av_cienc_ing/1)
- Peña, E. (2007). Oxígeno Disuelto (OD). In *Escuela Superior Politécnica del Litoral.* <https://www.dspace.espol.edu.ec/bitstream/123456789/6162/5/Investigacion.pdf>

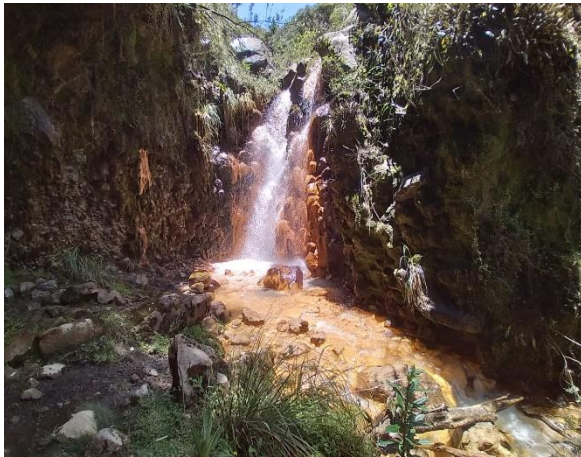
- Pradillo, B. (2016, September 12). *Parámetros de control del agua potable*. Iagua. <https://www.iagua.es/blogs/beatriz-pradillo/parametros-control-agua-potable>
- Rangel, E., & Montañez, L. (2015). Impacto del arsénico en el ambiente y su transformación por microorganismos. *SciELO*, 33(2). [http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0187-57792015000200103](http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0187-57792015000200103)
- Rodríguez, C., Tapia, K., Zambrano, T., & Mendoza, X. (2020). *Pisos altitudinales del Ecuador*. <https://es.calameo.com/read/004408122ab397b34731b>
- Rodríguez, C., & Zhurbenko, R. (2018). *Manual de medios de cultivo 2018*. [www.biocen.cu](http://www.biocen.cu)
- Rodríguez, H. (2017, March 13). *Las aguas residuales y sus efectos contaminantes*. Iagua. <https://www.iagua.es/blogs/hector-rodriguez-pimentel/aguas-residuales-y-efectos-contaminantes>
- Rodríguez, M., Alvarez, C., Fernández, A., & Pérez, A. (2016). Efecto del arsénico sobre plantas forrajeras de importancia pecuaria en la Argentina. *SciELO*, 18(1). [http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1668-34982016000100001&lng=es&nrm=iso&tlng=es](http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1668-34982016000100001&lng=es&nrm=iso&tlng=es)
- Rodríguez, P., & Arenas, R. (2018). *Hans Christian Gram y su tinción*. 166–167. <https://www.medigraphic.com/pdfs/cosmetica/dcm-2018/dcm182n.pdf>
- Rossi, A. (2021a, March). *Mac Conkey Agar*. BritaniaLab. [https://www.britanialab.com/back/public/upload/productos/upl\\_60707267ecda2.pdf](https://www.britanialab.com/back/public/upload/productos/upl_60707267ecda2.pdf)
- Rossi, A. (2021b, March). *Nitritivo Agar*. Laboratorios Britania. [https://www.britanialab.com/back/public/upload/productos/upl\\_60707641dee11.pdf](https://www.britanialab.com/back/public/upload/productos/upl_60707641dee11.pdf)
- Saltikov, C., & Olson, B. (2002). Homology of *Escherichia coli* R773 *arsA*, *arsB*, and *arsC* Genes in Arsenic-Resistant Bacteria Isolated from Raw Sewage and Arsenic-Enriched Creek Waters. *Applied and Environmental Microbiology*, 68(1), 280–288. <https://doi.org/10.1128/AEM.68.1.280-288.2002>
- Samboni, N., Carvajal, Y., & Escobar, J. (2007). Revisión de parámetros fisicoquímicos como indicadores de calidad y contaminación del agua. *SciELO*, 3(3). [http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0120-56092007000300019](http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0120-56092007000300019)



- Sánchez, D. (2015). *Calidad del agua y su control*. Universidad de Castilla La Mancha. [https://www.academia.edu/40866777/INGENIER%3%8DA\\_AMBIENTAL\\_Calidad\\_de\\_las\\_aguas\\_Tema\\_11\\_Calidad\\_del\\_agua\\_y\\_su\\_control](https://www.academia.edu/40866777/INGENIER%3%8DA_AMBIENTAL_Calidad_de_las_aguas_Tema_11_Calidad_del_agua_y_su_control)
- Smith, & Conant. (1960). *Bacteriología de Zinsser* (Unión Tipográfica Editorial Hispano-Americana (UTEHA), Ed.).
- Steward, K. (2019, August 21). *Gram positivos frente a Gram negativos*. <https://www.news-courier.com/immunology/articles/gram-positive-vs-gram-negative-323007>
- Tarik, A., Ullah, U., Asif, M., & Sadiq, I. (2019). Biosorption of arsenic through bacteria isolated from Pakistan. *International Microbiology*, 22(1), 59–68. <https://doi.org/10.1007/s10123-018-0028-8>
- Tovar, C., & Zapata, C. (2019). *Informe técnico: calidad química de las fuentes hídricas de suroccidente del complejo volcánico los Ilinizas*.
- Tulcán, M. (2020). “Clasificación De La Calidad De Agua De La Región De Atacapi Utilizando Análisis Multivariado, En El Periodo 2019 – 2020.” <http://repositorio.utc.edu.ec/bitstream/27000/7067/1/PC-001061.pdf>
- UNESCO. (2016). *Informe de las Naciones Unidas sobre el Desarrollo de los Recursos Hídricos en el Mundo 2016: Agua y Empleo*. <https://unesdoc.unesco.org/ark:/48223/pf0000244103/PDF/244103spa.pdf.multi>
- Vásquez, E., & Rojas, T. (2016, May). *pH: Teoría y 232 problemas*. Universidad Autónoma Metropolitana. <http://www.cua.uam.mx/pdfs/conoce/libroselec/17pHTeoriayproblemas.pdf>
- Yang, T., Liu, J.-W., Gu, C., Chen, M.-L., & Wang, J.-H. (2013). Expression of Arsenic Regulatory Protein in *Escherichia coli* for Selective Accumulation of Methylated Arsenic Species. *ACS Applied Materials & Interfaces*, 5(7), 2767–2772. <https://doi.org/10.1021/am400578y>
- Zafra, C., Santamaria, D., & Torres, C. (2015). Análisis climático de la concentración de metales pesados asociados al sedimento depositado sobre vías urbanas. *Revista de Salud Pública*, 17(3), 351–364. <https://doi.org/10.15446/rsap.v17n3.46672>
- Zarza, L. (2021). *¿Qué es la contaminación del agua?* Iagua. <https://www.iagua.es/respuestas/que-es-contaminacion-agua>

## 17. ANEXOS

*Anexo 1.* Reconocimiento del área de Estudio



*Elaborado por:* Moposita Esthela & Tipantiza Estefanía.

*Anexo 3.* Muestra de agua correctamente etiquetada y envasada.

*Anexo 2.* Toma de muestra



***Elaborado por:*** Moposita Esthela &  
Tipantiza Estefanía.

***Elaborado por:*** Moposita Esthela &  
Tipantiza Estefanía.

***Anexo 4.*** Traslado de muestras al  
laboratorio LANCAS



***Elaborado por:*** Moposita Esthela &  
Tipantiza Estefaní

### Anexo 5. Presupuesto de los parámetros a muestrear Laboratorio LANCAS

SERVICIOS ANALITICOS									
Parámetros	Unidades	Matriz	Técnica de Análisis	Método interno	Método de referencia	Rango de acreditación	Cant.	Costo unitario	COSTO TOTAL
pH	UpH	AN	Electrometría	PE01	Standard Methods Ed 23, 2017. 4500-H+ B	5,88 - 8,96	7	4,92	34,44
Conductividad	uS/cm	AN	Electrometría	PE02	Standard Methods Ed 23, 2017. 2510 B	7,3 - 6655,6	7	5,22	36,54
Arsénico	ug/L	AN	Espectrofotometría de absorción atómica llama	PE04	Standard Methods Ed 23, 2017. 3114 B (modificado)	6,468-210,877	7	14,9	104,30
Cloruros	mg/L	AN	Volumetría	PE07	Standard Methods Ed 23, 2017. 4500-CI B	5,94-1069,06	7	8,42	58,94
Oxígeno Disuelto	mg/L	AN	Volumetría	PE46	Standard Methods Ed 23, 2017. 4500-O C	1,30-8,29	7	7,00	49,00
Fosfatos	mg/L	AN	Espectrofotometría UV-Visible	PE48	Standard Methods Ed 23, 2017. 4500-P C	0,996-9,707	7	8,95	62,65
Coliformes fecales	NMP/100 ml	AN	Microbiológicas	PEMI02	Standard Methods Ed 23, 2017. 9221 E 1 (modificado)	1,8 NMP/100 ml a 1,1 E+10 NMP/100 ml	7	16,09	112,63
<b>COSTO TOTAL</b>									<b>458,50</b>
<b>IVA</b>									<b>55,02</b>
<b>COSTO TOTAL + IVA</b>									<b>513,52</b>

**NOTAS:**

Los análisis que no se realizan en el laboratorio podrán ser subcontratados a un laboratorio acreditado previo a un acuerdo con el usuario y constan como "Subcontratado" en los casilleros de método interno.

En caso de que no exista laboratorio acreditado en el parámetro solicitado se subcontrata con autorización del usuario

Los ensayos marcados con (\*) NO están incluidos en el alcance de la acreditación de LANCAS

NA: No aplica

NR: No reporta

Para la identificación de la matriz se utilizara las siguientes abreviaturas: AN: Agua Natural AC: Agua de Consumo AR: Agua Residual

**Elaborado por:** Moposita Esthela & Tipantiza Estefanía.

**Fuente:** Laboratorio LANCAS

**Anexo 6.** Resultados obtenidos del Laboratorio LANCAS**INFORME DE RESULTADOS**

RC38-06

N°. 22-026

Pág. 2 de 3

<b>Párametros</b>	<b>Método Interno LANCAS</b>	<b>Método de Referencia</b>	<b>Unidades</b>	<b>Valor</b>
pH	PE01	Standard Methods Ed 23, 2017. 4500 H <sup>+</sup> B	UpH	7,64
Arsénico	PE04	Standard Methods Ed 23, 2017. 3114 B Modificado	ug/L	38,357
Manganeso	PE30	Standard Methods Ed 23, 2017. 3111 B	mg/L	0,694
Sulfatos	PE45	HACH No 8051 12/99 7 ed	mg/L	62,04
Oxígeno Disuelto	PE46	Standard Methods Ed 23, 2017. 4500-O C	mg/L	6,46 <sup>(1)</sup>
Coliformes fecales	PEMi02	Standard Methods Ed 23, 2017. 9221 E 1 Modificado	NMP/100 ml	2,0

**REFERENCIAS Y OBSERVACIONES:**

<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"

  
 Autorizado por:  
 Dra. Jeaneth Cartagena  
 Coordinador de Laboratorio  


**Elaborado por:** Moposita Esthela & Tipantiza Estefanía.

**Fuente:** Laboratorio LANCAS

**Anexo 7.** Preparación del medio de cultivo



**Elaborado por:** Moposita Esthela & Tipantiza Estefanía.

**Anexo 8.** Esterilización y purificación del Agar



**Elaborado por:** Moposita Esthela & Tipantiza Estefanía.

**Anexo 9.** Vertido del Agar en las cajas Petri



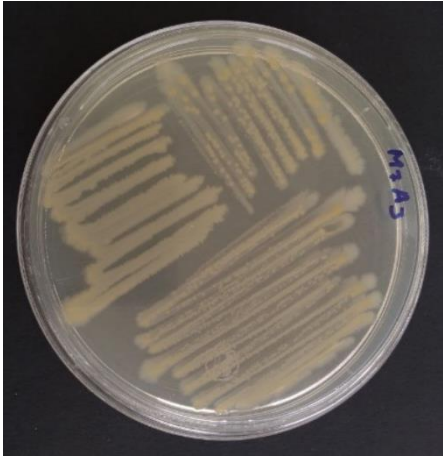
**Elaborado por:** Moposita Esthela & Tipantiza Estefanía.

**Anexo 10.** Aplicación de la muestra de agua en el Agar



**Elaborado por:** Moposita Esthela & Tipantiza Estefanía

**Anexo 11.** Identificación de las muestras



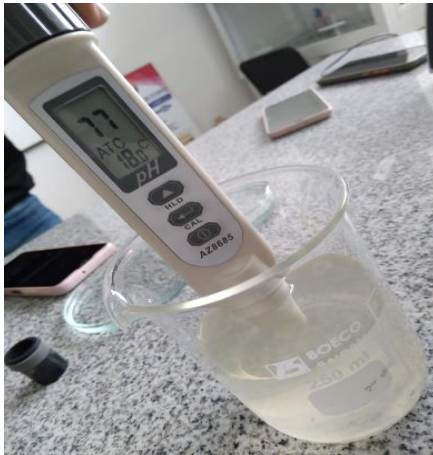
**Elaborado por:** Moposita Esthela & Tipantiza Estefanía.

**Anexo 13.** Tinción de Gram



**Elaborado por:** Moposita Esthela & Tipantiza Estefanía.

**Anexo 12.** Medicion de pH



**Elaborado por:** Moposita Esthela & Tipantiza Estefanía.

**Anexo 14.** Resultados obtenidos del segundo muestreo**INFORME DE RESULTADOS**

RC38-06

N°. 22-066

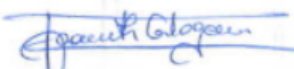

Pág. 2 de 3

<b>Párametros</b>	<b>Método Interno LANCAS</b>	<b>Método de Referencia</b>	<b>Unidades</b>	<b>Valor</b>
Arsénico	PE04	Standard Methods Ed 23, 2017. 3114 B Modificado	ug/L	1593,570 <sup>(a)</sup>
Manganeso	PE30	Standard Methods Ed 23, 2017. 3111 B	mg/L	0,526
Sulfatos	PE45	HACH No 8051 12/99 7 ed	mg/L	46,15
Oxígeno Disuelto	PE46	Standard Methods Ed 23, 2017. 4500-O C	mg/L	7,90 <sup>(1)</sup>
Coliformes fecales	PEMi02	Standard Methods Ed 23, 2017. 9221 E 1 Modificado	NMP/100 ml	2,0

**REFERENCIAS Y OBSERVACIONES:**

"<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"

  
 Autorizado por:  
**Dra. Jeaneth Cartagena**  
**Coordinador de Laboratorio**  
  
**INAMHI**  
 INSTITUTO NACIONAL DE METEOROLOGÍA E HIDROLOGÍA  
**LABORATORIO NACIONAL**  
**DE CALIDAD DE AGUA**  
**Y SEDIMENTOS - LANCAS**

**Elaborado por:** Moposita Esthela & Tipantiza Estefanía.

**Fuente:** Laboratorio LANCAS



*Anexo 15. 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 DE ENTEROBACTERIAS PRESENTES EN SITIOS POCO MONITOREADOS Y CONTAMINADOS CON ARSÉNICO PROVENIENTES DE FUENTES NATURALES A 3747 MSNM EN LA PARROQUIA DE TOACASO”** presentado por: **Moposita Toapanta Esthela Mireya y Tipantiza Yánez Estefanía Daniela**, 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, marzo del 2022

Atentamente,



Firmado electrónicamente por:  
**MAYRA CLEMENCIA  
NOROÑA HEREDIA**



CENTRO  
DE IDIOMAS

**Mg. Mayra Clemencia Noroña Heredia**  
**DOCENTE CENTRO DE IDIOMAS-UTC**  
**CI: 0501955470**

*Elaborado por:* Moposita Esthela & Tipantiza Estefanía.